

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK AMİLOZLU MISIR NIŞASTASINDAN ENZİM VE
MİKRODALGA MODİFİKASYONLARI İLE ENZİME DİRENÇLİ
NIŞASTA ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Selime MUTLU

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ
Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Serpil ÖZTÜRK

Ağustos 2015

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK AMİLOZLU MISIR NIŞASTASINDAN ENZİM VE
MİKRODALGA MODİFİKASYONLARI İLE ENZİME DİRENÇLİ
NIŞASTA ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Selime MUTLU

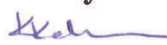
Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Bu tez / 1708 / 2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

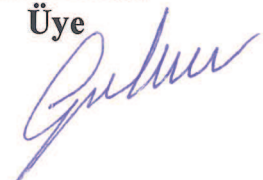
Yrd. Doç. Dr. Serpil Öztürk
.....
Jüri Başkanı



Yrd. Doç. Dr. Kevser Kahraman
.....
Üye



Doç. Dr. Gülnur Arabacı
.....
Üye



BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Selime MUTLU

21.08.2015

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, aynı titizlikte beni yönlendiren değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Serpil ÖZTÜRK'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında fikirlerini ve yardımlarını esirgemeyen ve deneyimlerini benimle paylaşan Yrd. Doç. Dr. Kevser KAHRAMAN'a teşekkür ederim.

Laboratuvar olanakları konusunda anlayış ve yardımlarını esirgemeyen Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Ahmet AYAR'a ve bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Sayın Gıda Mühendisliği Bölümü hocalarıma teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında anlayış ve desteğini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Hatice SIÇRAMAZ'a, İnci CERİT'e, Ayşe SARIÇAM'a, Gülşah KARABULUT'a ve Elif SEZER'e; Bölüm Öğrencimiz Ezgi ŞENOL'a teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım ve eğitimim boyunca, daha da önemlisi hayatım boyunca her türlü maddi ve manevi desteklerini gördüğüm ve görmeye devam edeceğimden emin olduğum Annem Refiye MUTLU'ya, Babam Enver MUTLU'ya, Kardeşim Merlin MUTLU'ya ve Dostum Sedat SEVİN'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ÖZET	xi
SUMMARY	xii

BÖLÜM 1.

GİRİŞ.....	1
------------	---

BÖLÜM 2.

LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. Nişastanın Granüler Özellikleri.....	3
2.2. Nişastanın Jelatinizasyonu	5
2.3. Enzime Dirençli Nişasta.....	7
2.3.1. Enzime dirençli nişasta tipleri	9
2.3.2. Enzime dirençli nişasta eldesi	12
2.3.3. Enzime dirençli nişastanın fizyolojik etkileri.....	13
2.3.4. Enzime dirençli nişastanın kullanım alanları	15
2.4. Mikrodalga Uygulaması ile Enzime Dirençli Nişasta Üretimi	18
2.4.1. Mikrodalga enerjisi	18
2.4.2. Mikrodalga uygulamalarının nişasta üzerine etkisi.....	19

BÖLÜM 3.

MATERYAL VE METOT	23
3.1. Materyal.....	23
3.2. Enzime Dirençli Nişasta Üretimi	23
3.3. Rutubet Miktarı Tayini	27
3.4. Enzime Dirençli Nişasta Miktarı Tayini.....	27
3.5. Nişasta Örneklerinin Viskozite Özellikleri	27
3.6. Nişasta Örneklerinin Çözünürlük ve Su Bağlama Özellikleri	28
3.7. Nişasta Örneklerinde Renk Analizi	29
3.8. İstatistiksel Analizler	29

BÖLÜM 4.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER	31
4.1. Mikrodalga Uygulaması ile Üretilen Nişasta Örneklerinin Özellikleri.....	31
4.1.1. Mikrodalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin enzime dirençli nişasta miktarları	31
4.1.2. Mikrodalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin çözünürlük ve su bağlama özellikleri.....	34
4.1.3. Mikrodalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin renk değerleri.....	37
4.1.4. Mikrodalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin viskozite özellikleri	39
4.2. Enzim Hidrolizi ve Mikrodalga Uygulaması ile Üretilen Nişasta Örneklerinin Özellikleri	48
4.2.1. Enzim hidrolizi ve mikrodalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin enzime dirençli nişasta miktarları	48
4.2.2. Enzim hidrolizi ve mikrodalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin çözünürlük ve su bağlama özellikleri	51
4.2.3. Enzim hidrolizi ve mikrodalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin renk değerleri	53
4.2.4. Enzim hidrolizi ve mikrodalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin viskozite özellikleri.....	55

4.3. Yanıt Yüzey Yöntemi ile Modelleme	61
4.4. Yorum.....	68
KAYNAKLAR.....	72
ÖZGEÇMİŞ	90

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

AACC	: American Association of Cereal Chemists
AOAC	: The Association of Official Analytical Chemists
CSIRO	: Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation
EDN	: Enzime Dirençli Nişasta
MD	: Mikrodalga
MW	: Microwave
RVA	: RapidVisco Analyzer
WHO	: World Health Organization
YYY	: Yanıt Yüzey Yöntemi

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. Mikrodalga güçlerinin ve sürelerinin belirlenmesi için kullanılan deneysel desen.....	23
Şekil 3.2. Mikrodalga uygulaması ile enzime dirençli nişasta üretimi akım şeması.....	25
Şekil 3.3. Enzim hidrolizi ve mikrodalga uygulaması ile enzime dirençli nişasta üretimi akım şeması.....	26
Şekil 3.4. Tipik bir RVA grafiği.....	28
Şekil 4.1. Hylon VII nişasta örneğinden pişirme ve otoklavlama uygulanan kontrol örneklerine ait RVA viskozite grafikleri.....	41
Şekil 4.2. Hylon VII nişasta örneğinden 1 döngü mikrodalga ve 50°C’de kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	41
Şekil 4.3 Hylon VII nişasta örneğinden 1 döngü mikrodalga ve liyofilizasyon ile kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	42
Şekil 4.4. Hylon VII nişasta örneğinden 3 döngü mikrodalga ve 50°C’de kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	45
Şekil 4.5. Hylon VII nişasta örneğinden 3 döngü mikrodalga ve liyofilizasyon ile kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	45
Şekil 4.6. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 1 döngü mikrodalga ve 50°C’de kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	55
Şekil 4.7. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 1 döngü mikrodalga ve liyofilizasyon ile kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	56

Şekil 4.8. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 3 döngü mikrodalga ve 50°C’de kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	59
Şekil 4.9. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 3 döngü mikrodalga ve liyofilizasyon ile kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri.....	59
Şekil 4.10. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 1 döngü mikrodalga ve liyofilizasyon ile kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklerin EDN içeriği verilerine ait yüzey grafiği.....	66
Şekil 4.11. Hylon VII nişasta örneğinden 1 döngü mikrodalga ve 50°C’de kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklerin EDN içeriği verilerine ait yüzey grafiği.....	67
Şekil 4.12. Hylon VII nişasta örneğinden 3 döngü mikrodalga ve 50°C’de kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklerin EDN içeriği verilerine ait yüzey grafiği.....	67
Şekil 4.13. Hylon VII nişasta örneğinden 3 döngü mikrodalga ve liyofilizasyon ile kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklerin EDN içeriği verilerine ait yüzey grafiği.....	68

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Bazı gıdaların enzime dirençli nişasta miktarları.....	9
Tablo 3.1. RVA profilinde sıcaklık-zaman değişimi.....	28
Tablo 4.1. Hylon VII nişasta örneğinde 1 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi.....	31
Tablo 4.2. Hylon VII nişasta örneğinde 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi.....	34
Tablo 4.3. Hylon VII nişasta örneğinde 1 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin çözünürlük ve su bağlama özelliklerine etkisi.....	35
Tablo 4.4. Hylon VII nişasta örneğinde 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin çözünürlük ve su bağlama özelliklerine etkisi.....	37
Tablo 4.5. Hylon VII nişasta örneğinde 1 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin renk değerlerine etkisi.....	38
Tablo 4.6. Hylon VII nişasta örneğinde 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin renk değerlerine etkisi.....	39
Tablo 4.7. Hylon VII nişasta örneğinde 1 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin RVA viskozite değerlerine etkisi.....	43
Tablo 4.8. Hylon VII nişasta örneğinde 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin RVA viskozite değerlerine etkisi.....	46
Tablo 4.9. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 1 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi.....	49
Tablo 4.10. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi.....	50

Tablo 4.11. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 1 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin çözünürlük ve su bağlama özelliklerine etkisi.....	51
Tablo 4.12. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin çözünürlük ve su bağlama özelliklerine etkisi.....	52
Tablo 4.13. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 1 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin renk değerlerine etkisi.....	53
Tablo 4.14. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin renk değerlerine etkisi.....	54
Tablo 4.15. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 1 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin RVA viskozite değerlerine etkisi..	57
Tablo 4.16. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin RVA viskozite değerlerine etkisi..	60
Tablo 4.17. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 1 döngü mikrodalga uygulaması ve liyofilizasyon ile kurutulan örneklere ait deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan EDN miktarları.....	62
Tablo 4.18. Hylon VII nişasta örneğinde 1 döngü mikrodalga uygulaması ve 50°C’de kurutulan örneklere ait deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan EDN miktarları.....	63
Tablo 4.19. Hylon VII nişasta örneğinde 3 döngü mikrodalga uygulaması ve 50°C’de kurutulan örneklere ait deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan EDN miktarları.....	64
Tablo 4.20. Hylon VII nişasta örneğinde 3 döngü mikrodalga uygulaması ve liyofilizasyon ile kurutulan örneklere ait deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan EDN miktarları.....	65

ÖZET

Anahtar Kelimeler: Enzime Dirençli Nişasta, Mikrodalga Enerjisi, Pullulanaz Hidrolizi

Bu çalışmada, yüksek amilozlu mısır nişastasından (Hylon VII, %70 amiloz) enzim hidrolizi ve mikrodalga ısıtma uygulamaları ile enzime dirençli nişasta üretimi gerçekleştirilmiştir. Doğal haldeki Hylon VII nişastasına pişirme ve otoklavlama işlemlerinin ardından, Design Expert 7.0 programında Yanıt Yüzey Yöntemi ile belirlenen koşullarda (%20-100 mikrodalga gücü ve 2-4 dakika süre) mikrodalga ısıtma uygulanmıştır. Mikrodalga uygulaması sonrasında örnekler 95°C'de 24 saat bekletilmiştir. Her uygulama 1 döngü (MD1) ve 3 döngü (MD3) olmak üzere aynı koşullarda tekrarlanmıştır. Bekletme süresi sonunda örnekler etüvde 50°C'de ya da liyofilizatörde kurutulmuştur. Enzim-mikrodalga modifikasyonu yönteminde ise örnekler pullulanaz enzimi ile (400 PUN/mL; 1500 U/kg nişasta) 60°C'de 48 saat inkübe edilmiş ve ardından aynı koşullarda mikrodalga-bekletme döngülerine tabi tutulmuştur. Elde edilen örneklerde enzime dirençli nişasta (EDN) miktarı, RVA viskozite değerleri, çözünürlük, su bağlama kapasitesi ve renk değişimi belirlenmiştir. Üretilen örneklerde EDN miktarı mikrodalga döngü sayısı arttıkça artmış, 50°C'de kurutulan örneklerin liyofilizatörde kurutulanlara göre daha yüksek EDN içerdiği belirlenmiştir. Liyofilize edilerek kurutulan örneklerin RVA ısıtma öncesi viskozite değerleri 50°C'de kurutulanlardan yüksek bulunmuştur. İşlem görmüş tüm nişasta örneklerinin su bağlama ve çözünürlük değerleri doğal haldeki Hylon VII'ye göre yüksektir. Mikrodalga döngü sayısı ile uygulanan güç ve süre arttıkça örneklerin renk değerlerinde önemli değişimler gözlenmiştir. Enzim hidrolizi uygulanmış örneklerin EDN miktarları enzim ile hidroliz edilmemiş olanlara göre yüksek çıkmıştır. Viskozite değerlerinde enzim hidrolizi ile düşüş meydana gelmiştir. Örneklerin EDN miktarındaki değişimler Design Expert Programı ile analiz edilmiş ve uygun olanlar için doğrusal ve ikinci dereceden modeller oluşturulmuştur. Modellerden elde edilen denklemlerden 0,6183 ile 0,8250 arasında değişen değerlerde R²'ler hesaplanmıştır.

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF ENZYME RESISTANT STARCH FROM HIGH AMYLOSE CORN STARCH BY MICROWAVE AND ENZYME MODIFICATIONS

SUMMARY

Keywords: Enzyme Resistant Starch, Microwave Energy, Pullulanase Debranching

In this study, enzyme resistant starch from high amylose corn starch (Hylon VII, 70% amylose) was produced by enzyme hydrolysis and microwave heating processes. After cooking and autoclaving of native Hylon VII starch, the paste was treated by microwave heating at the conditions (20-100% microwave power and 2-4 minutes) determined by Response Surface Methodology by Design Expert 7.0 programme. After microwave treatment, the samples were stored at 95°C for 24 hours. Each treatment was repeated 1 cycle (MW1) and 3 cycles (MW3) at the same conditions. At the end of the storage period the samples were dried in the oven at 50°C or freeze-dryer. In enzyme-microwave modification method, samples were incubated at 60°C for 48 hours with pullulanase enzyme (400 PUN/mL; 1500 U/kg starch) and then treated with microwave-storage cycles at same conditions. Enzyme resistant starch (RS) content, RVA viscosity values, solubility, water binding capacity and colour changes of the produced samples were determined. Resistant starch contents of the samples were increased with increasing microwave cycle and were higher for oven dried samples than freeze-dried ones. RVA cold viscosity values of freeze-dried samples were higher than those of oven-dried ones. All processed starch samples had higher water binding and solubility values than native Hylon VII starch. Changes in colour values became more significant with the increase in microwave cycles, power and time. Enzyme treatment with Pullulanase and microwave treatment together effected RS content increase much more than just microwave treatment. Viscosity values of combined treated samples reduced. Changes in RS contents of samples were analyzed by Design Expert Programme and linear and quadratic models of fitted samples were determined. The R² values were evaluated between 0,6183 and 0,8250 according to model equations.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Nişasta, selülozdan sonra doğada en yaygın var olan, bitkilerin tohum, sap, yumru, kök, yaprak ve meyvelerinde, beyaz renkte, kısmi-granüler şekilde bulunan karbonhidrattır. Nişasta granülleri kompleks yapıdadır ve genellikle kuru maddenin %98-99'unu oluşturan amiloz ve amilopektin tipi α -glukanlardan oluşur. Doğal olarak var olan nişastaların amiloz oranları %17 ile %28 arasında değişirken, %50 ve üzeri amiloz içeriğinde yüksek amilozlu nişastalar (amilotip nişasta) veya teknik olarak hiç amiloz içermeyen sadece amilopektinden oluşan nişastalar (mumsu nişastalar) da ıslah edilebilmektedir. Amiloz/amilopektin oranının jelatinizasyon ve retrogradasyonu etkilediği düşünülmektedir. Normal koşullarda 55-60°C'de gerçekleşen jelatinizasyon, yüksek amiloz içeren nişastalarda daha yüksek sıcaklıklar gerektirir. Normal pişirme koşullarında sağlanamayan bu şartlar yüksek basınç ve yüksek sıcaklıklar uygulanan otoklav gibi sistemlerle elde edilir.

Genel kanı nişastanın vücutta tamamıyla absorbe edildiği yönünde olmasına rağmen nişasta, sindirim sisteminde enzimatik sindirilebilirliğine göre üç temel gruba ayrılır. Bunlar; hızlı sindirilebilir nişasta, yavaş sindirilebilir nişasta ve dirençli nişastadır. Enzime dirençli nişasta (EDN), sağlıklı bireylerin ince bağırsağında sindirilemeyen ancak kalın bağırsağında fermente edilebilen nişasta ve nişasta parçalanma ürünleridir. Enzime dirençli nişasta işlem görmüş ya da görmemiş hemen hemen her nişastalı gıdada değişik miktarlarda bulunur. Dirençli nişastalar genel olarak çözünebilir ve fermente olabilir besinsel liflere benzer fizyolojik davranış sergilerler. Gıdalarda dirençli nişasta kullanımının; belirtilen günlük lif tüketim değerlerine ulaşılması, sindirim yolları kanseri riskinin azalması, yemek sonrası glikoz tepkisinin düşmesi, kan lipid seviyesinin düşmesi, safra taşı oluşumunun engellenmesi ve mineral absorpsiyonunun artması gibi olumlu lif benzeri faydaları vardır. Teknolojik yararları dikkate alınarak peynir, dondurma, kek, ekmek gibi gıdalar başta olmak üzere sayısız gıda ürününü besinsel açıdan zenginleştirmede ya da probiyotiklerin

desteklenmesi ve mikroenkapsülasyon gibi alternatif amaçlarla da rahatlıkla kullanılmaktadırlar.

Genel olarak EDN, ısı işlemler, kısmi asit hidrolizi, enzim modifikasyonu, asit ya da enzim modifikasyonu ile birlikte ısı işlem uygulaması, ekstrüzyon ya da kimyasal yöntemlerle oluşturulmaktadır. Nişastanın amiloz/amilopektin oranı, zincir uzunluğu ve amiloz-lipid kompleksinin varlığı ile nişastaya uygulanan ısı işlemler gıdalardaki EDN oluşumu ve miktarına etki eder. Isıl işleme maruz kalarak jelatinize olan nişasta takip eden bekleme aşamalarında amiloz moleküllerinin hidrojen bağları ile ikili sarmal yapı oluşturacak şekilde yeniden dizildikleri retrogradasyon (yeniden kristalizasyon) aşamasından geçerek enzimlere dirençli hale gelirler. EDN miktarını arttırmak için, amilopektin moleküllerinin dallanma yapan kısımlarının pullulanaz gibi enzimlerle hidrolize edilerek düz zincir sayısını artırma yoluna da başvurulmaktadır. Mikrodalga enerjisi de son yıllarda tek başına ya da farklı yöntemlerle birlikte, nişasta modifikasyonunda ısı kaynağı olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Mikrodalga ışınlamasının, hızlı, materyal seçici, hacimsel ısıtma ve çevresel olarak temiz uygulama gibi birçok işlem avantajları vardır. Ayrıca, operasyon maliyeti düşüktür, çünkü mikrodalga enerjisi ile oluşan ısı esas olarak fırın duvarı ya da atmosferde değil yüklerde oluşur. Mikrodalga ile alınan sonuçlar çelişkili yorumlar yaratsa da avantajları ve dezavantajları ile mikrodalga enerjisi, EDN üretiminde çalışma yapılması gereken bir yöntemdir.

Bu çalışmada, amiloz içeriği %70 olan yüksek amilozlu mısır nişastası (Hylon VII) mikrodalga ve enzim-mikrodalga uygulamaları ile modifikasyona uğratılmıştır. Isı kaynağı olarak mikrodalga enerjisi kullanılırken dallı amilopektin yapısını düz zincire dönüştürmek için pullulanaz enziminden yararlanılmıştır. İşlemler, Design Expert 7.0 programının Yanıt Yüzey Yöntemi ile belirlenen mikrodalga süreleri ve güçlerinde ve farklı döngü sayısında gerçekleştirilmiştir. İşlem gören örnekler etüvde 50°C ya da liyofilizasyon yöntemleri ile kurutularak EDN içeren nişasta türevlerinin üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen örneklerin EDN miktarları, sulu sistemde ısıtma-soğutma sırasındaki viskozite değişimleri (RapidVisco Analyzer; RVA), çözünürlük, su bağlama kapasitesi ve renk değerleri standart yöntemler ile belirlenmiştir.

BÖLÜM 2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Nişastanın Granüler Özellikleri

Nişasta, selülozdan sonra doğada en yaygın var olan karbonhidrattır (Jiang, 2010). Doğal nişasta, beyaz renktedir ve kısmi-granüler şekilde bitkinin tohum (mısır, buğday, pirinç ve bezelye), sap, yumru, kök (patates, manyok ve tatlı patates), yaprak (tütün) ve meyvelerinin (yeşil muz ve sinirotu) kloroplast ya da amiloplast organellerinde sentezlenir (Robyt, 1998; Liu et al., 2015). Patates yumrusu ve tahıl endospermli gibi depo organlarında yapraklardan taşınan sakarozdan sentezlenir (Myers et al., 2000; Smith, 2001; James et al., 2003; Morell and Myers, 2005). Diğer besinsel polisakkaritlerin aksine nişastalar, insan sindirim sistemi tarafından sentezlenen amilolitik enzimler tarafından sindirilebilen α -glukozidik bağlardan oluşurlar (Englyst and Hudson, 1996; Htoon et al., 2009). Yaygınlığı ve uygulama alanlarının genişliği ile nişastalar en çok çalışılan biyopolimerlerden biridir, ayrıca ucuz, yenilenebilir ve kolay işlenebilir özellikleri de nişastanın dünya çapında gıda, kağıt, tekstil ve plastik gibi çok çeşitli ve fazla alanda değerlendirilmesini sağlamaktadır (Du et al., 2011; Meshram et al., 2009; Liu et al., 2015). Nişastanın karakteristik özellikleri, moleküler yapısı, moleküler organizasyonu, granüler organizasyonu, morfolojik özellikleri, jelatinizasyon ve çirleşme özellikleri, nişasta polimorfu ve kristal yüzdesi ve enzim ile sindirilebilirliği gibi konularda çeşitlilik göstermektedir (Jane, 2004).

Nişasta granülleri kompleks yapıdadır ve genellikle kuru maddenin %98-99'unu oluşturan amiloz ve amilopektin tipi α -glukanlardan oluşur (Tester et al., 2004a; Brasoveanu and Nemtanu, 2014). Amilopektin, yapılarının yaklaşık %5 dallanma bölgesi (1,6) glikozidik bağlardan oluşan ve birbirine 1,4 D-glukanopiranoz ile bağlı birimlerden oluşan dallanmış yapılardır (French, 1984). Amiloz ise, (1,4) bağlı D-glukanopiranoz birimli temelinde düz polimerlerdir (Takeda et al., 1989; Takeda et

al., 1986; Takeda et al., 1993). Amilopektin molekülünün dallanma zincirleri çift heliks yapı oluşturur ve nişasta kristalliliğini belirler. Normal nişastada amiloz molekülüleri ise amorf yapıdadır ve konsantrasyonlarının düşüklüğü nedeni ile amilopektin molekülüne bağlanmış veya amilopektinlerin aralarına serpişmiş durumdadırlar (Jane et al., 1992; Kasemsuwan and Jane, 1994; Jiang, 2010).

Nişasta türleri değişik değerlerde amiloz/amilopektin oranına sahiptirler (Jenkins and Donald, 1995). Bu amiloz/amilopektin kompozisyonları nişastaların, fizikokimyasal özellikleri ve pullulanaz gibi enzimler tarafından sindirilebilirlikleri üzerine etki gösterir (Lehmann and Robin, 2007; Onofre and Wang, 2010; Tester et al., 2004b). Bitkisel orjinine, olgunluk derecesine, yetiştirme koşullarına ve kullanılan tespit yöntemlerine de bağlı olarak normal bir nişasta ortalama %15-30 oranında amiloz içerir (Chung et al., 2009; Hasjim et al., 2009; Jane et al., 1999; Jane et al., 1996; Li et al., 2007; Lu et al., 1996; Ono et al., 1998; Reddy and Seib, 1999; Srichuwong et al., 2005a, 2005b; Wang and Wang, 2001; Wu et al., 2007; Yoo et al., 2009).

Doğal olarak var olan nişastaların amiloz oranları %17 (tapyoka) ile %28 (mısır ve buğday) arasında değişir (Swinkels, 1985). Bu oranlar dışında amiloz/amilopektin kompozisyonlarında nişasta sentezleyebilen bitkiler de ıslah etmek mümkündür. Örneğin mısır bitkisi, %50 ve üzeri amiloz içeriğinde yüksek amilozlu nişastalar (amilotip nişastalar) ile (Campbell et al., 2007; Li et al., 2008; Regina et al., 2006; Shi et al., 1998) hiç amiloz içermeyen sadece amilopektinden oluşan nişastalara (mumsu nişastalar) sahip olarak üretilebilir (Jenkins and Donald, 1995; Yoo and Jane, 2002b). Yüksek amilozlu mısır nişastaları %50, %70 ve %80 amiloz içeriklerinde ticari olarak bulunabilmekte ve sırası ile amilomaize V, VII ve VIII olarak adlandırılmaktadırlar ve hatta amiloz oranı %90 olan yüksek amilozlu mısır nişastası da günümüzde mevcuttur (Li et al., 2008; Shi et al., 1998). Yüksek amilozlu mısır nişastalarının amilopektin boyutları normal nişastalara göre daha küçüktür (Li et al., 2008; Yoo and Jane, 2002a). Ulaşılan sonuçlar, normal mısır ve mumsu mısır nişastalarının aynı oranda kristalliğe sahipken yüksek amilozlu mısır nişastasının daha düşük oranlı kristallikte olduğunu ortaya koymuştur (Swinkels, 1985; Morsi et al., 1966). Yapılan çalışmalarda yüksek oranda amiloz içeriğine sahip nişastaların enzim hidrolizine daha dayanıklı olduğu belirlenmiştir (Jane et al., 2003; Li et al.,

2008). Mısır nişastalarının amiloz içeriğiyle birlikte artan, yüksek jelatinizasyon bitiş sıcaklığı (100-150°C) vardır (Li et al., 2008; Shi et al., 1998). Nişastaların erime sıcaklıkları da doğrudan doğruya amiloz oranları ile bağlantılıdır (Gerard et al., 1999; Sievert and Wuesch, 1993).

Nişasta granülü aynı zamanda küçük miktarda farklı 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 (Koksel, 2005; Ozturk, 2008).

2.2. Nişastanın Jelatinizasyonu

Nişastanın prosesi sırasında fizikokimyasal yapısında birçok değişiklik meydana gelir (Kibar et al., 2010). Jelatinizasyon bu değişikliklerden en önemlisi kabul edilir. Nişasta granülleri soğuk su içeren ortamlarda çözünemezler ancak geridönüşümlü olarak yapılarına su absorbe ederler (Hoseney, 1994; Lund, 1984). Granüller, gerekenden fazla su içeren ortamlarda ısı işleme maruz kaldıkları zaman belirli bir sıcaklıkta şişerek büyüme geri dönüşümsüz hale gelir ve granül yapısı önemli biçimde değişime uğrar (Leach, 1965; Biliaderis, 1990). Bu işleme “jelatinizasyon” denir. Jelatinizasyonun gerçekleşme mekanizması için çeşitli teoriler öne sürülmüştür ancak prosesin uluslararası geçerlilikte kabul görmüş bir tanımı henüz mevcut değildir (Karapantsios et al., 2002; Kibar et al., 2010). Nişasta jelatinizasyonunda, yapı yarı-kristal formdan amorf forma geridönüşümsüz değişir. Bu dönüşüm sırasında çift heliks yapı ayrılır, polarize ışık altında bakıldığında çift-kırınım özelliği kaybolur ve granüler yapı parçalanır (Jane, 2004; Jiang, 2010). Jelatinizasyon sıcaklığı nişasta tipine ve uygulanan ısı işlem yöntemine göre değişiklik gösterebilir (Levine and Slade, 1990; Eerlingen and Delcour, 1992). Proses sırasında meydana gelen değişimlere daha ayrıntılı değinmek gerekirse sırasıyla; moleküler düzen ve dolayısıyla çift-kırınım kaybolur, nişasta granülü kristalliğini kaybeder, su absorbe edilir, ısı işlemin sürdürülmesiyle şişmeye devam eden granülden polimer moleküller, çoğunlukla amiloz, sızmaya başlar, nişasta granülü parçalanır ve kısmi çözünürlük elde edilir (Eerlingen and Delcour, 1995).

Kütle transfer olayları açısından jelatinizasyonda temel olarak iki eşzamanlı gelişme gerçekleşmektedir; birisi granüle suyun difüzyonu ve diğeri matriksten çözünebilir polisakkaritlerin sızması olaylarıdır (Kibar et al., 2010). Her iki olay da yapısal özelliklerden ve nişastanın botanik kaynağına bağlı olan amiloz/amilopektin içeriği gibi nişastada yer alan temel bileşenlerden etkilenmektedir (Jane, 2004). Yapılan çalışmalarda yüksek amilozlu mısır nişastalarında amiloz içeriği arttıkça jelatinizasyon pikinin ve sonlanma sıcaklıklarının da arttığı gözlenmiştir (Li et al., 2008; Jiang et al., 2010a). Bu durumun, amiloz moleküllerinin oluşturduğu çift-heliks kristalliği ve amilopektin uzun dallanmış zincirlerinden dolayı gerçekleştiği düşünülmektedir (Jiang, 2010). Normal pişirme koşullarında amilotip nişastaların jelatinizasyonu için gerekli sıcaklık koşulları sağlanmadığından bu amaçla genellikle otoklav gibi yüksek sıcaklık ve basınç sağlayan sistemler kullanılır (Ozturk, 2008).

Nişastanın yapısında meydana gelen bir diğer önemli fizikokimyasal değişim de retrogradasyondur (Arık ve ark., 2008). Jelatinizasyondan sonra elde edilen nişasta çirisi ya da nişasta çözeltisi kararlı değildir. Bu nedenle, soğutma ve depolama sırasında yapısal dönüşümler gerçekleşir. Bu dönüşümlerin tamamını tanımlamada “retrogradasyon” terimi kullanılır (Eerlingen and Delcour, 1995). Amiloz ve amilopektin moleküllerinin retrogradasyondaki rolü üzerine yapılan çalışmalarda, retrogradasyonun, jelatinizasyon sırasında çözünür hale geçen amilozun tekrar düzenlenmesi ve jelatinize granüllerdeki amilopektinin tekrar kristallenmesi olmak üzere iki ayrı prosten olduğu öne sürülmektedir (Karim et al., 2000). Genel olarak, kristaliniteadaki artış ile kendini gösteren uzun süreli değişimler amilopektinle, başlangıç aşamalarındaki kısa süreli değişimler ise amiloz ile ilişkilendirilmektedir (Gudmundsson, 1994). Yeniden düzenlenme sırasında meydana gelen toplanmalar amiloz zincir uzunluklarına bağlıdır (Eerlingen and Delcour, 1992; 1995). Nişasta retrogradasyonu, depolama sıcaklığından önemli ölçüde etkilenmektedir. Literatürde bu etkileşim, yarı kristal sentetik polimerlerin klasik kristalizasyon teorisiyle açıklanmaktadır (Slade and Levine, 1991; Arık ve ark., 2008).

Nişastanın sulu bir sistemde sıcaklık değişimi ile viskozitesinde meydana gelen değişimler Amilograf ve Mikroviskoanalizör (RVA; Rapid ViscoAnalyser) gibi cihazlarla incelenmektedir (Ozturk, 2008). Nişasta-su sisteminin incelendiği bu

vizkoanalizörlerde, sıcaklık artışıyla nişasta granülleri şişer, sistemin viskozitesi artar ve maksimum viskozite yani “pik viskozitesi” değerine ulaşılır. Zamanla aynı yönde karıştırmanın etkisi ile viskozite değeri düşmeye başlar (karıştırma ile viskozite azalması) ve giderek minimuma ulaşır. Soğutma ile nişasta molekülleri arasında yeni hidrojen bağları oluşur. Sistemin viskozitesi yeniden yükselir (katılma, set back) ve giderek jel oluşur. Soğutma süresi sonunda ulaşılan viskozite değerine “son viskozite” denilmektedir (Koksel, 2005). RVA ve Amilograf gibi sistemlerde 95°C'nin üzerinde sıcaklık değerlerine ulaşmamaktadır. Bu nedenle RVA kullanıldığında yüksek amiloz içeren nişastanın jelatinizasyonu tam olarak 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 nişastalara göre daha yavaş şişmektedir. Yüksek amiloz içeren nişastaların RVA'da düşük viskozite vermelerinin bu konuyla ilgili olduğu düşünülmektedir (Tester and Morrison, 1990; Song and Jane, 2000).

2.3. Enzime Dirençli Nişasta

Genel olarak nişastanın vücutta tamamıyla absorbe edildiği ve dışkıda hiçbir nişasta kalıntısının tespit edilemediği kabul edilir (Zhu and Zhao, 2013; Marlett and Longacre, 1996). Ancak nişasta sindirim sisteminde enzimatik sindirilebilirliğine göre üç temel gruba ayrılır. Bunlar; hızlı sindirilebilir nişasta, yavaş sindirilebilir nişasta ve enzime dirençli nişastadır (Englyst et al., 1992a; Lee et al., 2013; Homayouni et al., 2014). Hızlı sindirilebilir nişastalar, kan glikoz ve insülin seviyelerinde ani yükselmeye sebep olması nedeniyle obezite, hiperlipidemi, kalp-damar hastalıkları ve diyabet oluşturabilecek temel risk faktörleri arasında kabul edilmektedir (Brennan, 2005). Yavaş sindirilebilir nişastalar ise, ince bağırsaklarda yavaş yavaş ve dolayısıyla daha düşük oranda sindirime uğrarlar ve hızlı sindirilebilir nişastaların aksine kan glikoz seviyesini dengelerler. İnce bağırsakta sindirime uğramayan, kalın bağırsakta fermente olarak kısa zincirli yağ asitleri oluşturan nişastalar da enzime dirençli nişastaları (EDN) oluşturur (Chung et al., 2009; Han et

al., 2006; Robin et al., 1974). Enzime dirençli nişastalar genel olarak çözünebilir ve fermente olabilir besinsel liflere benzer fizyolojik davranış sergilerler (Haralampu, 2000). Enzime dirençli nişastalar; retrograde amiloz, olgunlaşmamış nişasta granülleri ve kimyasal modifiye nişastalar olarak en çok öne çıkan dirençli karbonhidrattır ve nişasta olmayan polisakkaritler, dirençli oligosakkaritler ve lignin ile birlikte Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi tarafından her biri bir grubu temsil edecek şekilde dört gruba ayrılmış olan besinsel lifleri oluştururlar (Westenbrink et al., 2012). Enzime dirençli nişasta, birçok sağlık ve fonksiyonel faydası nedeni ile son yirmi yılda oldukça ilgi toplamaktadır (Homayouni et al., 2014).

İlk “Dirençli Nişasta” terimi Englyst et al., (1987) tarafından dile getirilmiş ve ince bağırsakta sindirilemeyip kalın bağırsakta yavaşça fermente olan düşük bir miktar nişastanın tanımında kullanılmıştır (Haralampu, 2000). Yapılan çalışmalar, hemen sindirilebilen normal pişirilmiş nişastanın aksine, enzime dirençli nişastanın amilaz enzimi ile *in vitro* hidrolize 2 saat inkübasyon süresi ile direnç gösterdiğini ve kalın bağırsakta kısmen fermente olduğunu, metabolizmalarının tüketimi takiben 5-7 saat sonra gerçekleşmekte olduğunu belirlemiştir (Englyst et al., 1992b; Muir et al., 1995).

Enzime dirençli nişastanın sindirilememe sebepleri olarak şu üç neden düşünülmektedir: i) moleküler düzenlenişin yoğunluğu amilaz gibi sindirim enzimlerinin etki edebilirliğini engellemesi, örneğin olgunlaşmamış nişasta granüllerinin sindirilememesi, ii) sindirim enzimleri tarafından parçalanmayı engelleyen botanik hücre duvarları ile nişasta granüllerinin kendilerini koruması, bazı fındık, fıstıklar vb. (Nugent, 2005) ve iii) jelatinizasyon ile nişasta granüllerinin ısı işlem ve yüksek nemli ortamda yapılarının bozulması (Ranhotra et al., 1999). Daha önce de bahsedildiği gibi jelatinizasyondan sonra soğutulan jeller enzim sindirimine dirençli retrograde nişasta kristalleri oluştururlar. Retrograde dirençli nişastalar tahıllar (mısır gevreği), pişirilip-soğutulmuş ürünler ve sebzeler (özellikle patates) gibi gıdalarda az miktarlarda bulunurlar (Haralampu, 2000).

2.3.1. Enzime dirençli nişasta tipleri

Enzime dirençli nişastalar oldukça geniş yelpazede ve çok çeşitli ürünlerde bulunabilmektedir (Fuentes-Zaragoza et al., 2011). Bazı gıdaların enzime dirençli nişasta miktarları Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1. Bazı gıdaların enzime dirençli nişasta miktarları¹

Gıda	EDN ² miktarı (%)
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

¹Murphy et al., 2008

²EDN: Enzime dirençli nişasta

Günümüzde EDN beş tipe ayrılmaktadır ve genellikle fiziksel ve kimyasal karakteristiklerine göre tanımlanırlar (Sharma et al., 2008). Sınıflandırma *Tip1-Tip5 EDN* şeklinde aşağıdaki gibi tanımlanan özelliklerine dayanılarak yapılmıştır:

Tip1 EDN: Hücre duvarının ve gıda matriksinin içinde kilitli olduğundan dolayı fiziksel olarak ulaşılamayan ve böylece amilozun aktivitesinden korunan nişastalardır. Öğütmek ve çiğnemek bu nişastaları daha ulaşılabilir ve daha az dirençli kılabilir. Tip1 EDN ısıya dayanıklıdır ve sindirime pek çok normal pişirme işleminden sonra (yaklaşık 70°C) dirençli kalabilir ki bu onun, geniş bir

konvensiyonel gıda alanında girdi olarak kullanımına imkan sağlar (Fuentes-Zaragoza et al., 2011; Homayouni et al., 2014).

Tip2 EDN: Belirli bitkilerden elde edilen pişirilmemiş ya da yetersiz jelatinize olan ve amilaz ile yavaş hidrolize olan yüksek amilozlu mısır nişastasası gibi doğal nişasta granülleridir (Yao et al., 2009; Hernandez et al., 2008; Sanz et al., 2009; Ratnayake and Jackson, 2008). Tip2 EDN, sindirimden nişasta granülünün sıkı yapısı sayesinde korunan doğal nişasta granüllerini tasvir eder. Bu sıkı yapı sindirim enzimlerinin, birçok amilazın ulaşabilirliğini engeller (düşük biyo-erişim) ve jelatinize olmamış nişastalar gibi Tip2 EDN örneklerinin enzime dirençli yapısının sebebidir. Beslenme yoluyla genellikle muz, patates, bezelye gibi gıdalardan alınır. Birçok gıdanın hazırlanması sırasında da bu direncini koruyabilirler (Sajilata et al., 2006; Homayouni et al., 2014; Jiang, 2010). Genel olarak amilozdan oluşan yüksek amilozlu mısır nişastasası da Tip2 EDN içeren nişastadır (Wepner et al., 1999; Fuentes-Zaragoza et al., 2011).

Tip3 EDN: Pişirilme işleminden sonra oluşan retrograde ya da kristalin nişasta, granüler olmayan nişastalardır. Örnek olarak; pişirilip soğutulmuş patates, ekmek, mısır gevreği ve retrograde yüksek amilozlu mısır nişastasası gösterilebilir (Wepner et al., 1999; Yao et al., 2009; Sanz et al., 2009; Jiang, 2010). Tip3 EDN, termal stabilitesi nedeni ile özel ilgi görmektedir. Bu özelliği onun birçok normal pişirme koşullarında stabil kalmasını sağlar ve çok geniş skalada geleneksel gıda ürünlerinde hammadde olarak kullanılmasına olanak sunar (Fuentes-Zaragoza et al., 2011; Haralampu, 2000). Gıdaların işlenmesi sırasında sıcaklık ve nemin dahil olduğu birçok durumda Tip1 ve Tip2 EDN yok olma, Tip3 EDN ise oluşma eğilimindedir (Faraj et al., 2004). Storey et al. (2007) yaptığı çalışmada retrograde dirençli maltodekstrin adındaki çözünür polisakkariti Tip3 EDN sınıfında değerlendirmiştir. Bu polisakkaritler, nişasta moleküllerinin yeniden düzenlenmeleri ya da hidrolize olmaları ve akabinde retrograde olmaları için işleme tabi tutularak çözünür ve sindirime dirençli hale getirilmiş türev nişastalardır. Bu işlem; bir miktar normal α -1,4 glikoz bağlarının rasgele 1,2-,1,3- ve 1,4- α veya - β bağlara dönüştüğü (Storey et al., 2007), Tip3 EDN ile moleküler benzerlikte ama polimerizasyon ve moleküler

ağırlığı daha düşük olan, sindirilemeyen kristallerin oluşumu ile sonuçlanmıştır (Mermelstein, 2009).

Tip4 EDN: Nişastanın fonksiyonel özelliklerini değiştirmek için kimyasal modifikasyon veya yeniden polimerizasyon (zincir bağlantısı değiştirilmiş dekstrinler, eterler veya esterler gibi) ile üretilen nişastalardır (Yao et al., 2009; Sanz et al., 2009; Ratnayake and Jackson, 2008; Jiang, 2010). Sindirilebilirliklerinin azaltılabilmesi için kimyasallarla eterlenmiş, esterlenmiş veya çapraz bağlanmış nişastaları içerir (Nugent, 2005). Tip4 EDN dönüştürme, yer değiştirme veya çapraz bağlama gibi kimyasal modifikasyonlarla enzim ulaşılabilirliği ve atipik bağ oluşumu engellenerek sindirilemez hale getirilir (Sajilata et al., 2006; Kim et al., 2008; Fuentes-Zaragoza et al., 2011). Avrupa Birliği, polidekstroz gibi Japonya'da ruhsat verilmiş bu tip nişastaları onaylamamaktadır (Homayouni et al., 2014; Lunn and Buttriss, 2007).

Tip5 EDN: Jelatinizasyon için yüksek sıcaklık gerektiren ve retrogradasyona daha elverişli olan (Jiang et al., 2010; Jiang, 2010) yüksek amilozlu nişastalarda oluşan amiloz-lipit kompleks nişastasıdır (Cummings and Stephen, 2007). Genellikle gıdalardaki nişasta-lipit oranı ve yapısı botanik kaynağa bağlıdır (Siswoyo and Morita, 2003). Frohberg and Quanz (2008) ve Jiang et al. (2010) tarafından yapılan çalışmalarda, Tip5 EDN her dirençli nişasta gibi α -amilaz parçalanmasına karşı direnç gösteren suda çözünemeyen düz poli- α -1,4-glukan içeren polisakkaritler olarak tanımlanmıştır. Çalışmalarda ayrıca, poli- α -1,4-D-glukanların kolonda, özellikle bütirat olmak üzere kısa zincirli yağ asidi oluşumunu desteklediği ve kolorektal hastalıkların engellenmesinde besinsel katkı olarak kullanılabileceği belirlenmiştir (Fuentes-Zaragoza et al., 2011; Cummings and Stephen, 2007). Mermelstein (2009)'in yaptığı çalışmada, Tip5 EDN çözünür ve sindirime dirençli hale getirilmek için yeniden düzenlenme işlemine tabi tutulmuş nişastadan elde edilmiş dirençli maltodekstrinler olarak tanımlanmıştır. Nutriose ve Fibersol ticari isimli, suda çözünür, bilinen iki tip dirençli maltodekstrin vardır (Haralampu, 2000; Homayouni et al., 2014).

2.3.2. Enzime dirençli nişasta eldesi

Enzime dirençli nişasta işlem görmüş ya da görmemiş hemen hemen her nişastalı gıdada değişik miktarlarda bulunur (Fuentes-Zaragoza et al., 2011). Doğal nişastalar, spesifik endüstriyel kullanım amaçlarına uygun fonksiyonel özellik kazanımı için çeşitli yapısal modifikasyon uygulamalarına tabi tutulurlar (Braşoveanu and Nemţanu, 2014). Dirençli nişasta tiplerinin tanımlanması sırasında bahsedilen termal stabiliteye sahip Tip3 EDN, tanımlanan diğer beş tip dirençli nişasta içerisinde en çok ilgi çekendir (Kim and Kwak, 2004; Kim et al., 2010).Günümüzde kabul gören Tip3 EDN'nin amilaz sindirimine direnç gösterme mekanizması, amilozun retrogradasyonunda ayrıntılı bahsedilen, jelatinizasyon sırasında bozulan çift heliks yapının depolama ve soğuma ile yeniden ve yoğun bir şekilde bir araya gelmesi sonucu, α -1,4 glikozidik bağlarını enzim sindirimine ulaşılmaz hale getiren yapıları oluşturması şeklindedir (Htoon et al., 2009).

Amilopektin moleküllerinin dallanma noktalarından kısmen parçalanması ile hem amiloz içeriğinde hem de lineer amiloz segmentlerinde artış meydana getirilmesi mümkündür. Pullulanaz ile dallanma noktalarının parçalanması jelatinize nişasta için lineer glukan üretiminde ve dolayısıyla nişastanın yeniden kristalizasyonunda önemli bir teknolojidir (Htoon et al., 2009; Lee et al., 2013; Li et al., 2011; Pongjanta et al., 2009). Pullulanaz, nişastadaki 1,6- α -D-glukosidik bağlarını seçici olarak hidrolize ederek amiloz üretir. Pullulanaz ile dallanma noktalarının parçalanması işleminden sonra 1,6- α -D-glukozidik bağları seçici olarak ayrılır ve birçok kısa lineer glukan zinciri oluşmuş olur. Bu modifikasyon, muhtemel olarak hem toplam yapıda hem de fizikokimyasal özelliklerde belirgin değişimlere neden olmakta ve böylece enzime dirençli nişasta miktarının artmasına sebep olmaktadır (Zhang and Jin, 2011; Homayouni et al., 2014; Fuentes-Zaragoza et al., 2011). Amilopektinin de Tip3 EDN oluşturduğunu belirleyen birkaç çalışma vardır (Chung et al., 2006; Eerlingen et al., 1994; Russell et al., 1989). Çeşitli çalışmalar göstermiştir ki; yüksek amilozlu nişastalar ve onlardan üretilen ürünler, *in vivo* ölçümlerde yüksek dirençli nişasta içeriğinde ölçülmüşlerdir ve bu durum *in vitro* ölçümlerde elde edilen enzime dirençlilik değerleri ile korelasyon içerisindedir (Htoon et al., 2009; Akerberg et al., 1998; Thompson, 2005; Leeman et al., 2006).

İşlem ve depolama sırasında oluşan dirençli nişasta miktarı; sıcaklık, pH, nem, ısıtma/pişirme işlemleri döngü sayısı ve depolama koşulları gibi çevresel faktörlerin elverişliliğine bağlıdır. Proses uygulamalarının da (dondurma, otoklavlama vb.) enzime dirençli nişastanın fermentasyonunda belirgin etkisi olduğu bilinmektedir (Fuentes-Zaragoza et al., 2011). Isıtma-soğutma gibi fiziksel sistemlerin dirençli nişasta üretiminde kullanımı olağandır. Bu sistemlere; otoklavlama-soğutma (Lin and Zhao, 2009), sıcaklık döngülü depolama (Miao et al., 2009; Zhang et al., 2011) ve ısı işlemler dahildir (Lee et al., 2013; Ozturk et al., 2009a; Ozturk et al., 2009b). Tip3 EDN elde etmek için, doğal nişasta kaynaklarında çeşitli kombinasyonlarda sıcaklık-zaman uygulamaları denenmiştir. Sonuçlarda, ortalama amiloz seviyeli nişastalı bitkilerde bile Tip3 EDN miktarının 100°C üzerinde pişirme ve soğuma sırasındaki retrogradasyon esnasında arttığı gözlenmiştir (Homayouni et al., 2014; Sajilata et al., 2006).

2.3.3. Enzime dirençli nişastanın fizyolojik etkileri

Enzime dirençli nişastanın bazı gıdaların doğal bileşeni olması nedeniyle insanlar tarafından güvenle tüketimi uzun bir tarihe dayanır. Gıda bileşeni olarak dirençli nişastaların, tamamen sindirilen nişastaya (15 kJ/g) göre, daha düşük kalori değerine (8 kJ/g) sahip olmaları (Rochfort and Panozzo, 2007) onların, sindirilebilir nişastaların yerine kullanılarak son ürün enerji değerinin düşürülmesinde formülasyona yardımcı olarak değerlendirilebilmelerine imkan sağlar. Bazı enzime dirençli nişasta ürünleri, yüksek lifli oldukları kabul edilerek, standart analizlerde “toplam besinsel lif” cinsinden ölçülmektedir. Beslenme şekillerinin günden güne daha fazla işlenmiş/hazır ve daha az meyve/sebze içerikli hale gelmesi nedeniyle gıda endüstrisinde, besinsel liflerle fizyolojik etki benzerliği gösteren enzime dirençli nişastaların gıda ürünlerine uygulanmaları konusunda, kayda değer bir ilgi artışı meydana gelmiştir (Tan et al., 2010; Fuentes-Zaragoza et al., 2011). Tıp Enstitüsü Ulusal Bilimler Akademisi (The National Academy of Sciences of the Institute of Medicine) ve Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization -WHO) hemfikir olarak, gün içerisinde alınması gereken besinsel lif miktarını sağlıklı bir erkek için 38 g/gün, kadın için 25 g/gün olarak belirlemiştir (Hellwig et al., 2006; WHO/FAO, 2003). Ayrıca Avustralya Bilimsel ve Endüstriyel Araştırma Organizasyonu da

(Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization of Australia – CSIRO) 15–20 g/gün besinsel lif miktarının tüketimini tavsiye etmektedir (<http://www.ausfoodnews.com.au/2012/04/26/csiro-developing-resistantstarch-with-aim-to-tackle-bowel-cancer-in-australia.html>; Baghurst et al., 1996).

Sindirim kaynaklı olanlar başta olmak üzere birçok hastalık, yetersiz ve uygun olmayan beslenme koşulları nedeni ile oluşmaktadır (Homayouni et al., 2014; Topping et al., 2008). Gıdalarda enzime dirençli nişasta kullanımı ile belirtilen günlük lif tüketim değerlerine ulaşılabilir ve böylece sindirim yolları kanseri riskinin azalması (Liu and Xu, 2008), yemek sonrası glikoz tepkisinin düşmesi (Higgins et al., 2004; Shimada et al., 2008), kan lipit seviyesinin düşmesi (Hashimoto et al., 2006; Martinez-Flores et al., 2004), safra taşı oluşumunun engellenmesi (Patindol et al., 2010) ve mineral absorpsiyonunun artması (Chung et al., 2009; Sajilata et al., 2006) gibi lif benzeri olumlu etkilerinden faydalanılabilir (Baixauli et al., 2008; Ovando-Martinez et al., 2009; Korus et al., 2009; Ares et al., 2009; Fuentes-Zaragoza et al., 2011).

Enzime dirençli nişasta ince bağırsakta sindirilip absorblanamaz ancak, insan bağırsak florası tarafından fermente edilerek bu anaerobik ortamda bulunan 400-500 bakteri türü için karbon ve enerji kaynağı oluşturur ve mikrobiotanın bileşimini ve metabolik aktivitelerini potansiyel olarak değiştirir. Anaerobik bakteriler tarafından karbohidratların fermentasyonu; asetik, propiyonik ve bütirik asit gibi, bağırsak boşluk pH'sını düşürerek kanserojen tümör oluşumuna daha az meyilli ortam sağlayan kısa zincirli yağ asitlerini oluşturur (Yao et al., 2009). Bütirat, kolonistler için temel enerji substratını oluşturur ve kolon sağlığına faydalılar kategorisine dahil edilmemiştir (Leeman et al., 2006; Scourboutakos, 2010). Dirençli nişastaların, diğer sindirilemeyen karbohidratlardan daha yüksek miktarlarda bütirik asit meydana getirdiği öne sürülmektedir (Fuentes-Zaragoza et al., 2011).

Dirençli nişasta, düşük tokluk glisemik ve insülinemik tepkisi ile ilişkilendirilmiş ve buradan yola çıkarak da diyabet ile mücadelede yararlı uygulamalar sağlayabileceği fikrini oluşturmuştur. Ayrıca, kolesterol seviyelerinde ve trigliserit miktarlarında azalma ile de bağlantısı olduğu düşünülmektedir. Diğer dirençli nişasta tüketim

etkileri; artan dışkılama sıklığı ve fekal miktarı, kabızlık ve hemoroit riskinin azalması, toksik ve mutajenik bileşiklerin oluşumlarının azalması, düşük kolon pH'sı ve amonyak seviyesi şeklinde sayılabilir. Bahsedilen sağlık bozukluklarının ve enzime dirençli nişastaların sağlığa kattıkları yararlarının ciddiyeti ve genişliği dikkate alındığında, sindirilemeyen bileşiklerin talebinin ve tüketim artışının normal bir sonuç olduğu kabul edilmektedir (Fuentes-Zaragoza et al., 2011).

2.3.4. Enzime dirençli nişastanın kullanım alanları

Gıdalar sadece doymak için yediğimiz bir şey olmaktan çıkmıştır (Homayouni et al., 2014). İnsanlar başta olmak üzere birçok hayvanın en önemli besin kaynaklarından biri karbonhidratlardır. Nişasta bazlı ürünlerin düşük fiyatlı ve daha kolay ulaşılabilir olmasından dolayı insanlar, her zamankinden daha fazla bu tür ürünleri tercih etmeye başlamıştır. Dünya genelinde gıdadan elde edilen enerjinin ortalama %60-70'i karbonhidratlı yiyeceklerden temin edilmektedir. Beslenme piramidine bakıldığında, nişasta içeren porsiyonların günde 6-11 arasında tüketilmesi gerektiği görülmekte ve bu da nişastanın beslenmede ne kadar önemli bir yere sahip olduğunu vurgulamaktadır (Hellwig et al., 2006). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde günümüzde sağlığın gıda ile ilişkisi birbirinden ayrılmaz bir bütün haline gelmiştir. Bu da tüketiciyi fonksiyonel gıda seçimine yöneltmektedir. Enzime dirençli nişasta kendine özgü karakteri sayesinde, ki buna örnek olarak çözünmez lif gibi davranıp fizyolojik olarak çözünür lif faydası sağlaması (Haralampu, 2000), doğal kaynakları, hafif ve yumuşak lezzeti, beyaz rengi, düşük su tutma kapasitesi verilebilir, oldukça geniş bir alanda fonksiyonel gıdaların formülasyonuna önemli bir bileşen olarak dahil olmaktadır (Homayouni et al., 2014).

Teknolojik yararları dikkate alınarak sayısız gıda ürünü enzime dirençli nişastalar ile zenginleştirilmiştir. Bunlardan birkaçı süt ürünlerinde; peynir, dondurma, yoğurt, sütlü tatlılar; hububat ürünlerinde; mısır gevreği, kek, ekmek, makarna ve diğer hamurlu ürünler olarak sıralanabilir (Mangala and Tharanathan, 1999; Tas and El, 2000; Charalampopoulos et al., 2002; Mahadevamma and Tharanathan, 2007; Noronha et al., 2007; Yeo and Seib, 2009; Vernaza et al., 2011; Mirzaei et al., 2012; Laguna et al., 2012; Espirito-Santo et al., 2013; Aravind et al., 2013). Tercih edilen

aroma değerlerinde hiçbir olumsuzluğa neden olmadan %52-60 nem oranındaki peynirin kuru maddesi %43 değerlerine kadar dirençli nişasta ile değiştirilebilir bulunmuştur. Peynirde kullanılan enzime dirençli nişasta dikkate değer nem kaybına neden olmadan homojen ve yumuşak bir yapı sağlamıştır. Enzime dirençli nişastanın su molekküllerini fiziksel olarak kendisini peynir matriksinin içine hapsedecek şekilde organize ettiği belirlenmiştir. Düşük su tutma kapasiteleri dirençli nişastaları kazein ile su molekkülerini absorbe etme mücadelesine sokmadığı ve istenilen tekstürün oluşması için ortamda gerekli suyun ulaşılabilir durumda bulunmasına olanak sağladığı belirtilmiştir (Duggan et al., 2008).

Yüksek sıcaklıkta üretilen gıdalarda daha önce özelliklerinde de değinildiği üzere sıcaklığa daha dirençli olan Tip3 EDN kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışma, kızartılmış hamurlu ürünlerde unun %20 oranında Tip3 EDN (Novelose330) ile değiştirilmesi sonucunda son ürün toplam besinsel lif miktarının %5,0'den %13,2'ye yükseldiğini göstermiştir. Artan dirençli nişasta miktarı arzu edilen kızıl-kahverengini de beraberinde arttırmıştır. Tüm hamur formüllerinde (%0, 10, 20 Tip3 EDN) tüketici geri dönüşleri renk, tat, yağlılık, gevreklik ve toplam kabul edilebilirlik değerlerinin hepsinde orta ve üzeri seviyelerinde olmuştur (Sanz et al., 2008).

Bir başka çalışmada, Öztürk et al. (2009c) ekmek formülasyonuna %10, %20 ve %30 oranlarında (un bazında) Tip2 EDN (Hylon VII) ve Tip3 EDN (Novelose330) eklemiş ve ekmeğin özelliklerinde ve EDN miktarında meydana gelen değişimleri değerlendirmiştir. Sonuçlar, EDN içeren hamurların kontrole göre daha fazla su tuttuğunu ve daha zayıf yapı oluşturduğunu göstermiştir. Somun hacmi Tip3 EDN için %10, Tip2 EDN için %20 üzerinde eklenen oranlarda, kabuk rengi değerleri de her ikisi için de %30 ekleme oranında azalmıştır. Ancak, Tip3 EDN ve Tip2 EDN için ekmek sertliği sırasıyla %10 ve %20 eklenen oranlarında artmış ve 7 gün depolamanın ardından eklenen miktarlarına göre dirençli nişasta miktarları doğrusal olarak her iki tip için de belirgin olarak artış göstermiştir.

Depolama etkilerinin değerlendirildiği ekmek ile yapılan bir diğer çalışmada 4 gün süre ile normal, buzdolabı ve dondurucu olmak üzere üç farklı ortamda depolama

yapılmış ve ekmek içinde ve tamamında EDN miktarının önce arttığı ve sonra azaldığı gözlenmiştir (Niba, 2003). Bu azalma sebebinin, amilopektinin retrogradasyonu, amilopektin kristallerinin kararsızlığı ya da nişastanın ulaşılabilir olmasından kaynaklanan zıtlık nedeniyle olabileceği düşünülmüştür. Bu sonuç nişasta-protein veya nişasta-lipit komplekslerinin oluşmasıyla gerçekleşmiştir ki onun nedeni de Tip5 EDN'nin oluşmasıdır (Rabe and Sievert, 1992).

Aravind et al. (2013)'in çalışmasında, Tip2 ve Tip3 EDN'nin makarna hamuruna iki farklı oranda (%10 ve 20) eklenmesi ile ürün özelliklerinde meydana gelen değişimler incelenmiş ve eklenen EDN miktarı arttıkça hamurun zayıfladığı gözlenmiştir. Bu zayıflamanın, EDN'nin irmiğe göre su tutma kapasitesinin daha yüksek olmasından dolayı aralarında meydana gelen nemlilik rekabeti nedeni ile olabileceği açıklanmıştır. Tüm formülasyonlar içinde, %10 oranında Tip3 EDN içeren makarnada pişme kaybının en düşük düzeylerde olduğu belirtilmiştir.

Probiyotikler, fonksiyonel gıda endüstrisinde bağırsak sistemindeki yararlı bakteri sayısını artırma özellikleri nedeniyle en hızlı gelişen sektördür. Bir ürüne probiyotik diyebilmek için onun en az 10^7 adet canlı bakteriye sahip olması gereklidir. Benzer şekilde prebiyotik ürünlerin de probiyotik bakteri gelişimini yeterince destekleyebilmeleri için minimum prebiyotik miktarını taşımaları gereklidir (Homayouni et al., 2008). Enzime dirençli nişastaların fonksiyonel gıda formülasyonunda prebiyotik bileşen olarak kullanım amaçları; *lactobacilli* ve *bifidobacteria* gibi probiyotik mikrobiyotanın gelişimi için fermente olabilir substrat, besinsel lif olarak çok sayıda faydalı fizyolojik etkinin desteklenmesi ve probiyotiklerin kararlılıklarını arttırmak için enkapsülasyon materyali olarak kullanımları şeklinde sıralanabilir (Fuentes-Zaragoza et al., 2011).

Mikroenkapsülasyon katı, sıvı ve gaz gibi küçük partiküllerin biyolojik yapısını korumak için yarı-geçirgen bir membran içerisine yapılan teknolojik paketlenmesi işlemidir (Ziar et al., 2012). Gıda endüstrisinde renk ve biyoaktif moleküller gibi hassas bileşenlerin son ürüne güvenle taşınması için mikroenkapsülasyon uygun bir yöntemdir. Örneğin, probiyotiklerin etki gösterecekleri bölgeye gelene kadar geçtikleri işlemlerde canlılıklarının korunmasının sağlanması gibi (Chang et al.,

2005; Kandansamy and Somasundaram, 2012). Diğer kaplama materyallerinin arasında EDN'nin teknolojik faydaları gıda endüstrisi için onu daha kullanışlı kılmaktadır. Genellikle, yüksek amilozlu mısır nişastasının bir probiyotik ile mikrokapsülasyonu türevi simbiyotik ortak kapsülasyonlar kullanılır (Iyer and Kailasapathy, 2005; Fuentes-Zaragoza et al., 2011). Sultana et al. (2000) yaptığı çalışmada, aljinat-nişasta jeli içerisine kapsüllenmiş probiyotiklerin 4°C'de 8 hafta süreyle depolanmış yoğurtta canlılıklarını sürdürdüklerini belirlemiştir. Aljinat karışımına %2 konsantrasyonunda eklenen Tip2 EDN'nin (Hi-maize260) süre sonunda, *Lactobacillus casei* bakterisinin canlılığını sürdürmesinin yanı sıra bakteri sayısında da artışa neden olduğunu gözlemlemiştir (Homayouni et al., 2014).

2.4. Mikrodalga Uygulaması ile Enzime Dirençli Nişasta Üretimi

2.4.1. Mikrodalga enerjisi

Mikrodalga 300–300.000 MHz frekans aralığında olan elektromanyetik dalgalardır. Su veya iyonlar gibi polar moleküller, mikrodalga enerjisini absorbe ederler ve kendilerini elektrik alanına uydurmaya çalışırlar. Oryantasyonlarındaki hızlı değişim zayıf hidrojen bağlarının parçalanması sonucu moleküler sürtünme meydana getirir ve bu da ısınmanın oluşmasını sağlar (Sumnu, 2001; Palav and Seetharaman, 2006). Mikrodalga gücünün sağlandığı kaynaktan çıkan dalgalar, mikrodalga enerjisinin iletildiği ve yönlendirildiği bir bileşenden geçerek yüklenmenin gerçekleştiği kavitede tutulur. Bu aşamalar tipik bir mikrodalga ısıtma sisteminin çalışma mekanizmasını oluşturur. Mikrodalga kaviteleri genellikle tek-modlu ve çok-modlu olmak üzere iki kategoriye ayrılır. Çok modlu kaviteler, radyasyonun sızmasını önlemek ve fırın verimini arttırmak amacıyla yansıtıcı duvarları ile daha büyüktürler (Toukoniitty et al., 2005). Yaygın olarak kullanılan ev tipi mikrodalgalarda çok modlu kaviteler kullanılmaktadır (Brasoveanu and Nemtanu, 2012).

Mikrodalga ışınlamasının, hızlı, materyal seçici, hacimsel ısıtma ve çevresel olarak temiz uygulama gibi birçok avantajı vardır. Ayrıca, operasyon maliyeti düşüktür, çünkü mikrodalga enerjisi ile oluşan ısı esas olarak fırın duvarı ya da atmosferde değil yüklerde oluşur (Vadivambal and Jayas, 2007). Mikrodalga prosesinin

dezavantajları ise, çok yüksek enerji aktarma oranı ile homojen olmayan ısıtma, proses parametrelerinin zahmetli optimizasyonu ile karmaşık ve pahalı özel ekipman ihtiyacı belli başlı olanlardır. Belli bir sıcaklık aralığının üzerinde dielektrik veri eksikliğinin olması ve mikrodalga frekans aralığında şeffaf malzemelerin ısıtılamaması gibi mikrodalga kullanımını sınırlandıran etkenler de vardır (Clark et al., 2000). Sıcaklık ile dielektrik kaybı artan bazı dielektrik malzemelerde mikrodalga ile ısıtma orantısız ısınmaya, sıcak noktalara veya termal kaçaklara neden olabilir (Metaxas and Meredith, 1983; National Research Council, 1994; Reimbert et al., 1996). Nitekim mikrodalga ile ısıtılan bir yükte homojen bir sıcaklık değeri elde etmek işlem sırasında sıcaklığın sürekli ve kesin kontrolünü gerektiren zorlu bir görevdir (Brasoveanu and Nemtanu, 2012).

2.4.2. Mikrodalga uygulamalarının nişasta üzerine etkisi

Nişasta özellikleri, ısı ve nemin kontrollü uygulanması ile nişasta granülü içinde fiziksel değişikliklere neden olarak modifiye edilebilir (Stute, 1992; Anderson and Guraya, 2006). Geleneksel olarak nişastanın ısı-nem uygulamaları konvensiyonel fırınlar ya da otoklavlama, kaynatma, basınçlı pişirme, fırınlama, yavaş pişirme, kızartma, buharda pişirme gibi diğer uygulama metotları ile yapılır (Kingman and Englyst, 1994; Xue et al., 1996; Sagum and Arcot, 2000). Sayılan tüm metotlar, nişastanın sindirilebilirliği ve nişasta kullanılabilirliği üzerine ısının etkisini belirlemek için *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda kullanılmıştır (Holm et al., 1985). Mikrodalga enerjisinin çeşitli gıda bileşenlerine etkisi konvensiyonel pişirmeye göre önemli ölçüde değişiklik gösterebilir (Daglioglu et al., 2000). Mikrodalga enerjisinin tüm örnek hacmine eşit uygulanması, daha derine penetre edebilmesi ve seçici absorpsiyon gibi geleneksel ısıtma işlemlerinden daha etkin olan yönlerinin varlığı nedeniyle gıda proseslerinde mikrodalga uygulamalarına giderek artan bir yönelim vardır (Rajko et al., 1997). Mikrodalga, tavlama, buz çözdürme, pişirme, pastörizasyon, kurutma gibi birçok alandaki uygulamalarda yer almaktadır (Decareau and Peterson, 1986; Tajchakavit and Ramaswamy, 1997; Palav and Seetharaman, 2006).

Mikrodalga ışınımı, nişastaya etki edebilen ve onun fonksiyonlarını değiştirebilen fiziksel yöntemlerden biridir (Brasoveanu and Nemtanu, 2012). Son yirmibeş yılda, nişasta ve mikrodalgaın ilişkisini inceleyen birçok çalışma yapılmış ve yorumlanmıştır (Muzimbaranda and Tomasik, 1994; Lewandowicz et al., 1997). Genel olarak, mikrodalga molekül içi yapıyı yeniden düzenleyebilir ve dolayısıyla nişastada su absorpsiyon yeteneğinde, çözünürlük ve şişme gücünde değişikliklere neden olabilir. Aynı şekilde jelatinizasyon parametreleri, sineresis ya da çiriş viskozitesi de ciddi şekilde deneysel uygulama parametreleri doğrultusunda değişiklik göstermektedir.

Mikrodalgaın cisim ile etkileşiminin etkileri, elektromagnetik alanın moleküler etkileşimi yoluyla materyale direk olarak iletilen mikrodalga enerjisi temeline dayanır. Genel olarak, materyallerde mikrodalga yayılımı ortamın manyetik ve dielektrik özelliklerine bağlıdır. Nişasta, manyetik bileşeni olmadığından, sadece mikrodalgaların elektrik alanına tepki gösterir. Bir polimerdeki ana mikrodalga absorpsiyon mekanizması, dipollerin maruz kaldığı elektrik alanında yeniden düzenlenmesi yoluyla gerçekleşir (National Research Council, 1994). Salınlı alana dipollerin tepkisi, molekülün simetri derecesine bağlı olarak dönme ve titreşim enerjilerinde artışı takiben sürtünme enerjisi ile ısı üretmesi şeklindedir (Venkatesh and Raghavan, 2004).

Nişasta mikrodalga ile ısıtıldığında (Brasoveanu and Nemtanu, 2012);

- Sıcaklığındaki artış ilk başta doğrusal değildir ama zamanla mikrodalga gücü, nem içeriği ve nişastanın tipiyle bağıntılı olarak artış gösterir. Zhang et al. (2009), kanaçiçeği nişastasının (%20-45 nemli) sıcaklığının, ilk 1,5 dakikada hızlı bir şekilde olmak üzere, 400–1000 W aralığındaki mikrodalga enerjisine maruz kalma süresi ile doğru orantılı olarak artış gösterdiğini bulmuştur.

- Nişasta tipinin ve nem miktarının, işleme süresinin, proses sıcaklığı ve absorblanan mikrodalga enerjisinin müsaade ettiği ölçüde suyun buharlaşması, ham proteinin azalması, çözünürlük ve şişme gücünün değişmesi gibi fiziksel ve kimyasal özelliklerde değişiklikler meydana gelir.

- Moleküller arası ve molekül içi hidrojen bağları nişasta zincirlerinin yeniden birleşmesi sonucu artar ve viskozite görünür düzeyde azalır.
- Granüller başlangıç şişme aşamasını tamamlayınca süspansiyonda görünür granüler parçalar bırakacak şekilde patlarlar ve mikrodalga enerji uygulaması nedeniyle polar moleküllerin güçlü titreşim hareketi sonucu çift-kırınımlarını jelatinizasyondan daha erken kaybederler (Palav and Seetharaman, 2007). Isıtılma metodu jelatinizasyon mekanizmasında hiçbir değişikliğe neden olmaz ancak, mikrodalga ile ısıtma sonucunda kristallik daha yüksek oranda kaybolur (Bilbao-Sainz et al., 2007).

Mikrodalga ile ısıtma sindirilebilirlik üzerinde çeşitli değişikliklere neden olur (Anderson and Guraya, 2006; Brasoveanu and Nemtanu, 2012). Yapılan bir çalışmada, doğal mısır ve buğday nişastalarının ve dirençli nişastaların mikrodalga enerjisi arttırıldığında herhangi bir eğilim göstermedikleri ve kinetik eğrilerinin karakteristiğinin herhangi bir değişikliğe uğramadığı belirlenmiştir (Hodsagi et al., 2012). Başka bir çalışmada ise, kanaçiçeği nişastasının mikrodalga enerjisine mağruz kaldığında dirençli nişasta miktarının doğal nişastaya göre iki kat artış gösterdiği bulunmuştur (Zhang et al., 2009). İki sonucun birbiri ile tutarsızlığı, mikrodalga ile ısı-nem uygulamalarının sadece verilen enerjinin büyüklüğüne ve süresine değil aynı zamanda örneğin nem içeriğine de bağlı olduğunu göstermektedir (Palav and Seetharaman, 2007). Aynı çelişki sindirilebilirlik analizlerinde de görülmektedir (Sanchez-Pardo et al., 2008; Emami et al., 2012). Bazı çalışmalarda mikrodalğanın mısır nişastasının sindirilebilirliğini geliştirdiği sonucuna ulaşılrken bazılarında, mikrodalga ışıını ve ardından soğutma uygulamasının, Tip3 EDN oluşumuna yardımcı olduğuna ya da jelatinizasyon sıcaklığını arttırdığına yönelik sonuçlar bulunmaktadır (Hodsagi et al., 2012; Zhang et al., 2011; Homayouni et al., 2014).

Bitkisel kaynağına, nem içeriğine ve mikrodalga uygulama parametrelerine bağlı olarak kimi nişastaların granüllerinde dikkate değer bir değişim görülmezken kimileri deforme olarak gevşek aglomeratlar oluştururlar. Ancak mikrodalga uygulamaları partikül boyutunda ve partikül boyut dağılımında herhangi bir değişikliğe neden olmaz (Zhongdong et al., 2005). Sıcaklık artışına bağlı olarak

kristalin düzeninin parçalanması ya da granüllerden suyun uzaklaşması dolayısıyla zincirlerin yeniden düzenlenmesi nedenleri ile granüler yarıkristal yapı parametre değişkenleri doğrultusunda tamamen ya da kısmen etkilenebilir (Luo et al., 2006; Brasoveanu and Nemtanu, 2012). Fan et al. (2012) yaptığı bir çalışmada, mikrodalga uygulamasının kimyasal grup tiplerini değiştirmedini ve ayrıca yeni kimyasal gruplar oluşturmadığını bulmuştur. Mikrodalga radyasyonu, insan sağlığına zararlı radikallerin oluşmasına neden olabilecek kimyasal bağların parçalanmasını sağlayabilecek kadar güçlü değildir (Lorenz and Decareau, 1976).

Yapılan çalışmaların doğa dostu olmasına yönelik mikrodalga temelli bileşik tekniklerin, sinerjetik nişasta uygulamaları denenmektedir. Bu amaca yönelik mısır nişastasına, düşük güçlerde mikrodalga ve belli ışıyım dozlarında elektron demetlerinin farklı rejimlerde kombine uygulamasının etkilerinin incenmesi çalışması örnek gösterilebilir (Nemtanu et al., 2009). Bir diğerk kombine nişasta uygulaması ultrasonik-mikrodalga tekniklerinin birarada kullanılmasıdır. Bu yöntem, gıda endüstrisinde pirinç nişastalarının hazırlanmasında umut vaad eden bir metottur (Jiang et al., 2011). Uygulama, mumsu olmayan pirinç nişastalarının jel sertliğinde, hidroliz derecesinde ve retrogradasyonunda belirgin değişiklikler yaratmış ve mumsu pirinç nişastası jellerinin fizikokimyasal özelliklerine etki göstermemiştir. Mikrodalga-lazer uygulamaları da son zamanlarda üzerinde çalışılan kombine metotlara bir diğerk örnektir (Brasoveanu and Nemtanu, 2012).

Sayısız bulguya rağmen, mikrodalğanın birçok nişastanın fizikokimyasal, fonksiyonel ve yapısal özelliklerine etkisi üzerine kapsamlı ve ortak bir sonuca ve yoruma hala ulaşılamamıştır.

BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOT

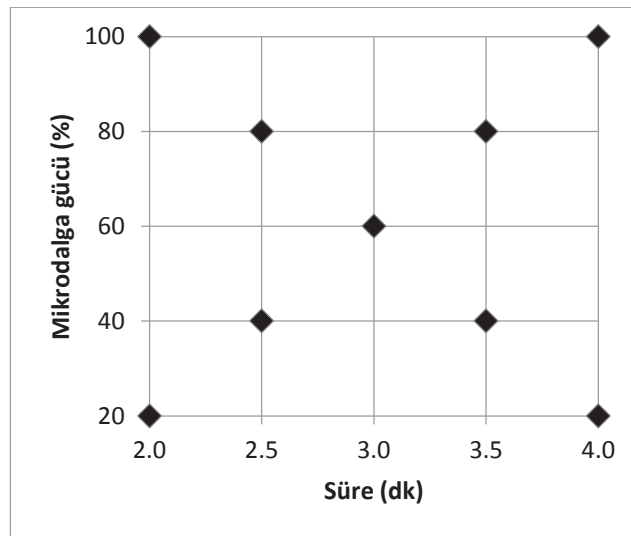
3.1. Materyal

Araştırmada kullanılan yüksek amiloz içeren mısır nişastası (Hylon VII, %70 amiloz) National Starch Chemical Co. (Bridgewater, NJ, USA) firmasından temin edilmiştir.

3.2. Enzime Dirençli Nişasta Üretimi

Yüksek amilozlu mısır nişastası Hylon VII, doğal haliyle ve ayrıca pullulanaz enzimi ile muamele edildikten sonra enzime dirençli nişasta içeriğini arttırmak amacıyla farklı mikrodalga-bekletme ve kurutma işlemlerine tabi tutulmuştur.

Mikrodalga uygulamasında kullanılan deneysel desen (mikrodalga gücü ve süresi), Design Expert programı ile Yanıt Yüzey Yöntemi (YYY; Response Surface Methodology) kullanılarak belirlenmiştir.

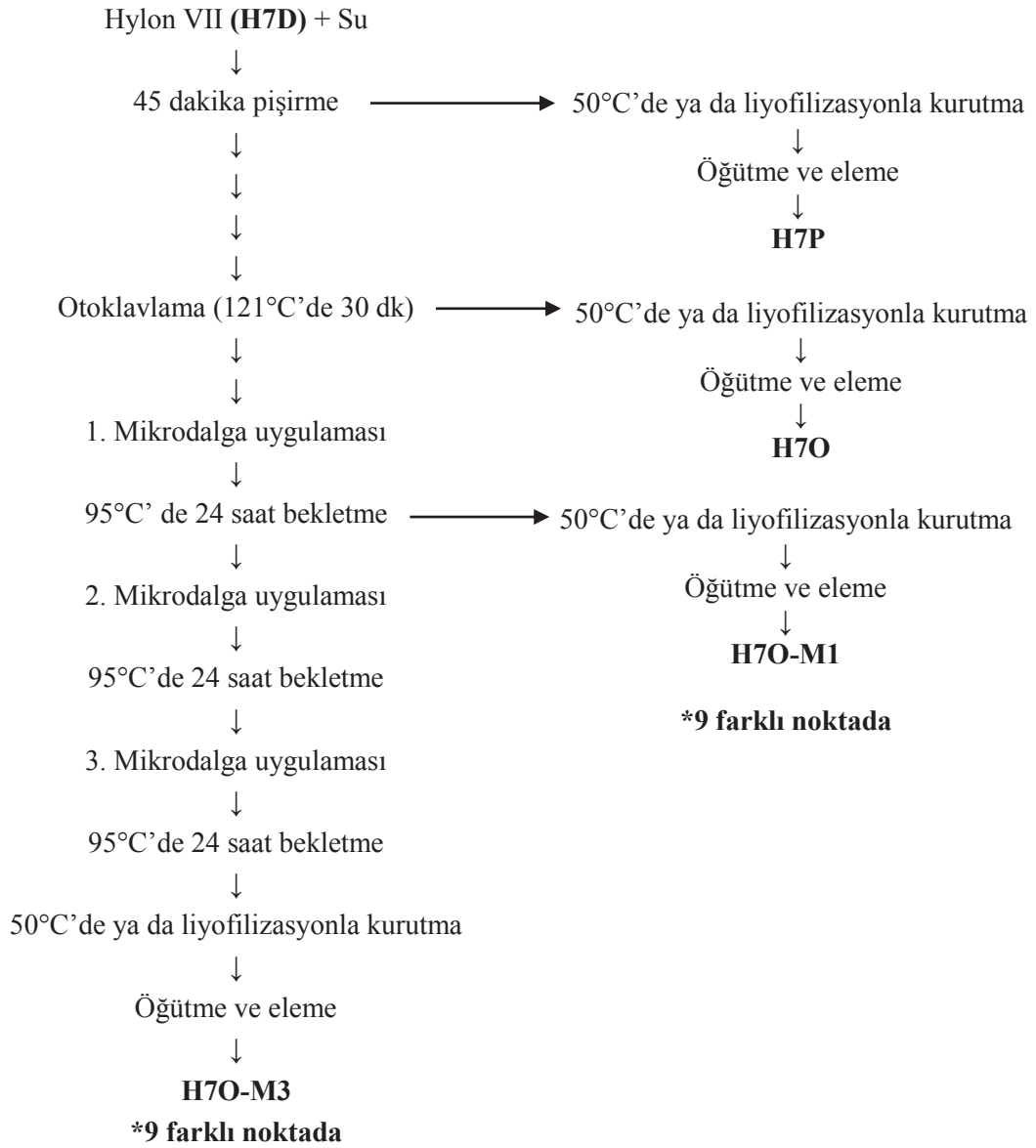


Şekil 3.1. Mikrodalga güçlerinin ve sürelerinin belirlenmesi için kullanılan deneysel desen

Şekil 3.1’de verilen 9 noktada (merkez noktası çift tekrarlı olmak üzere), örnek üretilmiştir. Mikrodalga gücü %100, 800 Watt’a karşılık gelmektedir (Fakir MW80200). Modelleme aşamasında “user-defined” ($\alpha=0.5$) kullanılmıştır.

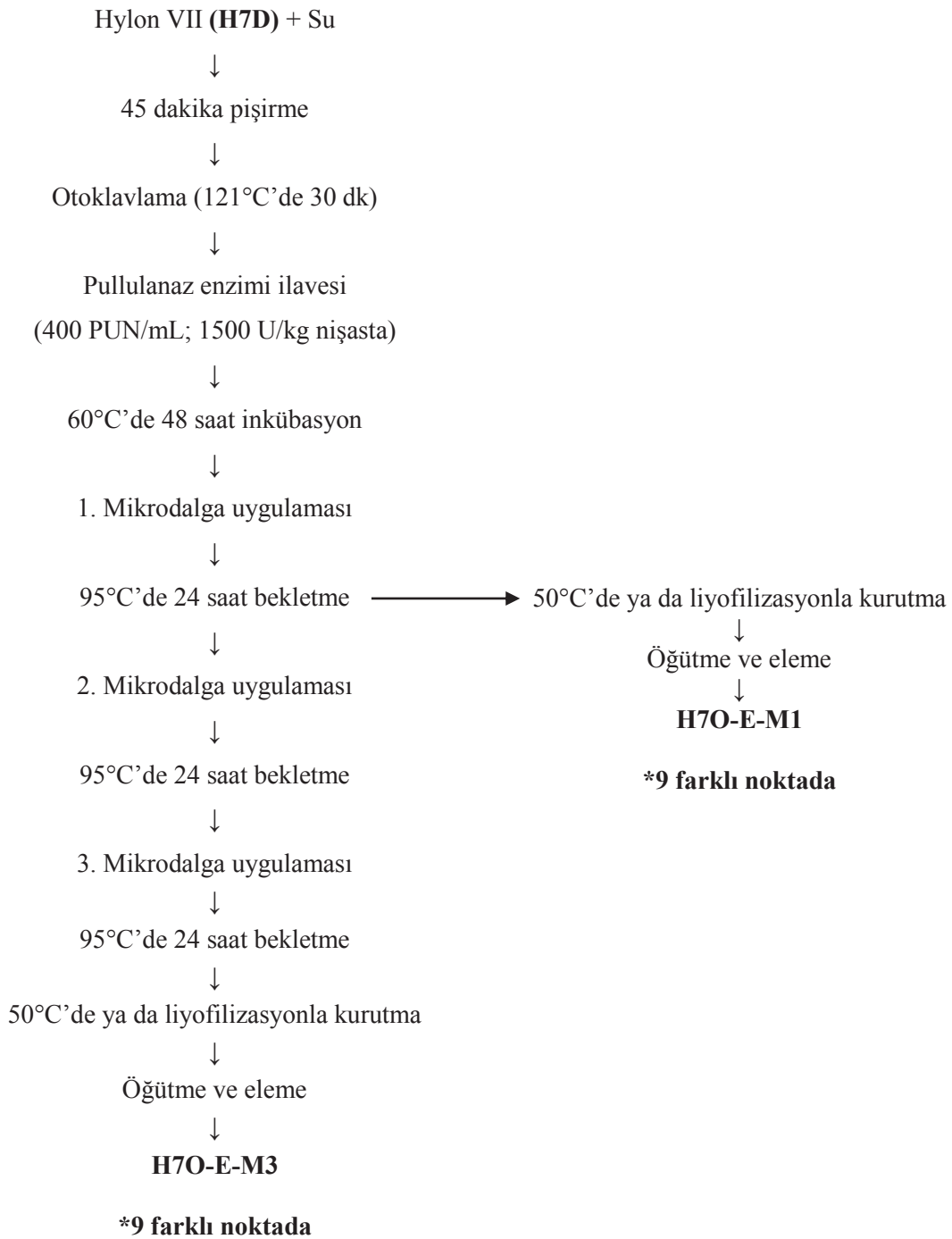
Nişasta örneği 1:10 oranında su ile karıştırılıp 45 dakika pişirildikten sonra otoklavda (Hirayama Hiclave HV-85L) 121°C’de 30 dakika ısıl işlem uygulanmıştır. Otoklavdan alınan örnekler 60°C’ye soğutulduktan sonra modelleme programı ile belirlenen güç ve sürelerde mikrodalga uygulanmış ve ardından etüvde 95°C’de 24 saat bekletilmiştir. Mikrodalga-bekletme döngüsü 3 kez uygulanmıştır. Belli aşamalarda örnekler alınıp etüvde 50°C’de ya da liyofilizatörde kurutulmuştur. Kurutulan örnekler öğütülerek 212 µm’lik elekten elenmiştir. Mikrodalga uygulaması ile EDN üretimi akım şeması ve analiz edilen örnekler Şekil 3.2’de gösterilmiştir.

Aynı işlemler, doğal haldeki Hylon VII örneğine enzim modifikasyonu uygulandıktan sonra da yapılmıştır. Enzim modifikasyonu için; nişasta örneği 1:10 oranında su ile karıştırılıp 45 dakika pişirildikten sonra otoklavda 121°C’de 30 dakika ısıl işleme tabi tutulmuştur. Otoklavdan alınan örnekler 60°C’ye soğutulmuş ve pullulanaz enzimi ilave edilmiştir (400 PUN/mL; 1500 U/kg nişasta). Örnekler 60°C sıcaklıktaki su banyosunda 48 saat bekletilmiştir. Süre sonunda örneklere aynı koşullarda mikrodalga-bekletme döngüleri uygulanmıştır. Enzim modifikasyonu ve mikrodalga uygulaması ile EDN üretimi akım şeması ve analiz edilen örnekler Şekil 3.3’de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Mikrodalga uygulaması ile enzime dirençli nişasta üretimi akım şeması

H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; P: Pişirme; O: 121°C’de 30 dakika otoklav; M1: 1 mikrodalga döngüsü; M3: 3 mikrodalga döngüsü; *9 nokta: deneysel desen-Şekil 3.1



Şekil 3.3. Enzim hidrolizi ve mikrodalga uygulaması ile enzime dirençli nişasta üretimi akım şeması

H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; E: Enzim ile modifikasyon; O: 121°C’de 30 dakika otoklav; M1: 1 mikrodalga döngüsü; M3: 3 mikrodalga döngüsü; *9 nokta: deneysel desen-Şekil 3.1

3.3. Rutubet Miktarı Tayini

Nişasta örneklerinin rutubet miktarları AACC Metot No: 44-15A (AACC, 2000)'a göre belirlenmiştir.

3.4. Enzime Dirençli Nişasta Miktarı Tayini

Nişasta örneklerinin enzime dirençli nişasta miktarları, “Resistant starch kit” (Megazyme Int., Wicklow, Ireland) kullanılarak AOAC 2002.02 (AOAC, 1998) ve AACC 32-40 (AACC, 2000) yöntemlerine göre belirlenmiştir. Bu yöntemde örnek, α -amilaz ve amiloglukozidaz enzimleri ile 37°C’de 16 saat inkübe edilerek nişastanın çözünmesi ve glukoza dönüşmesi sağlanır. Reaksiyon etil alkol ilavesi ile sonlandırılıp santrifüj edilerek çöken EDN peleti alınır. EDN peleti KOH ile çözündürülür ve çözünen nişasta amiloglukozidaz enzimi ile glukoza dönüştürülür. Oluşan glukoz spektrofotometrik olarak belirlenir.

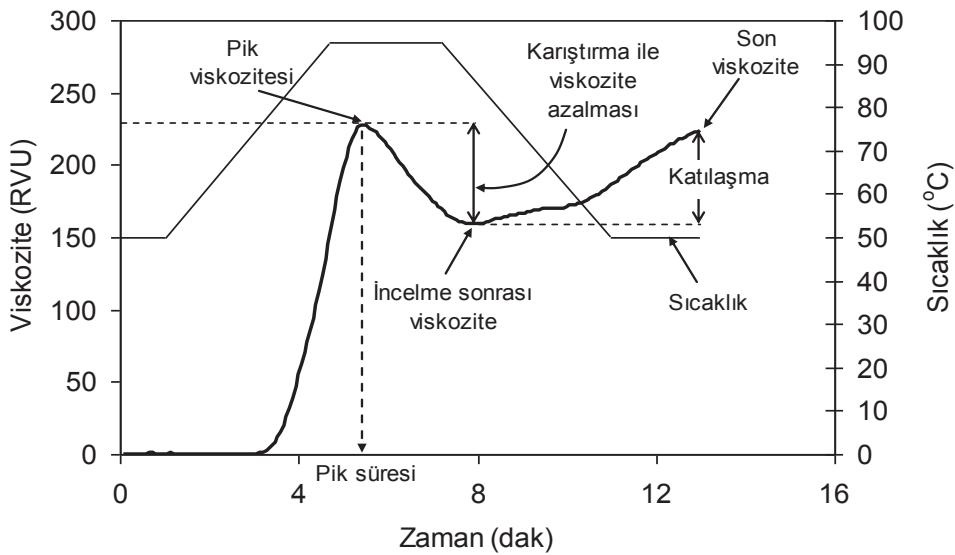
3.5. Nişasta Örneklerinin Viskozite Özellikleri

Nişasta örneklerinin ısıtma-soğutma sırasındaki viskozite değişimleri RVA (Rapid Visco Analyzer) ile belirlenmiştir. Cihazın özel kabına tartılmış olan distile su üzerine %14 nem esasına göre 4 g örnek ilave edilip karıştırıcı palet yerleştirildikten sonra cihaza konularak yüksek amilozlu nişastalar için oluşturulmuş sıcaklık-süre profilinde RVA özellikleri belirlenmiştir. 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 çirişlenme başlangıç sıcaklığı (pasting temperature) değerleri belirlenerek uygulanan işlemler sonucu nişasta özelliklerinde ortaya çıkan değişiklikler incelenmiştir.

Kullanılan sıcaklık-zaman profilinin detayları Tablo 3.1’de verilmiştir. Tipik bir RVA grafiği ve ölçülen parametreler Şekil 3.4’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. RVA profilinde sıcaklık-zaman 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
00:21:00	Sıcaklık	95°C
00:26:00	Sıcaklık	40°C
00:28:00	Sıcaklık	40°C



Şekil 3.4. Tipik bir RVA grafiği (Kahraman, K., 2011)

3.6. Nişasta Örneklerinin Çözünürlük ve Su Bağlama Özellikleri

Nişasta örneklerinin su bağlama ve çözünürlük özelliklerinin belirlenmesi için Singh and Singh (2003) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla deney tüplerine 0,5 g örnek tartılıp üzerine 5 ml saf su ilave edilmiş ve vorteks ile her 5 dakikada bir 15 saniye olacak şekilde toplam 8 kez karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi sonunda 2500 rpm'de 10 dakika santrifüj (Hettich Universal 320R)

yapılıp süpernatant kurutma kabına aktarılarak etüvde 100°C'de 1 gece bekletilerek kurutulmuştur. Çöken kısım ise önce tartılıp ardından etüvde 100°C'de 1 gece bekletilerek kurutulmuştur. Çözünürlük ve su bağlama değerleri aşağıdaki Denklem 3.1 ve Denklem 3.2'ye göre hesaplanmıştır.

$$\text{Çözünürlük (\%)} = (M2 / M1) \times 100 \quad (3.1)$$

$$\text{Su Bağlama (\%)} = [(M3 - M4) / M1] \times 100 \quad (3.2)$$

M1= örnek miktarı, g

M2= kurutma kabında kalan kuru ağırlık, g

M3= tüpteki yaş çökelti, g

M4= tüpteki kuru çökelti, g

3.7. Nişasta Örneklerinde Renk Analizi

Nişasta örneklerinin renk değerleri Minolta Spectrophotometer CM-3600d (Japan) kullanılarak ölçülmüştür. CIE (L*, a* ve b*) renk değerlerinden oluşan 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 değerlendirilmektedir.

3.8. İstatistiksel Analizler

Sonuçlar SPSS 20 istatistik programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Örnekler arası farklar önemli bulunduğu ortalamalar DUNCAN testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Kurutma yöntemlerinin ve mikrodalga-bekletme döngü sayısının etkilerinin karşılaştırılması amacıyla *t-testi* ile ikili karşılaştırma yapılmıştır.

Yanıt Yüzey Yöntemi (YYY) ile bağımsız değişkenler belirlenmiştir. Bağımsız değişkenler mikrodalga şiddeti yüzdesi (%100=800W) ve mikrodalga süresi (dk) şeklindedir. Her model 50°C ve liyofilizasyon olmak üzere iki farklı kurutma yöntemi ile ve bir ve üç döngü mikrodalga olmak üzere iki farklı döngüde

tekrarlanmıştır. Bağımlı değişkenler ise EDN miktarı, viskozite, su bağlama ve çözünürlük değerleridir.

YYY ile belirlenen noktalar kullanılarak, deneysel desene ait ikinci derece ve lineer polinomun katsayıları en küçük kareler yöntemi ile Design Expert 7.0 programı kullanılarak hesaplanmıştır. Katsayıları hesaplanan 2. dereceden ve lineer denklemler kullanılarak 9 farklı koşulda üretilen örneklerin EDN içerikleri hesaplanmıştır. Hesaplanan değerler deneysel veriler ile karşılaştırılmıştır. Bu amaçla, hesaplanan değerler ile deneysel değerler arasındaki regresyon katsayıları (R^2 değeri) hesaplanarak, deney deseninin modelleme aşamasında gösterdiği performans belirlenmiştir.

BÖLÜM 4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

4.1. Mikrodalga Uygulaması ile Üretilen Nişasta Örneklerinin Özellikleri

4.1.1. Mikrodalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin enzime dirençli nişasta miktarları

Doğal haldeki Hylon VII nişasta örneğinden pişirme, otoklavlama ve 1 döngü mikrodalga-bekletme uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin enzime dirençli nişasta (EDN) miktarları Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Hylon VII nişasta örneğinde 1 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi¹

Örnek ²	Mikrodalga Gücü (%)	Mikrodalga Süresi (dk)	EDN ³ (%)	
			50°C'de Kurutma	Liyofilizasyon
H7P	-	-	32,1 g	30,5 bc
H7O	-	-	33,3 fg	28,8 c
H7O-M1	20	2,0	38,4 a	30,4 b
H7O-M1	100	2,0	37,3 abc	32,1 a
H7O-M1	40	2,5	35,9 bcde	32,1 a
H7O-M1	80	2,5	38,0 ab	31,1 bc
H7O-M1	60	3,0	36,7 abcd	31,3 bc
H7O-M1	40	3,5	36,3 abcd	30,8 bc
H7O-M1	80	3,5	34,1 efg	31,8 bc
H7O-M1	20	4,0	35,5 cde	31,6 bc
H7O-M1	100	4,0	34,9 def	31,1 bc

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

² H7: Hylon VII; P: Pişirme; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; M1: 1 mikrodalga döngüsü

³ EDN: Enzime dirençli nişasta

Doğal haldeki Hylon VII nişasta örneği %42,7 oranında EDN içermektedir. Doğal haldeki nişastada bulunan EDN, Tip2 EDN olup yeterli ısı işlem uygulaması ile yapısı bozulabilmektedir (Brown, 1996; Nugent, 2005). Bu nedenle pişirilmiş ve otoklavlanmış olan örneklerde (H7P ve H7O) EDN miktarı azalmaktadır. Burada Tip2 EDN'nin yapısı bozulmakta, otoklavlama sırasındaki kısmi jelatinizasyon ve kurutma sırasındaki retrogradasyon ile Tip3 EDN oluşmaktadır. Örnekler üzerine uygulanan pişirme ve otoklavlama sıcaklıkları birbirine yakın olduğundan sonuçların da birbirine yakın çıktığı düşünülmektedir. Pişirme ve otoklavlama uygulanmış örnekler ile mikrodalga uygulanmış örneklerin sonuçları arasında artan yönde fark oluşmuştur, bu fark mikrodalga uygulamasının EDN oluşumunda etkili olduğunu göstermektedir. Luo et al. (2006) yaptıkları bir çalışmada, mikrodalga işleminin amilotip V nişasta örneklerinin X-ray yoğunluklarını arttırdığını yani işlem sonrası serbest zincirlerin çift heliks yapı oluşumunu sağladığını göstermiştir. Başka bir çalışmada ise, hem mumsu hem de normal nişasta örneklerinin mikrodalga işleminden sonra EDN miktarlarının oldukça düşük değişiklik gösterdiği ve bu durumun mikrodalga enerjisinin artmasıyla değişmediği gözlenmiştir (Anderson and Guraya, 2006; Hodsagi et al., 2012).

Yüksek amilozlu mısır nişastalarının normal nişastalara göre daha yüksek sıcaklıklarda jelatinize olmalarından dolayı otoklavlama sıcaklığı olan 121°C'nin Tip2 EDN'yi tamamen dönüştürmekte yetersiz kaldığı düşünülmektedir (Haralampu 2000; Chung et al., 2003; Xie et al., 2009; Liu et al., 2006; Dunder and Gocmen, 2013). Bu nedenle, düşük süre ve şiddetlerde EDN miktarının yüksek süre ve şiddetlere oranla daha fazla miktarda tespit edilmesi, uygulanan pişirme ve otoklav süre ve sıcaklıklarının Hylon VII'nin yapısında bulunan Tip2 EDN'nin tamamen Tip3'e dönüşümünde yetersiz kaldığını düşündürmektedir. Tip3 EDN'nin düşük şiddet ve sürelerde mikrodalga uygulamaları ile oluşmaya başladığı ancak hala Tip2'nin fazla miktarda ortamda bulunması sonucu toplam EDN miktarını yüksek değerlerde tuttuğu düşünülmektedir. Diğer yandan mikrodalga şiddeti ve uygulama süresinin arttırıldığı örneklerde Tip2 EDN'nin yüksek oranda dönüşmesi Tip3 EDN oluşumu artırmasına rağmen toplam EDN'nin düşük sıcaklıklarda üretilen örneklere göre daha düşük değerlerde kalmasına neden olduğu düşünülmektedir.

Dundar and Gocmen (2013)'in yaptığı çalışmada, amilotip (%70) mısır nişastasına değişik sıcaklık ve döngülerde otoklav uygulanmıştır. Çalışma sonucunda sıcaklığın 140°C'den 145°C'ye yükselmesi ve depolama süresinin artması ile EDN oranında artış gözlemlendiği not edilmiştir.

İki farklı kurutma yöntemi (50°C ve liyofilizasyon) sonucu oluşan EDN miktarları arasında *t testi*'ne göre belirgin farklar gözlemlenmiştir ($p < 0,05$). Liyofilize örneklerin EDN miktarları 50°C'de kurutulanlardan daha düşük bulunmuştur. Etüvde 50°C'de kurutulan örneklerin yapısından su yavaş bir şekilde uzaklaştığı için sarmal oluşumu kısa bir sürede sonlanmamış ve EDN oluşumu bu süre içinde de devam edebilmiştir. Liyofilizasyon ile kurutulan örneklerin yapılarında bulunan su hızlı bir şekilde dondurulduğu ve sonrasında da çözünmesine izin verilmeden süblimleştirildiği için, hareket imkanı bulamayan serbest haldeki zincirler birbirleriyle hidrojen bağları oluşturabilecek pozisyonlara gelemediğinden sarmal yapı oluşturma imkanı bulamamış ve EDN miktarlarının yüksek değerlere çıkmasına olanak sağlanamamıştır.

Doğal haldeki Hylon VII nişasta örneğinden pişirme, otoklavlama ve 3 döngü mikrodalga-bekletme uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin enzime dirençli nişasta (EDN) miktarları Tablo 4.2'de verilmiştir.

Mikrodalga sayısının etkisini gözlemlemek için yapılan bu analizde elde edilen sonuçlara göre artan döngü sayısı ile EDN miktarında artış olduğu ve *t testi*'ne göre bu artışın önemli olduğu ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Elde edilen analiz sonuçları bir döngü mikrodalga ve 24 saat inkübasyon ile elde edilen EDN miktarının 3 döngü mikrodalga uygulaması ve 3 inkübasyon tekrarı ile her iki kurutma yönteminde de artışa geçtiğini göstermektedir. Bu artış mikrodalga enerjisinin EDN oluşturmaya yeterli olduğunu göstermektedir (Ashwar et al., 2015).

Artan EDN miktarına, inkübasyon sürelerinin artmasıyla amilopektinin de çift sarmal zincir oluşturma imkanı bulacak süre geçmesinin etkisi olduğu düşünülmektedir (Zhou and Lim, 2012; Wang et al., 2015). Bir çalışmada (Li et al., 2013), pirinç nişastası mikrodalga işlemine tabi tutulduktan sonra farklı sıcaklık ve sürelerde

depolanmış ve oluşan EDN miktarları hesaplanmıştır. Sonuçlar, en yüksek sıcaklık (25°C) ve en uzun süre (72 saat) depolanan örneklerin en zor sindirime uğrayan örnekler olduğunu göstermiştir.

Tablo 4.2. Hylon VII nişasta örneğinde 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi¹

Örnek ²	Mikrodalga Gücü (%)	Mikrodalga Süresi (dk)	EDN ³ (%)	
			50°C'de Kurutma	Liyofilizasyon
H7P	-	-	32,1 d	30,5 c
H7O	-	-	33,3 d	28,8 d
H7O-M3	20	2,0	43,4 a	34,6 a
H7O-M3	100	2,0	39,2 c	33,5 ab
H7O-M3	40	2,5	43,3 a	33,5 ab
H7O-M3	80	2,5	42,4 ab	32,8 b
H7O-M3	60	3,0	39,3 c	33,5 ab
H7O-M3	40	3,5	39,8 c	33,3 ab
H7O-M3	80	3,5	39,9 c	32,6 b
H7O-M3	20	4,0	40,3 bc	34,5 a
H7O-M3	100	4,0	38,3 c	33,5 ab

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

² H7: Hylon VII; P: Pişirme; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; M3: 3 mikrodalga döngüsü

³ EDN: Enzime dirençli nişasta

Aynı döngü içinde kurutma işlemleri karşılaştırıldığında, yine açıklanan sebeplere istinaden 50°C'de kurutulan örneklerin EDN miktarları liyofilize edilerek kurutulanlara göre yüksek bulunmuştur (p<0,05).

4.1.2. Mikrodalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin çözünürlük ve su bağlama özellikleri

Doğal haldeki Hylon VII nişasta örneğinden pişirme, otoklavlama ve 1 döngü mikrodalga-bekletme uygulanması ile üretilen nişasta örneklerinin çözünürlük ve su bağlama değerleri Tablo 4.3'de verilmiştir. Pişirme ve otoklav uygulanmış kontrol örneklerinin (H7P ve H7O) ve mikrodalga-bekletme döngüsü uygulanmış örneklerin doğal haldeki Hylon VII nişastasına göre çözünürlük ve su bağlama değerlerinde

istatistiksel olarak önemli artışlar görülmektedir ($p<0,05$). Çözünürlük değerleri 50°C’de kurutulmuş örneklerde otoklavlama sonunda artarken mikrodalga uygulamasında ise bazı güç-süre kombinasyonlarında azalmıştır. 50°C’de kurutulmuş örneklerde mikrodalga güç ve süre uygulamalarına bakıldığında, düşük sürelerde çözünürlük değerleri artarken sürenin artmasıyla değerlerde düşüş görülmektedir. Liyofilizasyon ile kurutulan örneklerde ise çözünürlük doğal nişastaya ve kontrollerine (H7P ve H7O) göre mikrodalga uygulamaları ile artmıştır. Her iki kurutma yönteminde de örneklerin su bağlama değerleri mikrodalga uygulaması ile kontrollere göre (H7P ve H7O) belirgin bir değişiklik göstermemiştir.

Tablo 4.3. Hylon VII nişasta örneğinde 1 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin çözünürlük ve su bağlama özelliklerine etkisi¹

Örnek ²	Mikrodalga Gücü (%)	Mikrodalga Süresi (dk)	Çözünürlük (%)		Su Bağlama (%)	
			50°C’de Kurutma	Liyofilizasyon	50°C’de Kurutma	Liyofilizasyon
H7D	-	-	0,83 d	0,83 c	139,0 b	139,0 e
H7P	-	-	1,46 bcd	1,60 bc	264,3 a	395,0 bc
H7O	-	-	1,80 bc	0,87 c	259,8 a	426,0 ab
H7O-M1	20	2,0	2,55 a	2,50 ab	256,3 a	413,3 ab
H7O-M1	100	2,0	2,15 ab	1,93 ab	252,5 a	378,7 cd
H7O-M1	40	2,5	1,72 bc	2,56 ab	260,4 a	402,3 abc
H7O-M1	80	2,5	1,80 bc	2,84 a	270,0 a	402,0 abc
H7O-M1	60	3,0	1,47 bcd	2,59 ab	268,5 a	399,4 bc
H7O-M1	40	3,5	1,26 cd	2,92 a	273,9 a	400,1 bc
H7O-M1	80	3,5	1,53 bcd	2,71 a	272,4 a	361,0 d
H7O-M1	20	4,0	1,16 cd	2,15 ab	264,7 a	409,7 abc
H7O-M1	100	4,0	1,32 cd	2,85 a	260,0 a	435,5 a

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p<0,05$)

² H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; P: Pişirme; O: 121°C’de 30 dakika otoklav; M1: 1 mikrodalga döngüsü

Yapılan *t-testi* sonucuna göre, liyofilize örneklerin çözünürlük ve su bağlama değerleri etüvde 50°C’de kurutulanlardan daha yüksektir ($p<0,05$). Genel olarak, kaynatma ve otoklav ile granüler yapı bozulmakta ve serbest hale geçen amiloz zincirleri daha kolay çözünür hale gelmekte ve su bağlama özellikleri de artış göstermektedir. Mikrodalga uygulaması sonucu hidrojen bağı oluşma gücü artmakta,

amiloz-amiloz ve amiloz-amilopektin arası hidrojen bağı sayısı artarak sarmal zincirler birbirlerine doğal nişastaya göre daha fazla yaklaşmaktadır (Luo et al., 2006).

Kurutma işlemlerinin mekanizmalarından kaynaklanan farklılıklar hem çözünürlük hem de su bağlama değerlerinin iki kurutma işlemi sonuçları arasında istatistiksel farkların oluşmasına neden olmuştur. 50°C’de kurutma işlemi sırasında retrograde olmuş sarmal zincirlerin birbirlerine daha fazla yaklaştığı ve bunun sonucunda sarmallar arası hidrojen bağlarının daha fazla miktarda ve daha sık aralıklarla oluştuğu düşünülmektedir (Koksel et al., 2008; Wang et al., 2015). Böylece sarmallar arası boşluklar oldukça küçük kalmakta ve çözünürlük ve su bağlama işlemlerine elverişsiz hale gelmektedir. Diğer yandan liyofilizasyon ile kurutmada, yapıda donmuş olarak bulunan suyun ani bir şekilde uzaklaştırılması ile yapı porlu bir hal alır (Rahman, 2001). Suyun uzaklaştırılması sırasında hareket imkanı bulamayan ikili sarmallar arası daha az hidrojen bağlarının oluştuğu ve oluşan bu boşlukların çözünürlük ve su bağlama işlemlerini olumlu etkileyerek yüksek sonuçlar elde edilmesine imkan sağladığı düşünülmektedir.

Doğal haldeki Hylon VII nişasta örneğinden pişirme, otoklavlama ve 3 döngü mikrodalga-bekletme uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin çözünürlük ve su bağlama değerleri Tablo 4.4’de verilmiştir. Üç mikrodalga döngüsü uygulanan örneklerin çözünürlük değerleri doğal Hylon VII ve kontrollere (pişme ve otoklavlama) göre artmış ancak değişen şiddet ve süreler istatistiksel açıdan önemli fark yaratmamıştır. Su bağlama değerleri, 3 mikrodalga döngüsü ile doğal Hylon VII’ye göre belirgin bir şekilde artmasına rağmen kontrollere göre ve değişen şiddet ve süreler göre birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir.

Mikrodalga işleminin 1 ve 3 döngüleri karşılaştırıldığında çözünürlük değerlerinde *t-testi* sonucuna göre istatistiksel olarak belirgin bir fark görülmemiştir. Aynı kurutma yöntemi içerisinde değişen döngü sayısı ile örneklerin çözünürlük değerleri birbirine yakın bulunmuştur. Mikrodalga döngü sayısının artması ile su bağlama değerlerinde azalma olmuş ve bu azalmalar *t-testi* sonucuna göre istatistiksel açıdan da önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Döngü sayısının artması ile inkübasyon süreleri de artmıştır.

Bu sayede daha fazla etkileşime geçme imkanı bulan amiloz zincirlerinin daha sıkı bir yapı oluşturarak su bağlama özelliklerinde azalmalara neden olduğu düşünülmektedir.

Tablo 4.4. Hylon VII nişasta örneğinde 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin çözünürlük ve su bağlama özelliklerine etkisi¹

Örnek ²	Mikrodalga Gücü (%)	Mikrodalga Süresi (dk)	Çözünürlük (%)		Su Bağlama (%)	
			50°C'de Kurutma	Liyofilizasyon	50°C'de Kurutma	Liyofilizasyon
H7D	-	-	0,83 c	0,83 c	139,0 d	139,0 f
H7P	-	-	1,46 bc	1,60 bc	264,3 bc	395,0 bc
H7O	-	-	1,80 ab	0,87 c	259,8 bc	426,0 ab
H7O-M3	20	2,0	1,76 ab	2,09 ab	256,0 bc	398,9 bc
H7O-M3	100	2,0	2,24 a	2,15 ab	244,6 c	435,7 a
H7O-M3	40	2,5	1,66 ab	2,68 a	254,8 bc	409,2 abc
H7O-M3	80	2,5	1,47 b	2,32 ab	269,1 a	381,3 cd
H7O-M3	60	3,0	1,86 ab	2,34 ab	260,4 bc	343,3 e
H7O-M3	40	3,5	1,89 ab	2,76 a	247,0 bc	353,9 de
H7O-M3	80	3,5	1,33 bc	2,93 a	248,7 bc	332,4 e
H7O-M3	20	4,0	1,46 bc	2,38 ab	249,3 bc	355,2 de
H7O-M3	100	4,0	1,82 ab	2,85 a	243,2 c	394,7 bc

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

² H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; P: Pişirme; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; M3: 3 mikrodalga döngüsü

4.1.3. Mikrodalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin renk değerleri

Doğal haldeki Hylon VII nişasta örneğinden pişirme, otoklavlama ve 1 döngü mikrodalga-bekletme uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin CIE renk değerleri Tablo 4.5'de verilmiştir. Sonuçlar 1 döngü mikrodalga-bekletme uygulaması ve kurutma işlemlerinin örneklerin L* değerlerinde sadece doğal nişastaya, a* ve b* değerlerinde ise doğal nişasta ve kontrollere (H7P ve H7O) göre önemli değişiklikler oluşturduğunu göstermektedir. Ancak mikrodalga uygulamasının değişen şiddet ve sürelerine göre renk değerlerinde belirgin bir değişiklik olmadığı görülmektedir. Kurutma yöntemleri karşılaştırıldığında *t-testi* sonucuna göre, 50°C'de kurutulan örneklerin a* ve b* değerlerinde liyofilizasyon ile kurutmaya göre yüksek sonuçlar

elde edilmiştir. Renk üzerinde sıcaklığın oluşturduğu etki göz önüne alındığında yüksek sıcaklıkta kurutulan örneklerin renklerinde meydana gelen sararmalar sıcaklığın etkisinin doğal bir sonucudur.

Tablo 4.5. Hylon VII nişasta örneğinde 1 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin renk değerlerine etkisi¹

Örnek ²	Mikrodalga Gücü (%)	Mikrodalga Süresi (dk)	50°C'de Kurutma			Liyofilizasyon		
			L*	a*	b*	L*	a*	b*
H7D			95,8 a	0,4 i	4,4 e	95,8 b	0,4 d	4,4 de
H7P	-	-	90,0 ef	0,9 h	6,5 d	94,2 c	0,4 d	3,3 f
H7O	-	-	89,1 gh	1,5 g	7,2 d	93,8 c	0,9 c	4,2 e
H7O-M1	20	2,0	89,5 fg	3,8 b	13,5 bc	96,7 a	1,3 ab	5,3 abc
H7O-M1	100	2,0	91,4 b	2,9 ef	10,8 c	90,6 d	1,1 bc	4,7 cde
H7O-M1	40	2,5	91,2 bc	3,2 de	11,3 c	90,6 d	1,1 bc	4,9 bed
H7O-M1	80	2,5	90,6 cde	3,0 def	11,3 c	90,2 de	1,2 b	4,9 bed
H7O-M1	60	3,0	90,5 de	3,2 de	11,7 c	89,7 e	1,5 a	5,9 a
H7O-M1	40	3,5	89,7 fg	3,5 c	12,8 b	89,5 e	1,3 ab	5,5 ab
H7O-M1	80	3,5	91,0 bed	2,8 f	10,8 c	90,3 de	1,2 b	5,2 bc
H7O-M1	20	4,0	88,6 h	4,2 a	14,4 a	90,7 d	1,1 bc	4,8 cde
H7O-M1	100	4,0	91,1 bed	3,0 def	11,2 c	90,3 de	1,1 bc	5,0 bed

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

² H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; P: Pişirme; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; M1: 1 mikrodalga döngüsü

Doğal haldeki Hylon VII nişasta örneğinden pişirme, otoklavlama ve 3 döngü mikrodalga-bekletme uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin CIE renk değerleri Tablo 4.6'de verilmiştir. Aynı kurutma yöntemi içerisinde farklı şiddet ve süre uygulamaları ile birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir. Kurutma yöntemleri karşılaştırıldığında 50°C'de kurutulan örneklerin doğal nişastaya göre L*, a* ve b* değerlerindeki değişimler liyofilizasyon ile kurutulan örneklerden daha fazladır. Bu farklar iki kurutma işleminin gerçekleştiği sıcaklık derecelerinden kaynaklanmaktadır. Yüksek sıcaklıkta kurutulan örneklerde sıcaklığın etkisi ile L* değerleri 100'den (beyaz renkten) uzaklaşmakta ve b* değerleri de (sarılık) artmaktadır.

Tablo 4.6. Hylon VII nişasta örneğinde 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin renk değerlerine etkisi¹

Örnek ²	Mikrodalga Gücü (%)	Mikrodalga Süresi (dk)	50°C'de Kurutma			Liyofilizasyon		
			L*	a*	b*	L*	a*	b*
H7D			95,8 a	0,4 h	4,4 h	95,8 a	0,4 h	4,4 g
H7P	-	-	90,0 b	0,9 g	6,5 g	94,2 b	0,4 h	3,3 i
H7O	-	-	89,1 c	1,5 f	7,2 f	93,8 b	0,9 g	4,2 h
H7O-M3	20	2,0	86,5 e	5,1 d	15,9 cd	95,9 a	1,7 f	6,5 f
H7O-M3	100	2,0	87,1 d	4,8 e	15,4 e	89,2 cd	1,8 de	6,6 ef
H7O-M3	40	2,5	86,9 d	5,1 d	15,8 de	89,1 cd	1,9 c	6,6 e
H7O-M3	80	2,5	86,3 ef	5,2 cd	16,2 c	89,0 cde	1,8 de	6,9 c
H7O-M3	60	3,0	85,5 g	5,6 b	17,0 b	88,7 de	2,0 b	7,2 b
H7O-M3	40	3,5	83,9 h	6,4 a	19,2 a	88,5 ef	1,9 c	6,7 d
H7O-M3	80	3,5	86,3 ef	5,2 cd	16,2 c	88,2 f	2,1 a	7,4 a
H7O-M3	20	4,0	85,8 g	5,6 b	17,1 b	89,4 c	1,7 f	6,6 ef
H7O-M3	100	4,0	86,1 f	5,4 c	16,9 b	89,0 cde	1,8 de	6,9 c

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

² H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; P: Pişirme; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; M3: 3 mikrodalga döngüsü

Mikrodalga döngüleri karşılaştırıldığında, Mikrodalga-bekletme döngü sayısının artmasıyla L*, a* ve b* değerlerinin tümünde doğal Hylon VII ve kontrollere (H7P ve H7O) göre oldukça yüksek istatistiksel farklar (p<0,05) görülmektedir. 3 döngü mikrodalga-bekletme uygulaması ile *t-testi* sonucuna göre L* değerinde azalma, a* ve b* değerlerinde ise artış gözlenmiştir. Bu değişikliğin sebebinin, aynı mikrodalga döngüleri içinde farklı güç-süre kombinasyonlarında çok fazla değişiklik olmadığı göz önünde bulundurularak, sadece mikrodalga döngüsünün artmasından dolayı değil, inkübasyon sürelerinden de etkilenmiş olabileceği düşünülmektedir. Üç mikrodalga uygulanmış örnekler üç defa 95°C'de 24 saat inkübasyona da tabi tutulmuştur.

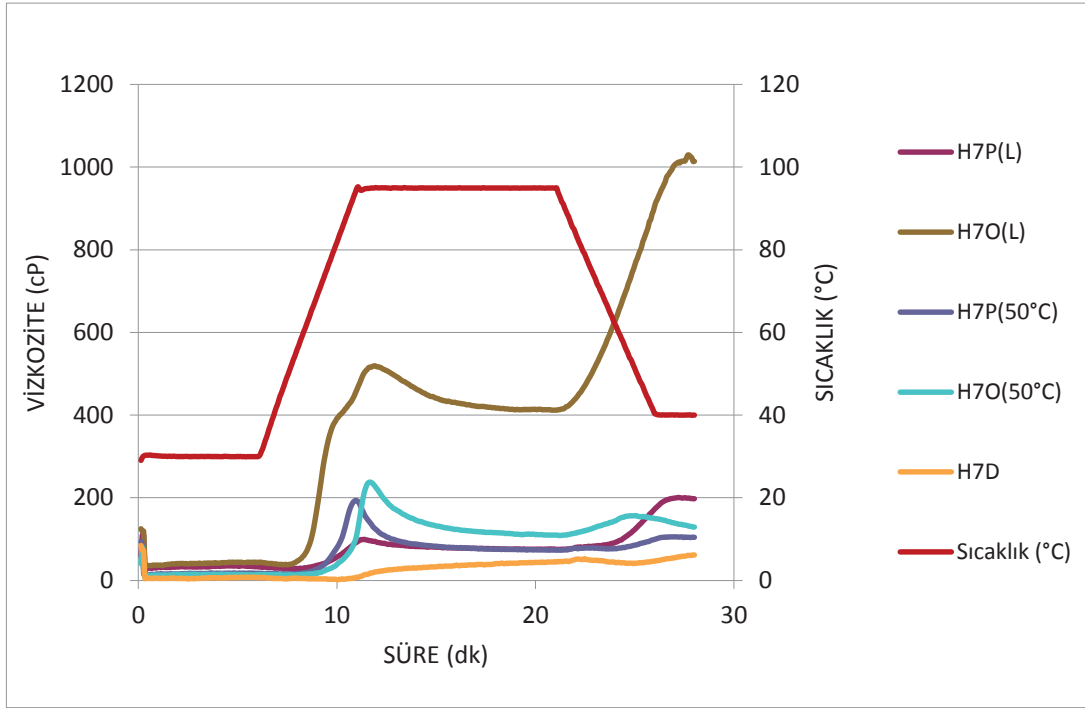
4.1.4. Mikrodalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin viskozite özellikleri

Yüksek amilozlu 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). Yapılan çalışmalarda (Ozturk et al., 2009a; Ozturk et al., 2009b; Ozturk et al., 2011), RVA cihazı üreticisi firma tarafından modifiye nişastalar için önerilen analiz profili kullanılarak yüksek amilozlu mısır nişastaları için elde edilen grafiklerde gerçek bir pik viskozitesinin oluşmadığı belirlenmiştir. Bunun nedeni profilde 95°C’de karıştırma süresinin kısa oluşu (4 dk) gösterilmiş ve bu nedenle standart profil modifiye edilerek kullanılmıştır. 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 sağlanmıştır. Bu çalışmada da, benzer şekilde 95°C’de 10 dk karıştırma süresine sahip profil oluşturulmuş ve tüm örnekler bu profilde (Tablo 3.1) analiz edilmiştir.

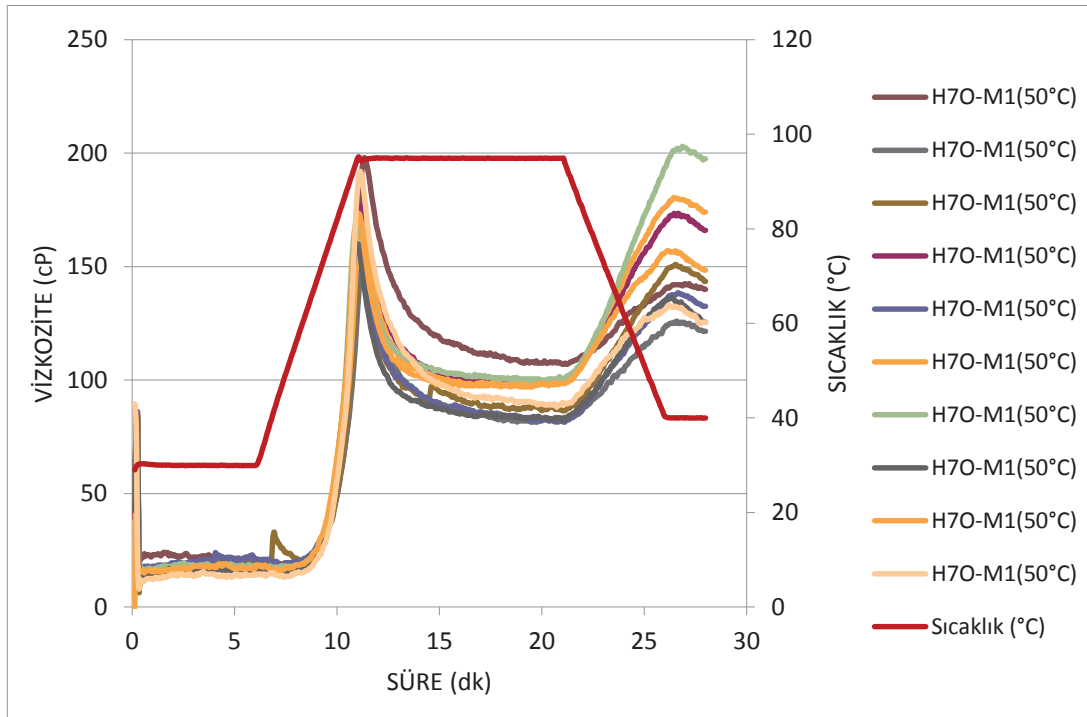
Doğal haldeki Hylon VII nişastası ile pişme ve otoklavlama ile elde edilen kontrol örneklerine ait RVA viskozite grafikleri Şekil 4.1’de verilmiştir. Yüksek amilozlu nişasta örneklerinin jelatinizasyon sıcaklığı çok yüksek olduğu için RVA’da ölçüm yapılan koşullarda (95°C) tam olarak jelatinize olamamakta ve bu nedenle özellikle Hylon VII’de belirgin bir pik viskozitesi elde edilememektedir. Isıl işlem görmüş örneklerin viskoziteleri doğal Hylon VII’den büyüktür ve belirgin pik viskoziteleri gözlenmektedir.

Hylon VII nişasta örneğinden 1 döngü mikrodalga ve farklı kurutma işlemleri uygulanarak üretilen örneklerin viskozite grafikleri Şekil 4.2 ve Şekil 4.3’de, örneklerin analiz sonuçları ise Tablo 4.7’de verilmiştir.



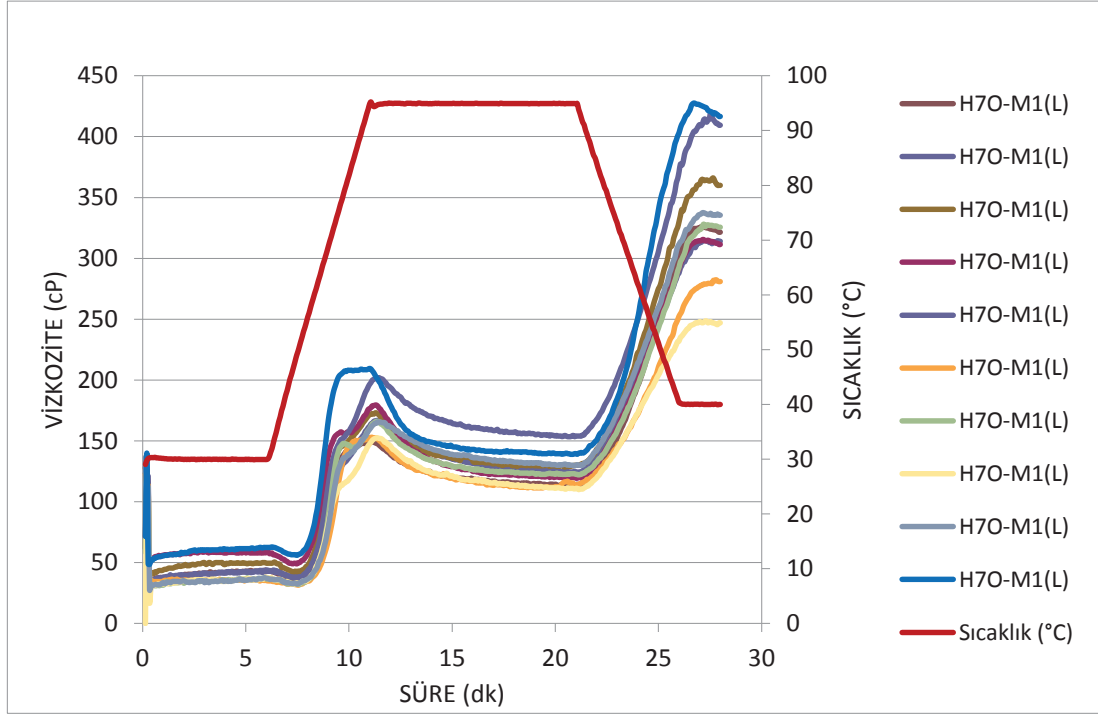
Şekil 4.1. Hylon VII nişasta örneğinden pişirme ve otoklavlama uygulanan kontrol örneklerine ait RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; P: Pişirme; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; L:Liyofilizasyon



Şekil 4.2. Hylon VII nişasta örneğinden 1 döngü mikrodalga ve 50°C'de kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklerle ait RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; M1: 1 döngü mikrodalga



Şekil 4.3 Hylon VII nişasta örneğinden 1 döngü mikrodalga ve liyofilizasyon ile kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; M1: 1 döngü mikrodalga; L: Liyofilizasyon

Tablo 4.7. Hylon VII nişasta örneğinde 1 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin RVA viskozite değerlerine etkisi¹

Örnek ²	50°C' de Kurutma							Liyofilizasyon				
	Mikrodalga Süresi (dk)	Mikrodalga Gücü (%)	Isıtma Öncesi Viskozite (cP)	Maksimum Viskozite (cP)	Karıştırma ile Viskozite Azalması (cP)	Son Viskozite (cP)	Çirişlenme Başlangıç Sıcaklığı (°C)	Isıtma Öncesi Viskozite (cP)	Maksimum Viskozite (cP)	Karıştırma ile Viskozite Azalması (cP)	Son Viskozite (cP)	Çirişlenme Başlangıç Sıcaklığı (°C)
H7D	-	-	6 b	22 g	-22 i	62 e	95 a	6 e	22 f	-22 g	62 i	95 a
H7P	-	-	17 a	194 bc	120 b	105 d	86 bcd	34 d	100 e	24 f	198 g	87 b
H7O	-	-	16 ab	239 a	130 a	130 bcd	92 a	45 cd	522 a	107 a	1008 a	95 a
H7O-M1	20	2,0	24 a	198 b	92 d	195 a	86 bcd	43 cd	149 d	35 e	322 d	87 b
H7O-M1	100	2,0	22 a	153 f	70 gh	122 cd	88 bc	43 cd	167 cd	43 d	314 de	65 ef
H7O-M1	40	2,5	20 a	153 f	67 h	144 bc	87 bc	51 bc	173 cd	43 d	360 c	71 cd
H7O-M1	80	2,5	19 a	181 cd	82 e	166 ab	86 bcd	59 ab	180 c	61 c	312 de	69 cd
H7O-M1	60	3,0	21 a	164 def	74 fgh	153 bc	86 bcd	40 cd	178 cd	44 d	293 e	68 de
H7O-M1	40	3,5	19 a	171 de	70 gh	198 a	83 d	37 d	166 cd	44 d	326 d	65 ef
H7O-M1	80	3,5	18 a	161 ef	78 ef	126 cd	84 bcd	37 d	153 cd	43 d	247 f	71 cd
H7O-M1	20	4,0	19 a	174 de	76 efg	149 bc	83 d	37 d	166 cd	36 e	336 cd	70 cd
H7O-M1	100	4,0	16 ab	192 bc	103 c	126 cd	86 bcd	62 a	211 b	72 b	417 b	72 c

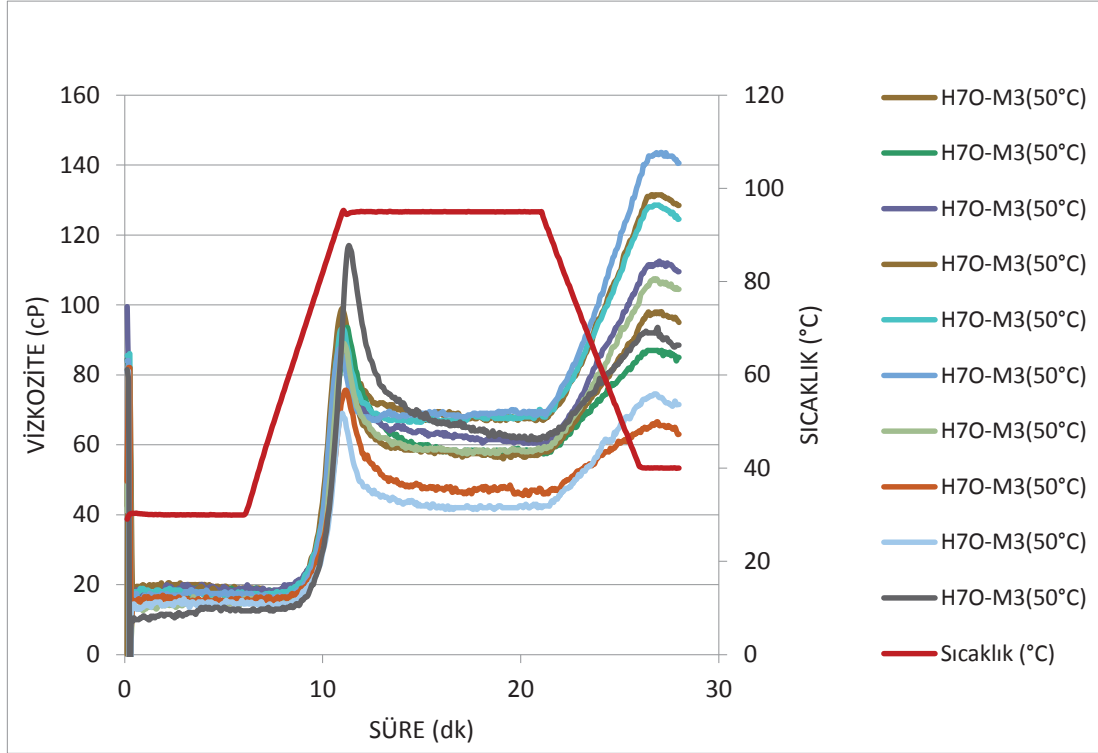
¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; P: Pişirme; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; M1: 1 mikrodalga döngüsü

Otoklavda ve mikrodalgada uygulanan ısı işlem sırasında nişastanın yapısı kısmen bozulduğu ve ortama çözünür nişasta geçtiği için RVA analizinde su yapıya alınarak viskozite artışına neden olmaktadır. Ancak mikrodalga uygulaması sırasında titreşimden kaynaklı glikozidik bağlarda parçalanmalar meydana geldiği düşünülmektedir (Zhang et al., 2014). Bu nedenle mikrodalga uygulanan örneklerin viskozite değerleri doğal nişastaya ve pişirmeye göre artarken, otoklav uygulanmış örneklere göre düşüş göstermektedir ($p<0,05$). Isıl işlem uygulanmış tüm örnekler doğal nişasta ile karşılaştırıldığında hem ısıtma öncesi viskozite hem de belirgin bir pik viskozitesi vermektedirler.

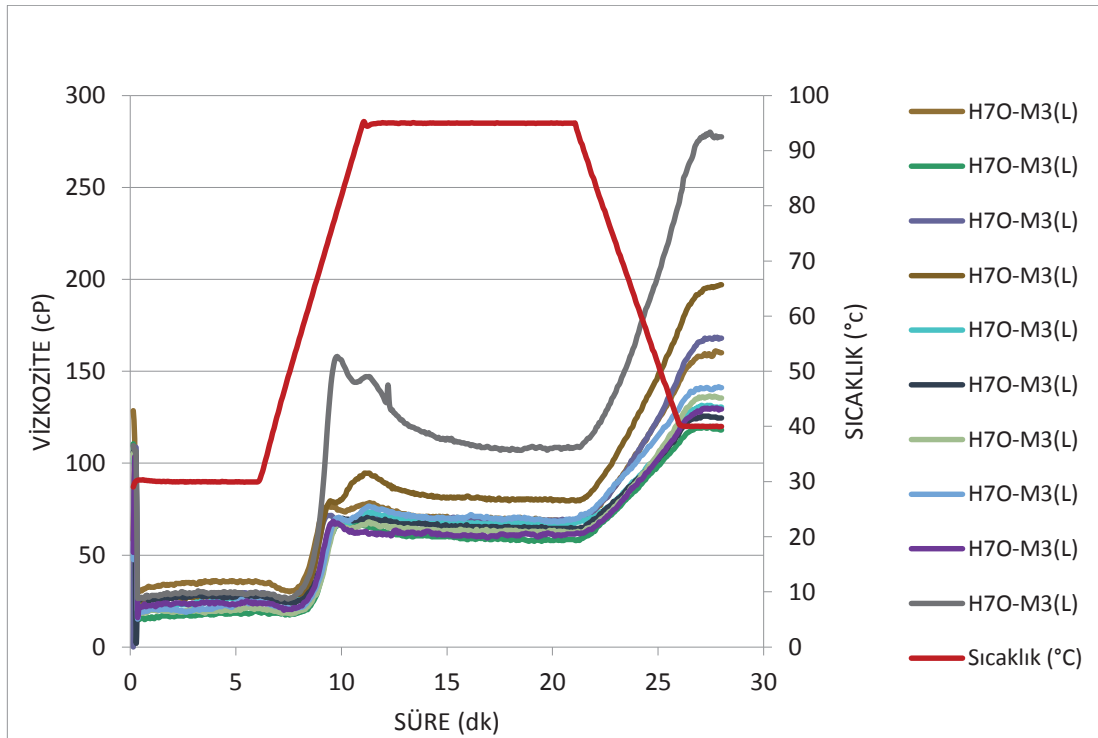
Isıtma öncesi viskozite değerlerinde farklı şiddet ve sürelerde belirgin bir fark görülmezken kurutma yöntemleri arasındaki istatistiksel olarak önemli fark ($p<0,05$) hesaplanmaktadır. Isıtma öncesi viskozite değerleri su bağlama özellikleri ile de doğru orantı gösterdiğinden su bağlama özellikleri yüksek hesaplanan liyofilize örneklerin ısıtma öncesi viskozitelerinin de 50°C 'de kurutulanlardan yüksek çıkması beklenen bir sonuçtur. Son viskozite değerleri de benzer şekilde liyofilize örneklerde etüvde kurutulanlara göre yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Bu durum, bu örneklerin daha iyi ve stabil jel oluşturduğunu göstermektedir.

Doğal haldeki Hylon VII nişasta örneğinden 3 döngü mikrodalga ve farklı kurutma işlemleri uygulanarak üretilen örneklerin viskozite grafikleri Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'de, örneklerin analiz sonuçları ise Tablo 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.4. Hylon VII nişasta örneğinden 3 döngü mikrodalga ve 50°C'de kurutma işlemi uygulanarak üretilen örnekler için RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; M3: 3 döngü mikrodalga



Şekil 4.5. Hylon VII nişasta örneğinden 3 döngü mikrodalga ve liyofilizasyon ile kurutma işlemi uygulanarak üretilen örnekler için RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; M3: 3 döngü mikrodalga; L: Liyofilizasyon

Tablo 4.8. Hylon VII nişasta örneğinde 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin RVA viskozite değerlerine etkisi¹

Örnek ²	50°C' de Kurutma							Liyofilizasyon				
	Mikrodalga Süresi (dk)	Mikrodalga Gücü (%)	Isıtma Öncesi Viskozite (cP)	Maksimum Viskozite (cP)	Karıştırma ile Viskozite Azalması (cP)	Son Viskozite (cP)	Çirişlenme Başlangıç Sıcaklığı (°C)	Isıtma Öncesi Viskozite (cP)	Maksimum Viskozite (cP)	Karıştırma ile Viskozite Azalması (cP)	Son Viskozite (cP)	Çirişlenme Başlangıç Sıcaklığı (°C)
H7D	-	-	6 b	22 g	-22 g	62 e	95 a	6 d	22 e	-22 g	62 h	95 a
H7P	-	-	17 ab	194 b	120 b	105 b	86 d	34 abc	100 c	24 c	198 c	87 b
H7O	-	-	16 ab	239 a	130 a	130 a	92 abc	45 a	522 a	107 a	1008 a	65 f
H7O-M3	20	2,0	21 a	99 d	32 de	129 a	87 d	36 ab	79 d	11 e	160 de	69 e
H7O-M3	100	2,0	19 a	94 d	36 d	85 cd	92 abc	19 cd	67 d	9 e	118 g	75 cd
H7O-M3	40	2,5	20 a	89 de	29 ef	110 b	90 bcd	30 bc	72 d	3 f	168 d	72 cde
H7O-M3	80	2,5	19 a	90 de	32 de	95 bc	91 abc	29 bc	95 c	15 d	197 c	71 de
H7O-M3	60	3,0	19 a	91 d	23 f	133 a	89 cd	28 bc	72 d	6 ef	128 fg	75 cd
H7O-M3	40	3,5	16 ab	89 de	31 de	105 b	92 abc	21 bc	69 d	6 ef	136 fg	76 c
H7O-M3	80	3,5	17 ab	76 ef	30 de	63 e	94 ab	25 bc	77 d	7 ef	141 ef	75 cd
H7O-M3	20	4,0	16 ab	69 f	27 ef	72 de	93 abc	25 bc	68 d	7 ef	130 fg	73 cde
H7O-M3	100	4,0	14 ab	117 c	55 c	88 c	93 abc	30 bc	156 b	48 b	278 b	72 cde

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

²H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; P: Pişirme; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; M3: 3 mikrodalga döngüsü

Aynı mikrodalga döngüsü içinde kurutma işlemleri arasında ve ayrıca farklı döngüler arasında *t-testi* sonucuna göre viskozite değerlerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) farklar oluşmuştur. Mikrodalga döngüsünün artmasıyla 50°C’de kurutulan örneklerin ısıtma öncesi viskozitelerinde bir değişiklik tespit edilmemiş, çirilenme sıcaklıklarında artış görülmüş; maksimum viskoziteleri, karıştırma ile viskozite azalması ve son viskozitelerinde de azalma görülmüştür. Liyofilize örneklerde mikrodalga döngü sayısının artmasıyla çirilenme sıcaklıkları hariç tüm viskozite değerlerinde düşüş meydana gelmiştir. Benzer sonuçlar Svanberg et al., (1997) tarafından da kaydedilmiştir.

Isıl işlem uygulanmış tüm örneklerin çirilenme sıcaklıkları doğal nişastaya göre düşüş göstermiştir. Çirilenme başlangıç sıcaklığındaki azalma nişasta granül yapısının bozulmasından kaynaklanmaktadır (Han and BeMiller, 2007). Tek döngü ve 3 döngü mikrodalga uygulamaları arasında düşüşlerin daha belirgin olması mikrodalga ışınımının amiloz zincirleri arasında iç ve dış hidrojen bağları oluşumunda etkili rol oynadığını göstermektedir (Brasoveanu and Nemtanu, 2012).

Lewandowicz et al. (2000)’ın yaptığı çalışmada %30 su içeren 0,5 g normal buğday ve mısır nişastalarının çirilenme sıcaklıklarının 60 dk mikrodalga işlemi ile arttığı, viskozitelerinin ise azaldığı görülmüştür. Mumsu buğday ve mısır nişastalarında ise aynı uygulamanın çirilenme sıcaklıkları ve viskozite değerlerinde değişiklik yaratmadığı belirlenmiştir. Bunun sonucunda viskozite değerlerindeki ve çirilenme sıcaklıklarındaki değişimlerde amilozun etkili olduğu yorumu yapılmıştır. Luo et al. (2006) benzer bir çalışmayı 1 g normal, mumsu ve amilop V mısır nişastaları ile %30 nem oranında 20 dk süre ile gerçekleştirmiş ve benzer sonuçlar elde etmiştir. Bu çalışmada da kontroller ile mikrodalga uygulanmış örneklerin sonuçları literatürdeki çalışmalarla uyum göstermektedir.

4.2. Enzim Hidrolizi ve Mikrodalga Uygulaması ile Üretilen Nişasta Örneklerinin Özellikleri

4.2.1. Enzim hidrolizi ve mikrodalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin enzime dirençli nişasta miktarları

Ozturk et al. (2008), yaptığı çalışmasında pullulanaz enzimi ile farklı inkübasyon süreleri ve otoklav döngüleri kullanarak amilotip mısır nişastalarında EDN oluşumlarını incelemiştir. Pullulanaz enzimi uygulanarak üretilen hidrolizatların EDN miktarları incelendiğinde, 48 saat hidrolizin EDN oluşumu için en ideal süre olduğu görülmüştür. Bu nedenle, çalışmanın bu kısmında enzim hidrolizi 48 saat gerçekleştirilmiş, ardından örnekler farklı mikrodalga-bekletme döngüleri uygulanmıştır.

Hylon VII nişasta örneğinden pullulanaz ile enzim hidrolizi, farklı mikrodalga-bekletme uygulamaları ve farklı kurutma işlemleri ile üretilen örneklerin EDN miktarları sırasıyla Tablo 4.9 ve Tablo 4.10'da verilmiştir.

Mikrodalga işlemi öncesinde uygulanan pullulanaz enzim modifikasyonu 1 döngü mikrodalga uygulamasında enzimsiz örnekler ve kontrollere göre EDN miktarını önemli oranda arttırmıştır. Literatürde de benzer sonuçlara rastlanmaktadır (Reddy et al., 2013; Ashwar et al., 2015). Bu artış enzimin nişastanın dallanma noktalarına etki ederek serbest amiloz zincir miktarını arttırmasıyla ilişkilendirilebilir. Mikrodalga işlemi sırasında ortamda hidrojen bağı oluşturabilecek daha fazla miktarda uygun eş zincir varlığı kurutma yöntemi fark etmeksizin enzimsiz örnekler göre EDN miktarında artışa neden olmuştur. Li et al. (2011), yaptığı çalışmada benzer sonuçlara ulaşmıştır. Başka bir çalışmada Liu et al. (2015), pullulanaz ile hidroliz işlemi uygulanan örneklerin pankreatik amilaza karşı daha dirençli hale geldiklerini bildirmiştir.

Tablo 4.9. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 1 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi¹

Örnek ²	Mikrodalga		EDN ³ (%)	
	Gücü (%)	Süresi (dk)	50°C'de Kurutma	Liyofilizasyon
H7P	-	-	32,1 e	30,5 d
H7O	-	-	33,3 ce	28,8 e
H7O-E-M1	20	2,0	46,7 ab	36,9 b
H7O-E-M1	100	2,0	44,0 c	39,1 a
H7O-E-M1	40	2,5	43,8 c	39,6 a
H7O-E-M1	80	2,5	43,6 c	38,5 a
H7O-E-M1	60	3,0	44,5 bc	35,5 bc
H7O-E-M1	40	3,5	38,8 d	34,8 c
H7O-E-M1	80	3,5	45,1 abc	36,4 b
H7O-E-M1	20	4,0	47,2 a	34,2 c
H7O-E-M1	100	4,0	44,0 c	36,4 b

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

² H7: Hylon VII; P: Pişirme; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; E: Enzim ile modifikasyon; M1: 1 mikrodalga döngüsü

³ EDN: Enzime dirençli nişasta

Enzim ile hidroliz edilen örneklerde de enzim hidrolizi uygulanmayan örneklerde olduğu gibi farklı kurutma işlemleri EDN miktarları arasında fark yaratmıştır. Çift sarmal oluşturma imkanına daha fazla olanak sunan 50°C'de kurutma işlemi ile elde edilen EDN miktarı, liyofilizasyonla kurutmaya göre yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

Enzim hidrolizi ve 3 döngü mikrodalga uygulanan örneklerde kurutma yöntemleri arasında EDN miktarı birbirine en yakın değerlerde bulunmuştur. Hidrolizi takip eden ısıtma işlemi ve inkübasyon süresinin liyofilize örneklerin nişastasının enzime direncini oldukça arttırdığı görülmektedir. Enzimsiz örneklerde farklı kurutma yöntemleri arasındaki EDN farkının enzim ile hidroliz edilenlere göre daha yüksek hesaplanması, liyofilize örneklerin yapısı için öncesinde enzim hidrolizi uygulanmadığında sürenin EDN oluşumuna yetersiz kaldığını düşündürmektedir. Hidroliz sonucu elde edilen örnekler 3 döngü mikrodalga ve bekletme sırasında çift

zincir oluşumunu arttırmış ve kurutma sıcaklık ve mekanizma farklarından kaynaklanan EDN miktar farkını en aza indirmiştir.

Tablo 4.10. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin enzime dirençli nişasta miktarına etkisi¹

Örnek ²	Mikrodalga Mikrodalga		EDN ³ (%)	
	Gücü (%)	Süresi (dk)	50°C'de Kurutma	Liyofilizasyon
H7P	-	-	32,1 b	30,5 c
H7O	-	-	33,3 b	28,8 c
H7O-E-M3	20	2,0	45,1 a	42,0 a
H7O-E-M3	100	2,0	44,1 a	42,1 a
H7O-E-M3	40	2,5	42,5 a	41,8 a
H7O-E-M3	80	2,5	44,2 a	39,4 a
H7O-E-M3	60	3,0	43,1 a	40,0 a
H7O-E-M3	40	3,5	44,8 a	36,5 b
H7O-E-M3	80	3,5	43,9 a	40,9 a
H7O-E-M3	20	4,0	44,0 a	39,6 a
H7O-E-M3	100	4,0	44,5 a	40,6 a

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

² H7: Hylon VII; P: Pişirme; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; E: Enzim ile modifikasyon; M3: 3 mikrodalga döngüsü

³ EDN: Enzime dirençli nişasta

Döngü sayısının artmasıyla enzimsiz örneklerde meydana gelen EDN miktarı artışı enzim hidrolizi uygulananlarda sadece liyofilizasyonla kurutulmuş örneklerde görülmüştür. Dallanma noktalarının hidrolizi ile amilopektinlerin serbest amiloz zinciri haline dönüşmesi 1 döngü mikrodalgada EDN miktarında önemli artış sağlamakta, işlem 3 döngüye çıkarıldığında ortamda zincir oluşumunu devam ettirebilecek yapı kalmaması nedeniyle oluşan EDN miktarları korunmaktadır. Bu durum nedeniyle döngü sayısının, 50°C kurutma yönteminde istatistiksel bir fark yaratmadığı düşünülmektedir. Liyofilize örneklerde ise, yüksek sıcaklıklarda gerçekleşen tekrarlı mikrodalga ve inkübasyon işlemlerinin nişastanın direncini arttıran yapıların oluşumuna daha uzun süreler olarak sağladığından döngü sayısının artışı EDN miktarlarında artışı da beraberinde getirmiştir.

4.2.2. Enzim hidrolizi ve mikrodalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin çözünürlük ve su bağlama özellikleri

Hylon VII nişasta örneğinden pullulanaz ile enzim hidrolizi, farklı mikrodalga-bekletme uygulamaları ve farklı kurutma işlemleri ile üretilen örneklerin çözünürlük ve su bağlama değerleri sırasıyla Tablo 4.11 ve Tablo 4.12’de verilmiştir.

Tablo 4.11. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 1 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin çözünürlük ve su bağlama özelliklerine etkisi¹

Örnek ²	Mikrodalga Mikrodalga		Çözünürlük (%)		Su Bağlama (%)	
	Gücü (%)	Süresi (dk)	50°C’de Kurutma	Liyofilizasyon	50°C’de Kurutma	Liyofilizasyon
H7D	-	-	0,83 d	0,83 e	139,0 d	139,0 e
H7P	-	-	1,46 bcd	1,60 d	264,3 ab	395,0 bcd
H7O	-	-	1,80 abcd	0,87 e	259,8 abc	426,0 ab
H7O-E-M1	20	2,0	1,02 cd	4,17 a	279,4 a	438,7 a
H7O-E-M1	100	2,0	2,77 a	4,15 a	251,1 abc	428,3 ab
H7O-E-M1	40	2,5	2,32 ab	3,94 ab	236,7 bc	397,4 bcd
H7O-E-M1	80	2,5	2,26 ab	3,68 abc	248,3 bc	397,2 bcd
H7O-E-M1	60	3,0	1,96 abcd	3,91 ab	238,8 bc	403,6 bc
H7O-E-M1	40	3,5	2,49 ab	4,01 a	230,8 c	422,4 ab
H7O-E-M1	80	3,5	1,57 abcd	3,10 c	241,6 bc	377,6 cd
H7O-E-M1	20	4,0	1,98 abcd	3,19 bc	235,4 bc	416,4 ab
H7O-E-M1	100	4,0	2,06 abc	3,35 abc	246,6 bc	364,9 d

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

² H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; P: Pişirme; O: 121°C’de 30 dakika otoklav; E: Enzim ile modifikasyon; M1: 1 mikrodalga döngüsü

Enzim ile hidroliz edilmiş örneklerin çözünürlükleri doğal Hylon VII nişastasına, kontrollere (H7P ve H7O) ve enzimsiz örneklere göre artış göstermiştir. Otoklav ve pişirme ile yapıda meydana gelen parçalanmanın arttırmış olduğu çözünürlük değerleri enzim hidrolizi ile daha fazla artmıştır. Enzim hidrolizi ile ortamda artan serbest zincir sayısı, retrogradasyon sırasında artan sarmal zincir sayısına rağmen çözünürlüklerde artışa neden olmuştur. Benzer sonuçlar Guraya et al. (2001) ve Liu et al. (2015) çalışmalarında da görülmektedir. Hem çözünürlük miktarının hem de

EDN miktarının enzim hidrolizi ile artış göstermesi EDN oluşumu ile çözünürlük arasında ters orantılı bir ilişki olduğunun iddia edilemeyeceğini göstermektedir. Çözünürlük değerlerinde meydana gelen artış liyofilize örneklerde 50°C'deki örneklere göre daha fazladır ($p<0,05$).

Tablo 4.12. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin çözünürlük ve su bağlama özelliklerine etkisi¹

Örnek ²	Mikrodalga Gücü (%)	Mikrodalga Süresi (dk)	Çözünürlük (%)		Su Bağlama (%)	
			50°C'de Kurutma	Liyofilizasyon	50°C'de Kurutma	Liyofilizasyon
H7D	-	-	0,83 a	0,83 b	139,0 d	139,0 e
H7P	-	-	1,46 a	1,60 b	264,3 a	395,0 b
H7O	-	-	1,80 a	0,87 b	259,8 ab	426,0 a
H7O-E-M3	20	2,0	1,51 a	4,25 a	250,2 abc	394,7 b
H7O-E-M3	100	2,0	2,85 a	3,75 a	237,1 bc	370,7 bc
H7O-E-M3	40	2,5	1,99 a	4,21 a	257,9 ab	371,5 bc
H7O-E-M3	80	2,5	1,30 a	3,68 a	231,3 c	378,0 b
H7O-E-M3	60	3,0	1,78 a	3,76 a	248,3 abc	380,0 b
H7O-E-M3	40	3,5	1,99 a	4,10 a	246,4 abc	386,6 b
H7O-E-M3	80	3,5	2,60 a	3,80 a	244,6 abc	317,5 d
H7O-E-M3	20	4,0	2,36 a	3,98 a	232,2 c	392,0 b
H7O-E-M3	100	4,0	1,86 a	4,12 a	247,2 abc	343,6 cd

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p<0,05$)

² H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; P: Pişirme; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; E: Enzim ile modifikasyon; M3: 3 mikrodalga döngüsü

Enzim hidrolizi ile elde edilen su bağlama değerlerinde kurutma yöntemleri arasındaki farklar rol oynamaktadır. Her iki yöntemle de kurutulmuş hidrolizatların su bağlama değerleri doğal nişastaya göre yüksek, kontrollere (H7P ve H7O) göre düşüktür. Mikrodalga uygulandığında 50°C'de kurutulan örneklerin su bağlama değerlerinin enzimsiz 3 döngü mikrodalga uygulanmış örneklere yakın olduğu, liyofilize örneklerin su bağlama değerlerinin ise enzimsiz örneklere göre artış gösterdiği görülmektedir. Hidroliz ile artması beklenen çözünürlük ve su bağlamaların 1 döngü mikrodalga işleminde bu artışlarını devam ettirdikleri, aynı kurutma işlemi içindeki farklı süre-şiddet kombinasyonlarında önemli fark yaratmasa

da kurutma yöntemleri arasında istatistiksel fark ($p<0,05$) oluşturdukları görülmektedir.

Mikroalga döngü sayısının 3'e çıkarılmasıyla çözünürlüklerde istatistiksel bir değişme gerçekleşmezken sadece liyofilize örneklerin su bağlamalarında azalma görülmüştür. Dallanma noktaları parçalanmış amiloz zincirleri sarmal oluşturmaya uzun dallanma noktaları içeren amiloz zincirlerinden daha yatkın hale gelmektedir (Wurzburg, 1986; Aberle et al., 1997; Liu et al., 2015). Artan ısı işlem ve yüksek sıcaklıkta inkübasyonların hidroliz işlemiyle parçalanmış yapıları sıkılaştırdığı ve su bağlama özelliğini düşürdüğü düşünülmektedir (Lui et al., 2015).

4.2.3. Enzim hidrolizi ve mikroalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin renk değerleri

Hylon VII nişasta örneğinden pullulanaz ile enzim hidrolizi, farklı mikroalga-bekletme uygulamaları ve farklı kurutma işlemleri ile üretilen örneklerin CIE renk değerleri sırasıyla Tablo 4.13 ve Tablo 4.14'de verilmiştir.

Tablo 4.13. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 1 döngü mikroalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin renk değerlerine etkisi¹

Örnek ²	Mikroalga Gücü (%)	Mikroalga Süresi (dk)	50°C'de Kurutma			Liyofilizasyon		
			L*	a*	b*	L	a*	b*
H7D			95,8 a	0,4 h	4,4 j	95,8 a	0,4 e	4,4d
H7P	-	-	90,0 b	0,9 g	6,5 i	94,2 b	0,4 e	3,3 e
H7O	-	-	89,1 c	1,5 f	7,2 h	93,8 b	0,9 d	4,2 d
H7O-E-M1	20	2,0	83,8 d	3,3 e	11,3 g	90,1 cd	1,4 abc	6,0 abc
H7O-E-M1	100	2,0	81,9 g	3,8 c	13,1 d	90,0 cd	1,5 ab	6,3 a
H7O-E-M1	40	2,5	81,5 h	4,0 b	13,7 c	90,6 c	1,3 bc	5,2 c
H7O-E-M1	80	2,5	81,7 gh	3,6 d	12,3 e	90,3 cd	1,4 abc	6,0 abc
H7O-E-M1	60	3,0	80,7 j	4,3 a	14,5 a	90,1 cd	1,4 abc	5,6 abc
H7O-E-M1	40	3,5	81,1 i	4,3 a	14,4 a	89,7 d	1,4 abc	5,8 abc
H7O-E-M1	80	3,5	82,6 f	3,6 d	12,4 e	89,7 d	1,5 ab	5,8 abc
H7O-E-M1	20	4,0	80,9 ij	4,3 a	14,0 b	89,5 d	1,6 a	6,2 ab
H7O-E-M1	100	4,0	83,2 e	3,2 e	11,6 f	90,0 cd	1,3 bc	5,3 bc

¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır ($p<0,05$)

² H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; P: Pişirme; O: 121 °C'de 30 dakika otoklav; E: Enzim ile modifikasyon; M1: 1 mikroalga döngüsü

Enzimsiz örneklerle karşılaştırıldığında, enzim hidrolizi ile renk değerleri belirgin bir değişiklik göstermemiştir. Enzim hidrolizi sırasında uygulanan 60°C'de 48 saat inkübasyon nedeni ile 1 döngü mikrodalga uygulanmış örneklerin renk sonuçları enzimsiz 1 ve 3 döngü mikrodalga uygulanmış örneklerin değerleri arasında çıkmıştır. Bu değişiklikler 50°C'de kurutulan örneklerde liyofilize örneklere göre daha belirgindir.

Tablo 4.14. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin renk değerlerine etkisi¹

Örnek ²	Mikrodalga Gücü (%)	Mikrodalga Süresi (dk)	50°C'de Kurutma			Liyofilizasyon		
			L*	a*	b*	L	a*	b*
H7D			95,8 a	0,4 h	4,4 i	95,8 a	0,4 g	4,4 g
H7P	-	-	90,0 b	0,9 g	6,5 h	94,2 b	0,4 g	3,3 i
H7O	-	-	89,1 c	1,5 f	7,2 g	93,8 b	0,9 f	4,2 h
H7O-E-M3	20	2,0	80,4 d	4,2 e	13,0 f	89,7 c	1,7 e	6,6 f
H7O-E-M3	100	2,0	77,1 g	5,6 a	16,6 b	89,5 cd	1,9 c	7,0 d
H7O-E-M3	40	2,5	79,0 f	5,1 b	15,6 d	89,1 de	1,9 c	7,2 c
H7O-E-M3	80	2,5	76,7 h	5,6 a	16,9 ab	89,2 cde	1,9 c	6,7 e
H7O-E-M3	60	3,0	77,3 g	5,3 b	16,1 c	88,9 de	2,0 b	7,2 c
H7O-E-M3	40	3,5	79,0 f	4,9 c	15,1 e	88,8 e	2,0 b	7,2 c
H7O-E-M3	80	3,5	76,2 i	5,7 a	17,0 ab	87,2 f	2,4 a	7,8 a
H7O-E-M3	20	4,0	76,8 h	5,6 a	17,1 a	89,0 de	1,8 d	6,6 f
H7O-E-M3	100	4,0	79,6 e	4,7 d	14,9 e	88,7 e	2,0 b	7,4 b

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

² H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; P: Pişirme; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; E: Enzim ile modifikasyon; M3: 3 mikrodalga döngüsü

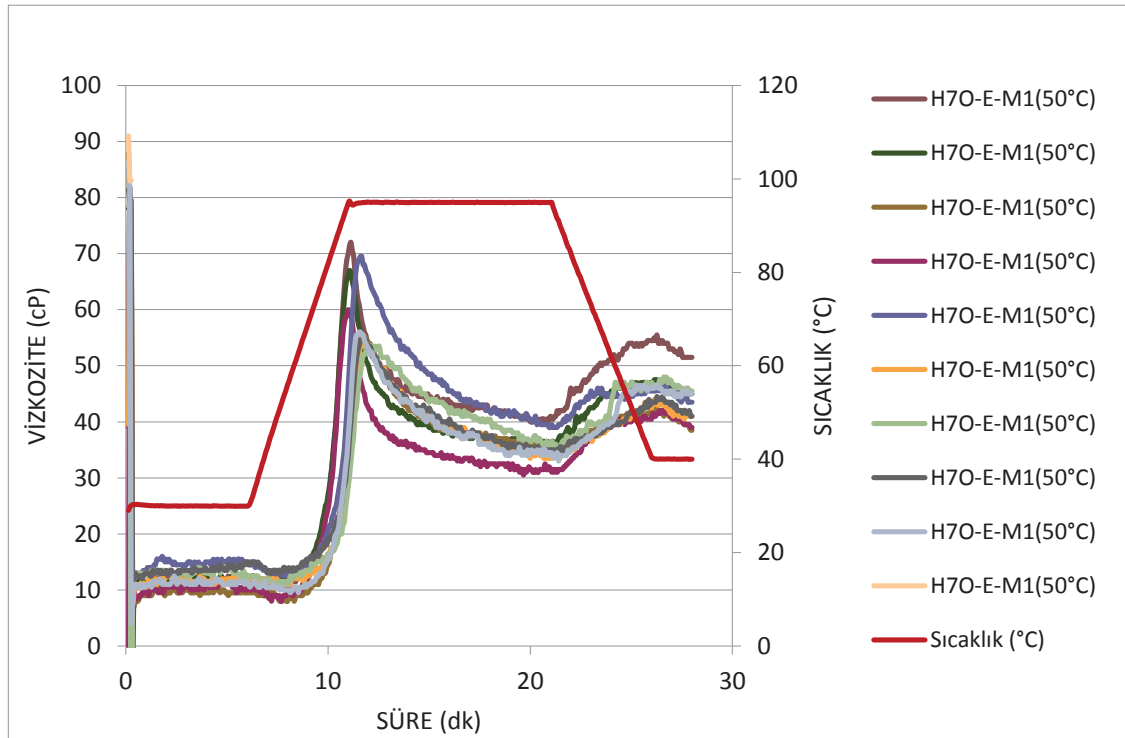
Enzim ile hidrolize uğramış örneklerde mikrodalga-bekletme döngüsü 3'e çıkarıldığında 50°C'de kurutulan örneklerin, tüm örnekler içerisinde, L* değerlerinde en düşük, b* değerlerinde en yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Liyofilize örneklerde ise, farklı uygulamalar arasında renk değerlerinde önemli artış ya da azalış olmamıştır. 50°C'de kurutulan örneklerin L* değerleri doğal Hylon VII nişastasının beyaz renginden oldukça uzaklaşırken, sarılıkları da artış göstermiş, a* ve b* değerlerinin doğal Hylon VII örneğine göre 4 kata yakın artmasına neden olmuştur. Mikrodalga döngüsü ile inkübasyon süreleri de artış gösterdiğinden renk

değişimlerinin sebebinin mikrodalga işlemi ve inkübasyon süre ve sıcaklıklarının ortak etkisi olduğu düşünülmektedir.

Aynı döngüler içinde değişen süre-şiddet değerleri birbiri ile belirgin farklar yaratmamış, aynı döngü içinde farklı kurutma işlemleri arasında istatistiksel farklar ($p<0,05$) elde edilmiştir. Yüksek sıcaklıkta kurutmanın etkisi ile liyofilize örneklere göre daha fazla koyu renk oluşumu gözlenmektedir.

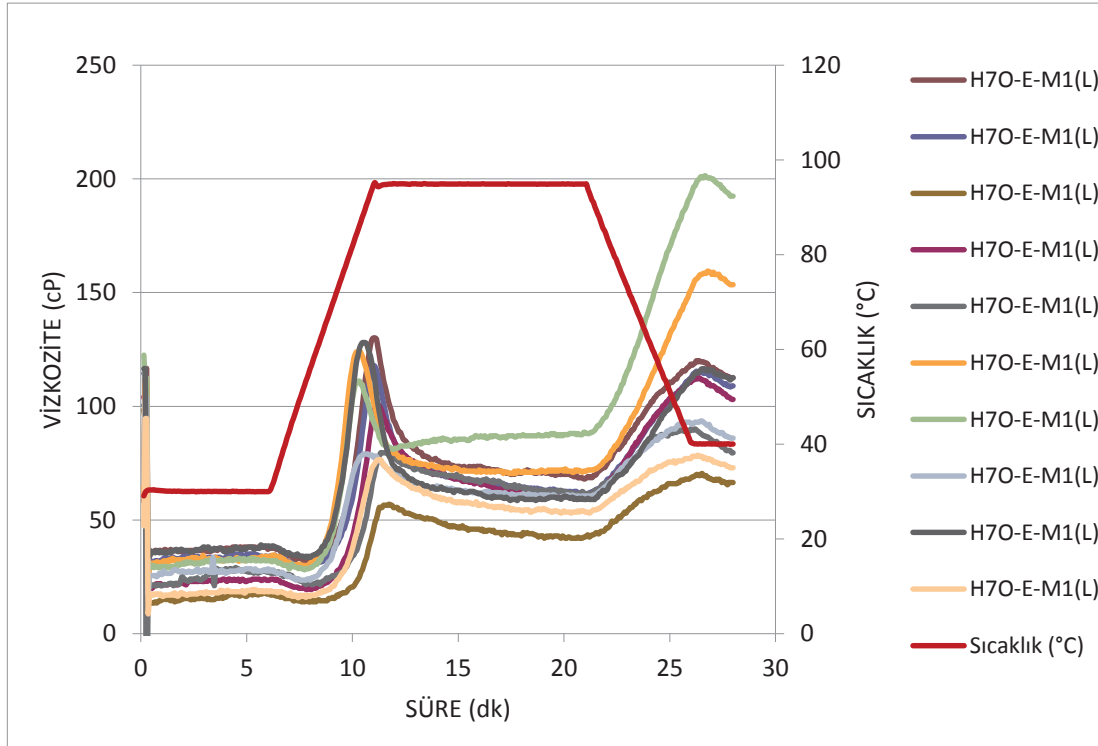
4.2.4. Enzim hidrolizi ve mikrodalga uygulaması ile üretilen nişasta örneklerinin viskozite özellikleri

Hylon VII nişasta örneğinden pullulanaz ile enzim hidrolizi, 1 mikrodalga-bekletme döngüsü ve farklı kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’de, analiz sonuçları ise Tablo 4.15’de verilmiştir.



Şekil 4.6. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 1 döngü mikrodalga ve 50°C’de kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; O: 121°C’de 30 dakika otoklav; E:Enzim Hidrolizi; M1: 1 döngü mikrodalga



Şekil 4.7. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 1 döngü mikrodalga ve liyofilizasyon ile kurutma işlemi uygulanan örneklerin RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; E: Enzim hidrolizi; M1: 1 döngü mikrodalga; L: Liyofilizasyon

Pullulanaz enzimi ile hidroliz edilmiş örneklerin RVA değerleri enzimsiz örneklere göre farklı kurutma yöntemlerinde farklı sonuçlar göstermiştir. Genel olarak her iki kurutma yönteminde de doğal HylonVII'ye göre tüm viskozite değerlerinde artış vardır. Bununla birlikte, 50°C'de kurutulan örneklerin, mikrodalga-bekletme uygulaması ile sadece pişirme ve otoklavlama uygulanmış kontrollere göre viskozite değerlerinde düşüş gözlenmiştir.

Tablo 4.15. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 1 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin RVA viskozite değerlerine etkisi¹

Örnek ²	50°C' de Kurutma							Liyofilizasyon				
	Mikrodalga Süresi (dk)	Mikrodalga Gücü (%)	Isıtma Öncesi Viskozite (cP)	Maksimum Viskozite (cP)	Karıştırma ile Viskozite Azalması (cP)	Son Viskozite (cP)	Çirişlenme Başlangıç Sıcaklığı (°C)	Isıtma Öncesi Viskozite (cP)	Maksimum Viskozite (cP)	Karıştırma ile Viskozite Azalması (cP)	Son Viskozite (cP)	Çirişlenme Başlangıç Sıcaklığı (°C)
H7D	-	-	6 c	22 g	-22 h	62 c	95 a	6 f	22 g	-22 f	62 e	95 a
H7P	-	-	17 ab	194 b	120 b	105 b	86 b	34 bc	100 def	24 de	198 b	87 b
H7O	-	-	16 ab	239 a	130 a	130 a	92 a	45 a	522 a	107 a	1009 a	65 d
H7O-E-M1	20	2,0	13 b	73 d	32 d	52 d	88 b	38 ab	130 b	62 b	113 cd	82 bc
H7O-E-M1	100	2,0	13 b	67 de	31 d	45 e	87 b	36 bc	118 bcd	57 bc	109 cd	85 b
H7O-E-M1	40	2,5	12 bc	56 f	21 fg	39 f	88 b	20 e	74 f	23 de	82 cde	94 a
H7O-E-M1	80	2,5	12 bc	60 ef	29 de	39 f	79 c	25 de	101 de	41 cd	103 cde	87 b
H7O-E-M1	60	3,0	14 ab	63 ef	26 def	42 ef	95 a	32 bcd	103 cde	37 de	117 c	85 b
H7O-E-M1	40	3,5	15 ab	54 f	19 g	46 e	95 a	33 bc	111 bcd	24 de	193 b	82 bc
H7O-E-M1	80	3,5	14 ab	55 f	21 fg	41 ef	94 a	29 cd	79 ef	19 e	86 cde	78 c
H7O-E-M1	20	4,0	12 b	56 f	23 efg	45 e	88 b	39 ab	128 bc	69 b	113 cd	78 c
H7O-E-M1	100	4,0	20 a	94 c	47 c	59 c	88 b	20 e	77 ef	24 de	73 de	86 b

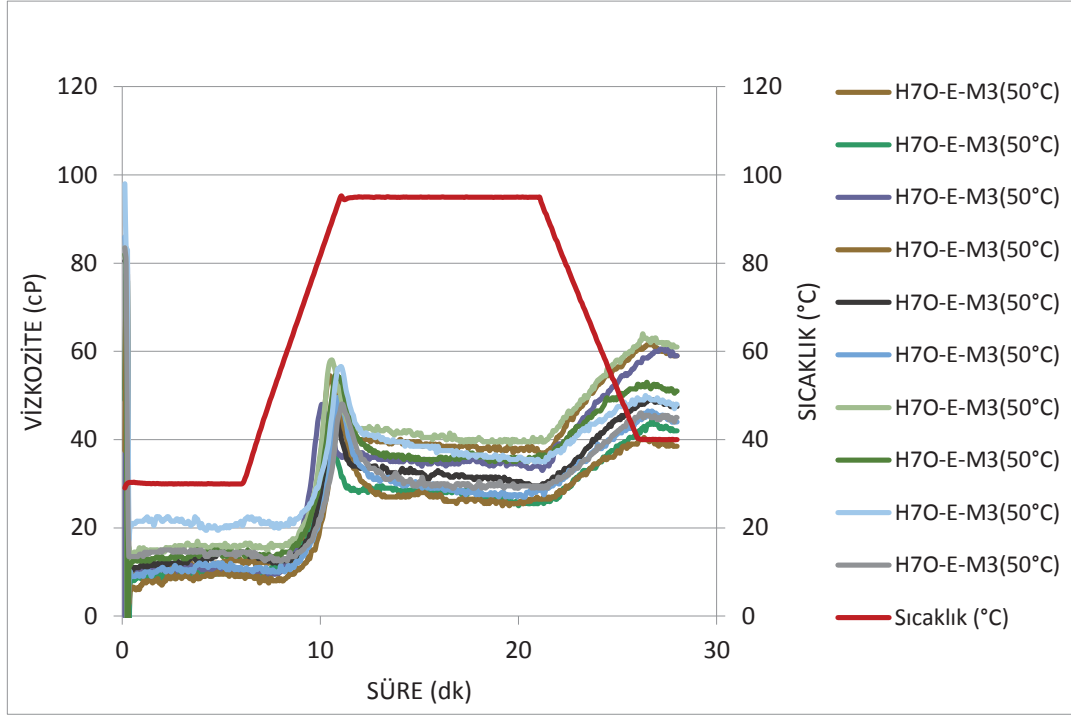
¹ Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalamalar arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır (p<0.05)

² H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; P: Pişirme; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; E: Enzim ile modifikasyon; M1: 1 mikrodalga döngüsü

Pullulanaz ile hidroliz işlemi sırasında dallanma noktalarının parçalanması ile yapılarda viskozitenin azalması beklenen bir durumdur. Liu et al. (2015) farklı nişastaların pullulanaz ile hidrolizi sonucu yapılarında meydana gelen değişiklikleri incelediği çalışmasında doğal mısır nişastasının dallanma uzunluklarının pullulanaz hidrolizinin aktivitesini etkilemeyecek boyutta olduğunu belirtmiştir. Yaptığı viskozite analizinde mısır nişastasının viskozitesinin belirgin bir düşüş gösterdiğini ve sıcaklıkla stabilitesini koruyamadığını belirtmiştir. Nişastanın yapısında meydana gelen hidroliz, düşük sıcaklıkta kurutma yöntemlerinde viskoziteyi artırıcı etki yaparken, yüksek sıcaklıkta kurutma uygulandığında azaltıcı etki göstermektedir. Kurutma yöntemlerinden kaynaklanan farklılıklar liyofilizasyon yönünde artan istatistiksel farklar ortaya koymaktadır. Yüksek sıcaklıkta karıştırmaya karşı stabilize, 50°C’de kurutulan örneklerde enzim uygulanmamış örneklere göre bir değişiklik göstermezken, liyofilize örneklerde düşüş göstermektedir. Yapılan farklı çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Chung et al., 2000; Horndok and Noomhorm, 2007; Pucha-Arnon and Uttapap, 2013).

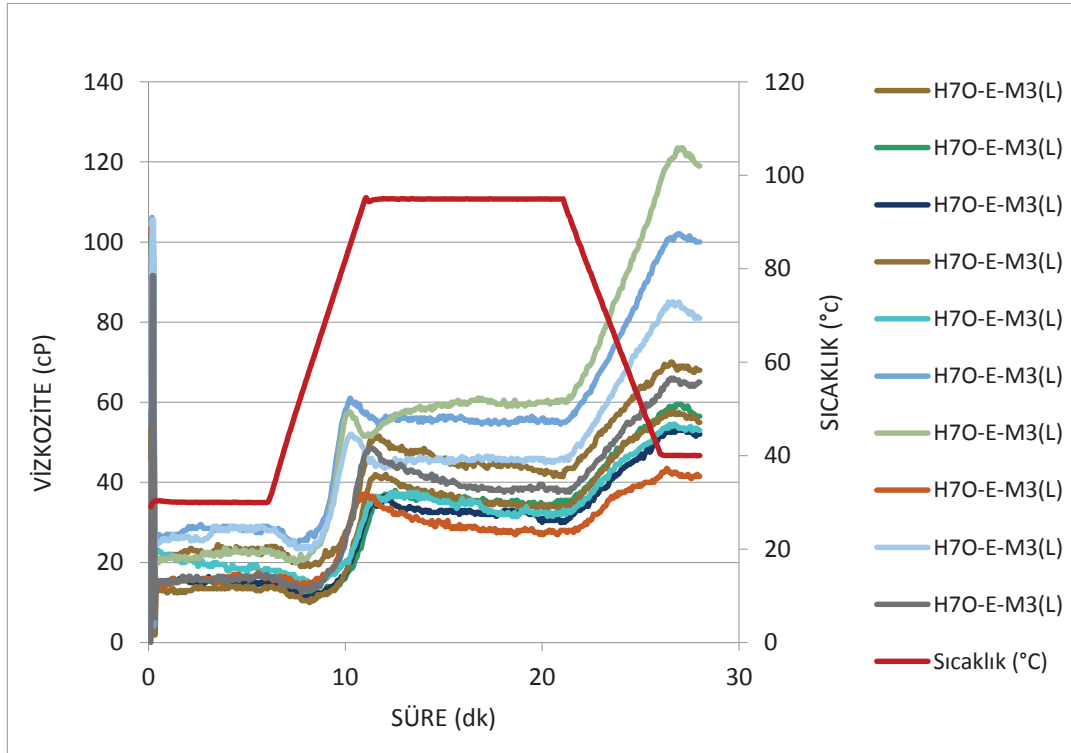
Hylon VII nişasta örneğinden pullulanaz ile enzim hidrolizi, 3 mikrodalga-bekletme döngüsü ve farklı kurutma işlemleri ile üretilen örneklere ait RVA viskozite grafikleri Şekil 4.8 ve Şekil 4.9’da, analiz sonuçları ise Tablo 4.16’da verilmiştir.

Hidroliz edilmiş örneklerde mikrodalga-bekletme döngüsü 3’e çıkarıldığında farklı kurutma yöntemlerinde farklı sonuçlar gözlenmeye devam etmektedir. Çirişlenme sıcaklıklarında farklı mikrodalga güç-süre kombinasyonlarında belirgin değişiklik görülmemektedir. Viskozite değerleri 50°C’de kurutulan örneklerde 1 döngü uygulananlara göre değişmezken liyofilize örneklerin viskozite değerlerinde azalma ($p<0,05$) olmuştur. 3 döngü mikrodalga uygulaması ile viskozitede gözlenen düşüşlerin nedeninin yüksek sıcaklık uygulamasındaki artış olduğu düşünülmektedir. Enzim hidrolizi ve 3 mikrodalga uygulaması ile karıştırmaya karşı en dirençli örnekler oluşmuştur. Aynı kurutma yöntemi içerisine bakıldığında değişen süre ve şiddetlerin tek tek fark gösterdiği ama toplamda belirgin bir fark yaratmadığı görülmektedir. Benzer sonuçlar farklı çalışmalarda da elde edilmiştir (Hoover and Vasanthan, 1994).



Şekil 4.8. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 3 döngü mikrodalga ve 50°C'de kurutma işlemi uygulanarak üretilen örnekler için RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; E:Enzim Hidrolizi; M3: 3 döngü mikrodalga



Şekil 4.9. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 3 döngü mikrodalga ve liyofilizasyon ile kurutma işlemi uygulanarak üretilen örnekler için RVA viskozite grafikleri

H7: Hylon VII; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; E:Enzim Hidrolizi; M3: 3 döngü mikrodalga; L:Liyofilizasyon

Tablo 4.16. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 3 döngü mikrodalga uygulaması ve kurutma işlemlerinin RVA viskozite değerlerine etkisi¹

Örnek ²	50°C' de Kurutma							Liyofilizasyon				
	Mikrodalga Süresi (dk)	Mikrodalga Gücü (%)	Isıtma Öncesi Viskozite (cP)	Maksimum Viskozite (cP)	Karıştırma ile Viskozite Azalması (cP)	Son Viskozite (cP)	Çirşlenme Başlangıç Sıcaklığı (°C)	Isıtma Öncesi Viskozite (cP)	Maksimum Viskozite (cP)	Karıştırma ile Viskozite Azalması (cP)	Son Viskozite (cP)	Çirşlenme Başlangıç Sıcaklığı (°C)
H7D	-	-	6 d	22 g	-22 f	62c	95 a	6 g	22f	-22 h	62 def	95 a
H7P	-	-	17 b	194 b	120 b	105 b	86 bcd	34 b	100 b	24 b	198 b	87 bc
H7O	-	-	16 bc	239 a	130 a	130 a	92 a	45 a	522 a	107 a	1009 a	65 e
H7O-E-M3	20	2,0	13 bc	55 cd	18 cd	59 c	86 bcd	24 cde	52 cd	10 cd	68 de	91 ab
H7O-E-M3	100	2,0	11 cd	39 f	13 e	42 fg	81 f	16 ef	37 e	3 f	57 def	95 a
H7O-E-M3	40	2,5	12 bc	48 de	15 de	59 c	75 g	16 ef	37 e	7 de	52 ef	94 a
H7O-E-M3	80	2,5	10 cd	48 e	22 c	39 g	83 ef	15 f	42 de	9 cde	55 ef	91 ab
H7O-E-M3	60	3,0	14 bc	48 de	20 cd	46 ef	86 bc	25 cd	49 cde	6 ef	77 de	85 bcd
H7O-E-M3	40	3,5	17 b	59 c	19 cd	61 c	84 cde	23 cde	58 c	-3 g	119 c	79 d
H7O-E-M3	80	3,5	15 bc	55 cd	19 cd	51 d	83 def	17 def	37 e	10 cd	42 f	85 bcd
H7O-E-M3	20	4,0	23 a	57 c	22 c	48 de	88 b	29 bc	52 cd	7 de	81 d	80 cd
H7O-E-M3	100	4,0	15 bc	48 de	19 cd	45 ef	88 b	17 def	49 cde	11 c	65 def	91 ab

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

²H7: Hylon VII; D: Doğal nişasta; P: Pişirme; O: 121°C'de 30 dakika otoklav; E: Enzim ile modifikasyon; M3: 3 mikrodalga döngüsü

4.3. Yanıt Yüzey Yöntemi ile Modelleme

Enerji kaynağı olarak mikrodalga ışıını kullanarak enzime dirençli nişasta üretimi yanıt yüzey yöntemi (YYY) ile optimize edilmeye çalışılmıştır (Licata et al., 2015). Mikrodalga ışıını gücünün ve mikrodalga ışıını süresinin enzime dirençli nişasta oluşumu üzerine etkisini belirlemek ve EDN üretiminin maksimum olmasını sağlayabilecek noktaların tespiti amacıyla orta noktası çift tekrarlı olmak üzere Design Expert 7.0 programı ile belirlenen 9 ayrı noktada üretim yapılmıştır (Şekil 3.1). Bunun için mikrodalga ışıını gücü ve mikrodalga ışıını süresi bağımsız değişken olarak seçilmiştir. Tüm noktalar 1 ve 3 döngü mikrodalga uygulamasında ve ayrıca enzim (pullulanaz) hidrolizinin ardından 1 ve 3 döngü mikrodalga uygulamasında tekrarlanmıştır. Analizler sonucunda elde edilen yanıtlar yine Design Expert 7.0 programı kullanılarak olası doğrusal ve ikinci dereceden modeller cinsinden tek tek denenerek en uygun model belirlenmeye çalışılmıştır. Model denklemler ve analiz sonuçları karşılaştırılarak R² değerleri hesaplanmıştır (Avcı et al., 2013; Kahraman et al., 2015).

Enzim hidrolizi yapılan örneklerin sonuçları değerlendirildiğinde, sadece pullulanaz ile enzim hidrolizinin ardından 1 döngü mikrodalga-bekletme uygulaması ve liyofilizasyon ile kurutma işlemi uygulanmış örneklerin sonuçları doğrusal model oluşturmuş, diğer tüm örneklerin doğrusal ve ikinci dereceden model oluşturmaya uygun olmadığı tespit edilmiştir. Hidrolize örneklerin model ile belirlenen üretim koşulları ve EDN içerikleri Tablo 4.9'da verilmiştir. Enzim hidrolizi ve 1 döngü mikrodalga uygulanmış, liyofilizasyon ile kurutulmuş örneklerin EDN içerikleri için üretilen model denklem P: güç (%), t: süre (dakika) olmak üzere Denklem 4.1'de verilmiştir. Mikrodalga ışıını gücü %100, 800 Watt'a karşılık gelmektedir. Denklemin öngörüsüne göre güç değerleri EDN miktarını pozitif katsayılı etkilerken süre değerlerinin etkisi negatif yönde olmuştur.

$$\text{EDN (\%)} = 0,023 P - 1,75 t + 40,52 \quad (4.1)$$

Elde edilen model denklem kullanılarak örnekler için hesaplanan EDN içeriklerinin, deneysel verilerle karşılaştırılması durumunda R² değeri 0,6282 ve Adj R² değeri

0,5220 olarak hesaplanmıştır. Deneysel olarak belirlenen ve YYY ile hesaplanan EDN miktarları Tablo 4.17'de verilmiştir.

Tablo 4.17. Hylon VII nişasta örneğinde enzim hidrolizi, 1 döngü mikrodalga uygulaması ve liyofilizasyon ile kurutulan örneklere ait deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan EDN¹ miktarları

Üretim Koşulları		Deneysel olarak belirlenen EDN miktarı ¹ (%)	YYY ile hesaplanan EDN miktarı (%)
Mikrodalga Gücü (%)	Mikrodalga Süresi (dk)		
20	2,0	36,9	37,5
100	2,0	39,1	39,3
40	2,5	39,6	37,0
80	2,5	38,5	38,0
60	3,0	35,5	36,6
40	3,5	34,8	35,3
80	3,5	36,4	36,2
20	4,0	34,2	34,0
100	4,0	36,4	35,8

¹ EDN: Enzime Dirençli Nişasta

Enzim hidrolizi uygulanmayan örneklerin sonuçlarına bakıldığında, genel olarak model oluşturmaya uygun sonuçlar elde edildiği görülmektedir. 50°C'de kurutulan örneklerde hem 1 hem 3 döngü mikrodalga uygulaması ile doğrusal model oluşturdukları görülmektedir. Modellerin üretim koşulları ve EDN içerikleri sırasıyla Tablo 4.1 ve Tablo 4.2'de verilmiştir. 1 ve 3 döngü mikrodalga uygulanmış ve 50°C'de kurutulmuş örneklerin EDN içerikleri için üretilen model denklemler P: güç (%), t: süre (dakika) olmak üzere sırasıyla Denklem 4.2 ve Denklem 4.3'te verilmiştir.

$$\text{EDN (\%)} = (-8,75 * 10^{-3}) P - 1,41 t + 41,12 \quad (4.2)$$

$$\text{EDN (\%)} = -0,033 P - 1,40 t + 46,69 \quad (4.3)$$

Her iki uygulamada da güç ve süre etkileri negatif katsayılı olarak EDN oluşumunu etkilemektedir. Elde edilen model denklemler kullanılarak örnekler için hesaplanan EDN içeriklerinin, deneysel verilerle karşılaştırılması durumunda R^2 değerleri 1 ve 3 döngü mikrodalga uygulamaları için sırasıyla 0,6528 ve 0,6183 olarak hesaplanmıştır. Adj R^2 değerleri ise 1 döngü mikrodalga uygulanan örnek için 0,5535, 3 döngü mikrodalga uygulanan örnek için 0,5092 olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar her iki döngüde de EDN oluşumunda sürenin etkisinin birbirine yakın olduğunu, güç parametresinin 3 döngü mikrodalgada 1 döngüden daha önemli rol oynadığını göstermektedir. Deneysel olarak belirlenen ve YYY ile hesaplanan EDN miktarları 1 ve 3 döngü için sırasıyla Tablo 4.18 ve Tablo 4.19’da verilmiştir.

Tablo 4.18. Hylon VII nişasta örneğinde 1 döngü mikrodalga uygulaması ve 50°C’de kurutulan örneklere ait deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan EDN¹ miktarları

Üretim Koşulları		Deneysel olarak belirlenen EDN miktarı (%)	YYY ile hesaplanan EDN miktarı (%)
Mikrodalga Gücü (%)	Mikrodalga Süresi (dk)		
20	2,0	38,4	38,1
100	2,0	37,3	37,4
40	2,5	35,9	37,2
80	2,5	38,0	36,9
60	3,0	36,7	36,4
40	3,5	36,3	35,8
80	3,5	34,1	35,5
20	4,0	35,5	35,3
100	4,0	34,9	34,6

¹EDN: Enzime Dirençli Nişasta

Tablo 4.19. Hylon VII nişasta örneğinde 3 döngü mikrodalga uygulaması ve 50°C’de kurutulan örneklere ait deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan EDN¹ miktarları

Üretim Koşulları		Deneysel olarak belirlenen EDN miktarı ¹ (%)	YYY ile hesaplanan EDN ² miktarı (%)
Mikrodalga Gücü (%)	Mikrodalga Süresi (dk)		
20	2,0	43,4	43,2
100	2,0	39,2	40,6
40	2,5	43,3	41,9
80	2,5	42,4	40,6
60	3,0	39,3	40,5
40	3,5	39,8	40,5
80	3,5	39,9	39,2
20	4,0	40,3	40,4
100	4,0	38,3	37,8

¹EDN: Enzime Dirençli Nişasta

Kurutma yöntemleri karşılaştırıldığında sonuçların oluşturduğu modelin de değiştiği görülmektedir. Liyofilizasyon ile kurutulmuş 3 mikrodalga döngüsü uygulanmış örneklerin sonuçları ikinci dereceden model oluşturmuştur. Modelin üretim koşulları ve EDN içerikleri Tablo 4.2’de verilmiştir. Liyofilizasyon ile kurutulmuş 3 döngü mikrodalga uygulanmış örneklerin EDN içerikleri için üretilen model denklem P: güç (%), t: süre (dakika) olmak üzere Denklem 4.4’te verilmiştir.

$$EDN (\%) = 5,29 * 10^{-4} P^2 + 3,38 * 10^{-4} P * t - 0,08 P - 0,11 t + 36,14 \quad (4.4)$$

Denklem sonuçlarına göre, güç parametresi 3 mikrodalga döngüsünde EDN oluşumunu ikinci dereceden etkilerken, güç ve süre sadece ayrı ayrı etki göstermekle kalmayıp birlikte de oluşacak EDN miktarını belirlediği görülmektedir. Elde edilen model denklemler kullanılarak örnekler için hesaplanan EDN içeriklerinin, deneysel verilerle karşılaştırılması durumunda R² değeri 0,8250, Adj R² değeri ise 0,6851 hesaplanmıştır. Deneysel olarak belirlenen ve YYY ile hesaplanan EDN miktarları Tablo 4.20’de verilmiştir.

Tablo 4.20. Hylon VII nişasta örneğinde 3 döngü mikrodalga uygulaması ve liyofilizasyon ile kurutulan örneklere ait deneysel olarak belirlenen ve yanıt yüzey yöntemiyle hesaplanan EDN¹ miktarları

Üretim Koşulları		Deneysel olarak belirlenen EDN miktarı (%)	YYY ile hesaplanan EDN miktarı (%)
Mikrodalga Gücü (%)	Mikrodalga Süresi (dk)		
20	2,0	34,6	34,5
100	2,0	33,5	33,3
40	2,5	33,5	33,5
80	2,5	32,8	32,9
60	3,0	33,5	33,0
40	3,5	33,3	33,4
80	3,5	32,6	32,8
20	4,0	34,5	34,3
100	4,0	33,5	33,1

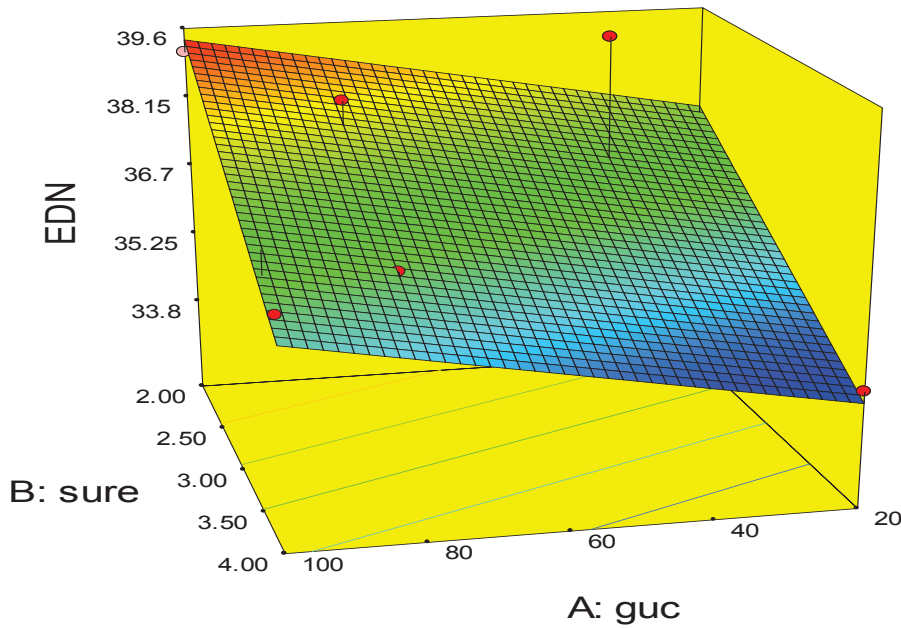
¹ EDN: Enzime Dirençli Nişasta

Yukarıda belirtilen koşullarda üretilen örneklerin EDN içeriklerinin tahmininde elde edilen model denklemlerin başarılı sonuç verdiği söylenebilir.

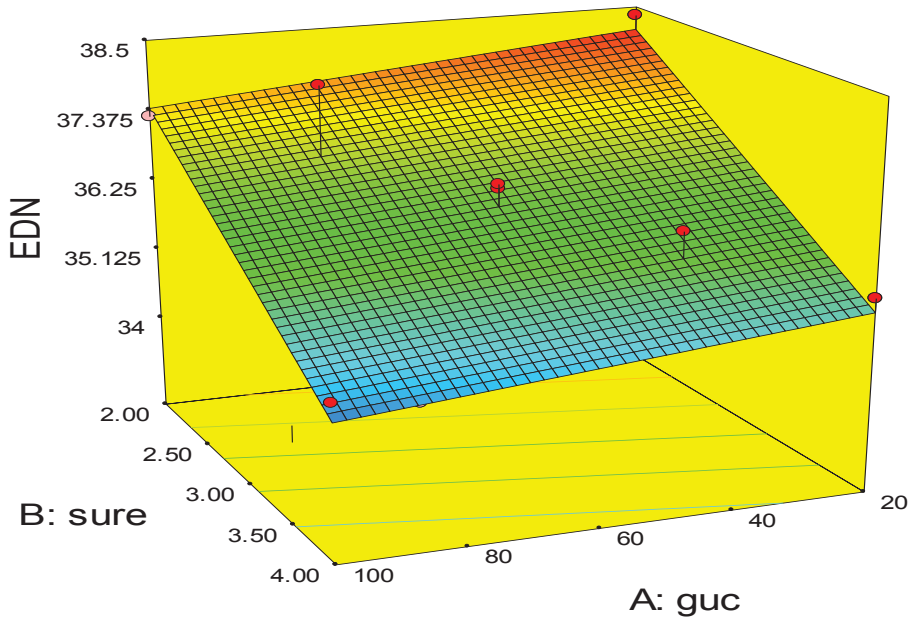
Hylon VII yüksek amilozlu mısır nişastaları için YYY ile hesaplanan EDN içeriği verilerine ait yüzey grafikleri sırasıyla Şekil 4.10, Şekil 4.11, Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'te verilmiştir. Genel olarak yanıt yüzey yönteminde bağımsız değişkenlerin değiştirilmesi ile bağımlı değişken (yanıt) önce bir maksimum veya minimum değere ulaşır (optimum), bu noktaya ulaştıktan sonra tekrar azalma veya artış göstermesi beklenir. Ancak bazı pratik uygulamalarda bağımsız değişkenlerin alabileceği değerler sınırlıdır ve yanıtın bu maksimum veya minimuma ulaşması mümkün olmayabilir (Kahraman, 2011). Bu çalışmada elde edilen grafiklerden Şekil 4.10, Şekil 4.11 ve Şekil 4.12 incelendiğinde de EDN içeriklerinin mikrodalga ışıyım gücü ve süresindeki değişimlerle birlikte değiştiği ancak güç ve süre için deneyde kullanılan sınırlar arasında bir optimuma ulaşmadığı, maksimum değerlerin sınırlar dışında gerçekleştiği görülmektedir. EDN miktarını belirlemek için kullanılan yöntemin Tip2 ve Tip3 ayırımını sağlayamaması nedeniyle toplam EDN miktarları tespit edilmiş, Tip3 EDN miktarı kesin olarak belirlenememiştir. Bu nedenle toplam

EDN miktarı belirgin bir artış ya da azalış gösterememiştir ve EDN içeriği bakımından bir maksimum değere ulaşmak mümkün olmamıştır.

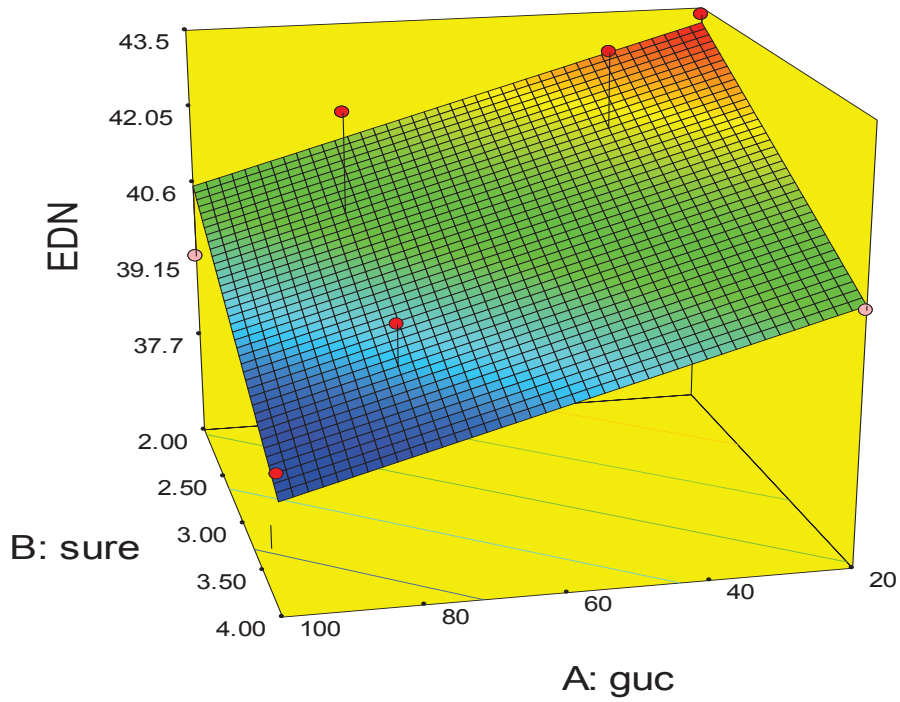
Liyofilizasyon ile kurutulmuş 3 mikrodalga döngüsü uygulanmış örneklerin sonuçlarının grafiğini içeren Şekil 4.13'te EDN miktarının azalarak minimum bir değere ulaştığı ve ardından tekrar yükselişe geçtiği görülmektedir. Yüksek şiddet-yüksek süreler ile düşük şiddet-düşük sürelerde EDN oluşumlarının arttığı, orta değerlerde ise üretimin en düşük seviyede kaldığı görülmektedir. Düşük şiddet-süre uygulamalarında Hylon VII yüksek amilozlu mısır nişastasının yapısında doğal olarak bulunan Tip2 EDN miktarı yüksek değerlerin sebebi olarak düşünülürken, yüksek şiddet-süre uygulamalarında Tip2'den Tip3'e dönüşen EDN miktarlarının artışı oluşturduğu düşünülmektedir.



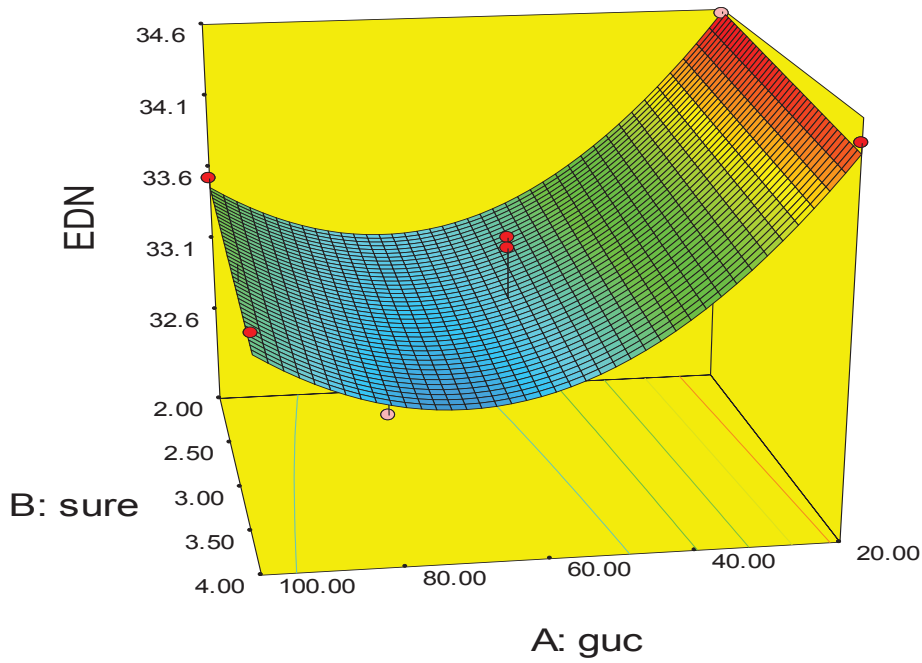
Şekil 4.10. Hylon VII nişasta örneğinden enzim hidrolizi, 1 döngü mikrodalga ve liyofilizasyon ile kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklerin EDN içeriği verilerine ait yüzey grafiği



Şekil 4.11. Hylon VII nişasta örneğinden 1 döngü mikrodalga ve 50°C’de kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklerin EDN içeriği verilerine ait yüzey grafiği



Şekil 4.12. Hylon VII nişasta örneğinden 3 döngü mikrodalga ve 50°C’de kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklerin EDN içeriği verilerine ait yüzey grafiği



Şekil 4.13. Hylon VII nişasta örneğinden 3 döngü mikrodalga ve liyofilizasyon ile kurutma işlemi uygulanarak üretilen örneklerin EDN içeriği verilerine ait yüzey grafiği

4.4. Yorum

Bu çalışmada enzim hidrolizi, 1 ve 3 döngü mikrodalga-bekletme uygulaması ve liyofilizasyon ve 50°C kurutma olmak üzere farklı parametreler kullanılarak yüksek amilozlu mısır nişastasının EDN içeriği arttırılmaya çalışılmıştır. Genel olarak sonuçlar mikrodalga döngüleri ve kurutma yöntemleri ile değişim gösteren birbirinden farklı değerler ortaya koymuştur. Doğal Hylon VII mısır nişastasının sindirilebilirliği enzimsiz örneklerde mikrodalga döngü sayısının arttırılmasıyla ve ayrıca enzim modifikasyonu ile azalmıştır. Tüm örneklerde 50°C’de kurutma işlemi uygulananların EDN miktarları liyofilizasyon ile kurutulanlara göre yüksek çıkmıştır. EDN içeriği en fazla (~ %47) enzim ile hidrolize edildikten sonra mikrodalga-bekletme döngüleri uygulanmış ve 50°C’de kurutulmuş örneklerde elde edilmiştir. En düşük EDN miktarı (~ %31) ise enzim modifikasyonu yapılmamış ve 1 döngü mikrodalga uygulanmış ve liyofilizasyon ile kurutulmuş örneklerde elde edilmiştir.

Çözünürlük değerleri doğal Hylon VII mısır nişastasına göre artış göstermiş, pişmiş ve otoklavlanmış kontrollerine göre değerlerini korumuş ya da artış göstermiştir. Çözünürlük değerleri mikrodalga döngü sayısından kaynaklanan belirgin bir değişiklik göstermezken, kurutma yöntemleri arasında fark olmuştur. Liyofilize örneklerin çözünürlük değerleri her uygulamada 50°C’de kurutulanlara göre yüksek çıkmıştır. Enzim hidrolizi çözünürlük değerlerinde genel olarak artan bir etki yaratmıştır. En yüksek çözünürlük değerleri enzim ile hidrolize edilmiş, 3 döngü mikrodalga uygulanmış liyofilize örneklerde (~ %4) elde edilmiştir. En düşük çözünürlük değerleri ise hidrolize edilmemiş, 1 döngü mikrodalga uygulanmış ve 50°C’de kurutulmuş örneklerde (~ %1,5) elde edilmiştir.

Su bağlama değerleri Hylon VII’ye göre tüm uygulamalarda artarken pişirme ve otoklav uygulanan örneklere göre aynı kalmış ya da azalmıştır. Tüm uygulamalarda liyofilize örneklerin yüksek sıcaklıkta kurutulanlara göre su bağlamaları yüksek çıkmıştır. Enzimsiz örneklerde mikrodalga döngü sayısı su bağlama değerleri üzerinde etki göstermemiştir. Enzim ile hidroliz uygulamasının ardından yüksek sıcaklıkta kurutulan örneklerin su bağlamaları azalmış ve mikrodalga döngü sayısının değişmesi ile farklılık oluşmamıştır. Liyofilize örneklerde ise enzim hidrolizi su bağlama değerlerini 1 döngü mikrodalga uygulamasında arttırmış, döngü sayısının artması ile su bağlama azalmıştır. En yüksek su bağlama değerleri (~ %430) enzim ile hidrolize edilmiş ve 1 döngü mikrodalga uygulanmış liyofilize örneklerden elde edilirken, en düşük değerlere de (~ %230) aynı koşulların 50°C’de kurutulanlarında rastlanmıştır.

Renk değişimi üzerinde, mikrodalga döngü sayısı enzim hidrolizine göre daha etkili olmuştur. 50°C’de kurutulan örneklerin L* değerlerinde doğal Hylon VII’ye göre sürekli bir azalma gözlenmiş, en fazla değişim enzim ile hidroliz ve 3 döngü mikrodalga uygulanmış örneklerde olmuştur. Enzim uygulanmamış liyofilize örneklerin L* değerleri doğal Hylon VII’ye en yakındır. Enzim uygulanmamış 1 döngü mikrodalga uygulanmış liyofilize örneklerin ise a* ve b* değerleri doğal nişastanın rengine en yakındır. Genel olarak mikrodalga-bekletme döngü sayısının artmasıyla L* değerlerinde azalma ve b* değerlerinde artış olmuştur. Bu önemli renk

değişimi son üründe istenmeyen renk özelliklerine neden olabileceği için mikrodalga-bekletme döngüsü sayısı daha fazla arttırılmamıştır.

Viskozite değerlerinin mikrodalga ve kurutma yöntemleri ile değişimi çeşitlilik göstermektedir. Tüm viskozite değerleri, enzim uygulananların son viskoziteleri hariç, doğal Hylon VII'ye göre artmış, çirilenme sıcaklıkları azalmıştır. Isıtma öncesi viskozite değerleri tüm uygulamalarda liyofilize örneklerde 50°C'ye göre daha yüksek çıkmıştır. 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 (Köksel et al., 2008). 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. Mikrodalga döngü sayısının artması ve enzim modifikasyonu ısıtma öncesi viskozite değerlerini düşürmüştür. Maksimum viskozite değerleri döngü sayısının artması ile azalmıştır. Yüksek sıcaklıkta kurutulan örneklerin maksimum viskoziteleri enzim modifikasyonu ile azalırken liyofilize örneklerinki artış göstermiştir. Karıştırma ile viskozite değişimi liyofilize örneklerde ve döngü sayısının arttığı örneklerde daha düşük çıkmıştır. Son viskozite değerleri mikrodalga uygulamasının artması ve enzim hidrolizi ile giderek azalmıştır. Çirilenme sıcaklıkları, yüksek kurutma sıcaklığı ve mikrodalga döngülerinde düşüş göstermiştir.

Yanıt yüzey yöntemi kullanılarak modelleri çıkarılan örneklerde, enzim hidrolizi uygulanmayanların uygulananlara göre daha belirgin farklar yaratarak model oluşturmaya elverişli olduğu görülmüştür. Hem doğrusal hem de ikinci dereceden modeller oluşturulmuştur. R² değerlerine göre analiz verileri ile modelleme sonuçları birbiri ile tutarlı sonuçlar ortaya koymuştur.

Gıda endüstrisi; nişastanın enzimatik, kimyasal ve fiziksel modifikasyonları ve bitki ıslahı ile dirençli nişasta üretimine yoğun ilgi göstermektedir. Yapılan çalışmalar ve araştırmalar göstermektedir ki piyasanın modifiye nişastalara talebi giderek artmaya devam edecektir. Bu doğrultuda daha güvenli, daha kolay ve daha düşük maliyetli nişasta modifikasyonu yöntemleri türetilmeli, hali hazırda kullanılanlar geliştirilmelidir. Son yirmi yılda, dirençli nişasta üretiminde birçok metot geliştirilmiştir. Bu yöntemlere bir örnek olan mikrodalga ışıını enerji; hem uygulama pratikliği açısından, hem düşük maliyetli enerji kaynağı olması açısından, hem de kimyasal uygulamalara alternatif oluşturması açısından giderek ilgi görmeye başlamıştır. Yapılan çalışmaların standartlaştırılması, yeni alanlarda denenmesi ve kullanımının daha da kolaylaştırılması için çalışmaların artarak devam etmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

AACC, Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 10th ed. The Association, St. Paul, MN, USA, 2000.

ABERLE, T., BURCHARD, W., HANSELMANN, R., MICHEL, E., KLINGLER, R. W., and GALINSKY, G., Particularities in the structure of amylopectin, amylose and some of their derivatives in solution. In *Macromolecular Symposia*, Hüthig & Wepf Verlag, 120(1):47-63, 1997.

AI, Y., and JANE, J. L., Gelatinization and rheological properties of starch. *Starch-Stärke*, 67(3-4):213-224, 2015.

AKERBERG, A., LILJEBERG, H., and BJORCK, I., Effects of amylose/amylopectin ratio and baking conditions on resistant starch formation and glycemic index. *Journal of Cereal Science*, 28:71–80, 1998.

ANDERSON, A. K., and GURAYA, H. S., Effects of microwave heat-moisture treatment on properties of waxy and non-waxy rice starches. *Food Chemistry*, 97(2):318-323, 2006.

AOAC, Official Methods of Analysis of The Association of Analytical Chemistst, Association of Official Chemistst, Arlingo, VA, 1998.

ARAVIND, N., SISSONS, M., FELLOWS, C. M., BLAZEK, J., and GILBERT, E. P., Optimisation of resistant starch II and III levels in durum wheat pasta to reduce in vitro digestibility while maintaining processing and sensory characteristics. *Food Chemistry*, 136(2): 1100-1109, 2013.

ARES, G., BAIXAULI, R., SANZ, T., VARELA, P. and SALVADOR, A., New functional fibre in milk puddings: Effect on sensory properties and consumers' acceptability. *LWT - Food Science and Technology*, 42:710–716, 2009.

ARIK E. A., GÖNENÇ L. ve US F., Farklı Amiloz İçerikli Mısır Nisastalarının Retrogradasyonu, Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum, Türkiye, 21-23 Mayıs, 2008.

ASHWAR, B. A., GANI, A., SHAH, A., WANI, I. A., and MASOODI, F. A., Preparation, health benefits and applications of resistant starch—a review. *Starch-Stärke*, 67:1-15, 2015.

AVCI, A., SAHA, B. C., DIEN, B. S., KENNEDY, G. J., and COTTA, M. A., Response surface optimization of corn stover pretreatment using dilute phosphoric acid for enzymatic hydrolysis and ethanol production. *Bioresource Technology*, 130:603-612, 2013.

BAGHURST, P. A., BAGHURST, K. I., and RECORD, S. J., Dietary fibre, non-starch polysaccharides and resistant starch – A review. *Food Australia*, 48:3–35, 1996.

BAIXAULI, R., SANZ, T., SALVADOR, A. and FISZMAN, S. M., Muffins with resistant starch: Baking performance in relation to the rheological properties of the batter. *Journal of Cereal Science*, 47:502–509, 2008.

BILBAO-SAINZ, C., BUTLER, M., WEAVER, T. and BENT, J., Wheat starch gelatinisation under microwave irradiation and conduction heating. *Carbohydrate Polymers*, 69:224– 232, 2007.

BILIADERIS CG., Thermal analysis of food carbohydrates. In: *Thermal analysis of foods*; Harwalkar VR, Ma CY, (Ed.), Elsevier Applied Science Publishers, New York, 168-220, 1990.

BOGRACHEVA, T. Y., WANG, Y. L., and HEDLEY, C. L., The effect of water content on the ordered/disordered structures in starches. *Biopolymers*,58(3):247-259, 2001.

BRASOVEANU, M., and NEMTANU, M. R., Behaviour of starch exposed to microwave radiation treatment. *Starch-Stärke*, 66(1-2):3-14, 2014.

BRENNAN, C. S., Dietary fibre glycaemic response, and diabetes. *Molecular Nutrition and Food Researches*, 49:560-570, 2005.

BROWN, I.L., Complex carbohydrates and resistant starch. *Nutritional Reviews*, 54:115-119, 1996.

CAMPBELL, M. R., JANE, J., POLLAK, L., BLANCO, M., and O'BRIEN, A., Registration of maize germplasm line GEMS-0067. *Journal of Plant Registrations*, 1:60-61, 2007.

CHANG, P. S., LEE, J., and LEE, J., Development of a new colorimetric method determining the yield of microencapsulation of α -tocopherol. *Journal of Cereal Science*, 53:7385–7389, 2005.

CHARALAMPOPOULOS,D., WANG, R., PANDIELLA, S. S. and WEBB, C., Application of cereals and cereal components in functional foods: A review. *International Journal Food Microbiology* 79:131–141, 2002.

CHUNG, H. J., JEONG, H. Y. and LIM, S.-T., Effects of acid hydrolysis and defatting on crystallinity and pasting properties of freeze-thawed high amylose corn starch. *Carbohydrate Polymers*, 54:449-455, 2003.

CHUNG, H. J., LIM, H. S., and LIM, S. T., Effect of partial gelatinization and retrogradation on the enzymatic digestion of waxy rice starch. *Journal of Cereal Science*, 43:353–359, 2006.

CHUNG, H. J., LIU, Q. and HOOVER, R., Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. *Carbohydrate Polymers*, 75:436–447, 2009.

CHUNG, K. M., MOON, T. W., and CHUN, J. K., Influence of annealing on gel properties of mung bean starch. *Cereal Chemistry*, 77(5):567-571, 2000.

CLARK, D. E., FOLZ, D. C. and WEST, J. K., Processing materials with microwave energy. *Material Science and Engineering: A*, 287:153–158, 2000.

CUMMINGS, J. H. and STEPHEN, A. M., Carbohydrate terminology and classification. *European Journal of Clinic Nutrition*, 61:5–18, 2007.

DAGLIOGLU, O., TASAN, M., and TUNCEL, B., Effects of microwave and conventional baking on the oxidative stability and fatty acid composition of puff pastry. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 77:543–545, 2000.

DECAREAU, R. V., and PETERSON, R. A., In *Microwave processing and Engineering*. Ellis Horwood Ltd. & Weinheim, Federal Republic of Germany; VCH Verlagsgesellschaft, 1986.

DU, Y., ZANG, Y. H., and DU, J., Effects of starch on latex migration and on paper coating properties. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 50(16):9781-9786, 2011.

DUGGAN, E., NORONHA, N., O'RIORDAN, E. D. and O'SULLIVAN, M., Effect of resistant starch on the water binding properties of imitation cheese. *Journal of Food Engineering* 84:108–115, 2008.

DUNDAR, A. N., and GOCMEN, D., Effects of autoclaving temperature and storing time on resistant starch formation and its functional and physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 97(2):764-771, 2013.

EERLINGEN, R. C., and DELCOUR, J. A., Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. *Journal of Cereal Science*, 22(2):129-138, 1995.

EERLINGEN, R. C., JACOBS, H., and DELCOUR, J. A., Enzyme resistant starch. V. Impact of amylopectin retrogradation on enzyme susceptibility. *Cereal Chemistry*, 71:351–355, 1994.

EERLINGEN, R.C. and DELCOUR, J.A., Glastransitie in voedingspolymeersystemen: de zetmeelverstijfseling. *Her Ingenieursblad*, 61:50-54, 1992.

EMAMI, S., PERERA, A., MEDA, V., and TYLER, R. T., Effect of microwave treatment on starch digestibility and physico-chemical properties of three barley types. *Food and Bioprocess Technology*, 5(6):2266-2274, 2012.

ENGLYST, H. N., and HUDSON, G. J., The classification and measurement of dietary carbohydrates. *Food Chemistry*, 57(1):15–21, 1996.

ENGLYST, H. N., KINGMAN, S. M. And CUMMINGS, J. H., Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinic Nutrition* 46:33–50, 1992a.

ENGLYST, H. N., QUIGLEY, M. E., HUDSON, G. J. and CUMMINGS, J. H., Determination of dietary fibre as non starch polysaccharides by gas-liquid chromatography. *Analyst*, 117:1707–1714, 1992b.

ENGLYST, H. N., TROWELL, H., SOUTHGATE, D. A. T. And CUMMINGS, J. H., Dietary fiber and RS. *American Journal of Clinic Nutrition*, 46:873–874, 1987.

ESPIRITO-SANTO, A. P., LAGAZZO, A., SOUSA, A. L. O. P. and PEREGO, P., Rheology, spontaneous whey separation, microstructure and sensorial characteristics of probiotic yoghurts enriched with passion fruit fiber. *Food Research International*, 50:224–231, 2013.

FAN, D., MA, W., WANG, L., HUANG, J., ZHAO, J., ZHANG, H., and CHEN, W., Determination of structural changes in microwaved rice starch using Fourier transform infrared and Raman spectroscopy. *Starch-Stärke*, 64(8):598-606, 2012.

FARAJ, A., VASANTHAN, T. And HOOVER, R., The effect of extrusion cooking on resistant starch formation in waxy and regular barley flours. *Food Research International*. 37:517–525, 2004.

FRENCH, D., Organization of starch granules. *Starch-Stärke, Chemistry and Technology*, 2:183-247, 1984.

FROHBERG, C. And QUANZ, M., Use of Linear Poly-Alpha-1,4- Glucans as Resistant Starch. United States Patent Application 20080249297, Available on line at: <http://www.wipo.int/pctdb/en/wo.jsp?WO¼2005040223>, 2008.

FUENTES-ZARAGOZA, E., RIQUELME-NAVARRETE, M. J., SÁNCHEZ-ZAPATA, E., and PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A., Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*, 43:931–942, 2010.

FUENTES-ZARAGOZA, E., SÁNCHEZ-ZAPATA, E., SENDRA, E., SAYAS, E., NAVARRO, C., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., and PÉREZ-ALVAREZ, J. A., Resistant starch as prebiotic: A review. *Starch-Stärke*, 63(7):406-415, 2011.

GELENCSÉR, T., GÁL, V., HÓDSÁGI, M. and SALGÓ, A., Evaluation of quality and digestibility characteristics of resistant starch enriched pasta. *Food Bioprocess Technology* 1:171–179, 2008.

GERARD, C., PLANCHOT, V., BULEON, A., and COLONNA, P., Crystalline structure and gelatinisation behaviour of genetically modified maize starches. In P. Colonna & S. Guilbert, *Biopolymer science: food and non food applications*, Les Colloques Paris: INRA, 91:59–63, 1999.

GUDMUNDSSON M., Retrogradation of starch and role of its components. *Thermochimica Acta*, 246:329-341, 1994.

GURAYA, H. S., JAMES, C., and CHAMPAGNE, E. T., Effect of enzyme concentration and storage temperature on the formation of slowly digestible starch from cooked debranched rice starch. *Starch-Stärke*, 53(3-4):131-139, 2001.

HAN, J. A. and BeMiller, J. N., Preparation and physical characteristics of slowly digesting modified food starches. *Carbohydrate polymers*, 67(3):366-374, 2007.

HAN, X. Z., AO, Z., JANASWAMY, S. and JANE, J. L., Development of a low glycemic maize starch: Preparation and characterization. *Biomacromolecules* 7: 1162– 1168, 2006.

HARALAMPU, S. G., Resistant starch—a review of the physical properties and biological impact of RS 3. *Carbohydrate Polymers*, 41(3):285-292, 2000.

HASHIMOTO, N., ITO, Y., HAN, K. H., SHIMADA, K. I., SEKIKAWA, M., TOPPING, D. L., BIRD, A., R., NODA, T., CHIJI, H. and FUKUSHIMA, M., Potato pulps lowered the serum cholesterol and triglyceride levels in rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 52(6): 445-450, 2006.

HASJIM, J., SRICHUWONG, S., SCOTT, M. P., and JANE, J.-L., Kernel composition, starch structure, and enzyme digestibility of opaque-2 maize and quality protein maize. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57:2049-2055, 2009.

HELLWIG, J. P., OTTEN, J. J., MEYERS, L. D., *Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements*, National Academies Press, Washington, D.C, 1, 2006.

HERNANDEZ, O., EMALDI, U. and TOVAR, J., In vitro digestibility of edible films from various starch sources. *Carbohydrate Polymers*, 71:648–655, 2008.

HIGGINS, J. A., HIGBEE, D. R., DONAHOO, W. T., BROWN, I. L., BELL, M. L., and BESSESEN, D. H., Resistant starch consumption promotes lipid oxidation. *Nutrition and Metabolism* 1(8):1-11, 2004.

HÓDSÁGI, M., JÁMBOR, Á., JUHÁSZ, E., GERGELY, S., GELENCSÉR, T., and SALGÓ, A., Effects of microwave heating on native and resistant starches. *Acta Alimentaria*, 41(2):233-247, 2012.

HOLM, J., BJORCK, I., ASP, N. G., SJOBERG, L.-B., and LUNDQUIST, I., Starch availability in vitro and in vivo after flaking, steam cooking and popping of wheat. *Journal of Cereal Science*, 3:193–206, 1985.

HOMAYOUNI, A., AMINI, A., KESHTIBAN, A. K., MORTAZAVIAN, A. M., ESAZADEH, K., and POURMORADIAN, S., Resistant starch in food industry: A changing outlook for consumer and producer. *Starch-Stärke*, 66(1-2):102-11, 2014.

HOMAYOUNI, A., AZIZI, A., EHSANI, M. R., YARMAND, M. S. and RAZAVI, S. H., Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry* 111:50–55, 2008.

HOOVER, R., and VASANTHAN, T., The flow properties of native, heat-moisture treated, and annealed starches from wheat, oat, potato and lentil. *Journal of Food Biochemistry*, 18(2):67-82,1994.

HORMDOK, R., and NOOMHORM, A., Hydrothermal treatments of rice starch for improvement of rice noodle quality. *LWT-Food Science and Technology*, 40(10):1723-1731, 2007.

HOSENEY R.,C., *Principles of cereal science and technology*; AACC Inc. St Paul, Minnesota, 378, 1994.

HTOON, A., SHRESTHA, A. K., FLANAGAN, B. M., LOPEZ-RUBIO, A., BIRD, A. R., GILBERT, E. P., and GIDLEY, M. J., Effects of processing high amylose maize starches under controlled conditions on structural organisation and amylase digestibility. *Carbohydrate Polymers*, 75(2):236-245, 2009.

IYER, C. and KAILASAPATHY, K., Effect of co-encapsulation of probiotics with prebiotics on increasing the viability of encapsulated bacteria under in vitro acidic and bile salt conditions and in yogurt. *Journal Food Science* 70:18–23, 2005.

JAMES, M. G., DENYER, K., and MYERS, A. M., Starch synthesis in the cereal endosperm. *Current Opinion in Plant Biology*, 6:215-222, 2003.

JANE, J., CHEN, Y. Y., LEE, L. F., MCPHERSON, A. E., WONG, K. S., RADOSAVLJEVIC, M., and KASEMSUWAN, T., Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. *Cereal Chemistry*, 76:629-637, 1999.

JANE, J., KASEMSUWAN, T., CHEN, J. F., and JULIANO, B. O., Phosphorus in rice and other starches. *Cereal Foods World*, 41:827-832, 1996.

JANE, J., XU, A., RADOSAVLJEVIC, M., and SEIB, P. A., Location of amylose in normal starch granules. I. Susceptibility of amylose and amylopectin to cross-linking reagents. *Cereal Chemistry*, 69:405-409, 1992.

JANE, J.-L. Starch: structure and properties. In P. TOMASIK., *Chemical and Functional Properties of Food Saccharides*, New York: CRC Press, 13:81-101, 2004.

JANE, J.-L., AO, Z., DUVICK, S. A., WIKLUND, M., YOO, S.-H., WONG, K.-S., and GARDNER, C., Structures of amylopectin and starch granules: How are they synthesized? *Journal of Applied Glycoscience*, 50:167-172, 2003.

JENKINS, P. J. and DONALD, A. M., The influence of amylose on starch granule structure. *International Journal of Biological Macromolecules*, 17(6):315-321, 1995.

JEONG, H-Y. and LIM, S-T., Crystallinity and pasting properties of freeze-thawed high amylose maize starch. *Starch/Stärke*, 55:511-517, 2003.

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

JIANG, H., CAMPBELL, M., BLANCO, M., and JANE, J., Characterization of maize amylose-extender (ae) mutant starches. Part II: Structures and properties of starch residues remaining after enzymatic hydrolysis at boiling-water temperature. *Carbohydrate Polymers*, 80:1-12, 2010.

JIANG, H., Resistant-starch formation in high-amylose maize starch. Graduate Theses and Dissertations, 2010.

JIANG, Q., XU, X., JIN, Z., TIAN, Y. HU, X., and BAI, Y., Physico-chemical properties of rice starch gels: Effect of different heat treatments. *Journal Food Engineering* 107:353–357, 2011.

KAHRAMAN, K., Farklı nişasta kaynaklarından çapraz bağlı nişasta üretimi ve karakterizasyonu, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, Doktora Tezi, 2011.

KAHRAMAN, K., KOKSEL, H., and NG, P. K., Optimisation of the reaction conditions for the production of cross-linked starch with high resistant starch content. *Food Chemistry*, 174:173-179, 2015.

KANDANSAMY, K. and SOMASUNDARAM, P. D., Microencapsulation of colors by spray drying – A review. *International Journal of Food Engineering* 8(2), 2012.

KARAPANTSIOS T. D., SAKONIDOU E. P. and RAPHAELIDES S. N., Water dispersion kinetics during starch gelatinization. *Carbohydrate Polymers* 49:479-490, 2002.

KARIM A. A., NORZIAH M. H. and SEOW C. C., Methods for the study of starch retrogradation. *Food Chemistry*, 71:939, 2000.

KASEMSUWAN, T. and JANE, J., Location of amylose in normal starch granules. II. Locations of phosphodiester crosslinking revealed by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance. *Cereal Chemistry*, 71:282-287, 1994.

KIBAR, E. A. A., GONENC, I. and US, F., Gelatinization of waxy, normal and high amylose corn starches. *The Journal of Food*, 35:237-244, 2010.

KIM, M. J., CHOI, S. J., SHIN, S. I., SOHN, M. R., LEE, J. C., KIM, Y., CHO, I. W. and MOON, T. W., Resistant glutarate starch from adlay: Preparation and properties. *Carbohydrate Polymers* 74:787–796, 2008.

KIM, N. H., KIM, J. H., LEE, S., LEE, H., YOON, J. W., WANG, R., and YOO, S. H., Combined effect of autoclaving-cooling and cross-linking treatments of normal corn starch on the resistant starch formation and physicochemical properties. *Starch-Stärke*, 62(7):358-363, 2010.

KIM, S. K. and KWAK, J. E., Estimation of resistant starch content of high-amylose corn starch. *Food Science Biotechnology*, 13:1–74, 2004.

KINGMAN, S. M. and ENGLYST, H. N., The influence of food preparation methods on the in-vitro digestibility of starch in potatoes. *Food Chemistry*, 49:186–281, 1994.

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

KOKSEL, H., MASATCIOGLU, T., KAHRAMAN, K., OZTURK, S. and BASMAN, A., Improving effect of lyophilization on functional properties of resistant starch preparations formed by acid hydrolysis and heat treatment. *Journal of Cereal Science*, 47(2):275-282, 2008.

KORUS, J., WITCZAK, M., ZIOBRO, R. and JUSZCZAK, L., The impact of resistant starch on characteristics of gluten-free dough and bread. *Food Hydrocolloids*, 23:988–995, 2009.

LAGUNA, L., VARELA, P., SALVADOR, A., SANZ, T. and FISZMAN, S. M., Balancing texture and other sensory features in reduced fat short-dough biscuits. *Journal of Texture Studies*, 43:235–245, 2012.

LEACH H. W., Gelatinization of starch. In: *Starch: chemistry and technology*. Whistler RL, Paschall, EF (Ed.), Academic Press Inc., New York, 1:289-307, 1965.

LEE, K. Y., LEE, S. and LEE, H. G., Influence of storage temperature and autoclaving cycles on slowly digestible and resistant starch (RS) formation from partially debranched rice starch. *Starch-Stärke*, 65(7-8):694-701, 2013.

LEEMAN, A. M., KARLSSON, M. E., ELIASSON, A. C. and BJORCK, I. M. E., Resistant starch formation in temperature treated potato starches varying in amylose/amylopectin ratio. *Carbohydrate Polymers*, 65(3):306–313, 2006.

LEHMANN, U. and ROBIN, F., Slowly digestible starches structure and health implications: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(7):346-355, 2007.

LEVINE, H. and SLADE L., In 'Dough Rheology and Baked Product Texture' (H. Faridi and J.M. Faubion, eds) Van Nostrand Reinhold, New York, 1990.

LEWANDOWICZ, G., FORNAL, J. and WALKOWSKI, A., Effect of microwave radiation on physico-chemical properties and structure of potato and tapioca starches. *Carbohydrate Polymers*, 34:213–230, 1997.

LEWANDOWICZ, G., JANKOWSKI, T. and FORNAL, J., Effect of microwave radiation on physico-chemical properties and structure of cereal starches. *Carbohydrate Polymers*, 42.2:193-199, 2000.

LI, J., HAN, W., XU, J., XIONG, S., and ZHAO, S., Comparison of morphological changes and in vitro starch digestibility of rice cooked by microwave and conductive heating. *Starch-Stärke*, 66(5-6), 549-557, 2014.

LI, L., BLANCO, M., and JANE, J.-L., Physicochemical properties of endosperm and pericarp starches during maize development. *Carbohydrate Polymers*, 67:630-639, 2007.

LI, L., JIANG, H., CAMPBELL, M., BLANCO, M., and JANE, J. L., Characterization of maize amylose-extender (ae) mutant starches. Part I: Relationship between resistant starch contents and molecular structures. *Carbohydrate Polymers*, 74:396-404, 2008.

LI, S., GAO, Q., and WARD, R., Physicochemical properties and in vitro digestibility of resistant starch from mung bean (*Phaseolus radiatus*) starch. *Starch-Stärke*, 63(3):171-178, 2011.

LICATA, R., COOREY, R., ZHAO, Y., CHU, J., and JOHNSON, S., Maximizing slowly digested starch in an expanded sorghum-maize extruded food using response surface methodology. *Starch-Stärke*, 67(3-4):285-293, 2015.

LIN, Y. and ZHAO, X.-H., The impact of coupled acid or pullulanase debranching on the formation of resistant starch from maize starch with autoclaving-cooling cycles. *European Food Research and Technology*, 230:179–184, 2009.

LIU, G., HONG, Y., GU, Z., LI, Z., and CHENG, L., Pullulanase hydrolysis behaviors and hydrogel properties of debranched starches from different sources. *Food Hydrocolloids*, 45:351-360, 2015.

LIU, H., YU, L., XIE, F., and CHEN, L., Gelatinization of cornstarch with different amylose/amylopectin content. *Carbohydrate Polymers*, 65(3):357-363, 2006.

LIU, R. and XU, G., Effects of resistant starch on colonic preneoplastic aberrant crypt foci in rats. *Food Chemistry and Toxicology*, 46:2672–2679, 2008.

LORENZ, K. and DECAREAU, R. V., Microwave heating of foods – changes in nutrient and chemical composition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 7:339–370, 1976.

- LU, T. J., JANE, J. L., KEELING, P. L., and SINGLETARY, G. W., Maize starch fine structures affected by ear developmental temperature. *Carbohydrate Research*, 282:157-170, 1996.
- LUND D., Influence of time, temperature, moisture, ingredients and processing conditions on starch gelatinization. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 20(4):249-273, 1984.
- LUNN, J. and BUTTRISS, J. L., Carbohydrates and dietary fibre. *Nutrition Bulletin*, 32:21-64, 2007.
- LUO, Z., HE, X., FU, X., LUO, F. and GAO, Q., Effect of microwave radiation on the physicochemical properties of normal maize, waxy maize and amylo maize V starches. *Starch/Starke* 58:468-474, 2006.
- MAHADEVAMMA, S. and THARANATHA, R. N., Processed rice starch characteristics and morphology. *European Food Research and Technology*, 225:603-612, 2007.
- MANGALA, S. L. and THARANATHAN, R. N., Structural studies of resistant starch derived from processed (autoclaved) rice. *European Food Research and Technology*, 209:38-42, 1999.
- MARLETT, J. and LONGACRE, M. J., Comparison of in vitro and in vivo measures of resistant starch in selected products. *Cereal Chemistry*, 73:63-68, 1996.
- MARTINEZ-FLORES, H. E., CHANG, Y. K., MARTINEZ-BUSTOS, F. and SGARBIERID, V., Effect of high fiber products on blood lipids and lipoproteins in hamsters. *Nutrition Research*, 24:85-93, 2004.
- MERMELSTEIN, N. H., Analyzing for resistant starch. *Food Technology*, 4:80-84, 2009.
- MESHARAM, M. W., PATIL, V. V., MHASKE, S. T. and THORAT, B. N., Graft copolymers of starch and its application in textiles. *Carbohydrate Polymers*, 75(1):71-78, 2009.
- METAXAS, A. C. and MEREDITH, R. J., *Industrial Microwave Heating*, Peter Peregrinus Ltd, London, 1983.
- MIAO, M., JIANG, B. and ZHANG, T., Effect of pullulanase debranching and recrystallization on structure and digestibility of waxy maize starch. *Carbohydrate Polymers*, 76:214-221, 2009.
- MIRZAEI, H., POURJAFAR, H. and HOMAYOUNI, A., Effect of calcium alginate and resistant starch microencapsulation on the survival rate of *Lactobacillus acidophilus* La5 and sensory properties in Iranian white brined cheese. *Food Chemistry*, 132:1966-1970, 2012.

MORELL, M. K., and MYERS, A. M., Towards the rational design of cereal starches. *Current Opinion in Plant Biology*, 8:204-210, 2005.

MORSI, M. K. S., and STERLING, C., *Carbohydrate Research*, 3:97, 1966.

MUIR, J. G., LU, Z. X., YOUNG, G. P., CAMERON-SMITH, D., COLLIER, G. R., and O'DEA, K., Resistant starch in the diet increases breath hydrogen and serum acetate in human subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 61:792-799, 1995.

MURPHY, M.M., DOUGLASS, J.S. and BIRKETT, A., Resistant starch intakes in the United States. *Journal of American Diet Association*, 108:67-78, 2008.

MUZIMBARANDA, C. and TOMASIK, P., Microwaves in physical and chemical modifications of starch. *Starch/Starke*, 46:469-474, 1994.

MYERS, A. M., MORELL, M. K., JAMES, M. G., and BALL, S. G., Recent progress toward, toward understanding biosynthesis of the amylopectin crystal. *Plant Physiology*, 122(4):989-998, 2000.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL, Microwave Processing of Materials, National Materials Advisory Board, Commission on Engineering and Technical Systems, National Academy Press, USA, 1994.

NEMTANU, M. R., BRASOVEANU, M., MARTIN, D., MANAILA, E., LOVU, H. and DINESCU, A., Physicochemical and structural characterization of corn starch modified by combined electron beam with microwave treatment. *Materiale Plastice*, 46:413-418, 2009.

NIBA, L. L., Effect of storage period and temperature on resistant starch and b-glucan content in cornbread. *Food Chemistry*, 83:493-498, 2003.

NORONHA, N., O'RIORDAN, E. D. and O'SULLIVAN, M., Replacement of fat with functional fibre in imitation cheese. *International Dairy Journal*, 17:1073-1082, 2007.

NUGENT, A.P., Health properties of resistant starch. *Nutrition Bulletin*, 30:27-54, 2005.

ONO, K., SEIB, P. A., and TAKAHASHI, S., Properties of hydroxypropylated wheat starches. *Nippon Kasei Gakkaishi*, 49:985-992, 1998.

ONOFRE, F. O., and WANG, Y.-J., Sustained release properties of crosslinked and substituted starches. *Journal of Applied Polymer Science*, 117(3):1558-1565, 2010.

OVANDO-MARTINEZ, M., SAYAGO-AYERDI, S., AGAMA-ACEVEDO, E., GON I, I. and BELLO-PEREZ, L. A., Unripe banana flour as an ingredient to increase the undigestible carbohydrates of pasta. *Food Chemistry*, 113:121-126, 2009.

OZTURK, S., Farklı nişta kaynaklarından enzime dirençli nişasta üretimi ve karakterizasyonu. Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, Doktora Tezi, 2008.

OZTURK, S., KOKSEL, H., and NG, P. K. W., Characterization of resistant starch samples prepared from two high-amylose maize starches through debranching and heat treatments. *Cereal Chemistry*, 86(5):503-510, 2009a.

OZTURK, S., KOKSEL, H. and NG, P. K. W., Farinograph properties and bread quality of flours supplemented with resistant starch. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 60,:449–457, 2009c.

OZTURK, S., KOKSEL, H., and NG, P. K. W., Production of resistant starch from acid-modified amyloper starches with enhanced functional properties. *Journal of Food Engineering*, 103(2):156-164, 2011.

OZTURK, S., KOKSEL, H., KAHRAMAN, K. and NG, P. K. W., Effect of debranching and heat treatments on formation and functional properties of resistant starch from high-amylose corn starches. *European Food Research and Technology*, 229:115–125, 2009b.

PALAV, T. and SEETHARAMAN, K., Impact of microwave heating on the physico-chemical properties of a starch–water model system. *Carbohydrate Polymers*, 67:596–604, 2007.

PALAV, T., and SEETHARAMAN, K., Mechanism of starch gelatinization and polymer leaching during microwave heating. *Carbohydrate Polymers*, 65(3):364-370, 2006.

PATINDOL, J. A., GURAYA, H. S., CHAMPAGNE, E. T. and MCCLUNG, A. M., Nutritionally important starch fractions of rice cultivars grown in Southern United States. *Journal of Food Science*, 75:137–144, 2010.

PONGJANTA, J., UTAIPATTANACEEP, A., NAIVIKUL, O. and PIYACHOMKWAN, K., Debranching enzyme concentration effected on physicochemical properties and α -amylase hydrolysis rate of resistant starch type III from amylose rice starch. *Carbohydrate Polymers*, 78:5–9, 2009.

PUNCHA-ARNON, S., and UTTAPAP, D., Rice starch vs. rice flour: Differences in their properties when modified by heat–moisture treatment. *Carbohydrate Polymers*, 91(1):85-91, 2013.

RABE, E. and SIEVERT, D., Effects of baking, pasta production, and extrusion cooking on formation of resistant starch. *European Journal of Clinic Nutrition*, 46:105–107, 1992.

RAHMAN, M. S., Toward prediction of porosity in foods during drying: a brief review. *Drying Technology*, 19(1):1-13, 2001.

RAJKO, R., SZABO, G., VIDAL-VALVERDE, C., and KOVACS, E., Designed experiments for reducing antinutritive agents in soybean by microwave energy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 3565–3569, 1997.

RANHOTRA, G. S., GELROTH, J. A. and LEINEN, S. D., Resistant starch in selected grain-based foods. *Cereal Foods World*, 44:357–359, 1999.

RATNAYAKE, W. S., and JACKSON, D. S., Thermal behavior of resistant starches RS 2, RS 3, and RS 4. *Journal of Food Science*, 73:356–366, 2008.

REDDY, C. K., SURIYA, M., and HARIPRIYA, S., Physico-chemical and functional properties of Resistant starch prepared from red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*. L) starch by enzymatic method. *Carbohydrate Polymers*, 95(1):220-226, 2013.

REDDY, I., and SEIB, P. A., Paste properties of modified starches from partial waxy wheats. *Cereal Chemistry*, 76:341-349, 1999.

REGINA, A., BIRD, A., TOPPING, D., BOWDEN, S., FREEMAN, J., BARSBY, T., KOSAR-HASHEMI, B., LI, Z. Y., RAHMAN, S., and MORELL, M., High-amylose wheat generated by RNA interference improves indices of large-bowel health in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103:3546-3551, 2006.

REIMBERT, C. G., MINZONI, A. A. and SMYTH, N. F., Effect of radiation losses on hotspot formation and propagation in microwave heating. *IMA Journal of Applied Mathematics*, 57:165 – 179, 1996.

ROBIN, J. P., MERCIER, C., CHARBONNIERE, R. and GUILBOT, A., Linterized starches gel filtration and enzymatic studies of insoluble residue from prolonged acid treatment of potato starch. *Cereal Chemistry*, 51:389–406, 1974.

ROBYT, J. F., *Essentials of Carbohydrate Chemistry*. Springer-Verlag, New York, 1998.

ROCHFORD, S. and PANOZZO, J., Phytochemicals for health, the role of pulses. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 55:7981–7994, 2007.

RUSSELL, P. L., BERRY, C. S., and GREENWELL, P., Characterisation of resistant starch from wheat and maize. *Journal of Cereal Science*, 9:1–5, 1989.

SAGUM, R., and ARCOT, J., Effect of domestic processing methods on the starch, non-starch polysaccharides and in vitro starch and protein digestibility of three varieties of rice with varying levels of amylose. *Food Chemistry*, 70:107–111, 2000.

SAJILATA, M.G., SINGHAL, R. S. and KULKARNI, P. R., Resistant starch – A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5:1–17, 2006.

SÁNCHEZ-PARDO, M. E., ORTIZ-MORENO, A., MORA-ESCOBEDO, R., BELLO-PÉREZ, A., YEE-MADEIRA, H. and RAMOS-LÓPEZ, G., Effect of baking method on some characteristics of starch in pound cake crumbs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(2):207-213, 2008.

SANZ, T., MARTINEZ-CERVERA, S., SALVADOR, A. and FISZMAN, S. M., Resistant starch content and glucose release of different resistant starch commercial ingredients: Effect of cooking conditions. *European Food Research Technology*, 231:655–662, 2010.

SANZ, T., SALVADOR, A. and FISZMAN, S. M., Resistant starch (RS) in battered fried products: Functionality and high-fibre benefit. *Food Hydrocolloids*, 22:543–549, 2008.

SANZ, T., SALVADOR, A., BAIXAULI, R. and FISZMAN, S. M., Evaluation of four types of resistant starch in muffins. II. Effects in texture, colour and consumer response. *European Food Research Technology*, 229:197–204, 2009.

SCOURBOUTAKOS, M., 1 + 1 = 3... Synbiotics: Combining the power of pre- and probiotics. *Journal of Food Science and Education*, 9:36–37, 2010.

SHARMA, A., YADAV, B. S. and RITIKA, B. Y., Resistant starch: Physiological roles and food applications. *Food Review International*, 24:193–234, 2008.

SHI, Y.-C., CAPITANI, T., TRZASKO, P. and JEFFCOAT, R., Molecular structure of a low amylopectin starch and other high-amylose maize starches. *Journal of Cereal Science*, 27:289-299, 1998.

SHIMADA, M., MOCHIZUKI, K. and GODA, T., Dietary resistant starch reduces levels of glucose-dependent insulinotropic polypeptide mRNA along the jejunum–ileum in both normal and type 2 diabetics rats. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 72:2206–2209, 2008.

SIEVERT, D., and WUESCH, P., Amylose chain association based on differential scanning calorimetry. *Journal of Food Science*, 58:1332– 1334, 1993.

SINGH, J. and SINGH, N., Studies on the morphological and rheological properties of granular cold water soluble corn and potato starches. *Food hydrocolloids*, 17(1):63-72, 2003.

SISWOYO, T. R. and MORITA, N., Thermal properties of partially hydrolyzed starch glycerophosphatidylcholine complexes with various acyl chains. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51:3162–3167, 2003.

SLADE, L. and LEVINE, H., Recent advances based on an alternative approach to the assessment of food quality and safety. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 30(2-3):115-360, 1991.

SMITH, A. M., The Biosynthesis of Starch Granules. *Biomacromolecules*, 2:335-341, 2001.

SONG, Y. and JANE, J., Characterization of barley starches of waxy, normal, and high amylose varieties. *Carbohydrate Polymers*, 41:365-377, 2000.

SRICHUWONG, S., SUNARTI, T. C., MISHIMA, T., ISONO, N., and HISAMATSU, M., Starches from different botanical sources I: Contribution of amylopectin fine structure to thermal properties and enzyme digestibility. *Carbohydrate Polymers*, 60:529-538, 2005a.

SRICHUWONG, S., SUNARTI, T. C., MISHIMA, T., ISONO, N., and HISAMATSU, M., Starches from different botanical sources II: Contribution of starch structure to swelling and pasting properties. *Carbohydrate Polymers*, 62:25-34, 2005b.

STOREY, D., LEE, A., BORNET, F. and BROUNS, F., Gastrointestinal responses following acute and medium term intake of retrograded resistant maltodextrins, classified as type 3 resistant starch. *European Journal of Clinic Nutrition*, 61:1262-1270, 2007.

STUTE, R., Hydrothermal modification of starches: The difference between annealing and heat/moisture-treatment. *Starch/ Starke*, 44,:205-214, 1992.

SULTANA, K., GODWARD, G., REYNOLDS, N., ARUMUGASWAMY, R., PEIRIS, P. and KAILASAPATHY, K., Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology*, 62:47-55, 2000.

SUMNU, G., A review on microwave baking of foods. *International Journal of Food Science and Technology*, 36(2):111-127, 2001.

SVANBERG, S. J., SUORTTI, T., NYMAN, E. M. G. L., and G-L, MARGARETA, Physicochemical changes in dietary fiber of green beans after repeated microwave treatments. *Journal of Food Science*, 62(5):1006-1010, 1997.

SWINKELS, J. J. M., Composition and properties of commercial native starches. *Starch Stärke*, 37(1):1-5, 1985.

SZEPES, A., HASZNOS-NEZDEI, M., KOVÁCS, J., FUNKE, Z., ULRICH, J., and SZABÓ-RÉVÉSZ, P., Microwave processing of natural biopolymers—studies on the properties of different starches. *International Journal of Pharmaceutics*, 302(1):166-171, 2005.

TAJCHAKAVIT, S., and RAMASWAMY, H. S., Continuous-flow microwave inactivation kinetics of pectin methyl esterase in orange juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 21:365-378, 1997.

TAKEDA, C. TAKEDA, Y. and HIZUKURI, S., Structure of amylo maize amylose. *Cereal Chemistry*, 66:22-25, 1989.

TAKEDA, Y. HIZUKURI, S., and JULIANO, B. O., Purification and structure of amylose from rice starch. *Carbohydrate Research*, 148:299-308, 1986.

TAKEDA, Y., TOMOOKA, S., and HIZUKURI, S., Structures of branched and linear molecules of rice amylose. *Carbohydrate Research*, 246:267-27, 1993.

TAN, H. Z., LI, Z. G., TAN, B., Starch noodles: History, classification, materials, processing, structure. *Food Research International*, 42:551–576, 2010.

TAS, A. A. and EL, S. N., Determination of nutritionally important starch fractions of some Turkish breads. *Food Chemistry*, 70:493–497, 2000.

TESTER, R. F., KARKALAS, J. and QI, X., Starch – composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39:151–165, 2004a.

TESTER, R., KARKALAS, J., and QI, X., Starch structure and digestibility enzyme substrate relationship. *World's Poultry Science Journal*, 60(02):186-195, 2004b.

TESTER, R.F. and MORRISON, W.R., Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effect of amylopectin, amylose and lipids. *Cereal Chemistry*, 67:551-557, 1990.

THOMPSON, D. B., Strategies for the manufacture of resistant starch. *Trends in Food Science and Technology*, 11:245–253, 2005.

TOPPING, D. L., BAJKA, B. H., BIRD, A. R., CLARKE, J. M., COBIAC, L., CONLON, A. M., MORELL, M. K., and TODEN, S., Resistant starches as a vehicle for delivering health benefits to the human large bowel. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 20(2):103-108, 2008.

TOUKONIITTY, B., MIKKOLA, J.-P., MURZIN, D. YU. and SALMI, T., Utilization of electromagnetic and acoustic irradiation in enhancing heterogeneous catalytic reactions. *Applied Catalysis A: General*, 279:1–22, 2005.

VADIVAMBAL, R. and JAYAS, D. S., Changes in quality of microwave-treated agricultural products – a review. *Biosystems Engineering*, 98:1–16, 2007.

VARAVINIT, S., SHOBSNGOB, S., VARANYANOND, W., CHINACHOTI, P. and NAIVIKUI, O., Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation and pasting properties of flours from different cultivars of Thai rice. *Starch/Stärke*, 55:410-415, 2003.

VENKATESH, M. S. and RAGHAVAN, G. S. V., An overview of microwave processing and dielectric properties of agrifood materials. *Biosystems Engineering*, 88:1–18, 2004.

VERNAZA, M. G., GULARTE, M. A. and CHANG, Y. K., Addition of green o banana flour to instant noodles technological rheological and technological properties. *Adição de Farinha de Banana Verde em Macarrão Instantâneo: Propriedades Reológicas e Tecnológicas*, 35:1157–1165, 2011.

WANG, L., and WANG, Y. J., Structures and physicochemical properties of acidthinned corn, potato and rice starches. *Starch/Staerke*, 53:570-576, 2001.

WANG, S., LI, C., COPELAND, L., NIU, Q., and WANG, S., Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5):568-585, 2015.

WEPNER, B., BERGHOFER, E., MIESENBERGER, E. and TIEFENBACHER, K., Citrate starch: Application as resistant starch in different food systems. *Starch/Starke*, 51:354–361, 1999.

WESTENBRINK, S. K., BRUNT, J. W. and VAN DER KAMP., Dietary fibre: Challenges in production and use of food composition data. *Food Chemistry*, 140:562–567, 2012.

WHO/FAO expert consultation on diet, n.,t.p.o.c. diseases, Diet., Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases, World Health Organization, 2003.

WU, X., ZHAO, R., BEAN, S. R., SEIB, P. A., MCLAREN, J. S., MADL, R. L., TUINSTRA, M., LENZ, M. C., and WANG, D., Factors impacting ethanol production from grain sorghum in the dry-grind process. *Cereal Chemistry*, 84:130-136, 2007.

WURZBURG, O. B., *Modified starches-properties and uses*. CRC Press Inc. (Ed.), 1986.

XIE, F., YU, L., SU, B., LIU, P., WANG, J., LIU, H., and CHEN, L., Rheological properties of starches with different amylose/amylopectin ratios. *Journal of Cereal Science*, 49(3):371-377, 2009.

XIE, X. and LIU, Q., Development and physicochemical characterization of new resistant citrate starch from different corn starches. *Starch/Stärke*, 56:364-370, 2004.

XUE, Q., NEWMAN, R. K., and NEWMAN, C. W., Effects of heat treatment of barley starches on in vitro digestibility and glucose responses in rats. *Cereal Chemistry*, 73:588–592, 1996.

YAO, N., PAEZ, A. V. and WHITE, P. J., Structure and function of starch and resistant starch from corn with different doses of mutant amylose-extender and floury-1 alleles. *Journal of Agriculture in Food Chemistry*, 57:2040–2048, 2009.

YEO, L. L. and SEIB, P. A., White pan bread and sugar-snap cookies containing wheat starch phosphate, a cross-linked resistant starch. *Cereal Chemistry*, 86:210–220, 2009.

YOO, S. H., and JANE, J., Structural and physical characteristics of waxy and other wheat starches. *Carbohydrate Polymers*, 49:297-305, 2002b.

YOO, S. H., PERERA, C., SHEN, J., YE, L., SUH, D.-S., and JANE, J. L., Molecular Structure of Selected Tuber and Root Starches and Effect of Amylopectin Structure on Their Physical Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57:1556- 1564, 2009.

YOO, S.-H., and JANE, J., Molecular weights and gyration radii of amylopectins determined by high-performance size-exclusion chromatography equipped with multi-angle laser-light scattering and refractive index detectors. *Carbohydrate Polymers*, 49:307-314, 2002a.

YOSHIMOTO, Y., TASHIRO, J., TAKENOUCI, T. and TEKEDA, Y., Molecular structure and some physicochemical properties of high-amylose barley starches. *Cereal Chemistry*, 77:279-285, 2000.

ZHANG, H. and JIN, Z., Preparation of resistant starch by hydrolysis of maize starch with pullulanase. *Carbohydrate Polymers*, 83:865–867, 2011.

ZHANG, H., WANG, R., WANG, J., and DONG, Y., Microwave-assisted synthesis and characterization of acetylated corn starch. *Starch-Stärke*, 66(5-6):515-523, 2014.

ZHANG, J., WANG, Z. W. and SHI, X. M., Effect of microwave heat/moisture treatment on physicochemical properties of *Canna edulis* Ker starch. *Journal Science of Food Agriculture*, 89:653–664, 2009.

ZHANG, L., HU, X., XU, X., JIN, Z. And TIAN, Y., Slowly digestible starch prepared from rice starches by temperaturecycled retrogradation. *Carbohydrate Polymers*, 84:970– 974, 2011.

ZHONGDONG, L., PENG, L. and KENNEDY, J. F., The technology of molecular manipulation and modification assisted by microwaves as applied to starch granules. *Carbohydrate Polymers*, 61:374–378, 2005.

ZHOU, X., and LIM, S. T., Pasting viscosity and in vitro digestibility of retrograded waxy and normal corn starch powders. *Carbohydrate Polymers*, 87(1):235-239, 2012.

ZHU, C. L., and ZHAO, X. H., In vitro fermentation of a retrograded maize starch by healthy adult fecal extract and impacts of exogenous microorganisms on three acids production. *Starch-Stärke*, 65(3-4):330-337, 2013.

ZIAR, H., GÉRARD, P. and RIAZI, A., Calcium alginate-resistant starch mixed gel improved the survival of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 and *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS in yogurt and simulated gastrointestinal conditions. *International Journal of Food Science and Technology*, 47:1421– 1429, 2012.

ÖZGEÇMİŞ

Selime MUTLU, 16.09.1988 yılında Bulgaristan'da doğdu. Eğitim hayatına Bulgaristan'da başladı ve 2000 yılından itibaren Türkiye'de devam etti. Liseyi Tekirdağ Namık Kemal Anadolu Lisesinde birincilikle bitirdikten sonra üniversiteyi Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünde okudu. Namık Kemal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine başladı. 2014 yılında Sakarya Üniversitesi'nde araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladıktan sonra yüksek lisans eğitimine Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde devam etti. Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nün akademik personeli ve öğrencisi olarak hayatına devam etmektedir.