

**T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇAYDAN İZOLE EDİLEN *Cryptococcus humicolus* HTM1 SUŞU İLE
NİŞASTA ÜRETİMİ**

EMİNE HACIOSMANOĞLU

TEZ DANIŞMANI

DR. ÖĞR. ÜYESİ BARBAROS DİNÇER

TEZ JÜRİLERİ

DOÇ. DR. ÖZLEM FAİZ

DOÇ. DR. ZEHRA CAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

RİZE-2019

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇAYDAN İZOLE EDİLEN *Cryptococcus humicolus* HTM1 SUŞU İLE NİŞASTA
ÜRETİMİ**

Dr. Öğr. Üyesi Barbaros DİNÇER danışmanlığında Emine HACIOSMANOĞLU tarafından hazırlanan bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla oluşturulan jüri tarafından 24/07/2019 tarihinde Kimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvanı Adı Soyadı

İmzası

Başkan : Doç. Dr. Zehra CAN

Üye : Doç. Dr. Özlem FAİZ

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Barbaros DİNÇER

(Handwritten signatures of the jury members)


Doç. Dr. Ferhat KALAYCI
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı'nda "Yüksek Lisans Tezi" olarak hazırlanmıştır. Tezde yer alan deneysel çalışmalar, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam boyunca; ilgisini, sevgisini ve sonsuz anlayışını benden esirgemeyen maddi ve manevi desteği ile her an yanımda olan, engin bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, bütün çalışmama ışık tutan, her aşamasında ilgi ve desteğini gördüğüm çok değerli danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Barbaros DİNÇER'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

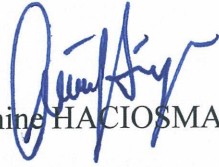
Çalışmada kullanmış olduğum *Cryptococcus humicolus* HTM1 maya suşunu izole edip kullanmama izin veren ve her türlü desteğini gösteren Biyoloji Bölümü öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU'na, laboratuvar çalışmalarımda her zaman destek olan ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım sayın Doç. Dr. Özlem FAİZ, sayın Doç. Dr. Nimet BALTAŞ ve Kimya Bölümü Hocalarıma tüm kalbimle teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, verdiğim kararlarda desteklerini her zaman arkamda hissettiğim maddi ve manevi yanımda olan canım aileme de tüm kalbimle teşekkür ederim.

Emine HACIOSMANOĞLU

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Tarafımdan hazırlanan “Çaydan İzole Edilen *Cryptococcus humicolus* HTM1 Suşu İle Nişasta Üretimi” başlıklı bu tezin, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesindeki hususlara uygun olarak hazırladığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal işlemi kabul ettiğimi beyan ederim. 21/06/2019


Emine HACIOĞMANOĞLU

Uyarı: Bu tezde kullanılan özgün ve/veya başka kaynaklardan sunulan içeriğin kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

ÇAYDAN İZOLE EDİLEN *Cryptococcus humicolus* HTM1 SUŞU İLE NİŞASTA ÜRETİMİ

Emine HACIOSMANOĞLU

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi
Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Barbaros DİNÇER

Nişasta, fotosentezin ana ürünüdür ve fotosentetik ve fotosentetik olmayan dokularda depolanan en baskın yedek polisakkarittir. Nişasta, insan ve hayvan diyetlerinde temel bir gıdadır, aynı zamanda gıda, kağıt ve tekstil gibi endüstriyel amaçlar için yaygın olarak kullanılan bir hammaddedir. Küresel ısınmaya bağlı olarak, dünyanın kademeli olarak çölleşeceği ve tarım alanlarının azalacağı düşünülmektedir. Bu nedenle alternatif gıda kaynakları araştırılmaktadır. Bu çalışmada, iklim koşullarından bağımsız olarak, çaydan izole edilen yeni bir maya kültürünün nişasta üretme kapasitesi belirlendi. Nişasta üretimi için *Cryptococcus humicolus* HTM1 suşu kullanıldı. HTM1 suşu glikozla $0,23 \pm 0,03$ mg/mL, fruktozla $0,30 \pm 0,06$ mg/mL ve sukrozla ise $0,37 \pm 0,06$ mg/mL nişasta üretebildiği belirlendi. HTM1 suşunun en yüksek miktarda nişastayı glikoz ve fruktozun olduğu ortamlarda pH 8,0'de, sukroz ile pH 7,0'de üretebildiği belirlendi. Bal ve atık meyve sularında HTM1 suşunun baldan $1,2 \pm 0,1$ mg/mL, nardan $1,1 \pm 0,3$ mg/mL, elmadan $0,8 \pm 0,2$ mg/mL, mandalinadan $0,9 \pm 0,1$ mg/mL, ve kividenden $0,8 \pm 0,2$ mg/mL nişasta üretebildiği hesaplandı. Sonuç olarak çaydan izole edilen *C. humicolus* HTM1 maya suşunun nişasta üretebildiği ve laboratuvar ortamında nişasta üretmek için önemli bir potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir.

2019, 37 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Cryptococcus humicolus* HTM1 Suşu, Nişasta, Maya ile üretim

ABSTRACT

STARCH PRODUCTION WITH *Cryptococcus humicolus* HTM1 STRAIN ISOLATED FROM TEA

Emine HACIOSMANOĞLU

Recep Tayyip Erdogan University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry
Master Thesis
Supervisor: Assist. Prof. Dr. Barbaros DİNÇER

Starch is the main product of photosynthesis and its the most dominant reserve polysaccaride that stored in photosynthetic and non-photosynthetic tissues. Starch is a staple food in human and animal diets, but also a raw material widely used for industrial purposes, such as food, paper and textile. Due to global warming, it is thought that the world will gradually become deserted and agricultural areas will decrease. therefore, alternative food sources are sought. In this study, regardless of the climatic conditions, the capacity of producing starch by a new yeast culture isolated from tea was determined. *Cryptococcus humicolus* HTM1 strain was used for starch production. It was determined that HTM1 strain was able to produce 0.23 ± 0.03 mg/mL starch with glucose, 0.30 ± 0.06 mg/mL with fructose and 0.37 ± 0.06 mg/mL with sucrose. It was determined that HTM1 strain produced the highest amount of starch in glucose and fructose at pH 8.0, and in sucrose at pH 7. HTM1 strain was produced strach from honey and waste fruit juices, it was produced 1.2 ± 0.1 mg/mL from honey, 1.1 ± 0.3 mg/mL from pomegranate, 0.8 ± 0.2 mg/mL from apple, 0.9 ± 0.1 mg/mL from tangerine and 0.8 ± 0.2 mg/mL from the kiwi. As a result, it was determined that C. humicolus HTM1 yeast strain isolated from tea can produce starch and has an important potential to produce starch in laboratory environment.

2019, 37 pages

Keywords: *Cryptococcus humicolus* HTM1 strain, Starch, Production by Yeast

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	II
ÖZET	III
ABSTRACT.....	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ.....	VIII
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ	IX
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş	1
1.2. Nişasta	2
1.3. Nişastanın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	3
1.3.1. Fiziksel Özellikleri	3
1.3.2. Kimyasal Özellikleri.....	4
1.3.2.1. Amiloz	6
1.3.2.2. Amilopektin	8
1.4. Nişastanın Kimyasal Bileşimi	10
1.5. Nişastanın Hidrolizi	12
1.6. Nişastanın Jelatinizasyonu.....	13
1.7. Türkiye’de ve Dünya’da Nişasta Sanayi	13
1.8. Nişastanın Kullanıldığı Endüstriyel Alanlar.....	15
1.9. Mayalar	17
1.10. Çalışmanın Amacı	21
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	22
2.1. Materyal.....	22
2.2. Yöntemler	22
2.2.1. Nişasta Üretiminin Belirlendiği Petri Testleri	22
2.2.2. Maya İle Nişasta Üretiminin Karakterizasyonu	22
2.2.3. Nişasta Miktarının Belirlenmesi	23
2.2.4. pH’a Bağlı Olarak Nişasta Üretim Kapasitesinin Belirlenmesi	23
2.2.5. Mayadan Bal ve Meyve Atıklarıyla Nişasta Üretimi	24

3.	BULGULAR	25
3.1.	Nişasta Üretme Miktarının Belirlenmesine Ait Bulgular	27
3.2.	Nişasta Üretiminin pH İle Değişiminin Belirlenmesine Ait Bulgular.....	29
3.3.	HTM1 Suşu İle Bal, Meyve ve Sebze Atıklarından Nişasta Üretimini.....	30
4.	TARTIşMA ve SONUÇLAR	32
5.	ÖNERİLER	34
KAYNAKLAR		35
ÖZGEÇMİş		38



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Amiloz yapısı.....	6
Şekil 2.	Amilozun sudaki heliks şekli.....	7
Şekil 3.	Amilopektin yapısı.....	8
Şekil 4.	Amiloz düz nişasta zinciri.....	10
Şekil 5.	Amilopektin dallı nişasta zinciri.....	10
Şekil 6.	Petri testi sonucunda lügol ayırıcı ile nişasta oluşumunu gözleme testi.	25
Şekil 7.	Glukoz, Fruktoz, Maltoz ve Sukroz içeren sıvı besi ortamlarında büyütülen mayanın saatlere göre nişasta üretme potansiyeli.	26
Şekil 8.	Nişasta üreten mayaların lugol çözeltisiyle nuamele edildikten sonra elde edilen mikroskop görüntüleri.....	27
Şekil 9.	Nişasta standart çalışma grafiği.....	28
Şekil 10.	Farklı karbohidrat ortamlarında HTM1 suşunun üretebildiği nişasta miktarının günlere göre dağılımı.	29
Şekil 11.	Farklı karbohidrat ortamlarında HTM1 suşunun değişik pH değerlerinde 5. Gün sonunda üretebildiği nişasta miktarları.	30
Şekil 12.	<i>C. humicolus</i> HTM1 suşunun nar (A), bal (B), elma (C), mandalina (D), kivi (E), armut (F) ve havut (F) suları ile 5 gün boyunca büyütülmeleri sonucunda elde edilen çözeltilerin lugol çözeltisi ilave edilmiş halleri (H Kontrol).....	30
Şekil 13.	<i>C. humicolus</i> HTM1 suşunun elma (A), , bal (B), nar (C), mandalina (D) ve kivi (E) suları ile 5 gün boyunca büyütülmeleri sonucunda elde edilen çözeltilerin lugol çözeltisi ilave edilmiş halleri.	31

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Amiloz ve Amilopektin Moleküllerinin Özellikleri.....	11
Tablo 2.	Nişasta Üretiminin Belirlendiği Petri Testleri için hazırlanan karışımlar....	22
Tablo 5.	Nişasta Üretiminin Belirlendiği Petri Testleri için hazırlanan karışımlar....	23
Tablo 6.	Meyve suları ile hazırlanan ortamların karışım oranları	24



SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

µL	Mikrolitre
g	Gram
HTM1	<i>Cryptococcus humicolus</i> HTM1 Suşu
mg	Miligram
mL	Mililitre



1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Günümüzde oldukça geniş kullanım alanına sahip olan nişasta başta tatlandırıcı olmak üzere çok çeşitli endüstrilerde kullanılan bir biyopolimerdir. Nişastanın glikoz birimleri arasındaki bağların hidrolizlenebilmesi, bu kaynağın endüstride çok yönlü kullanılabilmesini mümkün kılmıştır (Pfister vd., 2016; Zhang vd., 2014; Blennow vd., 2003) .

Türkiye’de nişasta sanayi, beş nişasta üreticisi firma ile toplam 300 milyon dolarlık yatırım sermayesine sahiptir. Nişasta sanayi, ana hedef olarak dünya kalite standartlarında ürettiği nişasta bazlı şekerlerle gıda ve endüstri alanlarındaki üreticilere ana hammadde tedarikçisi olarak hizmet vermekte ve ekonomimize katkı sağlamaktadır (TGDF, 2012).

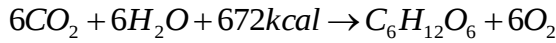
Dünyada yüzeyinde, atmosfere salınan gazların sera etkisi yaratması sonucunda sıcaklığın artmasına küresel ısınma denir. Küresel ısınmayı küresel bir felaket olarak nitelendirebiliriz hatta küresel felaketler zinciri demek daha doğru olacaktır. Küresel ısınma iklim değişikliklerine sebep olmaktadır. İklim değişimleri beraberinde aşırı yağışlar ve kuraklıklara neden olmakta buda tarım arazilerinin kötü etkilenmesine neden olmaktadır. Ayrıca kırsal kesimden kentsel kesime doğru kayan yaşam tarzıyla birlikte ekilen tarım alanlarının azalması söz konusudur (TGDF, 2017). Bu iki ana nedenden dolayı temel besin kaynaklarına ihtiyaç doğacağı aşikardır. Bundan dolayı yeni besin kaynaklarının araştırılması ve geliştirilmesi son dönemin önemli çalışmaları arasında yer almaktadır.

Bu çalışmada, çaydan izole edilen yeni maya kültürlerinin nişasta üretebilme kapasitelerinin belirlenmesi ve bu maya kültürleri ile atık meyve ile sebzelerden nişasta üretilmesi amaçlandı. Bu amaç doğrultusunda *Cryptococcus humicolus* HTM1 maya suşu kullanılarak farklı karbohidrat kaynaklarından nişasta üretebilme süreler, koşulları ve miktarları belirlendi. Bununla birlikte, farklı sebze ve meyve atıklarının özütlerinden, bu mayalar kullanılarak nişasta üretilmesi ve böylece atıkların değerlendirilmesi hedeflendi.

1.2. Nişasta

Tarih boyunca insanoğlu tarafından en çok kullanılan maddelerden biri nişastadır. Ticari bir ürün olarak kullanılması ise 14. yüzyıla dayanmaktadır. Medeniyetin gelişmesiyle nişasta da endüstride gittikçe yaygınlaşan bir kullanım alanı bulmuştur. 19. Yüzyıldan itibaren buğday ve arpaya ilaveten patatesten de nişasta üretilmeye başlanmıştır. Mısır, günümüzde en önemli nişasta kaynaklarından biri olmuştur (Uluöz vd., 1974, Wurburg, 1986; Karaoğlu vd., 1998).

Nişasta en önemli bitki maddesidir. Bitkisel besinlerimize sudan sonra en geniş oranda yer alan nişastadır. İnsanın günlük karbohidrat gereksinimi 500 gram olup bunun çoğu nişasta biçiminde alınır ve bu sindirim enzimleri tarafından yavaş yavaş glukozla dönüştürülür. Nişasta beyaz bir toz olup bitkilerin yedek karbohidratını oluşturur. Bitkilerde, havadaki CO₂'in özümlemesi sonucu meydana gelir. Yeşil yapraklarda, kloroplastlarda, klorofil yardımıyla güneş ışığının etkisiyle bitkinin içerdiği su, oksijenle hidrojene bölünür. Ayrılan hidrojen, sonra karanlıkta redoks enzimleri yardımıyla, havadan alınan karbondioksidi indirger, karbon zincirleri ve bu arada glikoz meydana gelir;



Nişasta, kapalı formülü (C₆H₁₂O₆) olan, bitkilerin tohum, kök ve yumrularında, ayrıca gövde, yaprak, meyve ve hatta polenlerinde bulunabilen enerji depolayabilen, glikoz polimerlerinden oluşmuş bir polisakkarittir (Wang vd., 1998).

Türkiye’de nişastanın başlıca kaynakları buğday, pirinç, patates ve mısırdır. Ekmek önemli bir nişasta kaynağı olup buğday unundan hazırlanır. Baklagiller de (bakla, mercimek, bezelye) nişasta bakımından zengindir.

Buğdayda % 66, mısırdaki %71, pirinçte %60, çavdarda %59, arpada %40 ve yulafta %35 civarında nişasta içermektedir. Gerek bulunduğu miktar gerekse besinsel ve teknolojik kullanımları bakımından nişasta tahıllarda en önemli bileşen olmaktadır.

Gıdalarda, nişasta besleyici değerinin yanında fiziksel özelliklerinin düzenlemesinde de önemli bir etkiye sahiptir. Bunlara örnek olarak yemek soslarının

kıvamının oluşması, pudinglerin jelleşmesi ve keklerin pişirme sırasında sıvı halden katı hale dönüşmesini verebilir.

1.3. Nişastanın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Nişasta doğal olarak meydana gelen yüksek polimerli bir karbohidrattır. α -glikozidik bağlarla birbirlerine bağlanmış glikopiranoz $(C_6H_{12}O_5)_n$ 'dir. 'n' harfi birden büyük bir sayıyı ifade eder. Nişasta beyaz granüller halinde oluşmakta doğrusal polimer (amiloz) ve dallı polimer (amilopektin) beraberce bu granülü oluşturmaktadır. Granüller, kristal bir yapı içerisinde düzenlenmiş bu iki tip polimerin karışımıdır (Kent, 1970; Elgün ve Ertugay, 1997; Wang vd., 1998; Karaoğlu vd., 1998).

Nişasta bitkilerde depolanmış karbonhidrat olduğu için doğada çok yaygın olarak bulunmaktadır. Birçok botanik varyeteler gerek fiziksel özellikleri gerekse kimyasal bileşimleri bakımından birçok farklılıklar göstermektedirler.

1.3.1. Fiziksel Özellikleri

Nişasta, bitkilerde çok ufak suda çözünmeyen granüller halinde bulunur. Bitki kaynağına bağlı olarak granüllerin çapı 3-100 mikron arasında değişmektedir. Daneden elde edilen nişasta granüllerinin çapı daha dar (3-20 mikron), yumru nişasta granüllerinin çapları ise daha geniş (10-100 mikron) sınırlar içinde değişim gösterirler.

Granüllerin büyüklüğü gibi şekilleri de bitkiye göre değişmektedir. Hilum birçok nişasta granülünde önemli bir özelliktir. Granülde bir nokta halinde belirmekte ve granülün büyüdüğü bir çekirdek olduğu ileri sürülmektedir (Wurzburg, 1986). Bütün doğal nişasta granülleri çift kırılma özelliğine sahip oldukları için polarize ışık altında granül üzerinde çapraz gölge görülür. Bu çaprazın kesişmesi hilumda oluşmaktadır.

Nişasta granülleri suda çözünmezler. Nişasta granülleri su absorbe ederek şişerler ve bu olay tersinirdir. Nişasta molekülünde bulunan fazla sayıdaki hidroksil gruplarıdır nem absorbansının yüksek oluşunun neden olur. Bu özelliğinden dolayı şekerleme endüstrisinde kalıplama materyali olarak kullanılır. Nişasta, yağlar için de etkili bir absorbandır.

Nişasta ve su karışımı kritik sıcaklığın (nişastaya bağlı olarak 56 °C ve yukarısı) üzerinde ısıtıldığı zaman granülü tutan hidrojen bağları zayıflayarak şişer ve granül büyüklüğü başlangıçtaki büyüklüğünün birkaç katına erişir. Bu olaya jelatinizasyon adı verilmektedir. Bu şişme olayı meydana geldiğinde granüller önce çift kırılma özelliklerini kaybederler. Su absorbe edildikçe, karışımın berraklığı ve viskozitesi artar. Maksimum hidrasyona eriştikten sonra granüllerden bazı moleküller kopar, granül dağılmaya başlar. Bu olay meydana geldiğinde viskozite azalmakta ve daha sonra da stabilize olmaktadır.

Nişasta granüllerinin yapısı yüksek basınç altında mekanik bir işlem uygulandığında veya aşırı öğütme ile zedelenmekte ve bozulmaktadır. Yapısı bozulan granüller soğuk suda dahi jelatinize olabilmekte ve enzim faaliyetlerine karşı daha az direnç göstermektedirler.

Nişastanın sulu çözelti veya dispersiyonlarındaki koloidal özelliklerinden önemlileri berraklık, renk, viskozite ve akış özellikleri, jel mukavemeti, yapışkanlık mukavemeti ve film özellikleridir. Nişasta endüstrisi gelişmiş ülkelerde yapımcılar ürünlerini bu özelliklerine göre satışa sunmakta ve nişastalar da kullanılma yerlerine göre sınıflandırılmaktadırlar. Ülkemizde son birkaç yıl içinde bu yolda önemli sayılabilecek gelişmeler olmuştur.

1.3.2. Kimyasal zellikleri

Doğal nişasta türleri molekül ağırlıkları ve kimyasal yapıları itibariyle birbirinden farklı amiloz ve amilopektin olmak üzere iki tip polimer ihtiva etmektedir (Wang vd., 1998; Pfister vd., 2016).

Doğrusal polimer amiloz, α -1,4 glukozidik bağlar vasıtasıyla bağlanmış 200-1000 glukopiranoz biriminden, dallı polimer amilopektin ise 1500 veya daha fazla glukopiranoz biriminde oluşmuşlardır. Hakim bağ olan α -1,4 bağlarına ilave olarak dallı molekülün başladığı noktada 1:25 oranında α -1,6 bağları vardır (Wang vd., 1998).

Doğal nişastalar % 75-80 amilopektin, % 20-25 amiloz ihtiva etmektedirler. Ancak genetik modifikasyonlarla bu iki fraksiyonun miktarları azaltılıp çoğaltılabilmektedir (Kent, 1970; Elgün ve Ertugay, 1997; Karaoğlu vd., 1998).

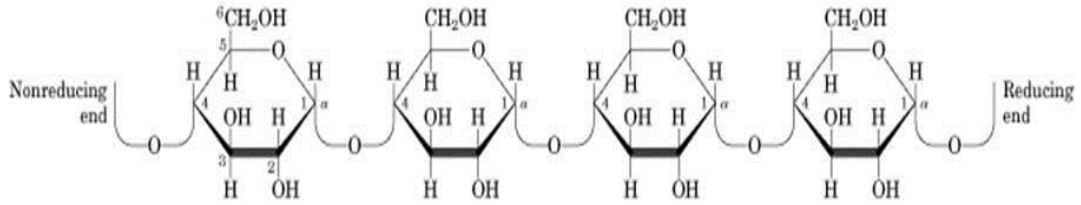
Amiloz ve amilopektin moleküllerinin granül içindeki düzenlemeleri, bir başka deyişle granül içinde ne şekilde yer aldıkları konusu, birçok çalışmalar sonucu ortaya atılan değişik görüşlere sahiptir. Bugün için tam olarak anlaşılmış ve açıklığa kavuşturulmuş değildir (Karaoğlu vd., 1998).

Amiloz ve amilopektin moleküllerinde bulunan hidroksil grupları polimerlere hidrofilik bir özellik vererek neme karşı bir çekicilik kazandırmakta ve suda dağılabilmesini sağlamaktadır. Ancak amiloz molekülü doğrusal olduğundan birbirlerine paralel olarak yer alırlar ve hidroksil gruplarının yakın ilişkisi sonucu H bağlanması oluşur. Böylece bir polimer diğeri ile yakın ilişkiye girer. Bu durumda suya olan çekicilik azalır. Amiloz molekülleri arasındaki bu ilişkiye retrogradasyon denir. Amiloz moleküllerinin doğrusal oluşu sağlam, esnek film ve jeller oluşturur. Ancak retrogradasyon gibi bir istenmeyen olaya da neden olduklarından, uygulama da bu hususun göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Amilopektin molekülü çok dallı bir yapıya sahiptir ve amilozdan daha büyük bir polimerdir. Amilopektin molekülünün büyüklüğü ve dallı yapısı moleküllerin hareket kabiliyetine engel olarak hidrojen bağı ile birbirleriyle yakın ilişki meydana getirmesini, dolayısıyla retrogradasyonun oluşmasını önler. Amilopektin ve amilopektinin sulu solları, berraklığı ve jelleşmeye karşı dirençleri ile karakterize edilirler. Molekülün çok dallı olması nedeniyle de amilopektin, amiloz kadar sağlam ve esnek filmler oluşturamaz. Ancak, amilopektin solları stabil olduğu için önemli kullanış alanlarına sahiptir (Çağlarırnak ve Çakmaklı, 1993; Karaoğlu vd., 1998).

Bugün nişastanın endüstride en fazla öneme sahip kimyasal özelliğinin enzimler veya asitler ile hidrolize olan polimerik bağı olduğu kabul edilir. Nişastanın bu özelliğinden yararlanılarak değişik amaçlı modifiye nişastalar üretmekte ve gıda endüstrisinde önemli uygulama alanları bulunmaktadır.

1.3.2.1. Amiloz

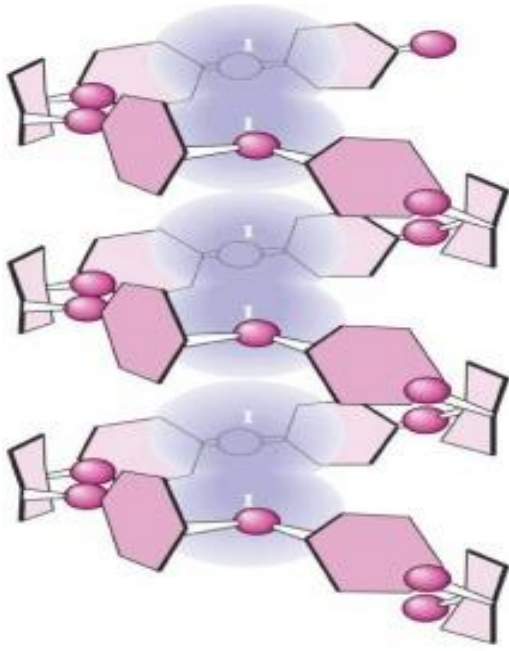
Amiloz genel olarak α -1,4 bağı ile bağlanmış α -D-glukoz birimlerinden oluşan lineer bir polimer olarak kabul edilir (Şekil 1). Amiloz molekülü, Amilopektin molekülünden daha küçüktür. Nişastanın çeşitlerine göre nişastanın kompozisyonlarında farklılıklar olabilir. Nişastadaki amiloz oranı % 0-75 arasında değişebilmektedir. Patates ve mısır nişastaları gibi nişastalar % 100 saf amilopektinden meydana gelmektedir (Pfister vd., 2016)..



Şekil 1. Amiloz yapısı

Molekül ağırlığı, bitki türlerine ve bitkinin olgunlaşmasına bağlı olarak yaklaşık 250000 (1500 anhidro birimi) dir. Polimer genel olarak lineer olarak kabul edilirse de bu ancak kısmen doğrudur. Yeni araştırmalar molekülün çok düşük düzeyde dallandığını göstermektedir. Amiloz çözelti halinde surfektanlar, iyot, lipidler ve alifatik alkoller ile kompleks oluşturur. Ayrıca moleküller arası güçlü etkileşim amilozun retrogradasyonuna neden olur. Çözelti halinde amilozun çabuk retrogradasyona uğramasından dolayı molekül kararlı değildir. Retrogradasyonu engellemek için çözeltinin alkali pH değerinde olması gerekir.

Amiloz suda heliks yapısını meydana getirir (Şekil 2). İyot bu heliks yapısıyla kompleks oluşturarak karakteristik mavi renk görünmesine neden olur.



Şekil 2. Amilozun sudaki heliks şekli

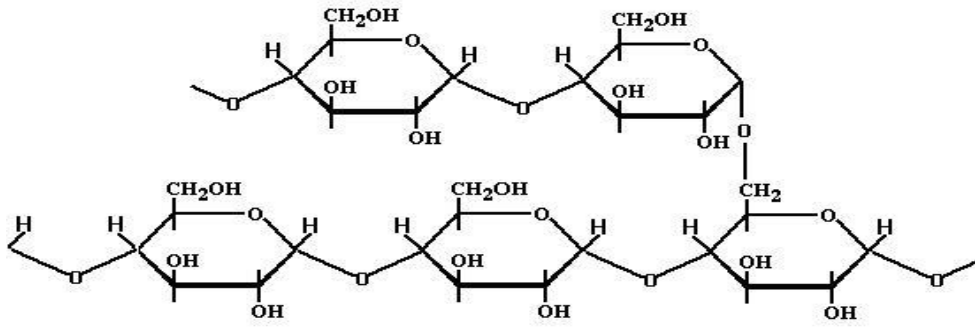
Nişasta jelatinizasyonu sıcaklığının biraz üzerindeki sıcaklıklara ısıtılması ile amiloz çözünerek çözeltiliye geçer. Başlangıçta çözünen amiloz lineer yapıdadır. Sıcaklığın yükseltilmesiyle daha yüksek molekül ağırlığına sahip ve dallanmış yapıda amiloz elde edilir. Yapılan enzimatik ve viskozimetrik çalışmalar dallanmaların yüzlerce glukoz içeren uzun zincirlerden oluştuğunu ortaya koymuştur. Dallanma noktaları amilopektinde olduğu gibi α -1,6 bağıdır. Amiloz molekülünde dallanmalar çok seyrek ve zincirler oldukça uzun olduğu için molekülün dallanmamış olduğu kabul edilmektedir. Amilozun uzun ve doğrusal yapısı ona bazı özellikler kazandırmıştır (Çağlarırnak ve Çakmaklı, 1993; Karaoğlu vd., 1998; Pfister ve Zeeman, 2016; Pfister vd., 2016).

Örneğin molekül iyot, organik alkoller ve asitler ile heliks yapıda “inclusion” bileşikleri meydana getirebilir. Amiloz iyot ile koyu mavi bir renk oluşturur. Bu kompleks 660 nm dalga boyunda maksimum absorbanans göstermektedir. Saf amilozun iyot bağlama kapasitesi % 20’dir. Ayrıca lineer amiloz molekülüleri film oluşturma kabiliyetinde sahiptir. Amiloz molekülünün uzaydaki dizilişlerini tanımlamak için heliks yapıda iki tür model önerilmiştir. Bunlardan biri gergin diğeri katlanmış modeldir. Gergin modelde heliks yapının bir tekrarı 6 glukoz ünitesinden meydana gelmektedir. Bu model, çift heliks modelin bir iplikçığı ile eşdeğerdir ve retrograde

olmuş amiloz ile doğal nişasta kristallerinin yapısını tanımlamak amacıyla kullanılmaktadır. Katlanmış modelde de heliks yapının bir tekrarı 6 glukoz ünitesinden meydana gelmektedir ancak her glukoz ünitesinin uzunluğu farklıdır. Katlanmış model amiloz ile diğer moleküllerin kompleks oluşturduğu bir modeldir. Kompleks oluşturan diğer molekül amilozun kıvrım yaptığı yerde mil gibi davranır. Glukozun yapısındaki karbon atomlarına bağlı hidrojen atomları heliksin iç bölgesinde yönelmiş durumdadır ve bu nedenle merkezi kısımda hidrofobik bir yüzey oluşmuştur. Genellikle kompleks oluşumu yüksek sıcaklık derecelerinde meydana gelir (Çağlarırnak ve Çakmaklı, 1993; Karaoğlu vd., 1998).

1.3.2.2. Amilopektin

Amilopektin, nişastanın % 70-80'ni oluşturan, α 1-4 glikozik bağlarla bağlı ve α 1-6 bağları ile dallanan glukoz üniteleri içeren bir polimerdir (Şekil 3). Amilopektin, dallanmış 1500 veya daha fazla glikopiranoz birimlerinden meydana gelmiştir. Her molekülde 50-70 dal bulunur ve bunların her biri 20-25 glukoz uzunluğundadır. Her 20-30 glukoz biriminde bir dal vardır.



Şekil 3. Amilopektin yapısı

Amilopektinin moleküler yapısı bait olarak kimyasal yöntemlerle belirlenemez. Amilopektinin molekül yapısının belirlenmesindeki en önemli zorluk molekül ağırlığının çok yüksek olmasıdır. Ayrıca α 1-6 Dglukozidik bağlanma noktaları gibi molekülü tanımlayıcı noktaların yerlerinin bilinmesinden dolayı molekülün sonsuz sayıda farklı dizilme olanağına sahip olması da moleküler yapısının belirlenebilmesini engellemektedir. Diğer taraftan her bir molekülün aynı moleküler diziliminde ya da molekül ağırlığında olduğu kabul edilemez. Hidroliz ve dallanma noktalarının kırıldığı

enzimatik tekniklerin kullanımı amilopektinin yapısını büyük ölçüde ortaya çıkarmıştır. Amilopektin molekülünün tanıtılmasında kullanılan anahtar özellikler zincirlerin uzunluk, sıklık, dallanma noktaları ve yerlerinin saptanmasıdır (Çağlarırnak ve Çakmaklı, 1993; Karaoğlu vd., 1998; Pfister ve Zeeman, 2016; Pfister vd., 2016)..

Amilopektin yapısı yaygın olarak araştırılmış ve yapıyı temsil edebilecek pek çok model önerilmiştir. Bu modellerde polimerin farklı polimerizasyon derecelerinde olan üç tür zincirden oluştuğu gösterilmiştir. Önerilen modellerin birbirinden farkı ise bu zincirlerin birbirlerine oranlarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır. A zincirleri, α -1,4 bağından oluşmuştur. Polimerizasyon derecesi 12 ile 20 arasında değişen bu kısa zincirler dallanmamış lineer zincirlerdir. B zincirleri, α -1,4 ve α -1,6 bağları ile bağlanmış glukoz birimlerinden oluşmaktadır. Polimerizasyon dereceleri 30 ile 45 arasında değişmektedir. C zincirleri ise α -1,4 ve α -1,6 bağları ile bir de indirgen gruptan meydana gelmektedir. C zincirlerinin polimerizasyon derecesi 60'dan yüksektir. Molekülü oluşturan bu zincirler yan yana gelerek paralel yığınlar şeklinde 5-7 nm kalınlığında kristal bölgeleri oluşturmaktadır. Amilopektin molekülünün diğer bölümleri ise amorfudur (Pfister ve Zeeman, 2016; Pfister vd., 2016).

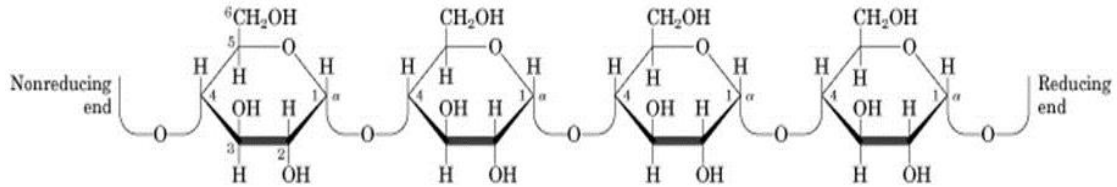
Amiloz molekülünün çözelti halinde stabil kalmadığı, kristalize olduğu daha önce belirtilmiştir. Amiloz, amilopektinden daha hızlı bir şekilde kristalize olmakta, sert ve geri dönüşümsüz jel oluşturmaktadır. Amilopektinin kristalize olabilmesi için ise genellikle daha yüksek konsantrasyonlara (% 30 ve daha üstü) gereksinim vardır. Amiloz jelleri amiloz zincirlerinin lineer yapısından dolayı amilopektin jelinden daha sert bir yapıya sahiptir. Amiloz % 2'lik konsantrasyonda gayet sert bir jel oluşturabilirken, amilopektin serbest akabilen bir çözelti oluşturmaktadır. Amilopektin molekülünün zincir uzunlukları amilozdan daha düşük olduğu için iyot bağlanma kapasitesi % 1-2 dolaylarında olup, iyot ile kırmızı menekşe renkli kompleks oluşturur. Bu kompleksin maksimum absorban gösterdiği dalga boyu 550 nm dir (Çağlarırnak ve Çakmaklı, 1993; Karaoğlu vd., 1998; Pfister ve Zeeman, 2016; Pfister vd., 2016).

Nişastanın yapısındaki amiloz ve amilopektin çeşitli enzimlerin etkisiyle parçalanma ürünlerine dönüşmektedir. Amilaz nişasta içerisindeki α -1,4 bağlarını rastgele noktalardan kırarak daha küçük parçalar oluşturur. Beta amilaz nişasta zincirlerinde indirgen olmayan uçlardan başlayarak α -1,4 bağlarını birer atlayarak

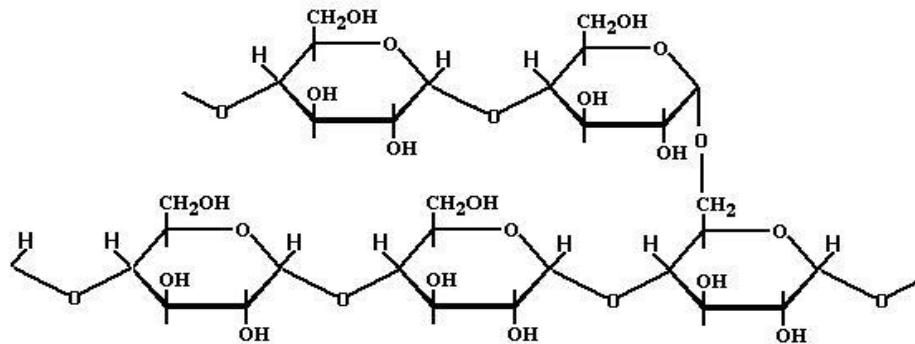
kırarak, maltoz ve limit dekstrin oluşturur. Limit dekstrinde enzim etkisinden önce mevcut olan dallanma noktalarındaki α -1,6 bağları bozulmamıştır. Glukoamilaz nişastasının indirgen olmayan uçlarından α -1,4 bağlarını kırarak D-glukoz birimleri oluşturur; ayrıca dallanma noktalarındaki α -1,6 bağlarını da kırarak nişastayı hemen hemen tamamen D-glukoza dönüştürür (Çağlarırnak ve Çakmaklı, 1993; Karaoğlu vd., 1998; Pfister ve Zeeman, 2016; Pfister vd., 2016).

1.4. Nişastanın Kimyasal Bileşimi

Nişastaların iki cins polisakkarit glukan karışımıdır, fakat her ikisi de tam hidrolize D-glikoz verirler. Bunlardan birincisi başlıca dallanmamış, heliks şeklinde bükülmüş, değişik boyda 100-200 D-glikopirinoz birimlerinin α -1,4-glikozid bağlar ile bağlanması ile meydana gelmiş, lineer polisakkarit zincirlerinden yapılmıştır, buna amiloz denir (şekil 4). Kangalın her dönüşü 6 glikoz birimi taşır. Halbuki amilopektin denilen ikinci bileşen molekülleri, ağaç gibi dallanmış 1500 veya daha fazla glikopiranoz birimlerinden meydana gelmiştir (Şekil 5).



Şekil 4. Amiloz düz nişasta zinciri



Şekil 5. Amilopektin dallı nişasta zinciri

Buğday nişastasında yaklaşık olarak amiloz muhtevası %25, amilopektin muhtevası ise % 75 oranındadır. Yukarıdaki şekilde amiloz ve amilopektin deki zincir yapısı görülmektedir (Çağlarırnak ve Çakmaklı, 1993; Karaoğlu vd., 1998; Pfister ve Zeeman, 2016; Pfister vd., 2016).

Birçok yöntemlerle amiloz ve amilopektin birbirinden ayrılabilir (Tablo 1). Amilopektin nişastanın suda çözünen bileşeni, amiloz suda çözünmeyen bileşenidir. Nişasta molekülleri fazla sayıda hidroksil grupları içerdikleri için nem çekicidirler. Nişastanın absorpladığı nem miktarı nişastanın cinsine ve bağıl nemine göre farklılık gösterir. Normal olarak buğday nişastasının nemi % 10 civarındadır. Nişasta bir değişikliğe uğramaksızın hiçbir çözücüde çözünmez; alkol, eter ve su etkisizdir. Nişastanın amiloz fraksiyonu iyot ile mavi, amilopektin ise kızmor renk verir (Çağlarırnak ve Çakmaklı, 1993; Karaoğlu vd., 1998; Pfister ve Zeeman, 2016; Pfister vd., 2016)..

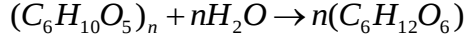
Nişasta soğuk su çözünürlüğü düşüktür ve görünümünde bir değişiklik olmaz. Fakat bu sulu nişasta süspansiyonu 50-85 °C'ye ısıtılırsa tanecikler birden şişer. Kısa zincirli moleküller çözünür ve yapışkan, koloidal çözelti meydana gelir. Bu çözelti soğuyunca jelatin halinde donar ve jel meydana gelir. Başlangıçtaki nişasta süspansiyonunun derişimi yüksekse hamur, düşükse koloidal çözelti meydana gelir. Bu noktaya çirışlenme (jelatinizasyon) noktası denir. Buğday nişastası 60 °C'de çirışlenmeye başlamaktadır. Bu nokta nişastanın cinsine göre değişir (Çağlarırnak ve Çakmaklı, 1993; Karaoğlu vd., 1998; Pfister ve Zeeman, 2016; Pfister vd., 2016).

Tablo 1. Amiloz ve Amilopektin Moleküllerinin Özellikleri

Özellik	Amiloz	Amilopektin
Moleküler Yapısı	Lineer (α -1,4)	Dallanmış (α -1,4; α -1,6)
Çözelti Stabilesi	Satabil Değil	Stabil
Jel Yapısı	Sert, Geri Dönüşümsüz	Yumuşak, Geri Dönüşümlü
İyot Rengi	Mavi	Kırmızı-Mor
β -amilaz ile parçalanma	% 100	% 60
Polimerizasyon Derecesi	1500-6000	$3 \cdot 10^5 - 3 \cdot 10^6$

1.5. Nişastanın Hidrolizi

Nişasta seyreltik asitlerle ısıtılınca yapıtaşı olan glikoza hidrolizlenir.



Nişasta

Glikoz

Ara ürünleri dekstrinler ve malt şekeri maltozdur. Bu nişasta hidrolizi teknik olarak, nişasta şekerlenme ürünleri, nişasta şurubu, nişasta şekeri ve dekstrozu elde etmekte kullanılır (Karaoğlu vd., 1998).

Nişasta amilaz enzimleri ile parçalanabilir. Alfa amilaz nişastanın amiloz bileşeninin gelişmiş güzel bölünmesini yapar. Nişasta zincirlerine rastgele noktalardan hücum ederek α -(1,4) glikozidik bağlarını kırar. Böylece ilk anda değişik molekül ağırlıklı dekstrinler meydana gelmekte ve ancak ikinci evrede, daha yavaş şekerlenme ile başlıca maltoz, daha az oranda glikoz ve maltotrioz'dan ibaret karışım meydana gelir. Katalitik etki amilopektin üzerinde de rastgele noktalardan α (1-4) glikozidik bağlara has olmak üzere devam eder, fakat enzim dallanma noktalarına ulaştığında α (1-4) glikozidik bağlarını kıramaz ve bu bölgeyi atlayarak, zincirin bölge uzantısında işlevine devam eder (Karaoğlu vd., 1998; Ellis vd., 1998).

Beta amilazın nişastanın amiloz bileşenlerinin hemen hemen nicel (% 10) saf maltoza hidrolizini ve amilopektin bileşeninin de molekülün indirgen olmayan uçlarından başlamak üzere maltoz birimlerini ayırır.

Beta amilaz, dallanma noktalarına ulaştığında, mevcut α (1,6) glikozidik bağlar parçalanamaz ve asıl önemli olan husus α -amiloz gibi rastgele noktalardan hücum özelliğine sahip olmadığı için dallanma bölgesinin ötesine atlayamaz. β -amilazın hücumu sonucu birbirine bağlı dallanma noktalarını bünyesinde bulunduran yüksek moleküllü sınırlı dekstrin etkilenmeden kalır. Ancak mekanik etkenler yada α -amilaz aktivitesi sonucu iç kısımlardan kırıldığında söz konusu sınırlı dekstrin indirgen uçlardan parçalanarak küçültülür (Karaoğlu vd., 1998).

1.6. Nişastanın Jelatinizasyonu

Nişastanın sulu ortamda ısıtılmasıyla geçirdiği değişiklikler pek çok gıdanın özelliklerini belirlemektedir. Örneğin soslarda ve pudinglerde ısıtma sonucunda viskoz, kıvamlı bir yapının oluşması nişastanın kıvam arttırıcı özelliğinden kaynaklanmaktadır (Karaoğlu vd., 1998).

Nişastalar suda çözünmezler, ancak bağıl nemi yüksek bir ortamda bekletildiklerinde veya su ile temas ettirildiklerinde suyu soğuyarak şişerler. Bu durumda, su molekülleri ile hidroksil grupları arasında hidrojen bağları oluşur ve immobilize olur. Su molekülleri esas olarak amorf faza adsorblanır. Kristal bölgede zincirler arasındaki bağlar çok kuvvetlidir ve su moleküllerinin bağlanmasına karşı sterik engel oluşur (Karaoğlu vd., 1998).

Nişastaya su eklendiğinde, su nişasta granülüne sızar. Nişasta kuru ağırlığının % 30'u kadar suyu yapısında tutabilmektedir. Bu durumda granül şişer. Nişastanın şişmesi sonucunda hacimde % 5 oranında bir artış meydana gelir. Hacim değişimi ve suyun yapıya adsorpsiyonu geri dönüşümlüdür. Sistemin jelatinizasyon sıcaklığından daha düşük sıcaklık derecelerine ısıtılması granülde başka bir değişme neden olmaz (Karaoğlu vd., 1998).

1.7. Türkiye’de ve Dünya’da Nişasta Sanayi

Nişasta Sanayi, teknolojik yeniliklere paralel olarak tahıldan nişasta ve nişasta bazlı şeker (glukoz ve fruktoz) üretirken kimya mühendisliğinin yanında biyoteknolojiden de yararlanmaktadır.

Türkiye’de henüz gelişme safhasında olan nişasta sanayi, hammadde olarak kullandığı mısır için yeterli mısır üreticilerine yeni bir Pazar yaratmıştır. Sanayi, mısır için yaratılan pazarın yanında üretimde yan ürün olarak ortaya çıkan yüksek proteinli hayvan yemleri ve mısır özü yağ ile ithal edilmekte olan bu ürünleri, yüksek oranda yerli üretimle ikame ederek ekonomiye katkı sağlamaktadır (URL-1, 2019).

Türkiye’de nişasta sanayi, toplam 300 milyon dolarlık yatırımla 5 nişasta üretici firmadan oluşmaktadır. 5 üreticiden 4’ü glikoz ile birlikte isoglikoz da (yüksek

fruktozlu mısır şurubu) üretmektedir. Nişasta sanayi, nişasta, glikoz ve fruktoz üretimi için yaklaşık 800.000 tonluk kurulu kapasiteye sahiptir (URL-1, 2019).

Üretim ve kapasite verileri çerçevesinde Türkiye'deki nişasta sanayini AB ve ABD ile karşılaştırdığımızda, gerek hammadde kullanımında gerekse nihai ürün çeşitliliğinde katetmemiz gereken oldukça uzun bir mesafenin olduğu ortaya çıkmaktadır. Nişasta sanayi, AB'de ise geleneksel tat verme amaçlı kullanımına ek olarak nişasta sanayi; amino asit, etanol, sitrik asit ve doğaya zarar vermeden yok olan plastik üretimi içinde kullanılmaktadır (URL-1, 2019).

ABD'deki Ulusal Mısır Üreticileri Birliği, Haziran 2000'de tarımsal vizyonlarını "Dünyadaki petrol kaynaklarının sınırlı olması sebebiyle petrolden elde edilen bazı ürünler için bitkilerden yararlanacakları ve kimya sanayine 2020'de % 10, 2050'de % 50 oranında hizmet edecekleri" şeklinde açıklamışlardır. İfade edildiği gibi nişasta sanayi, gerekli yapısal destek sağlandığında, katma değeri yüksek ve gelişme potansiyeli olan bir sektördür (URL-1, 2019).

Sektör Tanımı: Türkiye'de nişasta sanayi; toplam 300 milyon dolarlık yatırım ve 5 nişasta üretici ile faaliyet göstermektedir. Türkiye'de henüz gelişmekte olan nişasta sanayi, hammadde olarak kullandığı mısır nedeniyle yerli mısır üreticilerine yeni Pazar yaratmanın yanı sıra, nihai ürünleri nişasta bazlı şekerler ile de Türk gıda sanayi için yüksek kaliteli ürünler üretilmesine katkı sağlarken bu ürünlerin ihracat pazarlarında daha fazla rekabet şansına sahip olmalarında da önemli pay sahibidir. Ayrıca yan ürün olarak ortaya çıkan yüksek proteinli hayvan yemleri ve mısır özü yağı ile ithal edilmekte olan bu ürünleri yüksek oranda yerli üretimle ikame ederek ekonomimize katkı sağlamaktadır (URL-1, 2019).

Nişasta sanayi ana hedef olarak dünya kalitesi standartlarında ürettiği nişasta bazlı şekerlerle gıda ve endüstri alanlarındaki üreticilere ana hammadde tedarikçisi olarak hizmet vermektedir. Bu sayede kendi sanayi dallarında ülkemizin temel taşları olan birçok üretici firma iç piyasada olduğu kadar dış piyasalarda da yüksek kalite standardı ile rekabet edilme şansına sahiptir (URL-1, 2019).

1.8. Nişastanın Kullanıldığı Endüstriyel Alanlar

Nişasta bağlayıcılık, yapıştırıcı özelliği, kıvam, yapı verme ve hacim kazandırma gibi fonksiyonel özellikleri açısından endüstride kullanım alanı bulunan doğal bir karbonhidrattır (Ellis vd., 1998; Blennow vd., 2003; Zhang vd., 2014, URL-2, 2019).

✓ Doğaya dönüşümlü plastik üretimi

Doğal mısır nişastasının fermantasyonu sonucu oluşan laktik asidin polimerizasyonu ile biyolojik olarak doğaya dönüşümlü plastikler üretilir.

✓ Savunma sanayi

Dinamit, fişek ve plastik bomba yapımında kullanılır.

✓ Kağıt sanayi

Kağıdın hamurunda bağlayıcı olarak yüzey tutkallamada ve mukavemet sağlayıcı olarak kullanılır.

✓ İlaç sanayi

Dolgu maddesi olarak kullanılır.

✓ Alçıpan sanayi

Yapıştırıcı özelliğinden faydalanılır.

✓ Oluklu mukavva

Tutkal olarak nişastanın yapıştırıcı özelliğinden faydalanılır.

✓ Tutkal ve yapıştırıcı sanayi

Film oluşturabilme ve yapıştırıcı özelliği sayesinde özellikle etiketlerde tutkal olarak kullanılır.

✓ Tekstil sanayi

Haşılama safhasında ipliğe mukavemet sağlayıcı olarak kullanılır.

1.8.1. Gıda Nişastasının Kullanıldığı Alanlar

Hijyenik koşullarda üretilmiş, yüksek beslenme değerine sahip, gıdaya uygunluğu yapılan analizler ve kontroller sayesinde güvence altına alınmış doğal mısır nişastasıdır. Hazır çorba, puding ve kabartma tozu gibi alanlarda kıvam verme, jel oluşturma ve bağlayıcı özelliklerinden dolayı kullanılır (URL-2, 2019).

Sitrik Asit, doğal mısır nişastasının fermantasyonu sonucu elde edilen organik asittir.

Yüksek dekstrozlu glikoz şurubunun maya ile fermente edilmesi sonucu elde edilen saf etil alkol üretilmektedir.

Doğal Tatlandırıcılar, nişastadan elde edilen, kalorisi düşük, diyabetik amaçlara da uygun yaygın olarak gıda, ilaç sektörlerinde kullanılan doğal poliollerdir.

Yüksek fruktozlu mısır şurupları, glikozun glikoz izomeraz enzimi yardımıyla fruktoza dönüştürülmesiyle elde edilen yüksek tatlılıkta şuruplardır.

Glikoz Şurubu, doğal mısır nişastasından elde edilen besleyici sakkaritler içeren, saflaştırılmış, konsantre edilmiş, şeker çözeltisidir.

Şekerleme Sanayinde nişasta nem tutucu özelliğini arttırmak, lezzeti geliştirmek, viskozite ve doku sağlamak, şeker kristalizasyonunun kontrolü, tatlılık vermek ve renk kaybını önlemek için kullanılır.

Reçel Sanayinde nişasta viskoziteyi ayarlamak, osmotik basınç (mikrobiyal koruyuculuk) korumak, kristal oluşumunun engellenmesi, tat ve görünüm gelişimi ve dengeli tatlılık özellikleri için kullanılır.

Sakız Sanayinde, dokunun çiğnebilirlik özelliğini arttırmak ve şekerin uzaklaşmasını yavaşlatmak için kullanılır.

Alkolsüz İçecek Sanayinde (Spor ve Enerji İçecekleri), osmotik basıncın kontrolü ve dekstrozun hızla kana karışma özelliğinden dolayı enerji sağlama özelliğiyle kullanılır.

Dondurma Sanayinde, nişasta dondurmanın kaşığa alınabilirliğini, sertliğini, dokusunu ve ağız hissini kontrol eder. Kristal oluşumunun kontrol edilmesiyle ağızda pürüklü yapı hissedilmemesini sağlar. Süt şekeri laktozun kristalleşmesiyle oluşan kumsu hissi ve kaba buz kristallerinin oluşmasını önler. Toplam katı madde dengesini kontrol eder.

Nişasta, Unlu Mamuller Sanayinde (Kek, Bisküvi ve Fırıncılık Ürünleri), nem tutuculuk, doku oluşturma özelliği, renk koyulaşması, fermente edilebilirlik, tatlılık ve lezzetin daha zenginleştirilebilmesi ve raf ömrünü arttırmak amacıyla kullanılır.

Helva Üretiminde nişasta, yağ sızması ve kristalizasyon gibi kalite kusurlarını gidermek için kullanılan emülgatör ilavesinin azaltılması ve ürün kalitesinin iyileştirilmesi, raf ömrünün arttırılması amacıyla kullanılır.

Alkollü İçecek Sanayine ise nişasta, ağız hissi, viskozite ve tatlılık kontrolü ve karamel rengi sağlaması için fermente edilebilir karbonhidrat kaynağı olmasından dolayı kullanılır.

1.9. Mayalar

Mantarlar, Latince’de “Fungus” (tekil), “Fungi” (çoğu) ve Yunanca.da “Myces” sözcüklerinden türetilmiştir, ökaryotik ve karbon heterotrof organizmalardır. Mantarları inceleyen bilim dalına mikoloji adı verilir. Daha büyük, daha zehirli ve hakiki çekirdeğe sahip olmaları bakımından bakterilerden, fotosentetik pigmentleri olmadığı için bitki, alg ve *Cynobacteria*’dan ayrılırlar. Mantarlar tek hücreli maya mantarları, çok hücreli iplikli yapı oluşturulabilen küf mantarları ve çok hücreli şapkallı mantarlar olmak üzere üç farklı morfolojik görünüme sahip organizmalardır. Mikromantarların büyük çoğunluğu hayatlarının tüm evrelerini ya maya ya da küf şeklinde sürdürürler ki bunlara monofazik mantarlar, küçük bir grubu ise 25 °C.de küf, 35°C.de maya formunda bulunurlar ki bunlara difazik mantarlar adı verilir. Difazik mantarlar oda ısısından veya doğada küf olarak, insan vücudunda maya şeklinde bulunurlar, Histoplazma capsulatum, Coccidioides immitis ve Sporothrix schenckii gibi. Mantar hücreleri çok hücreli ve nükleuslu, genellikle de birden fazla nükleus içeren, klorofilsiz, çoğu zaman renksiz ancak bazı türlerin özellikle çeperlerinde melanin maddesinin birikmesi nedeniyle koyu bir renk içerebilen mikroorganizmalardır. Saprofit veya parazit olarak

yaşarlar. Yedek depo maddesi olarak glikojen, yağ ve bazen de mannit biriktirirler, nişasta depo etmezler. Elektron mikroskopuyla yapılan ince kesitlerin incelenmesi sonucunda hücre duvarının altında üç tabakadan yapılmış ve ünit membran özelliği gösteren, her biri yaklaşık 25-30 amstrong (Å) genişliğinde bir sitoplazmik membran (plazma membranı) bulunur. Geçirgenlik özelliği gösterdiğinden emilim ve salınım da büyük kolaylıklar sağlamaktadır. Yapısında; fosfolipid, protein ve steroller bulunduğu görülmüştür. Proteinlerin çoğunu, substansların geçişlerinde önemli fonksiyonlara sahip olan permeaz enzimlerinden oluşmaktadır. Steroller, amfipatik bir karaktere sahip olup hem polar (suda eriyebilir) ve hem de nonpolar (yağda eriyebilir) bölgelere sahiptirler. Bunlar, fosfolipid çift katmanı içine girmiş durumdadırlar (Mehrotra ve Aneja, 2005; Taşkiran, 2011). Küf fazındaki mantarların dallanmış iplikler halinde, çapı 5.0-10,0 µm arasında değişebilen, vejetatif yapıları hif (hyphae) adı verilir. Besiyerinin içerisinde veya üzerinde gelişerek, besinlerin alınmasını ve tutunmasını sağlayan yapıya substrat miseli adı verilir. Aynı koloni içinde bulunan hiflerden beslenmeyi sağlayanlara vejetatif hif, dışarıda kalanlara aerial hif ve çoğalmada görev alanlara üreme (reproduktif hif, fertil hif) hifa adı verilir (Taşkiran, 2011).

Hiflerin oluşturduğu vejetatif yapıya tallus, tallusun oluşturduğu topluluğa ise misel (mycelium) adı verilir. Miseller genetik olarak genellikle aynı tip nükleusa sahip olup homokaryotik, bazen de farklı tip nükleusa sahip olup heterokaryotik olarak isimlendirilir. Bazı mantar türlerinde misel, özel bir dokunuş arz ederek farklı dokular meydana getirebilir. Böyle hallerde miselin gevşek dokunmuş kumaş halini almış şekline plektenkima (plectenchyma) denir ve iki tipi görülür. Bunlardan biri prosenkima olup hifler birbirine paralel ve gevşek bir doku meydana getirirken, diğeri pseudoparankima olup hifler çok sıkı ve birbirlerine girmiş şekilde bulunurlar. Dokular sıkı ve sert olup, hem somatik hem de üreme organları gelişir. Zygomycotina grubu üyeleri hariç küf fazındaki mikrofunguslar hücre duvarı enine bölmeler oluşturarak septalı (tekili; septum) hifalar oluşturur. Septa hücre duvarının merkeze doğru büyümesi ve bir dizi deliklerin oluşmasıyla şekillenir. Septalı hücreler tek, iki tane veya daha fazla nükleus içerebilirler.

Ascomycotina ve Deuteromycotina mantarlarda hifa belli aralıklarla özel septumlar (basit septa) aracılığı ile bölünmüş, septumun ortasında veya ortasına yakın

yerde 0,005-0,5 µm çapında bir tek delik (por) yer almaktadır. Deliği gerektiğinde kapatan ve her hücrede bir veya daha fazla sayıda “woronin cisimciği” bulunmaktadır.

Basidiomycetes sınıfına ait mantarlarda dolipor septum adı verilen, ortasında çok dar (100-200 nm) bir delik, deliğin etrafı amorf ve kabarık bir kenarla (yaka) çevrilidir. Bunu da dışarıdan çok ince ve delikli bir membran (parentosom) sarar. Bu tip septalar da sitoplasma bir hücreden diğerine geçirmesine karşın, çekirdeği geçirmez. Flament özellik taşıyan Mastigomycotina ve Zygomycotina ait mantarlarda, hifalar septumsuz olup kesintisiz düz bir borucuk (septumsuz hifa, *coenocytic hypha*) halindedir (Öner, 1998; Maheashwari, 2005; Taşkiran, 2011).

Hifalarda büyüme, tepe veya uç (apikal) kısımlardan gerçekleşir, bu kısımda stoplazma içinde spitzerkörper adı verilen bir yapı bulunur ve hifanın devamlı uzamasına yardım eder. Hifanın tepe kısımlarında bol miktarda mitokondri, golgi aparatı, endoplazmik retikulum, mikrotubuli, aktin, veziküller ve bol miktarda sentez bileşikler bulunur. Veziküller membran ve hücre duvarı öncül maddelerini, büyüme için gerekli olan çeşitli proteinleri içerirler. Gelişme için genellikle selüloz, hemisellüloz, nişasta ve lignin gibi polimerik bileşikler içerir. Olgun hifa sert bir yapıya sahipken, gelişmekte olan hifanın uç kısımlarında ince bir hücre duvarına sahip olup büyümesi ve uzamasını kolaylaştırmaktadır (Maheashwari, 2005; Taşkiran, 2011).

Bazı kök istilacı mantarlarda ve odun parçalayıcı mantarlarda normal hifalardan daha uzun, iç içe geçmiş, dallanmayan rizomorf denilen yapılar bulunur. Birçok bitki patojeni mantarlarda, enfeksiyonun ilk evrelerinde gelişen ve konağa tutunmaya yarayan “appressoria” adı verilen hifalar bulunur. Çoğu biyotrof ve bazı fakültatif parazit türlerde konak hücrenin içine giren değişik şekillerde bulunabilen (tek veya çok hücreli, basit veya loblu) hücre içi hifalar oluşur ki bu yapılara “haustoria” adı verilir. Protozolar, Rotiferler ve Nematodlar gibi küçük hayvanlar için yırtıcı olan parazit mantarlarında mekanik olarak veya yapışarak tutunan tuzak (traps) adı verilen hifalar gelişmiştir. Bu mantarların bazıları Zygomycetes (Zoopagales), büyük çoğunluğu da Fungi-imperfect mantarlar içinde yer alırlar (Mehrotra ve Aneja, 2005; Taşkiran, 2011).

Mantar hif sitoplazması ökaryotik sitoplazmaya benzer olup nükleus, mitokondri, mikrocisimcik, golgi aparatı, ribozom, vakuol, veziküller, endoplazmik retikulum,

lizozom, mikrotübüller, lamozomlar içerir. Çekirdek iki tipik ünit membranla çevrili, her biri endoplazmik membrana benzer. Nukleolus çekirdek merkezide olup bol miktarda RNA içerir. Mitokondri farklı şekillerde bazen yuvarlak (1 µm çapında) bazen uzunlamasına (30 µm uzunluğu) olabilir. Golgi cisimciği ya da diktiyozom nadiren gözlenir, endoplazmik retikulum sitoplazmada tonoplast ve plazma membranı arasında bir ağ oluşturur, bazıları ribozom içerir. Sitoplazmik mikrotübüller sitoplazmanın her tarafında gözlenebilir. Sitoplazmada orijini bilinmeyen, yuvarlak ya da oval (1.5-2.0 µm çapında) tek bir ünit membranla çevrili, lizozom, peroksizom (glioksizom) öncülerini veya benzerlerini içeren, kısmen katalaz, gliksilat döngüsü enzimleri veya hidrolitik enzimleri içeren mikrocisimcikler bulunur. Ribozomlar hem sitoplazmada hem de mitokondride bulunur. Sitoplazmada çoğunlukla orijini bilinmeyen bir dizi vakuoller bulunur, fonksiyonlarının gelişme ve büyümede turgor basıncı oluşturdıkları, pigment, aminoasit, hidrolitik enzimler ve polimetafosfat (mayalarda) gibi depo maddeleri biriktirdikleri varsayılır (Mehrotra ve Aneja, 2005; Taşkiran, 2011).

Mantarların hücre duvarı, genellikle çok katlı (multilaminer) ve fibriller bir özellik gösterir. En dıştan amorf glukan tabakası, ortada glikoprotein, iç tabakada mikrofibrillerin bir araya gelmesiyle oluşan protein kılıfı bulunur. Yapısında, başlıca polisakkaridler (%80), daha az olarak protein (% 5-15), lipidler (% 3-10), polifosfat ve inorganik iyonlar bulunmaktadır. Bunların miktarları, mantar türlerine, besiyerinin birleşimine ve çevresel koşulların durumuna göre az çok değişmektedir. Polisakkaridler arasında glukan, kitin, galaktoz, kitosan, mannan ve selüloz en fazla bulunanlarıdır. Bu komponentler bazen birlikte olabilmektedirler. Kitin ve selüloz çoğu mantar türünün hücre duvarında bulunan başlıca mikrofibril ya da iskeletini oluşturmaktadır. Örn, Basidiomycetes ve Chytridiomyceteslerde kitin-glukan, Zygomyceteslerde kitin-kitosan, Ascomyceteslerde kitin-glukan bulunur. Mantar hücrelerinde endomembran sistemi arasında yer alan lizozomların içlerinde hidrolitik enzimleri bulunur. Son yıllarda saptanan kitosom ise kitin, mikrofibrillerinin sentezinde etkinlikleri olan kitin sentetaza sahiptirler (Carlile vd., 2001; Arda, 2000; Maheshwari, 2005; Mehrotra ve Aneja, 2005, Taşkiran, 2011).

Mantar hücre nükleusu çok küçük olup sitolojik çalışmalarda ışık mikroskopunda görmek güçtür, elektron mikroskobu ile gözlenebilir. Mitoz esnasında nükleer membran normalde kaybolmaz, dilsiz zil şekline benzer ve iki kardeş nükleusa ayrılır. Nukleolus

da iki kardeş hücreye bölüştürülür, bazı mantarlarda bölünme esnasında kaybolurlar. Sentriyol veya dönen kutup cisimcikleri (spindle pole bodies, SPBs) adı verilen yapılar bölünmede iğ ipliklerin kutuplara çekilmesinde etkilidirler. Kromozomlar küçük ve sıklıkla gözlenmez, metafaz safhasında ekvator bölgesinde rastgele bir şekilde dağılır. Mayoz bölünmede profaz safhasının sonuna doğru hem çekirdek hem de çekirdek membranı parçalanır, kromozomlar metafazda iğ iplikleri etrafında genellikle düzensiz bir şekilde dağılırlar ve bu evreden sonra mayoz bölünme gerçekleşir (Mehrotra ve Aneja, 2005, Taşkiran, 2011).

1.10. Çalışmanın Önemi

Nişasta temel gıda maddesi olması yanında aynı zamanda birçok endüstri alanında kullanılan bir hammaddedir. Küresel ısınmaya bağlı olarak, dünyanın kademeli olarak çölleşeceği ve tarım alanlarının azalacağı gibi bir düşünce yaygın olarak hakim olmaktadır. Bu nedenle alternatif gıda üretme kaynakları araştırılmaktadır.

Mayaların sistematik çalışmalarında nişasta üretilip üretilmemesi rutin yapılan testler arasındadır. *Cryptococcus humicolus* HTM1 maya suşu nişasta üretebildiği bilinmekte fakat hangi karbohidratlar varlığında ve hangi koşullarda ne kadar üretebildiği bilinmemektedir. Bu çalışmada, farklı nişasta üretme kaynağı olarak *Cryptococcus humicolus* HTM1 maya suşunun nişasta üretme potansiyeli karakterize edilmiştir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal ve Metod

Çalışmada nişasta üretimi için kullanılan mayalar; Rize Çay Borsası Araştırma Laboratuvarı'ndan ürün çay örneklerinden izole edilmiş *Cryptococcus humicolus* HTM1 maya suşu kullanıldı (Taşkiran, 2011).

2.2. Yöntemler

2.2.1 Nişasta Üretiminin Belirlendiği Petri Testleri

Tablo 2. Nişasta Üretiminin Belirlendiği Petri Testleri için hazırlanan karışımlar

Madde Türü	Miktarı
Karbon kaynağı (glukoz, fruktoz, sukroz, maltoz)	10,0 g
Bacto yeast nitrojen base	6,7 g
Agar	15,0 g
Destile su	1000 mL

Tablo 2’de verilen karışımlar 1000 mL distile suda ısıtıcı karıştırıcı yardımıyla çözüldükten sonra pH’ları 6,5 ayarlandı. Çözeltiler 1,1 atm basınç altında 121 °C’ de 15 dk. otoklavda steril edildi. Steril petri kaplarına 4 mm kalınlığında tevzi edildi. Petriler buzdolabında + 4 °C’de kapalı bir kap içinde muhafaza edildi (Yarrow, 1999). *C. humicolus* HTM1 maya suşu ekildiği petriler 25 °C’ de hava ısıtıcı inkübatörde 5 gün boyunca inkübe edildi. Gün aşırı alınan numülere lugol ayırıcı ilave edilerek, hangi ortamda kaç gün sonra nişasta üretebildiği tespit edildi. Renk değişimi olmayan örnekler ise negatif olarak kabul edildi.

2.2.2. Maya ile Nişasta Üretiminin Karakterizasyonu

Tablo 3’deki karışımlar hazırlanarak her biri için ayrı ayrı pH ölçümü yapıldı ve pH’ı 6,5 olarak ayarlandı. Her bir ortam için kontrol çözeltisi hazırlandı. Çözeltiler 1,1 atm basınç altında 121°C’de 15 dk. otoklavda steril edildi. Hazırlanan çözeltilere maya ekimi yapıldı ve 5 gün boyunca 37 °C’de hava ısıtmalı çalkalayıcıda 120 rpm hızında

inkübe edildiler. İnkübasyon boyunca 24 saat aralıklarla numunelerde oluşan nişasta miktarı belirlendi.

Tablo 3. Nişasta Üretiminin Belirlendiği Petri Testleri için hazırlanan karışımlar

Madde Türü	Miktarı
Karbon kaynağı (glukoz, fruktoz, sukroz, maltoz)	10,0 g
Bacto yeast nitrojen base	6,7 g
Destile su	1000 mL

2.2.3. Nişasta Miktarının Belirlenmesi

Oluşan nişasta miktarı belirlenmesi için, 30 µL % 0,1'lik (A/H) nişasta çözeltisi üzerine 10 µL Lugol çözeltisi (1 g iyot + 2 g KI + 300 mL saf su) ilave edildikten sonra hacmi 1000 mL tamamlanan çözeltiden 1 mL'lik kuvartz küvette 400 nm ile 800 nm dalga boylarında tarandı. En yüksek aktivitenin gözlemlendiği dalga boyu çalışma için kullanıldı. Farklı nişasta konsantrasyonların çalışma tekrarlanarak, konsantrasyona karşılık absorbans grafiği çizilerek standart çalışma grafiği oluşturuldu. Kör olarak lugol çözeltisi kullanıldı. Çalışma üç tekrar yapılarak standart sapma hesaplandı.

Numunedeki nişasta konsantrasyonu belirlenirken 30 µL maya ile inkübe edilen çözelti 5000 rpm de 15 dak. Santrifüj edildikten sonra üzerine 10 µL Lugol çözeltisi ilave edildi ve 1000 mL tamamlandı. Oluşan kompleksin absorbansı 569 nm dalga boyunda ölçülerek nişasta miktarı standart çalışma grafiğinden hesaplandı.

2.2.4. pH'a Bağlı Olarak Nişasta Üretim Kapasitesinin Belirlenmesi

Tablo 2' de belirtildiği gibi hazırlanan çözeltilerin hacmi 1 L'ye tamamlanmadan derişik asetik asit ve amonyak çözeltileriyle pH'ları 4,0 -9,0 arasında ayarlanan çözeltilerin hacimleri 1 L'ye saf suyla tamamlandı. Çözeltiler 1,1 atm basınç altında 121°C'de 15 dk. otoklavda steril edildikten sonra maya ile muamele edildi. 5 gün boyunca mayalar bu ortamlarda 25 °C'de 120 rpm hızında karıştırılarak büyütüldü. 5. günün sonunda çözeltilerden alınan karışım 10.000 rpm 'de + 10 °C' de 15 dak. Santrifüjlenerek maya hücreleri ortamdaki uzaklaştırıldı. Süpernatant kısmından alınan numuneye lugol çözeltisi ilave edildikten sonra 569 nm dalga boyunda absorbansı

ölçülerek nişasta miktarı belirlendi. En yüksek nişasta üretilen pH optimal pH olarak grafik çizimi ile belirlendi.

2.2.5. Mayadan Bal ve Meyve Atıklarıyla Nişasta Üretimi

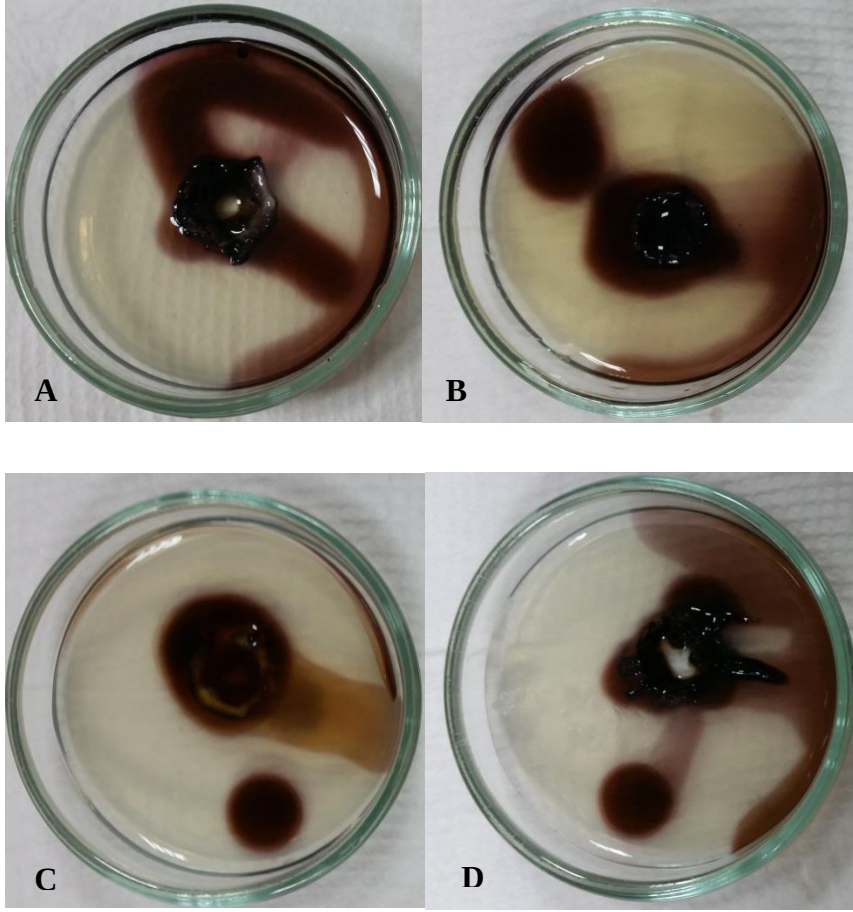
Marketlerden alınan çiçek balı ve meyve atıkları bol su ile yıkandıktan sonra oda sıcaklığında kurutuldu. Meyve suyu makinası yardımıyla meyve ve sebzelerin suları çıkarıldı. Oluşan meyve ve sebze suları 10.000 rpm'de 15 dak. +10 °C'de santrifüjlendi. meyve sularının berrak çözeltilerinden ve baldan 10 ar gram alınarak üzerine 6,7 g bacto yeast nitrojen base ilave edilerek hacmi 1 L'ye tamamlanarak 15 dak. otoklav edildi (Tablo 4). Çözeltilere steril kabinde maya kültürü ilave edilerek 120 rpm hızında ve 25 °C'de inkübe edildi. 24 saat arayla alınan numulere oluşan nişasta miktarları belirlendi.

Tablo 4. Meyve sularıyla hazırlanan ortamların karışım oranları

Madde Türü	Miktarı
Karbon kaynağı (Bal, nar, elma, mandalina, kivi, armut ve havuç suları)	10,0 g
Bacto yeast nitrojen base	6,7 g
Destile su	1000 mL

3. BULGULAR

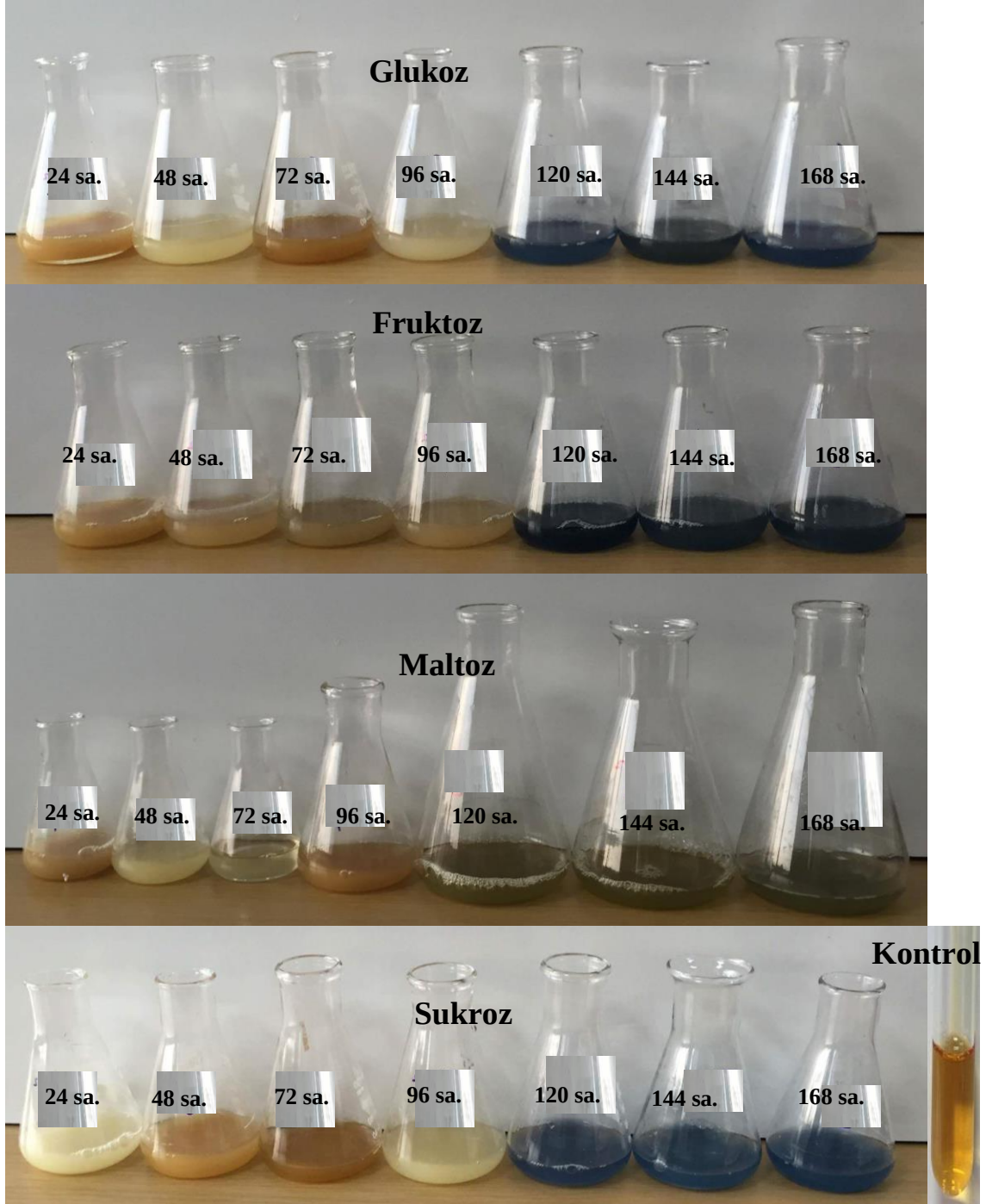
C. humicolus HTM1 ve *C. laurenti* HTM7 maya suşlarının ekildiği petriler 25 °C’ de hava ısıtıcılı inkübatörde 5 gün boyunca inkübe edildi. Gün aşırı alınan numunelere lugol ayracı ilave edildi ve tüm ortamlar için nişasta üretimi üçüncü gün sonunda gerçekleştiği tespit edildi (Şekil 6).



Şekil 6. Petri testi sonucunda lügol ayracı ile nişasta oluşumunu gözleme testi (A-glikoz, B-Fruktoz, C-Maltoz, D-sakkaroz)

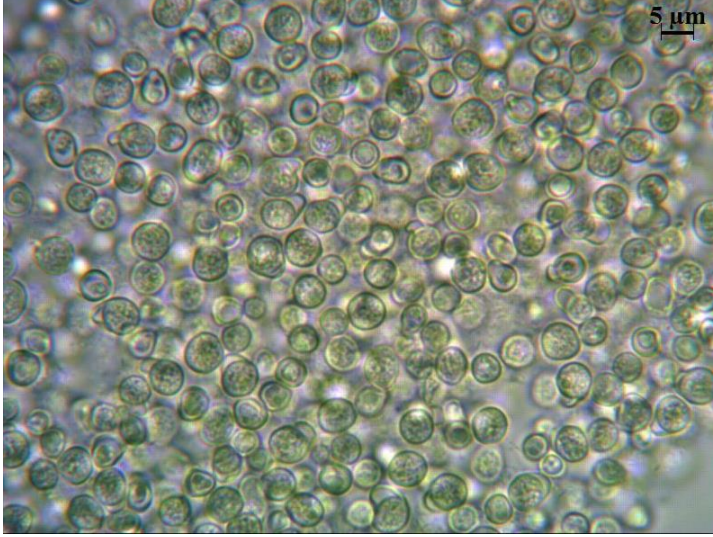
C. humicolus HTM1 ve *C. laurenti* HTM7 maya suşlarının ekildiği sıvı besi ortamlarında 25 °C’ de hava ısıtıcılı inkübatörde 5 gün boyunca inkübe edildi. her iki maya suşlarının büyüldüğü maltozlu ortam hariç sıvı besi ortamlarında, üçüncü günün sonunda ilave edilen lugol ayracı ile mavi renk oluşturmuş ve nişasta üretmiştir. HTM1 suşunun glikoz, fruktoz ve sakaroz şekerlerini içeren ortamlarda nişasta üretiminin 5.

günde başladığı belirlendi. Maltoz içeren ortamda ise nişasta üretimi gözlenmedi (Şekil 7).



Şekil 7. Glukoz, Fruktoz, Maltoz ve Sukroz içeren sıvı besi ortamlarında büyütülen mayanın saatlere göre nişasta üretme potansiyeli

Üretilen nişastalar stereo mikroskopta gözlemlendi ve fotoğrafları dijital ortama aktarıldı. Fotoğraflarda lugol ayırıcı boyanan nişasta tanecikleri belirlendi (Şekil 8).

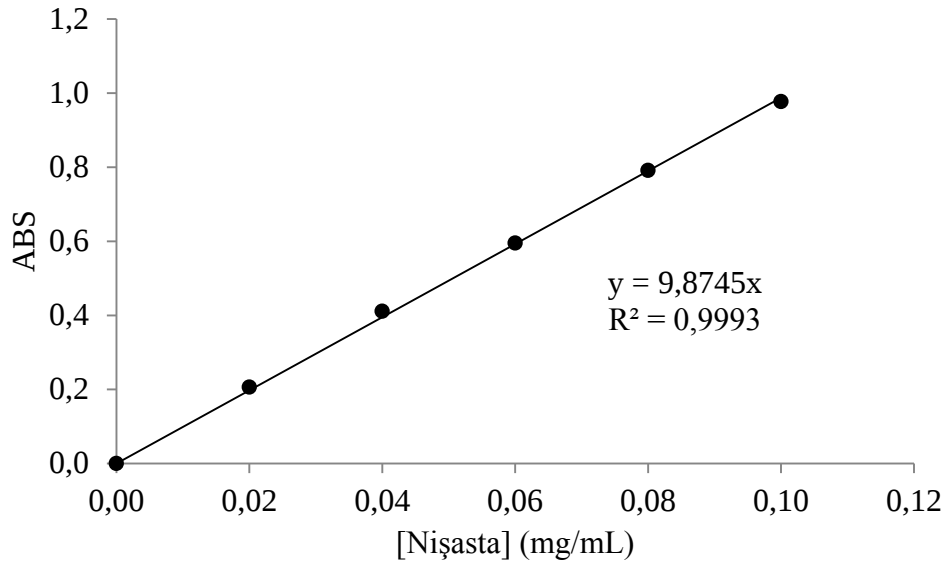


Şekil 8. Nişasta üreten mayaların lugol çözeltisiyle nuamele edildikten sonra elde edilen mikroskop görüntüleri

3.1. Nişasta Üretme Miktarının Belirlenmesine Ait Bulgular

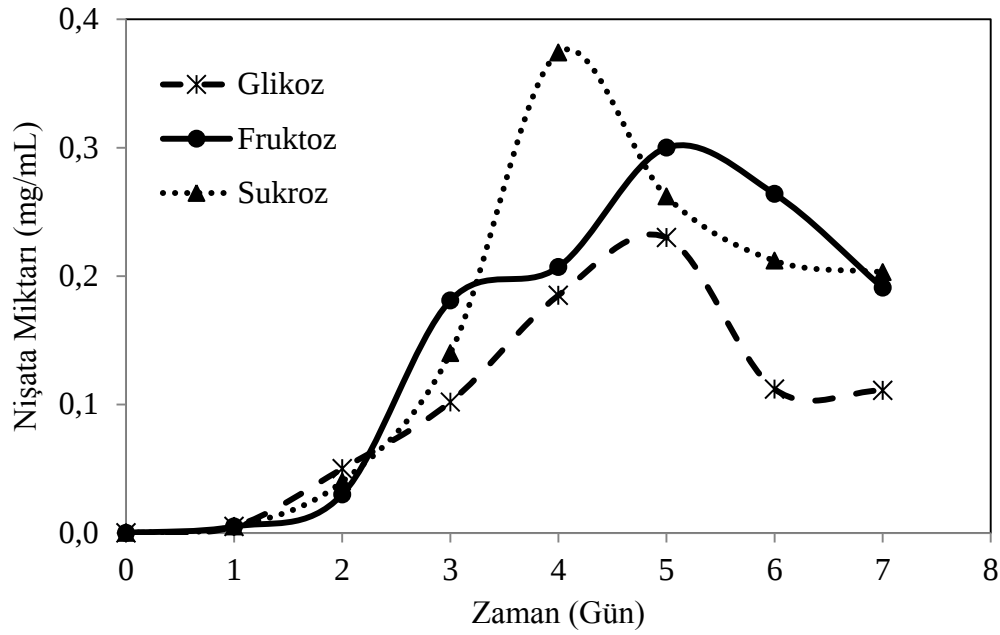
C. humicolus HTM1 suşunun nişasta üretme miktarını belirlemek için nişastanın iyolu kompleksinin seyreltik çözeltisi 400-800 nm arasındaki dalga boyunda taranarak en yüksek absorbansın olduğu dalga boyu seçildi. Bu işlem için nişasta ve lugol çözeltilerini için baseline yapılarak gerçekleştirildi. Yapılan tarama sonucunda nişasta iyot kompleksinin en yüksek absorbansı 569 nm de gösterdiği belirlendi.

Nişastanın 0-0,1 mg/mL konsantrasyon aralığındaki çözeltilerinin iyot komplekslerinin 569 nm’de hazırlanan standart çalışma grafiğinin eğimi 9,8745 ve R^2 değeri 0,9993 olarak belirlendi (Şekil 9).



Şekil 9. Nişasta standart çalışma grafiği.

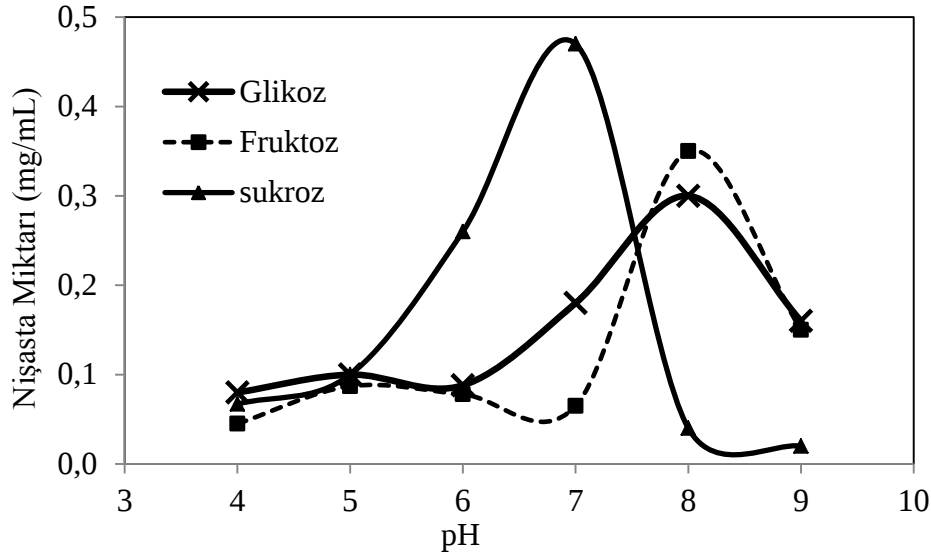
HTM1 suşunun glikoz, fruktoz ve sakaroz şekerlerini içeren ortamlarda nişasta üretme miktarları 7 gün boyunca takip edildi (Şekil 10). Glikoz ve fruktoz monosakkaritlerinin olduğu ortamlarda HTM1 suşu 5. günde en yüksek miktarda nişastayı üretirken, sukroz disakkaritinin olduğu ortamda 4. günde üretebildiği gözlemlendi. 5. Günde glikozun olduğu ortamda $0,23 \pm 0,03$ mg/mL, fruktozun olduğu ortamda $0,30 \pm 0,06$ mg/mL ve sukrozun olduğu ortamda ise 4. Günde $0,37 \pm 0,06$ mg/mL nişasta üretimini gerçekleştirdiği belirlendi. Tüm ortamlarda katılan karbohidratlardan yaklaşık % 6 verimle nişasta elde edildi.



Şekil 10. Farklı karbohidrat ortamlarında HTM1 suşunun üretebildiği nişasta miktarının günlere göre dağılımı

3.2. Nişasta Üretiminin pH İle Değişiminin Belirlenmesine Ait Bulgular

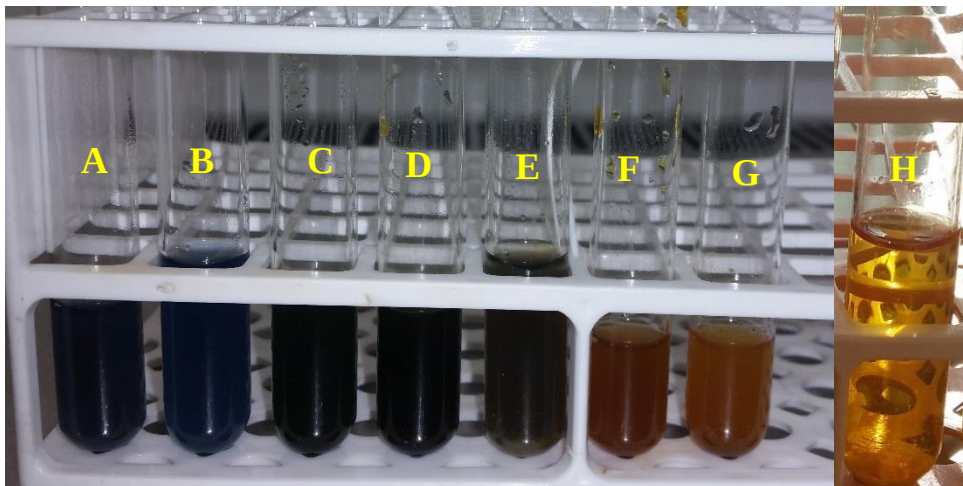
HTM1 maya suşunun en yüksek miktarda nişasta üretebileceği optimal pH'ı belirlemek için aynı ortam ve zaman dilimi içinde farklı pH değerlerinde maya büyütülerek verilerin grafikleri çizildi. HTM1 suşunun en fazla nişastayı glikoz, fruktoz mevcut olduğu ortamlarda pH 8'de (Şekil 11) , sukrozun var olduğu ortamlarda ise pH 7'de üretebildiği belirlendi.



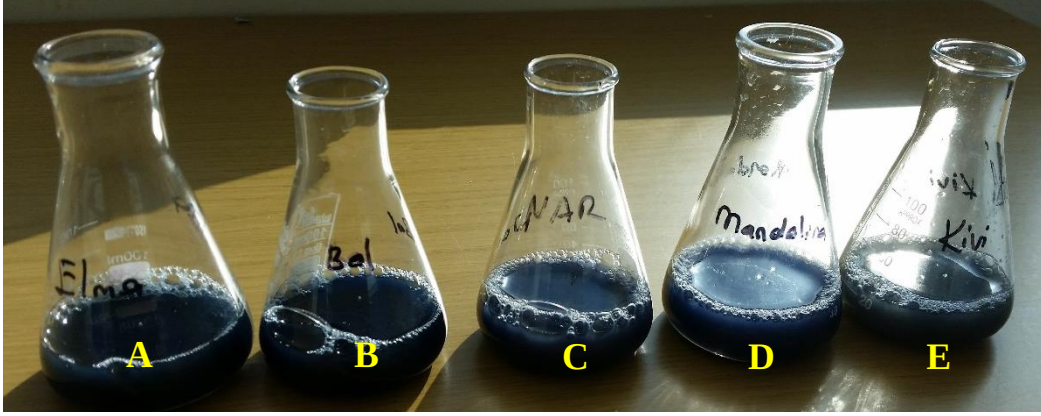
Şekil 11. Farklı karbohidrat ortamlarında HTM1 suşunun değişik pH değerlerinde 5. gün sonunda üretebildiği nişasta miktarları

3.3. HTM1 Suşu İle Bal, Meyve ve Sebze Atıklarından Nişasta Üretimini

Bal, nar, elma, mandalina, kivi, armut ve havuç numunelerinin sularıyla hazırlanan ortamlara *C. humicolus* HTM1 suşu ilave edilmesiyle nişasta üretildiği, armut ve havuç ekstraktlarıyla hazırlanan ortamlarda mayanın büyüdüğü fakat nişastanın üretilmediği belirlendi (Şekil 12, 13). HTM1 suşunun baldan $1,2 \pm 0,1$ mg/mL, nardan $1,1 \pm 0,3$ mg/mL, elmadan $0,8 \pm 0,2$ mg/mL, mandalinadan $0,9 \pm 0,1$ mg/mL, ve kividenden $0,8 \pm 0,2$ mg/mL nişasta üretilmediği tespit edildi.



Şekil 12. *C. humicolus* HTM1 suşunun nar (A), bal (B), elma (C), mandalina (D), kivi (E), armut (F) ve havuç (G) sularıyla 5 gün boyunca büyütülmeleri sonucunda elde edilen çözeltilerin lugol çözeltisi ilave edilmiş halleri (H Kontrol).



Şekil 13. *C. humicolus* HTM1 suşunun elma (A), , bal (B), nar (C), mandalina (D) ve kivi (E) sularıyla 5 gün boyunca büyütülmeleri sonucunda elde edilen çözeltilerin lugol çözeltisi ilave edilmiş halleri.

Meyvelerin yaş ağırlığı ile üretilen nişasta oranlandığı zaman, nişastanın %4-6 oranında bir verim elde edildiği belirlendi.

4. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Günümüzde yaygın bir öngörü olan küresel ısınma etkilerini her geçen gün daha belirgin bir şekilde göstermektedir. Bu etkilere kuraklık, ani ve şiddetli yağmur yağışlarına bağlı sel gibi tabiat olaylarını sayabiliriz. Bunun yanında çarpık kentleşme ve tarımsal alanların imara açılması gibi etkenleri de ekleyebiliriz. Bu etkenler ister istemez tarım alanlarının azalmasına ve artan dünya nüfusunun gıda ihtiyacının karşılayamamasına sebep olacaktır. Ayrıca nişasta günümüzde birçok endüstride geniş bir kullanım alanına sahiptir. Bundan dolayı nişasta gibi temel maddelerin iklimsel koşullardan bağımsız ve hızlı üretilebilecekleri laboratuvar ortamlarına ihtiyaç duyulacaktır. Bu çalışmada nişasta gibi temel besin maddesini bir maya türü olan *C. humicolus* HTM1 suşunu kullanarak atık meyve ekstraktlarıyla üretilmesi amaçlanmıştır. Böylece ticari bir değeri olmayan yabani meyve türleri ve atık meyveler bu amaç için kullanılabilir.

Çalışmada kullanılan *C. humicolus* HTM1 suşunu glikoz, fruktoz gibi monosakkaritlerin ve sakkroz gibi disakkaritin bulunduğu ortamlarda 25 °C sıcaklıkta ve atmosfer basıncında aerobik koşullarda 5 günlük inkübasyon sonucunda nişasta üretebildiği tespit edildi. Fakat HTM1 suşunun maltoz gibi disakkaritin bulunduğu ortamda nişasta üretilmediği belirlendi. Üretilen nişastanın varlığını belirlemek için lugol ayracı kullanıldı. Nişastanın üretildiği ortamlarda boyanmanın gerçekleştiği belirlendi. Ayrıca boyanan hücreler mikroskop altında görüntüleri de nişastanın varlığını destekledi.

HTM1 suşunun en fazla nişastayı glikoz, fruktoz mevcut olduğu ortamlarda pH 8’de, sukrozun var olduğu ortamlarda ise pH 7’de üretebildiği belirlendi.

C. humicolus HTM1 suşu glikozun olduğu ortamda $0,23 \pm 0,03$ mg/mL, fruktozun olduğu ortamda $0,30 \pm 0,06$ mg/mL ve sukrozun olduğu ortamda ise $0,37 \pm 0,06$ mg/mL nişasta üretebildiği belirlendi. Tüm ortamlarda katılan karbohidratlardan yaklaşık % 6 verimle nişasta üretilbildiği tespit edildi.

Atık meyve ve bal ekstraktlarından HTM1 suşunun baldan $1,2 \pm 0,1$ mg/mL, nardan $1,1 \pm 0,3$ mg/mL, elmadan $0,8 \pm 0,2$ mg/mL, mandalinadan $0,9 \pm 0,1$ mg/mL, ve kividenden

0,8±0,2 mg/mL nişasta üretilbildiği hesaplandı. Meyvelerden HTM1 suşu ile yaklaşık %4-6 oranında verimle nişastanın üretilbildiği tespit edildi.

Literatürde benzer çalışmalar yer almadığı için çalışma verileri başka çalışmadaki verilerle karşılaştırılamamıştır.

Sonuç olarak çaydan izole edilen *C. humicolus* HTM1 maya suşunun nişasta üretilbildiği ve bu çalışmada elde edilen bulgularla bu mayanın ilerde laboratuvar ortamında nişasta üretmek için önemli bir potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir.

5. ÖNERİLER

Mayaların sistematik çalışmalarında nişasta üretebilmesi bir parametre olarak bakılmaktadır. Bu parametresi pozitif olan tüm maya türlerinde bu tür çalışmalar yapılarak nişasta üretim kapasitesi en uygun olan maya türü ile genetik çalışmalar yapılabilir.

Bu tür mayaların nişastayı üretimlerini artırabilecekleri koşullar (pH, inhibitörler, aktivatörler vs.) çeşitlendirilerek verim artırılabilir. Bununla birlikte üretilen nişasta karakterize edilerek fizikokimyasal ve spektrofotometrik özellikleri ayrıntılı çalışılabilir.

KAYNAKLAR

- Blennow, A., Bay-Smidt, A.M., Leonhardt, P., Bandsholm, O. and Madsen, M.H., 2003.** Starch paste stickiness is a relevant native starch selection criterion for wet-end paper manufacturing. *Starch*, 55, 381–389.
- Carlile, M.J., Watkinson, S.C. and Gooday, G.W., 2001.** The Fungi. Academic press, Second Ed., Tokyo, 11-79.
- Çağlarırnak, N., Çakmaklı, İ., 1993.** Değişik Modifiye Nişastaların Üretiminde Kimyasal Prensipler. *Gıda*, 18, 2, 131-137. **Pfister, B. and Zeeman, S.C., 2016.** Formation of starch in plant cells. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73, 2781–2807.
- Elgün, A. ve Ertugay, Z., 1997.** Tahıl İşleme Teknolojisi. 3. Baskı, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını, No. 297, s 376.
- Ellis, R.P., Cochrane, M.P., Dale, M.F.B., Duffus, C.M., Lynn, A., Morrison, I.M., Prentice, R.D.M., Swanston, J.S., Tiller, S.A., 1998.** Starch production and industrial use. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77, 289–311.
- Karaoğlu, M.M., Kotancılar, H.G. ve Çelik, İ., 1998.** Modifiye Nişasta Eldesi Ve Fırın Ürünlerinde Kullanımı. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 29, 2, 359-368.
- Kent, N.L., 1970.** Technology of Cereals. Pergamon Press Ltd., Oxford, s 262.
- Maheshwari, R., 2005.** Fungi Experimental Methods In Biology. CRC Press Tallor Francis Group, New York, 13, 81-96.
- Mehrotra, R.S. and Aneja, K.R., 2005.** An Introduction to Mycology. New Age International (P) ltd., Pulishers, Reprint, New Delhi, 1-65.
- Öner, M., 1998.** Mikoloji . Ders Kitabı. Ege üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, İzmir, 1-7.
- Pfister, B., Sánchez-Ferrer, A., Diaz, A., Lu, K., Otto, K., Holler, M., Shaik, F.R., Meier, F., Mezzenga, R. and Zeeman, S.C., 2016.** Recreating the synthesis of starch granules in yeast, *eLife*, 5, e15552.
- Pfister, B. and Zeeman S.C., 2016.** Formation of starch in plant cells, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73, 14, 2781–2807.
- Taşkıran, H., 2011.** Rize’de Çay İşleme Aşamalarında İzole Edilen Maya Mantarlarının Tanımlanması. Yüksek Lisans Tezi. Rize Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, Türkiye, 93 s.
- TGDF, 2012.** Türkiye Gıda ve İçecek Sanayii Dernekleri Federasyonu. Yeterli ve Dengeli Beslen, Aktif Ol, Sağlıklı Yaşa, İstanbul, Türkiye, 22 s.

- TGDF, 2012.** Türkiye Gıda ve İçecek Sanayii Dernekleri Federasyonu. Türkiye’de İklim Değişikliği ve Tarımda Sürdürülebilirlik, İstanbul, Türkiye, 86 s.
- Uluöz, M., Gönül, M. ve Gözlü, S., 1974.** Nişasta; Özellikleri, Jeletinizasyonu, Modifikasyonu ve Gıda Endüstrisinde Kullanılması. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No: 245, Bornova, 40.
- URL-1, 2019.** http://nud.org.tr/wp-content/uploads/2016/03/dunyada_ve_turkiyede_seker-1.pdf (12 Haziran 2019).
- URL-2, 2019.** <http://www.nud.org.tr/misir-ve-urunleri/urunler/nisasta-nisasta-urunleri> (12 Haziran 2019).
- Wang, T.L., Bogracheva, T.Y. and Hedley, C.L., 1998.** Starch: as simple as A, B, C. Journal of Experimental Botany, 49(320), 481–502.
- Wurzburg, O.B., 1986.** Forty Years of Industrial Starch Research. Cereal Foods World, 31(12), 897-903.
- Yarrow, D., 1999.** The yeast, A Taxonomic Study. Fourth edition, Elsevier science B.V., New York pp.77-100.
- Zhang, Y., Rempel, C., Liu, Q., 2014.** Thermoplastic starch processing and characteristics-a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 54, 1353–1370.

ÖZGEÇMİŞ

18.07.1985 tarihinde Rize İli'nde doğdu. İlköğrenimini Cumhuriyet İlkokulu 1996, Orta öğrenimini Hasan Sağır Ortaokulu 1999, Rize Anadolu Lisesi 2003 yıllarında Rize İli'nde tamamladı. 2004 yılında Erciyes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde başlamış olduğu lisans eğitimini 2009 yılında tamamladı. 2014 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir. Evli olup, iki çocuk annesidir.

