

**İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KARA NOHUT NIŞASTASINDAN ENZİMATİK YÖNTEMLE ELDE EDİLEN  
DİRENÇLİ NIŞASTANIN FİZİKOKİMYASAL VE FONKSİYONEL  
ÖZELLİKLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Hilal DEMİRKESEN**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Gıda Mühendisliği Programı**

**OCAK 2015**



**İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KARA NOHUT NIŞASTASINDAN ENZİMATİK YÖNTEMLE ELDE EDİLEN  
DİRENÇLİ NIŞASTANIN FİZİKOKİMYASAL VE FONKSİYONEL  
ÖZELLİKLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Hilal DEMİRKESEN  
(506111531)**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Gıda Mühendisliği Programı**

**Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Dilara NİLÜFER ERDİL**

**OCAK 2015**



İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 506111531 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Hilal DEMİRKESEN**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**Kara Nohut Nişastasından Enzimatik Yöntemle Elde Edilen Dirençli Nişastanın Fizikokimyasal ve Fonksiyonel Özellikleri**” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

**Tez Danışmanı :**     **Yrd. Doç. Dr. Dilara NİLÜFER ERDİL**     .....  
İstanbul Teknik Üniversitesi

**Jüri Üyeleri :**     **Prof. Dr. Meral KILIÇ AKYILMAZ**     .....  
İstanbul Teknik Üniversitesi

**Yrd.Doç. Dr. Sanem ARGİN**     .....  
Yediepe Üniversitesi

**Teslim Tarihi**     :   **15 Aralık 2014**  
**Savunma Tarihi**   :   **28 Ocak 2015**



*Her Őeyden değerli olan aileme,*





## ÖNSÖZ

Tez çalışmamın belirlenmesi, planlanması ve yürütülmesinde destek gösteren, ilgisini ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Dilara Nilüfer ERDİL'e ,

Değerli öneri ve katkıları ve yardımlarından dolayı Arş. Gör. Zeynep TACER CABA, Arş. Gör. Burcu GÜLDİKEN ve Uzman Yük. Müh. Nalan DEMİR'e, Kayseri'de ilgisi ve yardımlarıyla bizi evimizde hissettiren Sayın Yrd. Doç. Dr. Kevser KAHRAMAN'a,

Üzerimde büyük emekleri olan, tez çalışmam süresince anlayışını, şevkatini ve yardımlarını esirgemeyen değerli işverenim Sn. Rasim ÖZKANCA'ya ve her zaman desteğini gördüğüm müdürüm Sn. Metin HACAT'a,

Yüksek lisans süresince ve hayatımın her döneminde varlıklarıyla bana katkıda bulunan arkadaşlarım, Emine DEMİRCİ'ye, Aysun DOĞAN'a ve Hande YÜKSEL BULUT'a ve Ayça ÖZSOY'a,

Çalışmalarım sırasında sıkıntımı hafifleten, yardımlarını hiç esirgemeyen canım arkadaşım Hande ALTAN'a,

Çalışmamın her aşamasında katkısı bulunan Kaan BIÇAK'a,

Hayatımın her anında olduğu gibi bu döneminde de ilgisini, sevgisini esirgemeyen ve gösterdikleri özveri sayesinde bu tezin tamamlanmasında büyük katkıları olan annem Ayşe DEMİRKESEN, babam Orhan DEMİRKESEN'e; teyzem Nilgün ÇAKIR, eniştem Ali ÇAKIR'a ve ailem kadar yakın olan canım arkadaşım Özden ASLAN'a,

Her dönem yanımda olan ve sevgisini her daim üstümde hissettiğim kıymetli anneannem ve dedeme teşekkürlerimi sunarım.

Aralık 2014

Hilal DEMİRKESEN



## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

|                                                                                                                |      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ÖNSÖZ.....                                                                                                     | vii  |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                                              | ix   |
| KISALTMALAR .....                                                                                              | xi   |
| ÇİZELGE LİSTESİ.....                                                                                           | xiii |
| ŞEKİL LİSTESİ.....                                                                                             | xv   |
| ÖZET .....                                                                                                     | xvii |
| SUMMARY .....                                                                                                  | xix  |
| 1. GİRİŞ .....                                                                                                 | 1    |
| 2.LİTERATÜR TARAMASI .....                                                                                     | 3    |
| 2.1 Nişasta Yapısı.....                                                                                        | 3    |
| 2.2 Dirençli Nişasta Yapısı ve Sınıflandırması.....                                                            | 4    |
| 2.3 EDN'nin Fonksiyonel Özellikleri.....                                                                       | 7    |
| 2.4 EDN'nin Fizyolojik Etkileri.....                                                                           | 8    |
| 2.5 EDN Oluşturma Yöntemleri ve Tip-3 EDN Formunun Oluşturulması<br>Amacıyla Gerçekleştirilen Uygulamalar..... | 9    |
| 2.6 Nohut ( <i>Cicer arietinum</i> L.).....                                                                    | 13   |
| 3.MALZEME ve YÖNTEM.....                                                                                       | 17   |
| 3.1 Malzeme.....                                                                                               | 17   |
| 3.1.1 Kara nohut örnekleri.....                                                                                | 17   |
| 3.1.2 Çalışmada kullanılan kimyasallar ve cihazlar.....                                                        | 17   |
| 3.2 Yöntem.....                                                                                                | 18   |
| 3.2.1 Kara nohuttan nişasta eldesi.....                                                                        | 18   |
| 3.2.2 Kara nohuttan un eldesi.....                                                                             | 18   |
| 3.2.3 Kompozisyon analizleri.....                                                                              | 18   |
| 3.2.3.1 Toplam nem miktarı tayini.....                                                                         | 18   |
| 3.2.3.2 Toplam kül miktarı tayini.....                                                                         | 19   |
| 3.2.3.3 Toplam protein miktarı tayini.....                                                                     | 19   |
| 3.2.3.4 Toplam yağ miktarı tayini.....                                                                         | 19   |
| 3.2.4 Nişastanın enzim ile modifikasyonu ve enzime dirençli nişasta<br>üretimi.....                            | 20   |
| 3.2.5 EDN ve toplam nişasta miktarı tayini.....                                                                | 20   |
| 3.2.6 Hızlı ve yavaş sindirilen nişasta miktarı tayini.....                                                    | 21   |
| 3.2.7 Amiloz-amilopektin miktarı tayini.....                                                                   | 22   |
| 3.2.8 Nişasta örneklerinin fonksiyonel özellikleri.....                                                        | 23   |
| 3.2.8.1 Su tutma ve suda çözünürlük özellikleri .....                                                          | 23   |
| 3.2.8.2 Şişme özellikleri.....                                                                                 | 23   |
| 3.2.8.3 Emülsiyon oluşturma özellikleri.....                                                                   | 24   |
| 3.2.8.4 Yağ tutma özellikleri.....                                                                             | 24   |
| 3.2.8.5 Sinerezis özellikleri.....                                                                             | 24   |
| 3.2.8.6 Bulanıklık özellikleri.....                                                                            | 25   |
| 3.2.9 Nişasta örneklerinin ve unun termal özellikleri.....                                                     | 25   |

|                                                                                |           |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2.10 Nişasta örneklerinin ve unun viskozite özellikleri.....                 | 25        |
| 3.2.11 X ışını difraksiyon dağılımı.....                                       | 27        |
| 3.2.12 Nişasta örneklerinin ve unun granül yapısı ve dağılımı.....             | 27        |
| 3.2.13 İstatiksel analiz.....                                                  | 27        |
| <b>4.BULGULAR ve TARTIŞMA.....</b>                                             | <b>29</b> |
| 4.1 Doğal Nişasta ve Unun Kompozisyonu.....                                    | 29        |
| 4.2 Nişasta Örneklerinin ve Unun EDN ve Toplam Nişasta İçerikleri.....         | 30        |
| 4.3 Nişasta Örneklerinin HSN ve YSN İçerikleri.....                            | 31        |
| 4.4 Nişasta Örneklerinin Amiloz İçerikleri.....                                | 32        |
| 4.5 Nişasta Örneklerinin Fonksiyonel Özellikleri.....                          | 33        |
| 4.5.1 Nişasta örneklerinin su tutma ve suda çözünürlük özellikleri.....        | 33        |
| 4.5.2 Nişasta örneklerinin şişme özellikleri.....                              | 35        |
| 4.5.3 Nişasta örneklerinin yağ tutma ve emülsiyon oluşturma özellikleri.....   | 36        |
| 4.5.4 Nişasta örneklerinin sinerezis özellikleri.....                          | 38        |
| 4.5.5 Nişasta örneklerinin bulanıklık özellikleri.....                         | 40        |
| 4.6 Nişasta Örneklerinin ve Unun Termal Özellikleri.....                       | 41        |
| 4.7 Nişasta Örneklerinin ve Unun Viskozite Özellikleri.....                    | 44        |
| 4.8 Nişasta Örneklerinin ve Unun X Işını Difraksiyon Dağılımı Özellikleri..... | 46        |
| 4.9 Nişasta Örneklerinin ve Unun Granül Yapısı ve Dağılımı Özellikleri.....    | 48        |
| <b>5.SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>                                                | <b>53</b> |
| <b>KAYNAKLAR.....</b>                                                          | <b>55</b> |
| <b>EKLER.....</b>                                                              | <b>61</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>                                                           | <b>71</b> |

## KISALTMALAR

|                           |                                                               |
|---------------------------|---------------------------------------------------------------|
| <b>AOACInternational</b>  | : Uluslararası Amerikan Resmi Analitik Kimyacıları Birliği    |
| <b>AACCIInternational</b> | : Uluslararası Amerikan Hububat Kimyacıları Birliği           |
| <b>DNE</b>                | : Doğal Nişasta Enzim Uygulaması                              |
| <b>DSC</b>                | : Diferansiyel Taramalı Kalorimetre                           |
| <b>EDN</b>                | : Enzime Dirençli Nişasta                                     |
| <b>FAO</b>                | : Dünya Gıda ve Tarım Organizasyonu                           |
| <b>GNE</b>                | : Jelatinize Nişasta Enzim Uygulaması                         |
| <b>G<sub>20</sub></b>     | : Hidrolizin 20. dakikasında alınan örnekteki glikoz miktarı  |
| <b>G<sub>120</sub></b>    | : Hidrolizin 120. dakikasında alınan örnekteki glikoz miktarı |
| <b>HSN</b>                | : Hızlı Sindirilen Nişasta                                    |
| <b>KNN</b>                | : Kara Nohut Nişastası                                        |
| <b>KNU</b>                | : Kara Nohut Nişastası                                        |
| <b>RNK</b>                | : Retrograde Nişasta Kontrol                                  |
| <b>RVA</b>                | : Mikro-Visko Analizör                                        |
| <b>SEM</b>                | : Taramalı Elektron Mikroskobu                                |
| <b>SPSS</b>               | : Sosyal Bilimciler İçin İstatistik Programı                  |
| <b>YSN</b>                | : Yavaş Sindirilen Nişasta                                    |
| <b>XRD</b>                | : X Işını Difraksiyon Dağılımı                                |



## ÇİZELGE LİSTESİ

### Sayfa

|                     |                                                                                                                                |    |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Çizelge 2.1</b>  | : Dirençli nişasta türleri,ince bağırsaktaki sindirimi ve bulundukları besin kaynakları .....                                  | 6  |
| <b>Çizelge 2.2</b>  | : Dirençli nişastanın fizyolojik etkileri.....                                                                                 | 9  |
| <b>Çizelge 3.1</b>  | : RVA ‘standart 1’profilindeki sıcaklık-hız değişimi.....                                                                      | 26 |
| <b>Çizelge 4.1</b>  | : Doğal nişasta ve una ait temel bileşenler .....                                                                              | 29 |
| <b>Çizelge 4.2</b>  | : Nişasta örnekleri ve una ait %EDN ve %toplam nişasta içerikleri ....                                                         | 30 |
| <b>Çizelge 4.3</b>  | : Nişasta örneklerine ait %HSN ve %YSN değerler .....                                                                          | 32 |
| <b>Çizelge 4.4</b>  | : Nişasta örneklerinin amiloz içerikleri .....                                                                                 | 33 |
| <b>Çizelge 4.5</b>  | : Nişasta örneklerinin su tutma kapasiteleri ve suda çözünürlük değerleri (%).....                                             | 34 |
| <b>Çizelge 4.6</b>  | : Nişasta örneklerinin şişme özellikleri.....                                                                                  | 35 |
| <b>Çizelge 4.7</b>  | : Nişasta örneklerinin yağ tutma kapasiteleri (ml/g) ve emülsiyon oluşturma kapasiteleri (%).....                              | 36 |
| <b>Çizelge 4.8</b>  | : Nişasta örneklerinin farklı sürelerdeki sinerezis özellikleri.....                                                           | 38 |
| <b>Çizelge 4.9</b>  | : Nişasta örneklerinin bulanıklık özellikleri .....                                                                            | 40 |
| <b>Çizelge 4.10</b> | : Nişasta örnekleri ve unun DSC ile elde edilen termal özellikleri .....                                                       | 42 |
| <b>Çizelge 4.11</b> | : Nişastalar ve unda RVA ile elde edilen değerler.....                                                                         | 44 |
| <b>Çizelge 4.12</b> | : Doğal nişasta ve una ait X ışını difraksiyon dağılımına ait değerler..                                                       | 47 |
| <b>Çizelge 4.13</b> | : İşlem görmüş nişasta örneklerine ait X ışını difraksiyon dağılımına ait değerler.....                                        | 47 |
| <b>Çizelge B.1</b>  | : Kara nout unu ve nişastası ile gerçekleştirilen farklı analizlere ait istatistiksel analiz (tek yönlü ANOVA) sonuçları ..... | 65 |





## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

|                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 2.1</b> : Amiloz- amilopektin yapısı .....                                                   | 3  |
| <b>Şekil 4.1</b> : Nişasta örneklerinin su tutma kapasiteleri ve suda çözünürlük değerleri.....       | 35 |
| <b>Şekil 4.2</b> : Nişasta örneklerinde yağ tutma ve emülsiyon kapasitesi özellikleri.....            | 38 |
| <b>Şekil 4.3</b> : Nişasta örneklerinin 24. saat, 48. saat ve 120. saat için sinerezis değerleri..... | 39 |
| <b>Şekil 4.4</b> : Nişasta örneklerine ait bulanıklık değerlerindeki günlere bağlı değişim .....      | 41 |
| <b>Şekil 4.5</b> : Nohut nişastası ve ununa ait DSC termogramları .....                               | 43 |
| <b>Şekil 4.6</b> : Nişasta örneklerine ve ununa ait RVA grafikleri .....                              | 46 |
| <b>Şekil 4.7</b> : Kara nohut nişastaları ve kara nohutunun kristal yapıları.....                     | 47 |
| <b>Şekil 4.8</b> : KNU ve KNN'ye ait SEM görüntüleri.....                                             | 50 |
| <b>Şekil 4.9</b> : DNE, RNK ve GNE'ye ait SEM görüntüleri .....                                       | 51 |
| <b>Şekil A.1</b> : Kara nohut unu ve nişastasına ait DSC termogramı.....                              | 61 |
| <b>Şekil A.2</b> : Kara nohut unu ve nişastasına ait DSC termogramı.....                              | 62 |
| <b>Şekil A.3</b> : KNU'ya ait DSC termogramı .....                                                    | 62 |
| <b>Şekil A.4</b> : KNN'ye ait DSC termogramı .....                                                    | 63 |
| <b>Şekil A.5</b> : DNE'ye ait DSC termogramı .....                                                    | 63 |
| <b>Şekil A.6</b> : RNK'ya ait DSC termogramı .....                                                    | 64 |
| <b>Şekil A.7</b> : GNE'ye ait DSC termogramı .....                                                    | 64 |



# KARA NOHUT NIŞASTASINDAN ENZİMATİK YÖNTEMLE ELDE EDİLEN DİRENÇLİ NIŞASTANIN FİZİKOKİMYASAL VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ

## ÖZET

Nohut *Leguminosae* (baklagiller) familyasının *Papilionaceae* (kelebek çiçekliler) alt familyasına ait *Cicer* cinsinden bir baklagil türüdür. Baklagiller insan beslenmesinde önem taşıyan bitkisel kaynaklı besinlerdir. Diğer bitkisel kaynaklı besinler ile karşılaştırıldıklarında besin değeri bakımından birçok üstünlüğe sahiptirler. Nohut (*Cicer arietinum* L.) tohum rengi ve coğrafik dağılımına göre genellikle desi ve kabuli olarak iki grup oluşturmaktadır. Desi; küçük, kırışık yüzeyli, köşeli ve koyu renkli tanelere sahiptir. Kara nohut da desi grubunda Malayta yöresine ait oldukça koyu renkli ve küçük taneli yöresel bir nohut çeşididir. Yöre halkı tarafından kara çorba, döğme çorbası gibi çeşitli çorbaların yapımında ve yarmaca denilen kabuklarından ayrılıp ikiye bölünmüş haliyle bir diğer adı da muhaşer olan yarmacalı pilav yapılarak tüketilmektedir.

Bu çalışmada kullanılan kara nohut; yöresel ürünler satan yerel bir marketten temin edilmiştir. Nohuttan izole edilen nişastaya ve nohutun öğütülmesiyle elde edilen una ilk aşamada temel kompozisyon analizleri yapılmıştır. Nişastaya ve una ait nem içeriği sırasıyla %11,64 ve %10,19 bulunurken aynı sıralamada kül içerikleri %0,07 ve %2,86; protein içerikleri %0,85 ve %20,99; yağ içerikleri %0,44 ve %4,28 bulunmuştur.

Kara nohuttan izole edilen nişastadan enzimatik modifikasyon yöntemiyle Tip-3 EDN formunda enzime dirençli nişasta üretilmiş ve çalışmanın devamında, elde edilen Doğal nişastanın modifikasyonu ile elde edilen ürün (DNE), jelatinize nişastanın modifikasyonu ile elde edilen ürün (GNE) ve işlem etkisini karşılaştırmak amacıyla elde edilen ürün retrograde kontrol nişastası (RNK)'nın ve ayrıca işlem uygulanmamış doğal nişasta ve unun fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Enzimatik modifikasyon işlemi; doğal ve jelatinize nişastaların 40U/g pullulanaz enzimi ile 10 saat 60 °C'de inkübasyonunu takiben 121°C 30 dakika otoklavlama işlemiyle devam etmiş ve sonrasında 24 saat-4°C buzdolabında retrogradasyon ve liyofilizasyon ile son bulmuştur. Çalışma kapsamı için önemli bir bileşen olan dirençli nişasta miktarları enzimatik olarak belirlenmiştir. Enzimatik ve termal uygulamalar ile elde edilen DNE ve GNE örneklerinde enzime dirençli nişasta (EDN) miktarları sırasıyla; %16,35 ve %12,34 bulunmuştur. RNK ile DNE karşılaştırıldığında EDN miktarı işlem etkisiyle %40,58 artmıştır.

Doğal nişasta ve una ait EDN içeriği ise sırasıyla %15,19 ve %4,99 olarak bulunmuştur. Doğal nohut nişastasına yapılan uygulamalar hızlı sindirilebilen nişasta miktarını artırırken, yavaş sindirilebilen nişasta miktarını azaltmıştır. Bu uygulamalar jelatinize nişastanın amiloz içeriğini önemli oranda artırmış, amiloz içerikleri DNE'de %24,37 RNK'da %20,91, GNE'de %54,33 olarak bulunmuştur.

Enzimatik ve termal uygulamalar su tutma kapasiteleri ve suda çözünürlük indislerinde artışa neden olmuştur. Şişme gücü ise örneklerin EDN içeriği ile ters orantılı olarak artmıştır. Uygulamalar aynı zamanda nişasta örneklerinin yağ tutma ve emülsiyon oluşturma kapasitelerinde de artışa neden olmuştur. Sinerezis ve bulanıklık özellikleri incelendiğinde ise ölçüm yapılan günler arasında kararlı bir artış ya da azalış görülmemiştir. RNK örneğinin bulanıklık değerleri diğer nişasta örnekleriyle karşılaştırıldığında beş gün boyunca yapılan ölçümlerde en az olarak bulunmuştur.

Nişasta örneklerinin ve unun termal özellikleri diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile incelenmiştir. Otoklavlama ve retrogradasyon işlemleri uygulanan örneklerde jelatinizasyon başlangıç ve pik sıcaklıkları ve entalpi değerleri azalmıştır. Mikro-visko analizör (RVA) ile ölçülen viskozite değerlerinde ise enzimatik ve hidrotermal uygulamalar sonucunda elde edilen nişasta örneklerinin doğal nişastaya göre pik viskozitesi ve son viskozitelerinde düşüş gözlenmiştir.

Nişasta örneklerinin ve unun X ışını difraksiyon dağılımları incelenmiş, kuvvetli pikleri  $2\theta=17^\circ$ 'de verdiği görülmüştür. Bu da baklagil nişastaları için karakteristik olan C tipi kristalizasyon olduğunu göstermiştir. Granül yapısı ve dağılımı ise taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiş doğal nişastada oval granüler yapı ağırlıktayken diğer nişasta örneklerinde retrogradasyonun etkisiyle bu yapının dağıldığı görülmüştür.

Bu çalışmada, kara nohut nişastasından enzimatik yöntemle Tip-3 EDN üretimi başarı ile gerçekleştirilmiştir. Kara nohut nişastasıyla, nişasta örnekleri EDN içerikleri ve diğer özellikleri bakımından karşılaştırıldığında, teknolojik olarak kullanımına bağlı olmak üzere farklı özellikleri karşıladıkları görülmektedir. Daha yüksek yağ tutma ve emülsiyon kapasitesi istenilen kalite özelliklerinde ürün üretilmesini daha mümkün hale getirecektir. Elde edilen nişasta örneklerinin bu özellikleri sayesinde fonksiyonel bir ingrediyen olarak ve EDN miktarını yükseltmek için doğal nişasta yerine kullanılabileceği düşünülmektedir.

**PHYSICO-CHEMICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF RESISTANT  
STARCH PREPARED FROM BLACK CHICKPEA (*Cicer arietinum* L.)  
STARCH BY ENZYMATIC METHOD**

**SUMMARY**

Chickpea is a member of Leguminosae (legumes), Papilionaceae is a leguminous species of the genus *Cicer* subfamilies. Legumes are plant-derived nutrients that are important in human nutrition. They have many advantages in terms of nutritional value when compared with other plant-derived foods. Chickpea (*Cicer arietinum* L.) form two groups according to seed color and geographic distribution and acceptance. Desi: small, wrinkled surface, square and has a dark spots. Black Chickpea is also in the desi family and is closely connected to the Malayta culture, Black Chickpea has a dark color and is a part of the small grained local region type. Locals consume it with a variety of soups such as dark, and yogurt soup and often called the divided, the shells separates into two parts which is put into rice, and are ready to be served.

Legumes are plant-derived nutrients that are important in human nutrition. In terms of nutritional value when compared with other plant-derived foods have many advantages. There are many edible protein ratio of 18-36 % of the composition of dry grain legumes and digestibility degree of protein is also very high (78%). Essential amino acids shows values in terms close to the animal protein. The chickpea seeds have high amount of vitamins (A, B, C and D) and minerals (Fe, P, Ca).

Chickpea (*Cicer arietinum* L.) is in terms of acreage and production in edible grain legume species with agriculture in the world after dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and pea (*Piston sativum* L.) in the third place. According to FAO data of the last five years (2009-2013), chickpea producing countries ranks: 1) India 2) Australia 3) Pakistan 4) Turkey 5) Myanmar. Chickpeas in Turkey in 2013, planted 4.235.570 acres and produced a total of 506 000 tonnes of peas. The average yield was 121 kg per hectare in 2013. This thesis used cultural/local black chickpeas as its material. Black chick pea is a legume of Malatya region produced in the dark and small grain group.

Starch; The main carbohydrate source in the human diet. The starch plants is found to be in the form of granules. The starch granules, plant seeds, roots and tubers of further stem, leaf, fruit and even pollen are energy storages. Chemically, starch glucose units  $\alpha$ -D- (1,4) and / or  $\alpha$ -D- (1,6) are formed by bonding the polysaccharide linkages. Digestible starch overall  $\alpha$ -amylase, sucrase - isomaltase and glucoamylase enzymes that are cleaved to the free glucose in the small intestine and is absorbed there. However, not all of the starch can not be digested and absorbed in the small intestine. Resistant starch consumed within 120 minutes after D- glucose in the small intestine but starch fraction of fragmentation becomes fermented in the colon. Resistant starch; the starch or starch products can also be defined as being resistant to gastrointestinal digestion progresses.

The digestibility of starch in the food varies depending on the food's native state. Therefore the digestion of starch in the human body at different rates and classification in terms of nutrition degree of fragmentation during in vitro hydrolysis by enzymes in the digestive system has gained importance. Accordingly, starch in diet is composed of three separate fractions; including rapidly digestible starch (RDS), slowly digestible starch (SDS) and enzyme-resistant starch (RS). Englyst et al were classified RS under 4 groups.

Type-1 RS, the food, is a term used for starch which resists digestion because it is not physically accessible. Foods in normal cooking conditions show resistance to heat. For example, grains, present in the cell walls of seeds and tubers include starches in the inside. The type-2 RS is indigestible because of structural features are the natural starches. The crystal structure does not permit hydrolysis. They contain high levels of amylose, for example starches can be found in raw potatoes and green bananas. Type-3 RS digestion resistance is defined as non-granular starch derivatives. Typically, these are formed during the retrogradation of the starch granules. A portion of the molecule in the starch retrogradation state is resistant against digestion enzymes. Type-3 RS  $\alpha$ -1,4-D-glucan consisting of short-chain units have a flat structure and are highly heat resistant molecules. More interest is seen because of thermal stability and the conventional ingredients in foods that are possible. Heat and moisture-containing food processes Type-1 and Type-2 while destroying the RS, RS also contribute to the formation of Type-3. Type-3 shows more water holding capacity compared to starch granules. For example, chilled cooked potatoes and corn flakes. Type-4 RS etherification, esterification and chemical structure modified by methods such as crosslinking and resistance are imparted starch enzymes. Modified starches including bread, cakes, are examples of foods which include this type of RS.

RS, unlike traditional dietary fiber makes it possible to produce products of the desired quality characteristics. Foods containing a high proportion of dietary fiber, refined and processed foods by more coarse structure, are dense and flavorless. RS is the texture and flavor of food as a food ingredient and provides very little effect on the development of the sensory properties. RS has small particle size, white-looking, deodorized component. It has a low water binding capacity. For use as functional ingredients in food products to provide increased viscosity and gel forming properties is possible. Inability to be digested as normal starch, there are some benefits of RS on health. RS is member of the insoluble fibers class, but just like soluble fibers, there are physiological benefits to them. Outstanding features of RS has become a topic of interest. Researchers working in this field often use a variety of methods to obtain different sources of RS. RS production and this new products functional properties and physicochemical properties have been concentrated heavily on. RS production methods as a basis; physical modification (temperature-moisture applications, pregelatinisation etc.), Split (acid-enzyme hydrolysis and oxidation processes such as the result of decomposition) and chemical modification (etherification, esterification, cross-linking, etc.) can be grouped under three main headings. Applications usually tried include, heat treatment, partial acid hydrolysis, enzyme modification, acid or enzyme modification with heat treatment, extrusion or chemical methods. RS formation and the amount of food after application; heat treatments applied to the starch, amylose starch, amylopectin ratio, the chain length of the molecules is affected by various conditions such as the presence of amylose-lipid complexes.

Black chickpea used in this study is obtained from local markets. Starch was isolated from chickpeas are ground to be used in analysis. Moisture content of 11.64 % and 10.19 %; protein content of 0.85 % and 20.99 %; fat content of 0.44 % and 4.28% were obtained for the starch and flour, respectively. Starch isolated from black chickpeas were modified by enzymes to form RS (DNE). sample obtained by applying enzyme on the gelatinized starch is GNE and the retrograde control starch is RNK. For all those samples physicochemical and functional properties were determined and compared. Enzymatic modification process involves 40U/g pullulanase addition to both natural and gelatinized starch followed by incubation for 10 hours at 60° C with enzyme, autoclaving at 121 ° C for 30 minutes and after 24 hours keeping at 4 ° C refrigeration for retrogradation and lyophilized.

Resistant starch (RS) contents found for DNE and GNE is respectively; 16.35 % and 12.34%. When DNE and RNK is compared RS content was found to increase about 40.58 % by the effect of enzyme. The RS content of the natural starch and the flour was found to be 15.19 % and 4.99 %, respectively. Treatments made to the natural black chickpea starch increased the amount of rapid digestible starch and reduced the amount of slowly digestible starch when compared with the uncooked starch. On the other hand these applications have increased the amylose content of the gelatinized starch (GNE) significantly, amylose content in DNE is found to be 24.37%, for RNK is 20.91%, and for GNE is 54.33%.

Enzymatic and thermal applications led to an increase in water absorption capacity and water solubility index. The swelling power increased in inverse relation to the RS content of the sample. Applications also caused increase in the fat binding capacity and emulsifying capacity of the starch sample. Syneresis and turbidity properties had no distinct increase or decrease behavior. Compared with other starch samples for five days, RNK was found to have the lowest levels for those properties. For thermal properties of samples by differential scanning calorimetry (DSC); Autoclaving and retrogradation applied samples had lower initial gelatinization temperatures and the peak temperatures and enthalpy values of the applied sample were also reduced. Rapid visco analyzer (RVA) measurements showed that viscosity values for native starch reduced by enzymatic and hydrothermal applications by means of decreases in peak viscosity and final viscosity. KNU and KNN were examined by X ray diffraction and strong peaks were found at  $2\theta = 17^\circ$ . This showed C-type crystallinity which was characteristic for legume starches. The granular structure and distribution of the peaks obtained by scanning electron microscope (SEM) showed that for natural starch oval granular starch was dominant whereas for the other starch samples granules were found to collapse due to the effects of retrogradation.

In this study; from black chickpea starch Type-3 RS by a pullulanase enzyme application was produced successfully. Starch samples and black chickpea starch when compared in terms of RS content and other characteristics it was obvious that according to different technological uses these samples had different properties. The higher fat binding capacity and emulsion capacity of enzyme treated black chickpea starch samples will make it possible to produce different products with desired quality parameters. Thanks to these features, the starch samples obtained could be used as a functional ingredient instead of natural starch to increase the amount of RS.





## 1. GİRİŞ

Gıdalardaki nişastanın sindirilebilirliği, gıdanın doğal yapısına bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir. Bu nedenle insan vücudundaki nişasta sindirilirliğinin, *in vitro* koşullarda sindirim sistemi enzimleri ile hidrolizindeki farklı hız ve parçalanma derecelerinin beslenme açısından sınıflandırılması önem kazanmıştır. Buna göre, nişasta beslenme açısından önemli olan, hızlı sindirilen nişasta (HSN), yavaş sindirilen nişasta (YSN) ve enzime dirençli nişasta (EDN) olmak üzere üç ayrı fraksiyondan oluşmaktadır (Englyst ve diğ., 1992).

EDN, geleneksel diyet lifinden farklı olarak istenilen kalite özelliklerinde ürün üretilmesini mümkün kılmaktadır. Yüksek oranda diyet lifi içeren gıdalar, rafine ve işlenmiş gıdalara göre daha kaba yapıda, yoğun ve lezzetsizdirler. EDN ise gıda bileşeni olarak gıdanın dokusunu ve lezzetini çok az etkilemekte ve duyuşal özelliklerin gelişimini sağlamaktadır (Sajilata ve diğ., 2006). EDN; küçük partikül boyutlu, beyaz görünümlü, aromasız bir bileşendir. Düşük su tutma kapasitesine sahiptir. Viskozite artışı sağlaması ve jel oluşturma özellikleri açısından gıda ürünlerinde fonksiyonel bileşen olarak kullanımı mümkün olmaktadır. Normal nişasta gibi sindirilememesi nedeniyle EDN'nin sağlık üzerine bazı yararları bulunmaktadır (Haralampu, 2000). EDN, çözünmeyen lif sınıfına girmekte ancak çözünür lifler gibi fizyolojik faydaları bulunmaktadır.

Üstün özellikleri EDN'yi ilgi çekici bir konu haline getirmiştir. Araştırmacıların bu alandaki çalışmaları genellikle farklı nişasta kaynaklarından çeşitli EDN elde yöntemlerini kullanarak EDN'ce zengin nişasta üretimi ve bu yeni ürünün fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin incelenmesi üzerine yoğunlaşmışlardır. EDN üretim yöntemleri temel olarak; fiziksel modifikasyon (ısı-nem uygulaması, prejelatinizasyon vb.), parçalama (asit-enzim hidrolizi ve oksidasyon gibi işlemler sonucu dekompozisyon) ve kimyasal modifikasyon (eterleştirme, esterleştirme, çapraz bağlama vb.) olarak üç ana başlık altında toplanabilir (Singh ve diğ., 2007). Uygulamalarda genellikle, ısıl işlemler, kısmi asit hidrolizi, enzim modifikasyonu,

asit ya da enzim modifikasyonu ile birlikte ısıt ışlem uygulaması, ekstrüzyon ya da kimyasal yöntemler denenmiştir. Uygulama sonrası gıdalardaki EDN oluşumu ve miktarı; nişastaya uygulanan ısıt ışlemler, nişastanın amiloz amilopektin oranı, moleküllerin zincir uzunluğu, amiloz-lipid kompleksinin varlığı gibi farklı durumlardan etkilenmektedir (Charalampopoulos ve diğ., 2002; Sajilata ve diğ., 2006).

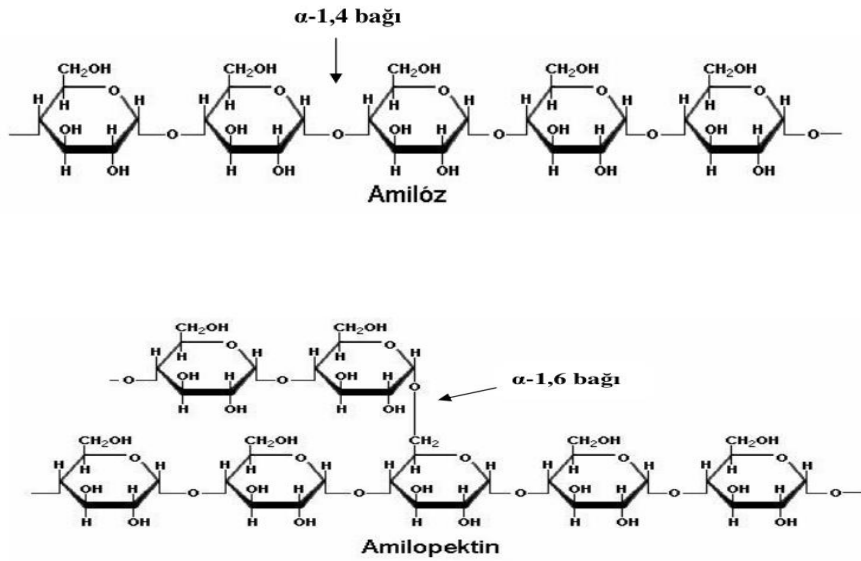
Bu tez çalışmasında materyal olarak yşresel bir üşün olan kara nohut kullanılmıştır. Kara nohut Malatya yşresinde üretilen koyu renkli ve küçük taneli desi grubuna ait bir baklagildir. Yöre halkı tarafından çeşitli çorbalar ve yemeklerin yapımında kullanılmaktadır.

Kara nohuttan un ve nişasta elde edilmiş ve çalışmanın ilk aşamasında temel kompozisyon analizlerine tabi tutulmuştur. Çalışmanın devamında ise enzimatik ve termal uygulamalarla dirençli nişasta üretilimi gerçekleştirilmiş ve elde edilen nişasta örneklerinin fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla toplam nişasta, amiloz içeriği, dirençli nişasta miktarı, yavaş ve hızlı sindiren nişasta miktarları saptanarak enzimatik ve termal uygulamaların etkisi araştırılmış, su tutma, suda çözünürlük, yağ tutma, emülsiyon oluşturma kapasitesi, şişme gücü, sinerezis ve bulanıklık deneyleri yapılarak EDN'ce zenginleştirilmiş nişastanın ve doğal nişastanın fonksiyonel özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca kara nohut unu ve nişastasının diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile termal özellikleri, mikro-visko analizör (RVA) ile viskozite özellikleri, X ışını difraksiyon dağılımları, taramalı elektron mikroskobu ile granül yapısı ve dağılımları incelenmiştir.

## 2. LİTERATÜR TARAMASI

### 2.1 Nişasta Yapısı

Nişasta; insan beslenmesinde yer alan başlıca karbonhidrat kaynağıdır (Ratnayake ve Jackson, 2008). Nişasta bitkilerde granül halinde bulunur. Nişasta granülleri, bitkilerin tohum, kök ve yumrularında, ayrıca gövde, yaprak, meyve ve hatta polenlerinde bulunabilen enerji depolarıdır. Kimyasal olarak nişasta glukoz birimlerinin  $\alpha$ -D-(1,4) ve/veya  $\alpha$ -D-(1,6) bağları ile bağlanmasıyla oluşan polisakkaritlerdir. Nişasta temel olarak iki tip molekülden oluşur. Bunlardan amiloz,  $\alpha$ -D-(1,4) glikozidik bağları ile bağlanmış  $\alpha$ -D-glikopiranoz birimlerinden oluşan lineer polimer yapısıdır ve 1500 ile 6000 arasında anhidro-glukoz birimi molekül ağırlığına sahiptir. Amilopektin ise dallanmış yapıya sahiptir ve  $\alpha$ -D-glikopiranoz birimlerinin temel olarak  $\alpha$ -D-(1,4) bağları ve dallanma noktalarında ise  $\alpha$ -D-(1,6) glikozidik bağlarından oluşmaktadır. Amilopektinin molekül ağırlığı ise  $1 \times 10^7$ - $5 \times 10^7$  g/mol'dür (Sharma ve diğ., 2008). Şekil 2.1'de amiloz-amilopektin yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2.1: Amiloz-amilopektin yapısı (Tester ve ark., 2004).

Doğal nişastada kuru maddenin %98-99'unu amiloz ve amilopektin oluşturmaktadır. Geri kalan kısımda düşük miktarlarda yağlar, proteinler, mineraller ve glikoz hidrosilleri ile esterleşmiş halde fosfatlar yer almaktadır. Nişastanın yapısında yer alan amiloz-amilopektin oranı gıdadaki nişastanın fonksiyonel özelliklerini etkilediği için oldukça önemlidir. Nişastanın kaynağına göre bu oran farklılık göstermektedir. Amiloz ve amilopektin içeriği ve yapısı, nişastanın granül yapısı ve jelatinizasyon özelliği gibi fonksiyonel birçok özelliğine etki etmektedir. Nişastada A ve B tipi olmak üzere iki farklı kristal yapısı gözlenmektedir. Bu fark amilopektinin farklı oranlarda bulunmasından ileri gelmektedir. A tipi nişasta tahıllarda bulunurken, B tipi nişasta yumru köklü bitkilerde ve amilozca zengin nişastalarda görülmektedir. Üçüncü bir tip olarak C tipi nişasta ise A ve B formlarının bir karışımı olarak baklagillerde bulunmaktadır.

## **2.2 Dirençli Nişasta Yapısı ve Sınıflandırması**

Sindirilebilir nişasta genel olarak  $\alpha$ -amilaz, glukoamilaz ve sukraz-izomaltaz enzimleriyle ince bağırsakta serbest glukoza parçalanmakta ve burada emilmektedir (Nugent, 2005). Ancak nişastaların hepsi sindirilememekte ve ince bağırsakta emilememektedir. Dirençli nişasta tüketildikten sonra 120 dakika içinde ince bağırsakta D-glukoza parçalanmayan fakat kolonda fermente olan bir nişasta fraksiyonudur. Dirençli nişasta; nişasta ya da nişasta ürününün gastrointestinal sistemden ilerlerken sindirime karşı dayanıklı olması şeklinde de tanımlanabilir. Enzime dirençli nişasta (EDN);  $\alpha$ -1,4-D-glukanın lineer molekülü, esasen retrograde amiloz fraksiyonundan türemiş ve düşük molekül ağırlığına sahiptir (  $1,2 \times 10^5$  Da) (Tharanathan ve Tharanathan 2001).

Nişastaların, enzimle inkübasyonları sonrasındaki davranışlarına göre sınıflandırılması aşağıdaki gibidir;

1. Hızlı sindirilen nişasta: Amorf yapıda ve dispersiyon haldeki nişasta olup nemli ısıda pişirilmiş ekmek ve patates gibi nişastalı gıdalarda yüksek miktarda bulunur.
2. Yavaş sindirilen nişasta: Tamamen sindirilen, ancak çok yavaş sindirilebilen nişastadır. Hububat nişastaları gibi pişmiş gıdalarda granüller ya da retrograde halde bulunan, fiziksel olarak erişilemez durumda amorf yapıdaki nişastaları içerir.
3. Dirençli nişasta: İlk olarak dirençli nişasta terimi Englyst ve diğ. (1982) tarafından

in vitro koşullarda amilaz ve pullulanaz enzimleri ile hidrolize edilen dirençli nişasta fraksiyonunu tanımlamak için kullanılmıştır. Nişasta kalın bağırsaklara ulaşabilmekte ve bağırsak mikroflorası tarafından fermente edilmektedir. Bu nedenle ince bağırsakta sindirilemeyen besinsel lifin bir fraksiyonu olarak tanımlanmaktadır.

Toplam nişasta miktarından hızlı ve yavaş sindirilebilen nişasta miktarları çıkartılarak hesaplanabilmektedir (Sajilata ve diğ., 2006).

Dirençli nişastanın sindirilememesinin temel olarak 4 nedeni vardır. Bu nedenler;

1.Yoğun moleküler yapısı sindirim enzimlerinin ulaşabilmesini sınırlamakta, bu durum pişmemiş nişasta granülünün yapısıyla açıklanmaktadır. (Haralampu, 2000)

2.Nişasta granüllerinin sindirim enzimleri tarafından parçalanamayacak yapıda bulunmaları

3.Nişasta granüllerinin jelatinize olması molekülleri sindirim enzimleri tarafından tamamıyla ulaşılabilir hale getirmektedir. Nişasta jeli sonradan soğutulduğunda ise oluşan kristal yapı enzimatik sindirime dirençli hale gelmesine yol açmaktadır.

4.Kimyasal olarak modifiye edilerek sindirim enzimleri tarafından parçalanamaması.

Englyst ve ark. EDN'yi 4 grup altında sınıflandırmışlardır. Çizelge 2.1'de EDN tipleri ve bulundukları gıda kaynakları yer almaktadır.

**Çizelge 2.1:** Dirençli nişasta türleri, ince bağırsaktaki sindirimi ve bulundukları besin kaynakları (Fuentez-Zaragoza ve diğ., 2010).

| Niştanın Tipi | Tanımı                                                                                                                  | İnce bağırsaktaki sindirimi                                                         | Etkileyen koşullar                    | Bulunduğu besin kaynakları                                                                                  |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tip-1 EDN     | Sindirilemeyen bir matris içinde ve fiziksel olarak erişilemez durumda                                                  | Yavaş hızlı olarak kısmen sindirilebilir. Eğer tamamen öğütülmüş ise sindirilebilir | öğütme ve çiğneme                     | Bütün ya da kısmen öğütülmüş tahıllar ve tohumlar, sebze, makarna.                                          |
| Tip-2 EDN     | Jelatinize olmamış dirençli granüllerdir, B tipi kristallik gösterir $\alpha$ -amilaz yavaş olarak hidrolize edilebilir | Çok yavaş, az miktarda pişirilip hemen tüketilirse tamamen sindirilebilir           | Gıda işleme yöntemleri ve pişirme     | Çiğ patates, yeşil muz, bazı baklagiller, yüksek amilozlu nişastalar                                        |
| Tip-3 EDN     | Piştirilip soğutulan gıdalarda meydana gelen retrograde nişasta formu                                                   | Yavaş ve kısmi derecede tekrar ısıtma işlemiyle sindirimi artırılabilir             | Gıda işleme koşulları                 | Piştirilip soğutulan patates, ekmek, mısır gevreği, uzun süreli ve tekrarlı nemli ısıya maruz kalan gıdalar |
| Tip-4 EDN     | Kimyasal olarak modifiye edilmiş dirençli nişasta ve endüstriyel olarak üretilmiş gıda ingrediyenleri                   | Kimyasal modifikasyon sonucu, hidrolize karşı dirençlidir                           | Sindirime karşı duyarlılığı çok azdır | Bazı lifler, modifiye nişasta kullanılan içecekler, kekler, ekmek vb. ürünler                               |

Tip-1 EDN, gıdalarda fiziksel olarak ulaşılamaması nedeniyle sindirime direnç gösteren nişastalar için kullanılan bir terimdir. Gıdaların normal pişirme koşullarında ısıya dayanıklılık göstermektedir. Örnek olarak; tahıllar, tohum ve yumru bitkilerin hücre duvarları içerisinde bulunan nişastalar verilebilir (Hernández ve diğ. 2008).

Tip-2 EDN ise yapısal özellikleri nedeniyle sindirilemeyen doğal nişastalardır. Kristal yapıları hidrolize izin vermemektedir.

Yüksek düzeylerde amiloz içermektedirler. Çiğ patates ve yeşil muzda bulunan nişastalar örnek olarak verilebilir.

Tip-3 EDN sindirime dirençli, granüler olmayan nişasta türevleri olarak tanımlanmaktadır. Genel olarak nişasta granüllerinin retrogradasyonu esnasında oluşmaktadırlar. Nişastanın retrogradasyonu sırasında molekülün bir kısmı amilolitik enzimlere karşı dirençli bir hal almaktadır. Tip-3 EDN;  $\alpha$ -1,4-D-glukan birimlerinden oluşan kısa zincirli düz bir yapıya sahip ve ısıya oldukça dayanıklı molekülüdür. Termal stabilitesinden dolayı daha fazla ilgi görmekte ve konvansiyonel gıdalarda ingrediyen olarak kullanımı mümkün olmaktadır. Isı ve nem içeren gıda prosesleri Tip-1 EDN ve Tip-2 EDN'yi tahrip ederken, Tip-3 EDN oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Tip-3 EDN nişasta granülüne kıyasla daha fazla su tutma kapasitesi göstermektedir (Sanz ve diğ., 2008). Örnek olarak pişirilmiş-soğutulmuş patates ve mısır gevreği verilebilir (Wepner ve diğ., 1999).

Tip-4 EDN eterleşme, esterleşme ve çapraz bağlama gibi yöntemlerle kimyasal olarak yapıları değiştirilmiş ve enzimlere direnç kazandırılmış nişastalardır. Modifiye nişasta içeren ekmek, kek, pasta gibi gıdalar örnek verilmektedir.

### 2.3 EDN'nin Fonksiyonel Özellikleri

EDN, geleneksel diyet lifinden farklı olarak istenilen kalite özelliklerinde ürün üretilmesini mümkün kılmaktadır. Yüksek oranda diyet lifi içeren gıdalar, rafine ve işlenmiş gıdalara göre daha kaba yapıda, yoğun ve lezzetsizdirler. EDN ise gıda bileşeni olarak gıdanın dokusunu ve lezzetini çok az etkilemekte ve duyuşsal özelliklerin gelişimini sağlamaktadır (Sajilata ve diğ., 2006).

EDN; küçük partikül boyutlu, beyaz görünümlü, aromasız bir bileşendir. Düşük su tutma kapasitesine sahiptir. Viskozite artışı sağlaması ve jel oluşturma özellikleri açısından gıda ürünlerinde fonksiyonel bileşen olarak kullanımı mümkün olmaktadır. Özellikle fırıncılık ürünlerinde doku modifikasyonu amacıyla ve yüksek sıcaklık uygulanan ürünlerde gevrekliği artırıcı olarak kullanılabilir. EDN aynı zamanda ekstrüde tahıllar ve atıştırmalık gıdalarda kabarmayı iyileştirmektedir. Diğer çözünmeyen liflere kıyasla ağızda daha az hissedilmekte ve ürünün aromasını daha az maskeleymektedir. Klasik olarak ekmek yapımında ilave edilen diyet lifinin yol açtığı koyu renk, düşük ekmek hacmi, zayıf doku hissi ve aromanın

maskelenmesi gibi olumsuz etkilerin tersine EDN kullanımı, işleme sırasında işlem kolaylığı sağlarken, gevreklik, hacim ve dokunun iyileştirilmesi konusunda da başarılı sonuçlar vermektedir (Sajilata ve diğ., 2006; Baiauli ve diğ., 2008).

EDN ayrıca yağ ikame edici maddeler arasında kabul edilmektedir. Mısır, buğday, patates, pirinç ve baklagil gibi kaynaklardan elde edilen nişasta doğal halde ya da hidroliz, oksidasyon ya da çapraz bağlama işlemleri ile modifiye edilerek bu amaç doğrultusunda kullanılmaktadır (Akoh ve diğ., 1998). Nişasta bazlı yağ ikame edicilerin kullanımının başlıca avantajı; nişastanın suda disperse olarak jel oluşturmasıdır. Böylelikle yağın gıdaya kazandırdığı tekstür kısmen sağlanabilmektedir.

## **2.4 EDN'nin Fizyolojik Etkileri**

Normal nişasta gibi sindirilememesi nedeniyle EDN'nin sağlık üzerine bazı yararları bulunmaktadır (Haralampu, 2000). EDN, çözünmeyen lif sınıfına girmekte ancak çözünür lifler gibi fizyolojik faydaları bulunmaktadır.

EDN kolon mikroflorası için substrat konumundadır ve bu mikroorganizmalar tarafından fermente edilerek başta bütirat olmak üzere asetat, propiyonat gibi kısa zincirli yağ asitlerini oluşturmaktadır. Birçok araştırmada kısa zincirli yağ asitlerinin özellikle de bütiratın bağırsak sağlığı üzerine olumlu etkileri olduğu belirtilmiştir. Bütirat, kalın bağırsak epitel hücrelerinin temel enerji kaynağıdır ve bu hücrelerin kötü huylu hücrelere dönüşümünü engellemektedir (Brown ve diğ., 2001; Topping ve Clifton, 2001). Ayrıca fermentasyon sonucunda ortaya çıkan kısa zincirli yağ asitleri kolon pH'sını 1-2 birim düşürmesi sonucunda asidik pH sağlamakta ve böylelikle pH'ya duyarlı toksik bakterilerin çoğalmasını engellemektedir (Sang ve diğ., 2007).

EDN ince bağırsakta sindirilemediği için gıdanın glisemik indeksini azaltmaktadır (Fredriksson ve diğ., 2000; Shama ve diğ., 2003). Bu nedenle diyabetli hastaların diyetlerinde kullanılabilmektedir. EDN, sindirimi daha uzun zaman aldığı için insülin seviyesinde azalma ve tokluk hissinde artış sağlamaktadır. Bazı araştırmacılar EDN'nin yağ oksidasyonunda rol oynadığını, tokluk hissi verdiğini (Nugent, 2005; Sharma ve diğ., 2008) ve kilo kontrolü sağladığını (Mikusova ve diğ., 2009) belirtmişlerdir. Tapsell (2004)'e göre EDN'ce zengin bir öğün insülin salgısındaki



azalmanın bir sonucu olarak yağ depolarının daha fazla kullanılmasına neden olmaktadır. Ayrıca EDN, ince bağırsakta sindirilmeden kalın bağırsağa geçtiği için, probiyotik mikroorganizmalar için substrat olarak davranabilmekte ve sindirim sisteminde koruyucu görev yaptığı düşünülmektedir ( Brown ve diğ., 1998; Wang ve diğ., 1999; Sajilata ve diğ., 2006).

İnsan ve farelerle yapılan çeşitli çalışmalarda EDN'nin serum kolesterol ve trigliseritlerin seviyesini de azalttığı, dolayısıyla kardiyovasküler sağlığı iyileştirdiği belirtilmektedir. (Martinez ve diğ., 2004). Bunlara ek olarak EDN' nin kalsiyum, magnezyum, çinko, demir ve bakır gibi minerallerin emilimini arttırdığı (Morais ve diğ., 1996; Lopez ve diğ., 2001), safra taşı oluşumunu ise azalttığı bildirilmiştir (Birkett ve diğ., 1996).

EDN'nin başlıca fizyolojik etkileri çizelge 2.2'de gösterilmektedir.

**Çizelge 2.2:** Dirençli nişastanın fizyolojik etkileri (Fuentes-Zaragoza ve diğ., 2010).

| <b>Koruyucu Etki</b>                                                           | <b>Potansiyel Fizyolojik Etkiler</b>                |
|--------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Diyabet                                                                        | Glisemik ve insüline bağlı tepkilerin kontrolü      |
| Kolorektal kanser, ülserli kolit, iltihaplı bağırsak rahatsızlıkları, kabızlık | Bağırsak sağlığını olumlu yönde geliştirir          |
| Kalp-damar rahatsızlıkları, kolesterol, lipid metabolizması sendromu           | Kan lipid profilini olumlu yönde etkiler            |
| Kolon sağlığı                                                                  | Prebiyotik etki gösterir                            |
| Obezite                                                                        | Tokluk hissini artırır ve düşük enerji alımı sağlar |
| Osteoporoz, gelişmiş kalsiyum emilimi                                          | Mineral emilimini artırır                           |

## **2.5 EDN Oluşturma Yöntemleri ve Tip-3 EDN Formunun Oluşturulması Amacıyla Gerçekleştirilen Uygulamalar**

EDN oluşturma yöntemleri temel olarak;

1. Fiziksel modifikasyon (ısı-nem uygulaması, prejelatinizasyon vb.),
2. Parçalama (asit-enzim hidrolizi ve oksidasyon gibi işlemler sonucu dekompozisyon)

3. Kimyasal modifikasyon (eterleştirme, esterleştirme, çapraz bağlama, vb.) olarak 3 ana başlık altında toplanabilir (Singh ve diğ., 2007). Uygulamalarda genellikle, ısı işlemler, kısmi asit hidrolizi, enzim modifikasyonu, asit ya da enzim modifikasyonu ile birlikte ısı işlem uygulaması, ekstrüzyon ya da kimyasal yöntemler denenmiştir. Uygulama sonrası gıdalardaki EDN oluşumu ve miktarı; nişastaya uygulanan ısı işlemler, nişastanın amiloz amilopektin oranı, moleküllerin zincir uzunluğu, amiloz-lipid kompleksinin varlığı gibi farklı durumlardan etkilenmektedir (Charalampopoulos ve diğ., 2002; Sajilata ve diğ., 2006).

Nişastanın granüler yapısı jelatinizasyon ile dağılmaktadır (Farhat ve diğ., 2001). Nişastanın jelatinizasyonundan sonra hareketli haldeki düz amiloz molekülleri hidrojen bağları ile kuvvetlenerek ikili sarmal yapı şeklinde yeniden dizilirler. Nişastanın ikili sarmal yapısının düzenlenmesi ile oluşan kristal yapı ise nişastayı hidrolize eden enzimlere dirençli hale gelmektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda Tip-3 EDN oluşumunda nişastanın kristalizasyonunun önemli katkısı olduğu gösterilmiştir (Chung ve diğ., 2003). Amiloz amilopektine oranla daha hızlı retrograde olmaktadır ve oluşan amiloz kristalleri amilopektin kristallerine göre sıcaklığa daha dayanıklıdır. Depolama sıcaklığı yükseldikçe amilopektin kristalleri bozulacağı için EDN miktarı da azalma göstermektedir (Garcia-Alonso ve diğ., 1999). Ayrıca, amilopektinin yapısındaki dallanma noktaları retrogradasyonu sınırlandırmaktadır. Bu nedenle amilopektin ısı işlem öncesi ya da sonrasında pullulanaz ya da izoamilaz gibi  $\alpha$ -1,6 bağlarına etki eden bir enzim ile muamele edilirse granüldeki lineer zincirler artacaktır. Böylelikle retrogradasyon ile beraber daha fazla Tip-3 EDN oluşturulabilecektir (Vasanthan ve Bhattı 1998, Leong ve diğ., 2007).

Asit hidrolizi uygulamasında ise nişastanın amorf kısımlarındaki glikozidik bağlar hidrolize edilir (Vasanthan ve Bhattı, 1998; Puchongkavarin ve diğ., 2003). Uygulama sonrasında nişastanın kristalinitesi artmaktadır. Asit hidrolizi ile nişastanın granüler yapısı bozulmadan bazı fizikokimyasal özellikleri değişir, örneğin moleküler ağırlık azalır, çözünürlük artar (Wang ve Wang, 2001). Kısa zincirli moleküllerin mobiliteleri uzun zincirli moleküllere göre daha fazla olduğu için nişasta zincirlerinin uzunluğu asit hidrolizi ile azaltıldığında retrogradasyonun hızı ve buna bağlı olarak Tip-3 EDN miktarı artmaktadır (Vasanthan ve Bhattı, 1998; Lehmann ve diğ., 2003).

Gonzales-Soto ve diğ., (2007) yapmış oldukları çalışmada depolama sıcaklığı ve süresinin EDN oluşumu üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Çalışmada muz nişastasının zincir yapısı pullulanaz enzimi ile 24 saat muamele edilerek kırılmış ve 121°C'de 30 dakika otoklavlanarak EDN bakımından zengin hale getirilmiştir. Depolama koşulları 24-48 saat depolama süresi, 4-60°C depolama sıcaklığı olarak belirlenmiştir. Su tutma indeksi depolama süresi arttıkça azalmış, suda çözünürlük indeksi ise depolama sıcaklığından etkilenirken depolama süresinden etkilenmemiştir. En yüksek EDN içeriği olan % 35-38'e ise 4°C 48 saat depolama süresiyle ulaşılmıştır.

Köksel ve diğ., (2008) asit hidrolizi ve ısı uygulamalarıyla EDN ürettikleri çalışmalarında liyofilizasyonun nişastanın fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Mısır nişastasını asit ile modifiye edip otoklavlama işlemi uygulamışlardır. Çözünürlüğün hidroliz derecesi ile doğru orantılı olarak arttığı görülmüştür. Su tutma değerleri ise hidrolize-jelatinize -otoklavlanmış liyofilize örneklerde doğal nişasta ve etüvde kurutulmuş doğal nişastaya göre daha yüksek bulunmuştur. Başlangıçta, doğal nişastada EDN yokken bu değer jelatinizasyon-otoklavlama ve etüvde kurutma ile %8,1 'e yükselmiştir. Bu değer jelatinize-otoklavlanmış-liyofilize nişastanın EDN değeri olan %2,9'dan daha yüksek bulunmuştur. En yüksek EDN değeri ise % 12,4 ile jelatinize-otoklavlanmış-retrograde liyofilize nişastada bulunmuştur.

Polesi ve Sarmiento (2011) nohut nişastasıyla yapmış oldukları çalışmada; hidroliz ve ısı uygulamalarıyla üretilen EDN'nin yapısını ve fizikokimyasal karakterizasyon özelliklerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Bu amaçla doğal ve jelatinize nohut nişastasına 2M HCl ile 2,5 saat asit veya pullulanaz 40U/g ile 10 saat enzimatik hidroliz uygulanmıştır. Devamında 121°C'de 30 dakika otoklavlanmış ve 4°C' de 24 saat buzdolabında bekletilmiş ve liyofilize edilmiştir. EDN içeriği nişasta hidroliziye beraber %16'dan % 20 ve % 32'ye yükselmiştir. Enzim uygulaması en çok jelatinize nişastada etkili olmuştur. EDN artışıyla beraber su tutma ve suda çözünürlük indeksi ısı işlem prosesinden kaynaklı olarak artış göstermiştir. Uygulamalar sonrasında kristal yapı C formundan B formuna değişmiştir. EDN içeren örneklerin viskozitelerinin azaldığı gözlenmiş, EDN içeriği ile viskozite değerinin ters orantılı olarak değiştiği bulunmuştur.

Zhang ve Jin (2011) yapmış oldukları çalışmada; mısır nişastası pullulanaz enzimi ile hidroliz edilerek yüksek EDN içeren ürün hazırlanmıştır. Bu çalışmada hidroliz için optimum şartlar araştırılmıştır. Bu şartlar; 32 saat, pH 5, 46°C inkübasyon sıcaklığı ve 12 ASPU/g pullulanaz varlığı olarak bulunmuştur. Bu uygulamada 121 °C'de 1 saat otoklavlanmış ve oda sıcaklığına soğutulup, 4°C'de 1 gece bekletilmiştir. Bu işlem döngüsü 2 kere tekrarlanmıştır ve örnekler 105 °C'de kurutulmuştur. İşlemler sonucunda EDN içeriği %44,7'ye çıkartılmıştır.

Şimşek ve Nehir-El'in (2012) gölevez yumru bitkisiyle yapmış oldukları EDN üretimi ve sağlık etkilerinin in vitro metodlarla belirlenmesi çalışmalarında öncelikle %98 saflıkta ve % 10,4 amiloz içeriğine sahip nişasta gölevezden elde edilmiştir. Isıtma, otoklavlama, enzimatik parçalama, retrogradasyon ve kurutma prosesleri gölevez nişastasına iki tekrarlı olarak uygulanmıştır. İşlemler sonucunda EDN içeriği 16 kat artırılmıştır. (%35,1) Glisemik indeksi doğal gölevez nişastasında %60,6 iken, EDN miktarı artırılmış gölevez nişastasında %51,9 bulunmuştur. Safra asitlerini bağlama doğal gölevez nişastası ve EDN miktarı artırılmış gölevez nişastasında kolesterol düşürücü ilaç kolestramin ile ilişkilendirilmiş ve sırasıyla %5,2 ve %7,6 olarak bulunmuştur.

Dündar ve Göçmen (2012) yapmış oldukları çalışmada otoklav sıcaklığının ve depolama süresinin EDN oluşumuna ve nişastanın fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerine etkisini incelemişlerdir. Otoklav sıcaklığı 140-145 °C ve depolama süreleri 24-48-72 saat olarak seçilmiştir. Çalışma yüksek amilozlu mısır nişastası kullanılarak yapılmıştır. En yüksek EDN içeriği 145°C - 72 saat uygulamasında %30,41 olarak elde edilmiştir. Otoklav sıcaklığı yükseldikçe viskozitede önemli düşüşler gözlenmiştir. 145°C'de hazırlanan örneklerde 140°C'ye oranla daha yüksek su tutma kapasitesi gözlenmiştir. 3 kere otoklavlama ve soğutma aşamasından sonra retrograde mısır nişastası 40°C'de 24 saat HCl ile muamele edilmiştir. 140°C -24 saat uygulamasında % 21,73 EDN bulunurken, 145 °C-24 saat uygulamasında % 24,94, 145°C-72 saat uygulamasında ise en yüksek EDN değerine ulaşılmıştır.

Reddy ve diğ. (2013) Meksika fasülyesi nişastası ile yapmış oldukları çalışma; enzimatik metotta EDN üretimi ve bunun fonksiyonel ve fizikokimyasal özelliklerinin incelenmesini kapsamaktadır. Doğal ve jelatinize nişasta 40U/g pullulanaz enzimi ile 10 saat 60°C'de inkübe edilmiş ve devamında 121°C

sıcaklığında 30 dak otoklavlanmış, 4°C'de 24 saat bekletilmiş ve sonrasında liyofilize edilmiştir. İşlemler sonucu EDN oranı artmış ve bu artışla su tutma kapasitesi, suda çözünürlük indeksi de artmıştır. Şişme gücü ise azalma göstermiştir. Kristal yapı B formundan C formuna dönüşmüştür ve kristallik oranı retrogradasyon prosesi ile ilişkili olarak artış göstermiştir. Viskozite; EDN oranıyla ters orantılı sonuç vermiştir. EDN miktarları retrograde doğal nişastada %21,27; doğal nişastaya enzim uygulamasında %31,47; jelatinize nişastaya enzim uygulamasında %42,37 olarak bulunmuştur.

Medina ve diğ. (2014) yapmış oldukları çalışmada 5 farklı baklagil unundan enzimatik hidrolizle EDN üretmişlerdir (mercimek, nohut, bakla, barbunya ve Meksika fasülyesi). Her bir baklagile öncelikle ısıtma işlemi uygulanmış, sonrasında ise pullulanaz enzimi ile 24 saat 50°C pH 5 uygulama şartlarında hidrolize edilmiştir. Bu uygulamalar sonrasında EDN miktarı en yüksek değer olan %7,5 olarak nohutta bulunmuştur.

## 2.6 Nohut (*Cicer arietinum* L.)

Nohut *Leguminosae* (baklagiller) familyasının *Papilionaceae* (kelebek çiçekliler) alt familyasına ait *Cicer* cinsinden bir baklagil türüdür. Nohut sadece bir yıl büyüyen ve tohumla çoğalan bir bitkidir. Orijini Türkiye'nin güneydoğusu ile Suriye'nin komşu olduğu bölgeye dayanmaktadır (Güneş ve diğ., 2006). *Cicer* cinsi aralarında kültür nohudunun da bulunduğu 9 tek yıllık, 33 çok yıllık ve 1 sınıflandırılmamış olmak üzere toplam 43 türü içerir (Sethy ve diğ., 2006). Nohut türleri içinde tek yıllık olan nohut türleri *Monocicer* ve *Chamacicer* olmak üzere 2 grupta toplanmaktadır. *Monocicer* grubunda 8 tek yıllık nohut türü (*Cicer arietinum* L., *C. reticulatum* L., *C. echinospermum* L., *C. bijugum* L., *C. judaicum* L., *C. pinnatifidum* L., *C. yamashitae* L. ve *C. cuneatum* L.) yer alırken, *Chamaecicer* grubunda ise sadece *C. chorassanicum* L. yer almaktadır. *Polycicer* ve *Acanthocicer* grupları ise tek yıllık türleri içermezler. *Polycicer* grubunda 25, *Acanthocicer* grubunda ise 7 çok yıllık nohut türü bulunmaktadır (Frediani ve Caputo 2005). Bu gruplar içinde ekonomik olarak önemi olan tür sadece *C. arietinum*'dur. Kültür nohudu olan *Cicer arietinum* L. diploid ( $2n=2x=16$ ) bir baklagil bitkisidir (Sethy ve diğ., 2006).

Baklagiller insan beslenmesinde önem taşıyan bitkisel kaynaklı besinlerdir. Diğer bitkisel kaynaklı besinler ile karşılaştırıldıklarında besin değeri bakımından birçok üstünlüğe sahiptirler. Yemeklik tane baklagillerin kuru tanelerinin bileşimlerinde %18-36 oranında protein bulunmaktadır ve proteinlerinin hazmolunabilirlik dereceleri de oldukça yüksektir (%78). Elzem aminoasitler bakımından da hayvansal proteinlere yakın değerler göstermektedir. Taneler hem vitamin (A, B, C ve D) hem de minerallerce (Fe, P, Ca) zengindir.

Dünyada tarımı yapılan yemeklik tane baklagil türleri içerisinde ekim alanı ve üretim bakımından kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) ve bezelye (*Pisum sativum* L.) 'den sonra nohut (*Cicer arietinum* L.) üçüncü sırada yer almaktadır. FAO verilerine göre son beş yılda (2009-2013) nohut üretici ülkelerin sıralaması 1) Hindistan 2) Avusturalya 3) Pakistan 4) Türkiye 5) Myanmar şeklindedir. Türkiye'de nohut 2013 yılında 4.235.570 dekar alana ekilmiş ve toplamda 506.000 ton nohut üretilmiştir. Dekar başına ortalama verim 2013 yılında 121 kg olmuştur.

Nohut tohum rengi ve coğrafik dağılımına göre genellikle desi ve kabuli olarak iki grup oluşturmaktadır. Desi; Hindistan orijinli olup küçük, kırışık yüzeyli, köşeli ve koyu renklidir. Desi Hint dilinde yerel anlamına gelmektedir. Çiçekleri genellikle mavi ya da mor renktedir. Bu tip nohut çeşitleri, genellikle kısa boylu olup (15-60 cm arasında), yapraklarını oluşturan yaprakçıklar küçüktür. Saplarında ve çiçeklerinde genellikle antosiyanin bulunur. 1000 tane ağırlıkları 100-300 g arasında olup, tane renkleri de genellikle sarı, kahverengi, siyah veya yeşilimsi renkte olabilir. (Babaoğlu, 2003). Yarı-kurak tropik bölgelere uyum sağlamış ve Hindistan, Etiyopya, Avustralya, Afganistan ve İran gibi ülkelerde çok yaygın olarak ekilmektedir ve soğuğa kabuli tipindekilere oranla daha dayanıklıdır.

Kabuli ise Akdeniz ve Ortadoğu orjinlidir, büyük, pürüzsüz yüzeyli ve bej renklidir, taneleri çok iri ve koçbaşı şeklindedir (Miao ve diğ., 2009 ). Kabuli tipi daha uzun boylu (yaklaşık 1 m) olup, yaprakçıkları daha büyüktür. Antosiyanin oluşumu gözlenmez. Baklalar içerisinde çoğunlukla tek tane oluşur. Bitkinin çiçekleri beyaz renklidir. Tohum kabukları incedir. 1000 tane ağırlıkları ortalama 400-600 g arasında değişkenlik gösterir. Bu tip nohut çeşitleri, daha çok ılıman bölgelere adapte olmuşlardır ve soğuğa dayanıklı değildirler.

Desi ve kabuli tiplerine ait ortalama kompozisyon değerlerinin % 22 protein, % 4.5 yağ, % 63 karbonhidrat, % 8 diyet lifi ve % 2.7 kl içeriği olduğu bilinmektedir (Miao ve diğ., 2009). Nohut ayrıca folat, B<sub>6</sub> ve C vitamini ve çinko bakımından oldukça zengindir. Desi grubuna ait nohutların diyet lifi oranı kabuliye göre daha fazladır bu yüzden glisemik indeksleri de oldukça düşüktür.

Kara nohut da Malatya yöresine ait oldukça koyu renkli ve küçük taneli yöresel bir nohut çeşididir. Yöre halkı tarafından kara çorba, dğme orbası gibi çeşitli çorbaların yapımında ve yarmaca denilen kabuklarından ayrılıp ikiye bölünmüş haliyle bir diğer adı da muhaşer olan yarmacalı pilav yapılarak tüketilmektedir. *Cicer arietnum* L. ayrıca Hindistan'da Bengal gram, Latin Amerika'da Garbanzo, Arap lkelerinde Hommes ve Hamaz, Türkiye'de ise nohuta ilave olarak leblebi isimleriyle anılmaktadır (Hannan ve diğ., 2001). Nohut ayrıca yeşil haliyle taze olarak tüketilebildiği gibi, haşlanarak yemekleri yapılmakta, kavrularak atıştırmalık bir gıda olan leblebi olarak üretilmekte ve un haline getirilerek ekmek yapımında ve çeşitli çorbalarda kullanılmaktadır.





### **3.MALZEME VE YÖNTEM**

#### **3.1 Malzeme**

##### **3.1.1 Kara nohut örnekleri**

Malatya'da yetiştirilip hasat edilen kara nohut; İstanbul'da yöresel ürünler satan yerel bir marketten 2013 yılı hasatına ait olarak temin edilmiş ve bu araştırmada materyal olarak kullanılmıştır. Analiz süresine kadar oda sıcaklığında kuru bir ortamda muhafaza edilmiştir.

##### **3.1.2 Çalışmada kullanılan kimyasal ve cihazlar**

###### Çalışmada kullanılan kimyasallar:

Dirençli nişasta tayin kiti (Megazyme, Co. Wicklow, Ireland), Amiloz-amilopektin tayin kiti (Megazyme, Co. Wicklow, Ireland), Pullulanaz Enzimi (Promozyme 400L-P2986, Sigma Aldrich), Maleik asit (Merck), Kalsiyum klorür (Merck), Sodyum azid (Sigma Aldrich), Potasyum hidroksit (Merck), Sodyum hidroksit (Sigma Aldrich), DMSO-Dimetil sülfoksit (LAB-SCAN), Glasial asetik asit (Riedel-de Haen), Susuz sodyum asetat (BDH), Sodyum klorür (Riedel-de Haen), Magnezyum klorür (Sigma Aldrich), Mangan klorür (CARLO ERBA), Etanol (Sigma Aldrich), Hekzan (Sigma Aldrich).

###### Çalışmada kullanılan cihazlar:

Diferansiyel taramalı kalorimetre (TA Q10,TA Instruments, ABD), X-ışını difraksiyonu (X'Pert PRO PANalytical, Hollanda), Hızlı vizkozite analizleyici (RVA 4500, Pertern Instruments, İsveç), Taramalı elektron mikroskobu (FEI Quanta 250 Company, Hillsboro, Oregon, ABD), UV-Visible spektrofotometre (SP-3000 nano OPTIMA, Japonya), Hızlı nem ölçüm cihazı (Shimadzu MOC63u Uni Bloc, Japonya), Hassas terazi (S-403 Denver Instrument, Almanya), Çalkalamalı su banyosu (Memmert, WNB 14, Almanya), Etüv (Memmert UNB-100, Almanya), pH

metre (HI 110 Series, HANNA Instruments, ABD), Tüp karıştırıcı (IKA Almanya), Blender (Waring Commercial 7011 HS, ABD), Manyetik karıştırıcı (IKA RH Basic 2 IKAMAG, Almanya), Santrifüj (SIGMA 2-16 PK, Almanya), Mikrosantrifüj (Hettich Zentrifugen, Mikro-120), Almanya), Gerhardt Soxtherm Otomatik Yağ Tayin Cihazı (Gerhardt Soxtherm, Almanya), Liyofilizatör ( Christ Alpha 1-2 LD Plus, İngiltere).

### **3.2 Yöntem**

#### **3.2.1 Kara nohuttan nişasta eldesi**

Nişasta eldesinde Singh ve diğ. (2004) tarafından belirtilen yöntem kullanılmıştır. Kara nohut örnekleri taş ve çöpünden ayrıldıktan sonra %0.16 sodyum hidrojen sülfid içeren suda 50°C’lik su banyosunda 16 saat süreyle bekletilmiştir. Bu süre sonunda suyu uzaklaştırılan kara nohut örnekleri blender (Tefal Smart Power 700W) ile öğütülmüş ve distile suyla yıkanarak 125µm’lik elekten (Retsch-Almanya) geçirilmiştir. Elekten geçen kısım 1 saat oda koşullarında bekletilmiş, sonrasında 2800 rpm hızda 5 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen nişasta 40 °C’de etüvde 12 saat kurutulmuştur. Analize kadar olan sürede oda sıcaklığında ve kuru bir ortamda muhafaza edilmiştir.

#### **3.2.2 Kara nohuttan un eldesi**

Kara nohut taş ve çöpünden ayrıldıktan sonra Waring blenderde öğütülmüş ve analiz süresine kadar oda sıcaklığında ve kuru bir ortamda muhafaza edilmiştir.

#### **3.2.3 Kompozisyon analizleri**

Kara nohuttan elde edilen nişastada ve unda toplam nem, toplam kül, toplam protein miktarı tayin edilmiştir.

##### **3.2.3.1 Toplam nem miktarı tayini**

Nem tayini AOAC 925.10 numaralı metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir (AOAC, 2002). Önceden sabit tartıma getirilmiş metal kaplara yaklaşık 2g örnek tartılmış ve 135 °C etüvde 2 saat kurutulmuştur. Analiz iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonucu denklem 3.1’e göre hesaplanmıştır.

$$\%nem = \frac{\text{örnek ağırlığı} - \text{kurutulmuş örnek ağırlığı}}{\text{örnek ağırlığı}} \times 100 \quad (3.1)$$

### 3.2.3.2 Toplam kül miktarı tayini

Toplam kül miktarı tayini AOAC 923.03 nolu metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir(AOAC, 2002). Ağırlığı bilinen krozeler içine yaklaşık 3g örnek tartılmıştır. 425 °C'de 45 dakika kapağı açık şekilde, 485 °C'de kapak yarım açık şekilde 45 dakika ve 550 °C'de kapak tam kapalı şekilde 16 saat boyunca kül fırınında bekletilmiştir. Analiz iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonucu denklem 3.2'ye göre hesaplanmıştır.

$$\% kül = \frac{\text{kül ağırlığı}}{\text{örnek ağırlığı}} \times 100 \quad (3.2)$$

### 3.2.3.3 Toplam protein miktarı tayini

Protein miktarı tayini AOAC 920.87 metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir (AOAC, 2002). Yaklaşık 1 g örnek yakma tüpüne alınmış, üzerine katalizör ve 25 ml derişik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eklenmiştir. Yakma işlemine açık yeşil renk görüldükten sonra 30 dakika daha devam edilmiş, soğuduktan sonra destilasyon aşamasına geçilmiştir. Destilat 0.2 N HCl çözeltisi ile titre edilmiştir. Titrasyon aşamaları sonunda elde edilen sarfiyat kaydedilerek toplam azot ve protein miktarı denklem 3.3'e göre hesaplanmıştır. Analizler iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

$$\% N = \frac{(V2 - V1) \text{ml} \times \text{normalite} \times 0,014}{\text{örnek ağırlığı}} \times 100 \quad (3.3)$$

V1: kör için ml 0.2 N HCl sarfiyatı, V2: örnek için ml 0.2 N HCl sarfiyatı,

$$\% \text{ protein} = \% N \times 6,25 \quad (3.3a)$$

### 3.2.3.4 Toplam yağ miktarı tayini

Yağ miktarı tayini için yaklaşık 3 g örnek tartılmış ve Gerhardt Soxtherm Otomatik Yağ Tayin Cihazı (Gerhardt Soxtherm, Almanya) ile 200 °C'de çalıştırılmıştır. İşlem sonucunda evaporatöre alınan çözgen uçurulmuştur. Analizler iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuç denklem 3.4'e göre hesaplanmıştır.

$$\%yağ = \frac{\text{yağ ağırlığı}}{\text{örnek ağırlığı}} \times 100 \quad (3.4)$$

### 3.2.4 Nişastanın enzim ile modifikasyonu ve enzime dirençli nişasta üretimi

Nişastanın enzim ile modifikasyonu ve enzime dirençli nişasta üretiminde Reddy ve diğ. (2013) tarafından belirtilen yöntem kullanılmıştır. 0,1M sodyum asetat tamponu (pH 5,3) ile kuru bazda ağırlıkça %10 nişasta içeren süspansiyon hazırlanmıştır. Enzim uygulaması hem jelatinize nişastada hem de doğal halde bulunan nişastada gerçekleştirilmiştir. Jelatinize nişasta; nişasta süspansiyonunun 10 dakika kaynar su banyosunda karıştırılarak bekletilmesiyle elde edilmiştir. Doğal halde bulunan nişasta süspansiyonu ve jelatinize nişasta süspansiyonu sıcaklıkları 60°C'ye ulaştığında 40U/g pullulanaz enzimi ilave edilmiş ve 10 saat boyunca 60°C'de çalkalamalı su banyosunda inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon sonrası enzim aktivitesinin durdurulması için enzim ilaveli nişasta süspansiyonları kaynar su banyosunda 10 dakika bekletilmiştir. Kontrol grubu olarak aynı şekilde nişasta süspansiyonu hazırlanmış ve diğer gruplarla birlikte 121°C 30 dakika otoklavlanmıştır. Otoklavdan çıkartılan örnekler oda sıcaklığına soğutulmuş ve 4°C'de buzdolabında 24 saat bekletilmişlerdir. 24 saat sonunda örnekler 4024xg hızda 10 dakika santrifüj edilmiş ve santrifüj sonrasında petrilere aktararak -20°C'de dondurulmuşlardır. Tüm örnekler liyofilize edilmiş ve analiz süreci boyunca -20°C'de depolanmışlardır. Tüm bu işlemler 2 tekrarlı yapılmıştır. Doğal nişastaya enzim uygulaması yapılması sonucu elde edilen örnekler DNE; Jelatinize nişastaya enzim uygulaması yapılarak elde edilen örnekler GNE; kontrol grubu olarak doğal nişastanın otoklavlanıp retrograde edilmesiyle elde edilen örnekler RNK kısaltmalarıyla kodlanmışlardır.

### 3.2.5 EDN ve toplam nişasta miktarı tayini

Dirençli nişasta tayini için AOAC 2002.02 Metodu ile AACC 32-40 Metodu esas alınarak geliştirilen Megazyme Dirençli Nişasta Analiz Kiti (140307-1, Megazyme Int., İrlanda) kullanılmıştır. İşlem uygulanan ve doğal halde bulunan nişasta ve kara nohut unu analize tabi tutulmuştur. Bu yöntemde 37 °C'de α-amilaz ve amiloglukozidaz varlığında 16 saat inkübe olan nişasta ve un örneklerinden ilk aşamada dirençli olmayan nişasta çözünmüş ve glikoza parçalanmıştır. Dirençli nişasta ise santrifüj işlemi sonrasındaki çöküntü kısmında elde edilmiş olup, etanolle

yıkama ve potasyum hidroksit içinde çözme gibi aşamalardan sonra amiloglikozidaz enzimi ile glukoza hidroliz edilmiştir. Dirençli nişasta ve toplam nişasta değerleri ayrı ayrı, glukozun spektrofotometrik olarak belirlenmesiyle elde edilmiştir. Analizler 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş olup sonuçlar denklem 3.5 ve 3.6'ya göre hesaplanmıştır.

$$\text{dirençli nişasta (\%)} = \Delta E_1 \times \frac{F}{W} \times 9,27 \quad (3.5)$$

$$\text{dirençli olmayan kısım (\%)} = \Delta E_2 \times \frac{F}{W} \times 90 \quad (3.6)$$

$\Delta E_1$ : kör numuneye karşı okunan absorbans (dirençli nişasta için)

$\Delta E_2$ : dirençli olmayan nişasta için kör numuneye karşı okunan absorbans

F: 100/GOPOD absorbansı

$$W: [\text{tartılan numune miktarı} \times (100 - \text{nem içeriği}) \times 100] \quad (3.5a)$$

\*9,27 ve \*90: deneysel çevirme katsayıları

### 3.2.6 Hızlı ve yavaş sindirilen nişasta miktarı tayini

Dirençli nişasta tayini ile aynı olarak AOAC 2002.02 Metodu ile AACC 32-40 Metodu esas alınarak geliştirilen Megazyme Dirençli Nişasta Analiz Kiti (140307-1, Megazyme Int., İrlanda) kullanılmıştır. İşlem uygulanan ve doğal halde bulunan nişasta örnekleri analize tabi tutulmuştur. 37 °C'de 20 dakika  $\alpha$ -amilaz ve amiloglukozidaz varlığında inkübe olan nişasta örneklerinden santrifüj sonrası çökelti haline gelen dirençli nişasta kısmı uzaklaştırılmış ve glukoza parçalanmış olan hızlı sindirilen kısımdan hızlı sindirilen nişasta miktarı spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde  $\alpha$ -amilaz ve amiloglukozidaz varlığında 37 °C'de 120 dakika inkübasyon sonrası ise yavaş sindirilen kısımdan santrifüj sonrası çökelti haline gelen dirençli nişasta kısmı uzaklaştırılmış ve glukoza parçalanmış olan yavaş sindirilen nişasta miktarı spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Yavaş sindirilen nişastanın absorbans değerinden hızlı sindirilen nişastanın absorbans değeri çıkartılarak yavaş sindirilen nişasta miktarı denklem 3.8'e göre, hızlı

sindirilen nişasta miktarı ise denlem 3.7'ye göre hesaplanmıştır. Analizler iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

#### Hesaplamalar

$$\text{HSN (\%)} = \frac{G_{20} \times 0,9 \times F}{W} \times 100 \quad (3.7)$$

$$\text{YSN (\%)} = \frac{(G_{120} - G_{20}) \times 0,9 \times F}{W} \times 100 \quad (3.8)$$

HSN: hızlı sindirilen nişasta

YSN: yavaş sindirilen nişasta

G<sub>20</sub>: 20 dk'lık inkübasyondan sonra serbest kalan glukozun absorbansı

G<sub>120</sub>: 120 dk'lık inkübasyondan sonra serbest kalan glukozun absorbansı

F: 100/ GOPOD absorbansı (3.7a)

W: [tartılan örnek miktarı x (100-nem içeriği)/100] (3.7b)

0,9 sayısı deneysel bir faktör olarak monosakkaritlerin polisakkaritlere dönüşümü amacıyla kullanılmaktadır.

#### **3.2.7 Amiloz-amilopektin miktarı tayini**

Megazyme Amiloz/Amilopektin Analiz Kiti (140609-2, Megazyme Int., İrlanda) kullanılmıştır. İşlem görmüş ve doğal halde bulunan nişasta örnekleri dimetil sülfoksit ilavesiyle kaynar su banyosunda tamamen disperse edilmiştir. Etanol ilave edilerek nişasta çöktürülmüş, çöktürünün geri dönüşümüyle yağlar uzaklaştırılmıştır. Nişasta çöktürüsü asetat içinde çözündürülüp conA ilave edilmiş ve santrifüjlenmiştir. Bu işlem amilopektini uzaklaştırmak için yapılmıştır. Sonrasında amiloz ve toplam nişasta D-glukoza hidrolize edilmiştir, amiloz değeri glukoz oksidaz peroksidaz ilavesi ile spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Analiz iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve amiloz miktarı denklem 3.9 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Amiloz (\%)} = \frac{\text{ConA absorbans değeri}}{\text{toplam nişasta absorbans değeri}} \times 66,8 \quad (3.9)$$

### 3.2.8 Nişasta örneklerinin fonksiyonel özellikleri

#### 3.2.8.1 Su tutma ve suda çözünürlük özellikleri

Nişasta örneklerinin su tutma ve suda çözünürlük özellikleri belirlenirken Reddy ve diğ. (2013) tarafından belirtilen yöntem kullanılmıştır. Bu amaçla darası kaydedilmiş olan santrifüj tüplerine 0,5g örnek tartılmış ve üzerlerine 6 ml distile su ilave edilmiştir. 30°C'de 30 dakika boyunca, her 10 dakikada bir çıkartılıp vortekslenerek su banyosunda bekletilmiştir. Su banyosundan çıkartıldıktan sonra 3000xg hızda 10 dakika santrifüj edilmiştir. Sıvı kısmı daha önceden sabit tartıma getirilmiş olan petrilere aktarılıp 105°C etüvde 4 saat kurutulmuştur. Santrifüj tüpünde kalan yaş kısım tartılmıştır. Hesaplamalar denklem 3.10 ve 3.11'e göre yapılmıştır. Analizler iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

$$\text{suda çözünürlük (\%)} = \frac{\text{sıvı kısımda çözünmüş madde miktarı}}{\text{tartılan örnek miktarı}} \times 100 \quad (3.10)$$

$$\text{su tutma kapasitesi} = \frac{\text{yaş kalıntı miktarı}}{\text{tartılan örnek miktarı} - \text{çözünmüş madde miktarı}} \quad (3.11)$$

#### 3.2.8.2 Şişme özellikleri

Nişasta örneklerinin şişme özellikleri belirlenirken Reddy ve diğ. (2013) tarafından belirtilen yöntem kullanılmıştır. 0,2 g örnek tartılmış ve üzerine 20 ml distile su ilave edilmiştir. Nişasta süspansiyonu 85°C su banyosunda her 5 dakikada bir vortekslenecek şekilde 30 dakika boyunca bekletilmiştir. Su banyosundan çıkartılan örnekler 2200 rpm hızda 15 dakika santrifüj edilmiştir. Sıvı kısım daha önceden sabit tartıma getirilen ve daraları kaydedilmiş olan petrilere aktarılıp 105 °C'de 4 saat kurutulmuştur. Hesaplama denklem 3.12'ye göre yapılmıştır. Analizler iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

$$\text{şişme gücü} = \frac{\text{sediment miktarı}}{\text{tartılan örnek miktarı} - \text{çözünen nişasta miktarı}} \quad (3.12)$$

### 3.2.8.3 Emülsiyon oluşturma özellikleri

Nişasta örneklerinin emülsiyon kapasiteleri belirlenirken Abdul-Hamid ve Luan (2000) tarafından belirtilen yöntem kullanılmıştır. 20 ml % 7'lik nişasta çözeltisi hazırlanmış ve üzerine 20 ml mısır yağı ilave edilmiştir. Blender (Tefal smart power 700W) ile 5 dakika yüksek devirde karıştırılarak emülsiyon oluşumu sağlanmıştır. Hazırlanan emülsiyon 3000xg hızda 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında deney tüpü skalasından okunan toplam yükseklik ve emülsiyon yüksekliği değerleri kaydedilmiştir. Hesaplama denklem 3.13 kullanılarak yapılmıştır. Analizler iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

$$\text{Emülsiyon kapasitesi} = \frac{\text{emülsifiye faz hacmi}}{\text{toplam sıvı hacmi}} \times 100 \quad (3.13)$$

### 3.2.8.4 Yağ Tutma Özellikleri

Nişasta örneklerinin yağ tutma özellikleri belirlenirken Abdul-Hamid ve Luan (2000) tarafından belirtilen yöntem kullanılmıştır. Darası kaydedilmiş olan deney tüplerine 4g örnek tartılmış ve üzerine 20 ml mısır yağı ilave edilmiştir. 30 dakika boyunca her 5 dakikada bir, 30 saniye vortekslenmiştir. Vorteksleme sonrasında 1600 x g hızda 25 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen örneklerden ayrılan yağ darası bilinen bir kaba aktarılıp tartılmıştır. Santrifüj tüpünde kalan yağlı nişasta tartılmıştır. Hesaplama denklem 3.14 kullanılarak yapılmıştır. Analizler iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

$$\text{Yağ tutma kapasitesi} = \frac{\text{yağlı sediment miktarı} - \text{örnek miktarı}}{\text{örnek miktarı}} \quad (3.14)$$

### 3.2.8.5 Sinerezis özellikleri

Nişasta örneklerinin sinerezis özelliklerinin belirlenmesinde Singh ve diğ. (2004) tarafından belirtilen yöntem kullanılmıştır. %2 'lik nişasta süspansiyonu 85°C'de su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir. Bu işlemi takiben buz dolu bir kapta oda sıcaklığına kadar soğuması sağlanmıştır. 24 saat, 48 saat ve 120 saat sonunda yapılacak santrifüj işlemleri için ayrı deney tüplerinde örnekler hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler 24 saat, 48 saat ve 120 saat sonunda 1648xg hızda 20 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra ayrılan suyun tartılmasıyla hesaplama



denklem 3.15 kullanılarak yapılmıştır. Analizler iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

$$\text{sinerezis (\%)} = \frac{\text{Serbest kalan su miktarı}}{\text{Sediment miktarı}} \quad (3.15)$$

#### 3.2.8.6 Bulanıklık Özellikleri

Nişasta örneklerinin bulanıklık özelliklerinin belirlenmesinde Singh ve diğ. (2004) tarafından belirtilen yöntem kullanılmıştır. Deney tüplerine 0,5 g nişasta tartılıp üzerine distile su ilave edilerek % 1'lik nişasta süspansiyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler 90°C'de çalkalamalı su banyosunda 1 saat süreyle bekletilmiş ve her 10 dakikada bir vorteks karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Su banyosundan çıkartılan örnekler 30°C'lik su banyosunda 1 saat süreyle soğutulmuştur. Hazırlanan örnekler 5 gün boyunca 4°C'de depolanmıştır. Her 24 saat sonunda okunmak üzere farklı deney tüplerinde hazırlanan örneklerde bulanıklık ölçümleri 640 nm dalga boyunda suya karşı spektrofotometrik olarak yapılmıştır.

#### 3.2.9 Nişasta örneklerinin ve unun termal özellikleri

Nişasta örneklerinde ve unda jelatinizasyon ve retrogradasyonun incelenmesi diferansiyel taramalı kalorimetre DSC (TA Q10, TA Instruments, ABD) cihazı ile yapılmıştır. Hughes ve diğ. (2009) tarafından belirtilen yöntem kullanılmıştır. Analiz için örnek hazırlama aşamasında, alüminyum tavacıklara 3 mg nişasta örneği tartılmış, üzerine 11 µl su ilave edilmiş ve ardından hemen hermetik kapatma düzeneğinde kapatılmıştır. Hazırlanan örnekler oda koşullarında 24 saat bekletilmiştir. Örnekler 10°C/dak ısıtma hızıyla 30°C'den 130°C'a ısıtılarak termogramları elde edilmiştir. Referans olarak boş DSC kabı kullanılmıştır. Elde edilen verilerde örneklere ait jelatinizasyon ve retrogradasyon endotermik piklerinden yararlanılmış, başlangıç (T<sub>0</sub>) ve pik (T<sub>p</sub>) sıcaklıkları ile pikin altında kalan alandan entalpi değerleri (ΔH) hesaplanarak termogramlar değerlendirilmiştir. Analizler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

#### 3.2.10 Nişasta örneklerinin ve unun viskozite özellikleri

Visko analizör (Rapid Visco Analyzer: RVA; Newport Scientific, Avustralya) ile nişasta örneklerinin ve unun suda ısıtma-soğutma sırasındaki davranışları

incelenmesi amacıyla %14 nem esasına göre 3,5 gram numune tartılmış ve üzerine 25 ml distile su ilave edilmiştir. Cihazın özel kabına karıştırıcı palet yerleştirildikten sonra cihaza konularak, cihaza ait Standart 1 profili kullanılarak RVA özellikleri belirlenmiştir. Standart 1 profili aşağıda çizelge 3.1 'de verilmiştir. Analiz iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş olup, analizde kullanılan su ve örnek miktarları denklem 3.16 ve 3.17 ile hesaplanmıştır.

$$M_2 = (100 - 14) \times M_1 (100 - W_1) \quad (3.16)$$

$$W_2 = 25 + (M_1 - M_2) \quad (3.17)$$

$M_1$ : %14 nem esasına göre tartılması gereken örnek miktarı

$M_2$ : nem miktarına göre düzeltilmiş örnek miktarı

$W_1$ : örneğin nem miktarı(%)

$W_2$ : düzeltilmiş su miktarı

**Çizelge 3.1** : RVA “Standart 1” profilindeki sıcaklık-hız değişimi .

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

Analiz sonucunda incelme sonrası viskozite (through viscosity), 95°C’ deki maksimum viskozite (peak viscosity), karıştırma ile viskozite azalması (breakdown), son viskozite (final viscosity), katılaşma viskozitesi (setback viscosity) ve pik zamanı (peak time) değerleri belirlenerek uygulanan işlemler sonucu nişasta özelliklerinde ortaya çıkan değişiklikler incelenmiştir.

### **3.2.11 X ışını difraksiyon dağılımı**

Nişasta örneklerinin ve unun kristal yapısı Phillips X'Pert Pro, X ışını kırınım cihazı (PANalytical, Hollanda) kullanılarak (45 kV, 40 mA, Cu K $\alpha$  ışınım,  $\lambda = 1,544 \text{ \AA}$ ) saptanmıştır. Nişasta örnekleri ve un 1°/dak hızında 10°-35°(2 $\theta$ ) ile oda sıcaklığında taranmıştır. Numune ölçüm sonuçlarına göre kristal ve amorf faz miktarı hesaplanıp değerlendirilmesi yapılmıştır.

### **3.2.12 Nişasta örneklerinin ve unun granül yapısı ve dağılımı**

Nişasta örnekleri ve unun granül yapısı ve granül dağılımı, taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak saptanmıştır. (FEI Quanta 250 Company, Hillsboro, Oregon, ABD). Karbon kullanılarak sivri uçlu alüminyum aparata yapıştırılan örnekler; yüzeyindeki fazlalık yüksek basınçlı hava ile uzaklaştırılmış ve ardından altın-palladyum ile kaplanmıştır (Quorum SC7620, Quorum Teknoloji LTD, Kent, UK). Hazırlanan örnekler taramalı elektron mikroskobunda 800-1000-4000-10000 ve 20000X oranında büyütülerek görüntülenmiştir.

### **3.2.13 İstatistiksel analiz**

Araştırma verileri SPSS 21. versiyon istatistik programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Farkların önemli bulunduğu durumlarda ortalamalar DUNCAN Çoklu Aralık testi kullanılarak 0.05 önem düzeyinde karşılaştırılmıştır.



## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1 Doğal Nişastanın ve Unun Kompozisyonu

Doğal nişasta ve un örneklerine ait saptanan toplam nem, kül, protein ve yağ değerleri çizelge 4.1'de verilmiştir.

**Çizelge 4.1:** Doğal nişasta ve una ait temel bileşenler (%) kuru madde bazında

| örnek | Nem        | Kül       | Protein    | Yağ       |
|-------|------------|-----------|------------|-----------|
| KNN   | 11,64±0,02 | 0,07±0,02 | 0,85±0,12  | 0,44±0,05 |
| KNU   | 10,19±0,1  | 2,86±0,04 | 20,99±0,04 | 4,28±0,42 |

Örneklerin nem miktarı incelendiğinde; doğal nişastaya ait nem %11,64 olarak bulunmuştur. Una ait nem içeriği ise %10,19 olarak bulunmuştur. Hughes ve diğ. (2009) yapmış oldukları çalışmada nohut çeşitlerine ait nem içeriklerini %8,78 - %11,45 aralığında bulmuşlardır. Literatürde Singh ve Kaur (2005) farklı nohut çeşitlerinin unlarıyla yapmış oldukları çalışmada bulmuş oldukları %6,64-8,59 değerleri ve Chung ve diğ. (2008) farklı çeşitlere ait nohut unlarının nem değerlerini %7,4-7,6 aralığında bulmuşlardır.

Kül miktarı doğal nişasta için %0,07 olarak tespit edilmiş olup literatürde edilen edilen değerlere benzer sonuçlar bulunmuştur. Miao ve diğ. (2009) desi çeşidi nohut nişastasında kül miktarını %0,05 olarak bulmuşlardır. Un için ise bulunan değer Kaur ve Singh (2005)'in yapmış oldukları çalışmada bulmuş oldukları %2,72-2,91 aralığı içersinde olup literatür verileriyle benzerlik göstermiştir.

Çizelge 4.1'e bakıldığında protein miktarı doğal nişastada %1'den düşük bulunmuştur. Bu sonuç nişastanın saflığının yüksek olduğunu göstermektedir (Hughes ve diğ., 2009). Benzer şekilde Singh ve diğ. (2004) yapmış oldukları çalışmada, nohut nişastasına ait protein değerlerini % 0,69-0,85 aralığında bulmuşlardır. Una ait protein değerleri ise; Chung ve diğ. (2008)'nin ve Kaur ve

Singh (2005)'in sırasıyla bulmuş oldukları; % 20,7-25,0 ve % 20,6-24,3 değerleriyle benzerlik göstermektedir.

Doğal nişastaya ait bulunan yağ % değeri literatürde yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Hughes ve diğ. (2009) nohut nişastasıyla yapmış oldukları çalışmalarında yağ içeriğini %0,21 ile %0,46 aralığında bulmuşlardır. Benzer şekilde una ait olan yağ oranı da Chung ve diğ. (2008)'nin çalışmalarında bulmuş oldukları % 6,5-7,1 sonucuyla benzerlik göstermektedir.

#### 4.2 Nişasta Örneklerinin ve Unun EDN ve Toplam Nişasta İçerikleri

Nişasta örneklerinin ve unun EDN değerleri ve toplam nişasta değerleri Çizelge 4.2'de verilmektedir.

**Çizelge 4.2:** Nişasta örnekleri ve una ait % EDN ve % toplam nişasta içerikleri\*

| örnek | EDN          | Toplam Nişasta |
|-------|--------------|----------------|
| DNE   | 16,35±0,41a  | 82,46±6,36 a   |
| RNK   | 11,63±0,42 b | 84,85±5,76 a   |
| GNE   | 12,34±0,76 b | 79,12±5,01 a   |
| KNN   | 15,19±1,27 a | 86,76±3,51 a   |
| KNU   | 4,99±0,60 c  | 44,29±3,86 b   |

\*Değerler iki işlem tekrarı ve paralel analiz sonuçlarına ait ortalama değerler ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen değerler birbirlerinden istatistiksel olarak önemli düzeyde farklıdır (p < 0,05).

Çizelge 4.2'ye bakıldığında, doğal kara nohut nişastası (KNN) %15,19 EDN içerirken otoklavlanmış olan retrograde nişastada (RNK) bu oranın %11,63'e düştüğü görülmektedir. Doğal haldeki nişastada bulunan EDN, Tip-2 EDN olup yeterli ısı işlem uygulaması ile yapısı bozulabilmektedir (Brown, 1996; Nugent, 2005). Bu nedenle otoklavlanmış olan örneklerde EDN miktarı azalmaktadır. Burada Tip-2 EDN'nin yapısı bozulmakta, otoklavlama sırasındaki kısmi jelatinizasyon ve kurutma sırasındaki retrogradasyon ile Tip-3 EDN oluşmaktadır. Enzim ile hidroliz edilen doğal nişastanın (DNE) EDN miktarları otoklavlanan örneklerle (RNK, kontrol grubuna) göre yüksekken (p<0,05), jelatinize edilen nişastaya enzim ilavesiyle elde edilen örneklerde (GNE) istatistiksel olarak fark yoktur (p>0,05). Doğal nişasta (KNN) ile enzim uygulanmış örnekler karşılaştırıldığında ise; DNE ile KNN arasındaki fark önemli değilken (p>0,05), hem RNK ve hem GNE nişastalarında

önemli bir düşüş dikkat çekmektedir ( $p<0,05$ ). Bu düşüş yine otoklavlama işlemiyle ilişkilendirilmektedir. Kontrol grubu nişasta (RNK) ile DNE kıyaslandığında ise enzim uygulaması-otoklavlama ve retrogradasyon işlemlerinin etkisiyle EDN miktarında %40,6 oranında artış elde edilmiştir.

Hidroliz ile birlikte nişastadaki dallanma noktaları ( $\alpha$ -1,6 bağları) parçalanmakta ve böylelikle lineer zincirlerin sayısı artmaktadır. Oluşan bu lineer zincirler, enzim ile inkübasyon ve sonrasındaki kurutma sırasında birbirleriyle daha kolay etkileşime girip enzime dirençli yapıların oluşumunu arttırmaktadır. Literatürde yapılmış olan çalışmalara bakıldığında; Köksel ve diğ. (2008) tarafından yapılan çalışmada, mısır nişastası doğal formda EDN içermezken, uygulanan jelatinizasyon, otoklavlama ve etüvde kurutma işlemleri sonucunda %8,1 düzeyinde EDN oluştuğu tespit edilmiştir. Bir diğer benzer çalışmada; Polesi ve Sarmiento (2011) nohut nişastasına enzim uygulaması sonucu EDN içeriğini % 16'dan % 20 ve % 32'ye yükselmiştir. Enzim uygulaması en çok jelatinize nişastada etkili olmuştur.

Doğal nişastada ve unda bulunan EDN miktarları, Chung ve diğ. (2008)'nin yapmış oldukları çalışmanın nişasta ve un için sonuçları olan sırasıyla %8,4-18,4 ve %3,1-6,4 değerleriyle benzerlik göstermiştir. Yine aynı çalışmada nohut unundaki toplam nişasta değeri %42,9-46,3 aralığında bulunmuştur. Çizelge 4.2 incelendiğinde KNU toplam nişasta değerinin literatür sonuçlarıyla benzer olduğu görülmektedir. Toplam nişasta miktarı açısından enzim uygulaması yapılan nişasta örnekleri ile doğal nişasta arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

#### **4.3 Nişasta Örneklerinin HSN ve YSN İçerikleri**

Doğal nişasta ve işlem görmüş nişastalara ait hızlı sindirilen ve yavaş sindirilen nişasta değerleri çizelge 4.3'de gösterilmektedir.

**Çizelge 4.3:** Nişasta örneklerine ait % HSN ve % YSN değerleri\*

| örnek | HSN (%)      | YSN (%)      |
|-------|--------------|--------------|
| DNE   | 61,54±3,40 a | 3,48±0,13 c  |
| RNK   | 62,24±0,18 a | 8,56±0,40 b  |
| GNE   | 57,92±2,02 a | 5,86±1,73 bc |
| KNN   | 51,31±2,28 b | 16,92±1,64 a |

\*Değerler iki işlem ve iki analiz tekrarına ait ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen değerler birbirlerinden istatistiki olarak önemli düzeyde farklıdır (p < 0,05).

HSN, ince bağırsakta hızla ve tamamen sindirilerek yemek sonrası kan glikoz seviyesinin hızla artışına neden olan nişasta fraksiyonudur. YSN ise, ince bağırsakta HSN'ye göre daha yavaş hızda ve tamamen sindirilebilen nişasta fraksiyonudur. Çizelge 4.3'de HSN değerleri incelendiğinde enzim uygulaması yapılan nişasta örnekleri ile kontrol grubu nişasta örneği (RNK) arasında istatistiksel olarak fark olmadığı görülmektedir (p>0,05). Doğal nişastaya (KNN) göre ise işlem uygulanmış örneklerde belirgin bir artış olmuştur (p<0,05). Hoover ve diğ. (2010) yapmış oldukları literatür taramasında nişasta sindirilebilirlik özelliklerinin incelenmesinde yapılan çalışmalarda farklı metodlar kullanılmış olduğundan anlamlı bir karşılaştırma yapılamayacağını bildirmişlerdir. HSN ve YSN seviyelerinde ayrıca amiloz içeriği, kristallik ve amilopektin yapısının etkili olduğu belirtilmiştir (Benmoussa ve diğ., 2007; Chung ve diğ. 2009). Çizelge 4.3'de YSN değerleri incelendiğinde; enzim uygulamasının hem nişasta örnekleri içinde hem de doğal nişastaya göre farklı sonuçlar ortaya çıkardığı görülmektedir. Doğal nişastada YSN değeri %16,92 iken enzim uygulamalarında bu değerler istatistiksel olarak azalmış ve en düşük değer %3,48 ile DNE örneğinde görülmüştür. Literatür çalışmalarında pişirilmiş ve sıcak olarak tüketilen patatesteki toplam nişastanın %95'inden fazlasının HSN olduğu saptanmıştır (Mishra ve diğ. 2008). Güzel ve Sayar (2010) nohut nişastasını farklı modifikasyon işlemlerine tabi tutmuş ve jelatinize retrograde örneklerindeki sonuçları HSN>%60, YSN>%20 olarak bildirmişlerdir.

#### 4.4 Nişasta Örneklerinin Amiloz İçerikleri

Doğal nişasta ve işlem görmüş nişastalara ait % amiloz ve amilopektin içerikleri çizelge 4.4'de verilmiştir.



**Çizelge 4.4:** Nişasta örneklerinin amiloz ve amilopektin içerikleri (%).\*

| örnek | Amiloz (%)   | Amilopektin (%) |
|-------|--------------|-----------------|
| DNE   | 24,37±0,21 b | 75,63           |
| RNK   | 20,91±0,37 b | 79,09           |
| GNE   | 54,33±7,36 a | 45,67           |
| KNN   | 19,46±1,94 b | 80,54           |

\*Değerler iki işlem tekrarı ve paralel analiz sonuçlarına ait ortalama ± standart sapması olarak verilmiştir. Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen değerler birbirlerinden istatistiki olarak önemli düzeyde farklıdır ( $p < 0,05$ ).

Baklagil nişastaları yüksek amiloz içerikleri (%24-%65) ile karakterize edilmektedir (Hoover ve Sosulski, 1991). Amiloz-amilopektin oranının nişastalarda jelatinizasyon ve retrogradasyonu etkilediği düşünülmektedir (Yurvey ve diğ., 1998).

Doğal nişastaya ait amiloz içeriği Çizelge 4.4'e bakıldığında %19,46 olarak görülmektedir. Literatürde nohut nişastaları ile yapılmış olan çalışmalarda bulunan amiloz içeriklerinin %28,6-%34,3 aralığında olduğu görülmüştür (Singh ve diğ., 2004). Başka bir çalışmada Miao ve diğ. (2009) desi çeşidi nohut nişastasında bu değeri %35,24 olarak bildirmişlerdir. Reddy ve diğ. (2013) meksika fasulyesi nişastası ile yapmış oldukları çalışmada bu tez çalışmasında kullanılan metodlarla benzer olarak doğal ve jelatinize nişastayı pullulanaz (40U/g) enzimi ile hidrolize etmişler ve otoklavlama işlemiyle (121°C, 30 dk) devam ederek nişasta örneklerinde EDN içeriğini artırmışlardır. Amiloz içeriklerini kontrol grubu nişastada %25,33, doğal nişastaya enzim uygulamasında %48,66; jelatinize nişastaya enzim uygulamasında ise %67,66 olarak bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında da jelatinize nişasta uygulamasındaki amiloz değeri diğer tüm nişasta örneklerine göre artış göstermiş ve bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). DNE, RNK ve KNN örnekleri arasında ise istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

#### 4.5 Nişasta Örneklerinin Fonksiyonel Özellikleri

##### 4.5.1 Nişasta örneklerinin su tutma ve suda çözünürlük özellikleri

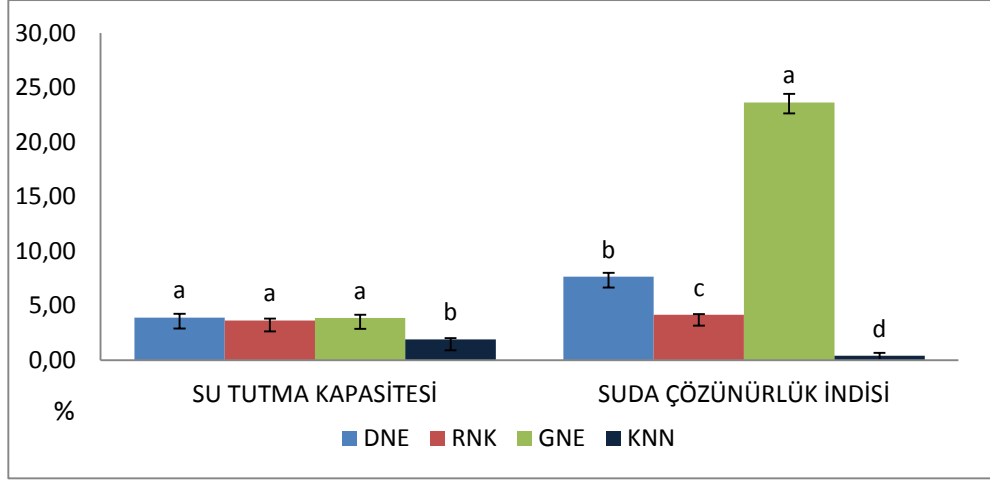
Çizelge 4.5'de verilen değerlere bakıldığında; doğal nişastaya uygulanan işlemler sonucu su tutma kapasitesi değerlerinin artmış olduğu görülmektedir. Doğal nişasta ile diğer nişasta grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ). DNE, RNK, GNE örnekleri arasında ise istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

**Çizelge 4.5:** Nişasta örneklerinin su tutma kapasiteleri ve suda çözünürlük değerleri (%).\*

| örnek | Su tutma kapasitesi (%) | Suda çözünürlük indisi (%) |
|-------|-------------------------|----------------------------|
| DNE   | 3,91±0,35 a             | 7,65±0,35 b                |
| RNK   | 3,63±0,18 a             | 4,15±0,07 c                |
| GNE   | 3,87±0,29 a             | 23,64±0,78 a               |
| KNN   | 1,89±0,12 b             | 0,4±0,28 d                 |

\*Değerler iki işlem tekrarı ve paralel analiz sonuçlarına ait ortalama ± standart sapması olarak verilmiştir. Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen değerler birbirlerinden istatistiki olarak önemli düzeyde farklıdır ( $p < 0,05$ ).

Suda çözünürlük indisi değerlerine bakıldığında ise; en düşük değerin %0,4 olarak KNN'ye ait olduğu görülmektedir. Nişasta örneklerinin her birinin suda çözünürlük özellikleri birbirinden farklı bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ). Otoklavlama ve retrogradasyon işlemleri nişastanın suda çözünürlük indisini arttırmıştır. En fazla artış ise %23,64 değeri ile GNE örneğinde bulunmuştur. Su tutma ve suda çözünürlük amiloz-amilopektin oranı, nişastaya yapılmış olan termal uygulamalar ve nişasta ekstraksiyon prosedürleri gibi birçok faktörden etkilenmektedir (Singh ve Smith, 1997). Polesi ve Sarmento (2011) nohut nişastasıyla yapmış oldukları enzimatik olarak EDN üretme çalışmalarında su tutma ve suda çözünürlük indislerini sırasıyla doğal nişastada 1,95 ve %0,03; retrograde kontrol nişastada 7,45 ve %0,88; doğal nişasta enzim uygulamasında 6,33 ve % 5,56; jelatinize nişasta enzim uygulamasında 5,69 ve % 13,28 bulmuşlardır. Bu tez çalışmasında da Polesi ve Sarmento (2011)'nin çalışması ile benzer olarak suda çözünürlük ve su tutma indislerinde jelatinizasyon-enzim uygulaması ve otoklavlama işlemleri ile beraber artış gözlenmiştir. Aynı amaçla yapılan başka bir çalışmada Reddy ve diğ. (2013) de suda çözünürlük ve su tutma özelliklerindeki artış ve azalışları enzimatik uygulamalarda benzer şekilde bulmuşlardır. İşlemler arası farklılıkların daha iyi ortaya konması için sonuçlar şekil 4.1'de toplu halde gösterilmiştir.



**Şekil 4.1:** Nişasta örneklerinin su tutma kapasiteleri ve suda çözünürlük değerleri.

#### 4.5.2 Nişasta örneklerinin şişme özellikleri

Çizelge 4.6’da verilen sonuçlar incelendiğinde; farklı nişasta örneklerine ait şişme güçlerinin istatistiksel olarak farklı oldukları görülmektedir ( $p < 0,05$ ). Doğal nişasta örneğinde (KNN) şişme gücü değeri 12,35 g/g iken otoklavlama ve retrogradasyon işlemiyle beraber (RNK) 10,35 g/g’a düşmüştür. Enzim uygulaması yapılan doğal ve jelatinize nişastaların (GNE) şişme güçleri ise retrograde kontrol nişasta örneğine göre artış göstermiştir. Bu artış 20,23g/g değeri ile GNE örneğinde en yüksek düzeydedir.

**Çizelge 4.6 :** Nişasta örneklerinin şişme özellikleri.\*

| örnek | Şişme gücü (g/g) |
|-------|------------------|
| DNE   | 11,77±0,23c      |
| RNK   | 10,35±0,01d      |
| GNE   | 20,23±0,02a      |
| KNN   | 12,35±0,07b      |

\*Değerler iki işlem tekrarı ve paralel analiz sonuçlarına ait ortalama  $\pm$  standart sapması olarak verilmiştir. Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen değerler birbirlerinden istatistiki olarak önemli düzeyde farklıdır ( $p < 0,05$ ).

Nişastanın şişme gücü, özellikle amilopektin fraksiyonunun bir özelliğidir. Amilopektin moleküllerindeki kristaller nişastanın şişme gücü ve jelatinizasyon başlangıcını belirlemektedir. Amilopektin molekülündeki uzun zincir oranı ( $\geq 35$  polimerizasyon derecesi) şişme gücünde artış sağlamaktadır. Moleküldeki çapraz bağlanmalar ise; moleküler interaksyonu geliştirmekte ve şişme gücünde azalmaya

neden olmaktadır (Li ve Yeh, 2001). Bu durum yüksek EDN içeren örneklerin düşük şişme gücüne sahip olmalarını desteklemektedir.

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde; Singh ve diğ. (2004) nohut nişastasıyla yapmış oldukları çalışmada doğal nişastada şişme gücü değerlerini 11,4-13,6 g/g olarak bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında da KNN'ye ait değer bu sonuca benzerlik göstermektedir. Bu tez çalışmasında da kullanılan metotla benzer olan Reddy ve diğ. (2013)'nin EDN miktarını artırmaya yönelik Meksika fasulyesi nişastasıyla yaptıkları çalışmada, retrograde meksika fasulyesi kontrol nişastasında şişme gücü 7,13 g/g; doğal nişastaya enzim uygulanmış örnekte 5,93 g/g; jelatinize nişastaya enzim uygulanmış örnekte 5,44 g/g bulunmuş ve şişme gücü değerlerinin farklı nişasta örneklerindeki EDN içeriği ile ters orantılı olduğu bildirilmiştir.

#### 4.5.3. Nişasta örneklerinin yağ tutma ve emülsiyon oluşturma özellikleri

Doğal nişasta ve işlem görmüş nişastalara ait yağ tutma ve emülsiyon oluşturma özellikleri Çizelge 4.7 'de verilmektedir.

**Çizelge 4.7:** Nişasta örneklerinin yağ tutma kapasiteleri (ml/g) ve emülsiyon oluşturma kapasiteleri (%),\*

| örnek | Yağ tutma kapasitesi (ml/g) | Emülsiyon kapasitesi (%) |
|-------|-----------------------------|--------------------------|
| DNE   | 1,04±0,06 a                 | 2,63±0,18 ab             |
| RNK   | 0,84±0,04 b                 | 2,2±0,46 b               |
| GNE   | 1,05±0,11 a                 | 3,45±0,43 a              |
| KNN   | 0,61±0,01 c                 | 1,55±0,42 b              |

\*Değerler iki işlem tekrarı ve paralel analiz sonuçlarına ait ortalama  $\pm$  standart sapması olarak verilmiştir. Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen değerler birbirlerinden istatistiki olarak önemli düzeyde farklıdır ( $p < 0,05$ ).

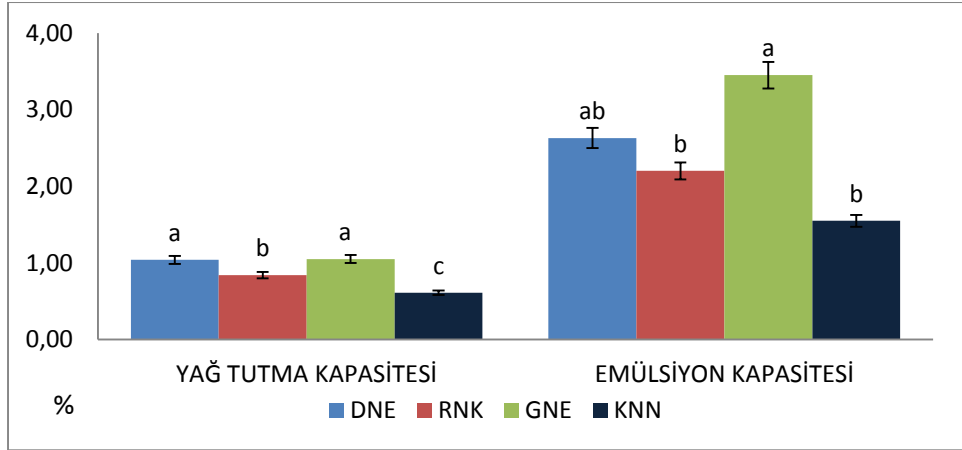
Çizelge 4.7'de yer alan yağ tutma kapasitesi değerleri incelendiğinde; doğal nişastaya uygulanan otoklavlama ve retrogradasyon işlemleri sonucunda yağ tutma kapasitelerinde artış görülmektedir. Enzim uygulaması yapılan nişasta örnekleri, kontrol grubu nişasta örneği ile karşılaştırıldığında belirgin bir artış gözlemlenmiş ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Ancak, GNE ve DNE arasında istatistiksel olarak fark önemli bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

Emülsiyon kapasiteleri incelendiğinde ise, en düşük değerin KNN'ye ait olduğu (%1,55), otoklavlanma ve retrogradasyon işlemleri ile bu değerin %2,2'ye yükseldiği görülmüş ancak bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). En yüksek değer ise %3,45 ile GNE'ye aittir ve istatistiksel olarak diğer numunelerden önemli düzeyde yüksektir ( $p<0.05$ ).

Literatür çalışmalarına bakıldığında; Abdul-Hamit ve Luan (2000)'ın bir diyet lifi olarak yağı uzaklaştırılmış pirinç kepeğinin fonksiyonel özelliklerini araştırdığı çalışmalarında yağ tutma değeri 4,54 ml/g; emülsiyon kapasitesi ise %14,43 olarak bulunmuştur. Kaur ve Singh (2005) nohut unu ile yapmış oldukları çalışmalarında nohut ununa ait yağ tutma kapasitelerini 1,05-1,24 g/g olarak bildirmişlerdir. Öztürk ve diğ. (2011) Amilotip (amiloz içeriği yüksek) mısır nişastası (HylonV ve HylonVII) ile enzim uygulaması yaptıkları farklı otoklav sıcaklıklarını, farklı hidroliz sürelerini ve değişken retrogradasyon sürelerini denedikleri çalışmalarında nişasta örneklerine ait emülsiyon kapasitesi değerlerini %15,1-30 arasında bulmuşlardır. Enzim hidrolizi ile beraber doğal nişastanın emülsiyon oluşturma kapasitesi bu tez çalışmasında da olduğu gibi artış göstermiştir.

Emülsiyon özelliklerindeki çeşitlilik sıcaklık uygulaması yapılan çalışmalarda uygulama koşullarının farklı olmasından ileri gelmektedir (Ma ve diğ., 2011). Bunun yanında emülsiyon özellikleri; protein içeriği, protein yapısı, yağ içeriği, amiloz-amilopektin oranı gibi faktörlerden etkilenmektedir (Kaur ve Singh, 2005). Dündar ve Göçmen (2013) dirençli nişasta oluşumunda farklı otoklav sıcaklıklarının etkisini araştırdıkları çalışmalarında nişastanın protein olmaksızın kendi kendine emülsiyon oluşturmayaacağını bildirmişlerdir. Nişasta granüler yapıdadır ve yağ-su fazını bir arada tutacak kapasitesi yoktur. Düşük yağ bağlama kapasitesi ise nişasta zincirleri arasındaki hidrojen ve kovalent bağlarda büyük miktarda hidroksil gruplarının bulunmasından kaynaklanabilmektedir (Singh ve diğ., 2004). Bu bilgiler doğrultusunda çizelge 4.7'de yer alan emülsiyon kapasitesi ve yağ tutma kapasitesi değerleri literatür çalışmaları ile desteklenmektedir.

Şekil 4.2'de incelenen nişasta örneklerinin yağ tutma kapasitesi ve emülsiyon kapasitesi gösterilmektedir.



**Şekil 4.2:** Nişasta örneklerinde yağ tutma ve emülsiyon kapasitesi özellikleri.

#### 4.5.4 Nişasta örneklerinin sinerezis özellikleri

Doğal nişasta ve işlem görmüş nişastaların 24., 48. ve 120. saatlerdeki sinerezis özelliklerine ait değerler Çizelge 4.8’de gösterilmektedir. Nişasta örnekleriyle elde edilmiş jelden 24., 48., ve 120. saatler sonunda ayrılan suyun ölçülmesiyle elde edilen sinerezis değerleri verilmektedir.

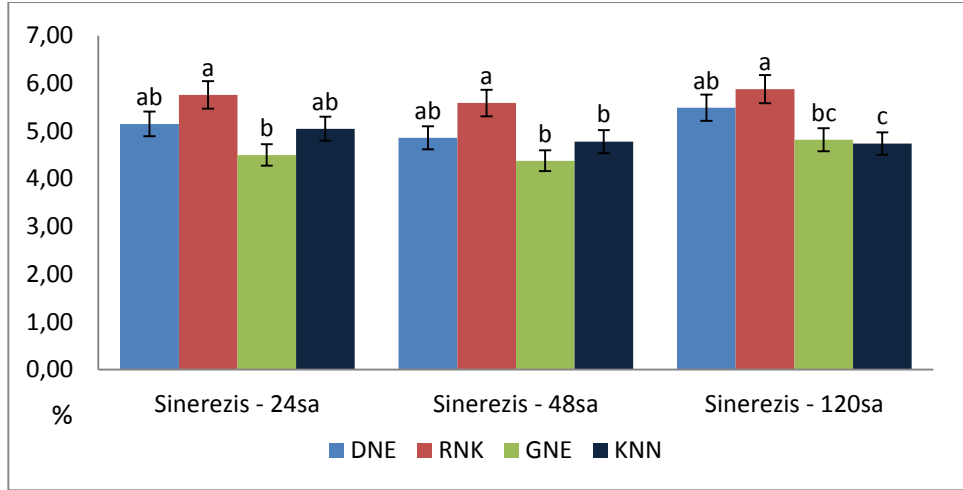
**Çizelge 4.8:** Nişasta örneklerinin farklı sürelerdeki sinerezis özellikleri (%).\*

| örnek | Sinerezis-24 saat | Sinerezis-48 saat | Sinerezis-120 saat |
|-------|-------------------|-------------------|--------------------|
| DNE   | 5,15±0,39 ab      | 4,86±0,2 ab       | 5,49±0,06 ab       |
| RNK   | 5,76±0,07 a       | 5,59±0,04 a       | 5,88±0,17 a        |
| GNE   | 4,5±0,54 b        | 4,38±0,52 b       | 4,82±0,49 bc       |
| KNN   | 5,05±0,01 ab      | 4,78±0,07 b       | 4,74±0,09 c        |

\*Değerler iki işlem tekrarı ve paralel analiz sonuçlarına ait ortalama ± standart sapması olarak verilmiştir. Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen değerler birbirlerinden istatistiki olarak önemli düzeyde farklıdır ( $p < 0,05$ ).

Nişastanın jelatinizasyonu ile beraber ısıtmanın sürdürülmesiyle nişasta granülleri kısmen çözünür hale gelir ve çözünen nişasta çözeltiye geçer. Nişastanın çözünmesiyle oluşan yüksek viskoziteli sıvı soğutulduğunda jel oluşur. Bu jel bekletildiğinde ise nişasta zincirleri arasında yeni hidrojen bağları meydana gelir. Sinerezis; su miktarının fazla olduğu sistemlerde nişasta zincirlerinin interaksyonu sonucunda bu yapıdan su sızmaya başlamasıdır (Haralampu, 2000).

Şekil 4.3’de nişasta örneklerinin farklı günlerdeki sinerezis değerlerine ait grafik verilmiştir.



**Şekil 4.3:** Nişasta örneklerinin 24. saat, 48.saat ve 120. saat için sinerezis değerleri.

24 saat sonunda elde edilen değerlere bakıldığında; en yüksek sinerezis değerinin %5,76 ile RNK'ya ait olduğu görülmektedir. Literatür çalışmalarına bakıldığında düşük amiloz içeriğinin daha zayıf jel oluşumuna yol açtığı ve bu durumun da yüksek sinerezis ile sonuçlandığı görülmektedir (Singh ve diğ., 2004). Çizelge 4.8'e bakıldığında en düşük sinerezis değeri %4,5 olarak GNE örneğine ait olduğu görülmektedir. GNE'ye ait amiloz içeriği çizelge 4.4'te gösterildiği gibi en yüksek değerdedir. Amiloz içeriğine bağlı olarak daha kuvvetli jel oluşturup daha düşük sinerezis ile sonuçlanması Singh ve diğ.(2004) tarafından yapılan çalışma ile desteklendiğini göstermektedir.

Jelatinize nişastaya enzim uygulaması retrograde kontrol nişastaya göre 24. saatteki sinerezis değerini azaltmıştır. GNE ve RNK arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

48. saat sinerezis değerleri incelendiğinde; en yüksek değerin 24. saat değerinde olduğu gibi yine RNK'ya ait olduğu görülmektedir. RNK'nın diğer nişasta örneklerine ait değerlerle olan farkı istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ). DNE, GNE ve KNN arasındaki farklar ise istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

120. saat sinerezis değerleri incelendiğinde ise; en yüksek sinerezis değerinin 24. ve 48. saatlerdeki sinerezis değeriyle aynı şekilde yine RNK'ya ait olduğu görülmektedir. 120. saatte RNK sinerezis değerinin istatistiksel farkının belirgin olduğu nişasta örnekleri ise KNN ve GNE'dir ( $p < 0,05$ ).

Singh ve diğ. (2004) farklı nohut çeşitlerinin karakterizasyonu amacıyla yapmış oldukları çalışmada % sinerezis değerlerini 24. saat sonunda %6,9-8,7; 48. saat sonunda % 9,6-11,6 ve 120. saat sonunda ise %14,7-18,5 arasında bulmuşlardır. Bu tez çalışmasındaki doğal nişastanın 24. saat sonundaki % sinerezis değeri Singh ve diğ. (2004) bulmuş olduğu değer ile benzerlik göstermektedir. Diğer saatlerdeki sinerezis değerlerinde görülen farklılıkların nedeni nişasta konsantrasyonu, santrifüj gücü ve yapısal farklılıklar (amilozun polimerizasyon derecesi, amilopektin zincir uzunluğu) gibi faktörlerin olabileceği bildirilmiştir (Singh ve diğ. 2004).

#### 4.5.5 Nişasta örneklerinin bulanıklık özellikleri

Doğal nişasta, işlem görmüş nişasta örneklerinin beş gün boyunca ölçülen bulanıklık özelliklerine ait değerler Çizelge 4.9'da gösterilmektedir.

**Çizelge 4.9:** Nişasta örneklerinin bulanıklık özellikleri (absorbans).\*

| örnek | Bulanıklık başlangıç | Bulanıklık 1.gün | Bulanıklık 2.gün | Bulanıklık 3.gün | Bulanıklık 4.gün | Bulanıklık 5.gün |
|-------|----------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| DNE   | 2,23±0,09 a          | 2,04±0,19 b      | 1,81±0,33 b      | 1,83±0,32 b      | 1,54±0,04 c      | 1,73±0,37 b      |
| RNK   | 1,31±0,28 b          | 0,74±0,17 c      | 0,94±0,32 c      | 0,80±0,15 c      | 1,08±0,01 d      | 1,01±0,19 c      |
| GNE   | 1,85±0,03 a          | 2,07±0,03 b      | 1,99±0,19 b      | 1,96±0,06 b      | 2,13±0,26 b      | 2,01±0,16 ab     |
| KNN   | 1,98±0,01 a          | 2,61±0,16 a      | 2,72±0,01 a      | 2,49±0,00 a      | 2,50±0,03 a      | 2,63±0,04 a      |

\*Değerler iki işlem tekrarı ve paralel analiz sonuçlarına ait ortalama  $\pm$  standart sapması olarak verilmiştir. Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen değerler birbirlerinden istatistiki olarak önemli düzeyde farklıdır ( $p < 0,05$ ).

Çizelge 4.9 incelendiğinde örneklerin buzdolabında depolanmadan önce yani başlangıçtaki ölçüm değerleri arasında en düşük değer 1,31 absorbans değeri ile RNK'ya ait olduğu görülmektedir. Diğer nişasta örnekleri ile RNK karşılaştırıldığında belirgin bir artış olduğu gözlenmiştir. Bu fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ). Kontrol grubu nişasta ile enzim uygulamaları yapılmış nişasta örnekleri karşılaştırıldığında enzim uygulamasının başlangıç bulanıklık değerini arttırmış olduğu gözlemlenmiştir.

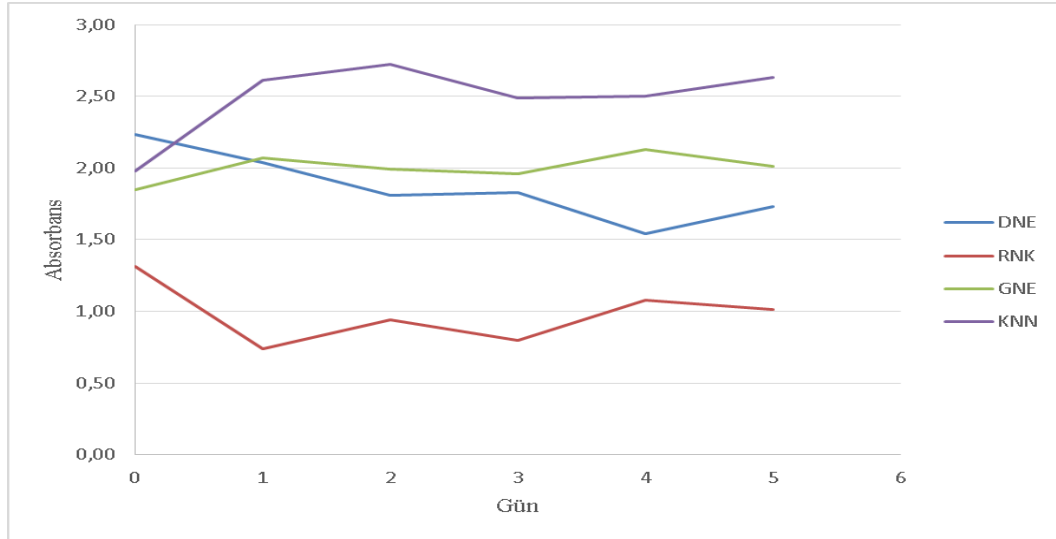
Beş gün boyunca bulanıklık değerleri takip edildiğinde, başlangıç gününde olduğu gibi en düşük değeri RNK'ya ait olduğu görülmüştür. Enzim uygulaması ile elde edilen nişasta örneklerine bakıldığında ise kontrol nişasta grubuna göre bulanıklık değerleri 5 gün için de yüksek bulunmuştur. 1.gün, 2.gün ve 3.gündeki DNE ve GNE



arasındaki fark önemsizken bu iki grubun KNN ile aralarında olan fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0,05$ ). 4.güne ait veriler incelendiğinde nişasta örnekleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0,05$ ). 5.gündeki bulanıklık değerlerine bakıldığında ise GNE'ye ait değer KNN ve DNE'den farklı olmadığı görülmektedir ( $p>0,05$ ).

Bakliyat nişastaları çeşitli oranlarda fosfat monoester türevleri içermektedir. Fosfat monoester miktarının farklılığı, nişastanın berraklığını ve viskoziteyi etkiler. (Singh ve diğ., 2004). Bulanıklıktaki düşük artışlar düşük amiloz içeriği, granül yapısı, düşük granül kalıntısı ve amiloz-amopektin moleküllerinin daha az kümelenmesinden kaynaklanmaktadır (Singh ve Singh, 2003). Ayrıca depolama sırasındaki bulanıklık değerleri şişme gücü, amiloz-amilopektin zincir uzunluğu, molekül içi ve moleküller arası bağlar, yağ çapraz bağları gibi faktörlerden etkilenmektedir ( Jacobson ve diğ., 1997). Singh ve diğ. (2004)'in nohut nişastasıyla yapmış oldukları çalışmada bulunan başlangıç absorbans değerleri (1,7-1,9) bu tez çalışmasında yer alan KNN ile benzer aralıkta bulunmuştur.

Günler arası farklılıkların daha belirgin olarak incelenebilmesi amacıyla nişasta örneklerine ait değerlerdeki değişim Şekil 4.4'de verilmektedir.



**Şekil 4.4:** Nişasta örneklerine ait bulanıklık değerlerindeki günlere bağlı değişim.

#### 4.6 Nişasta Örneklerinin ve Unun Termal Özellikleri

Doğal nişastanın, işlem görmüş nişasta örneklerinin ve unun termal özelliklerine ait değerler Çizelge 4.10'da gösterilmektedir.

**Çizelge 4.10:** Nişasta örnekleri ve unun DSC ile elde edilen termal özellikleri.\*

| örnek | Endoterm I<br>(Jelatinizasyon) |              |              | Endoterm II<br>(Retrograde amiloz kristal erimesi) |               |             |
|-------|--------------------------------|--------------|--------------|----------------------------------------------------|---------------|-------------|
|       | To                             | Tp           | ΔH           | To                                                 | Tp            | ΔH          |
| DNE   | 46,88±0,11cd                   | 55,44±0,77 b | 3,81±0,05 d  | 74,70±0,11 c                                       | 90,03±0,22 c  | 6,53±0,18 a |
| RNK   | 46,44±0,4 d                    | 54,55±1,01 b | 5,08±0,81 c  | 73,37±1,32 c                                       | 87,48±0,88 cd | 4,91±0,69 b |
| GNE   | 48,11±1,03 c                   | 54,6±0,13 b  | 2,17±0,19 e  | 71,13±2,74 c                                       | 83,60±3,42 d  | 2,65±0,05 c |
| KNN   | 64,29±0,01 a                   | 68,28±0,01 a | 12,79±0,01 a | 91,19±0,01 b                                       | 95,93±0,01 b  | 0,56±0,01 d |
| KNU   | 62,14±0,01 b                   | 68,74±0,01 a | 6,43±0,01 b  | 98,45±0,01 a                                       | 105,22±0,01 a | 1,16±0,01 d |

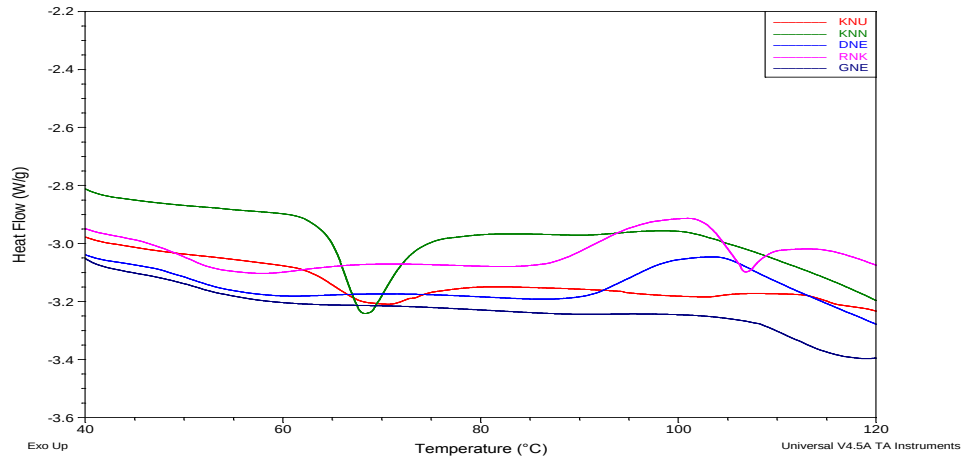
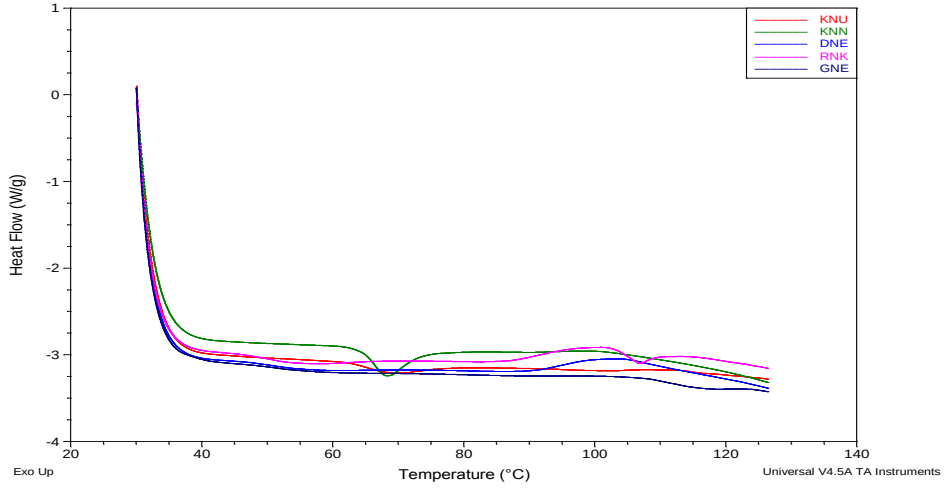
\*Değerler iki işlem tekrarı ve üç tekrarlı analiz sonuçlarına ait ortalama ± standart sapması olarak verilmiştir. Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen değerler birbirlerinden istatistiki olarak önemli düzeyde farklıdır ( $p < 0,05$ ).

To: Başlangıç sıcaklığı, °C, Tp : Tepe (pik) sıcaklığı, °C, ΔH: Geçiş entalpisi, J/g

Nişasta örnekleri ve un 10°C/dk ısıtma hızıyla 30°C'den 130°C'ye ısıtılarak termogramları hazırlanmıştır. Bu termogramlara ait endotermier Çizelge 4.10'da gösterilmektedir. Endoterm I'e ait pik sıcaklıkları 54,6-68,74 °C arasında değişkenlik göstermiştir. Endoterm I; jelatinizasyon termal geçişini temsil etmektedir. İşlem görmüş nişasta örnekleri arasında Tp değerlerinde istatistiksel olarak önemli fark bulunmazken ( $p>0,05$ ), DNE, RNK, GNE değerleri doğal nişasta (KNN) ve un (KNU) Tp'leri karşılaştırıldığında ise enzim işlemi gören numunelerin değerlerinin daha düşük olduğu görülmektedir ( $p<0,05$ ). Bu da işlem esnasında yapılan jelatinizasyon ve otoklavlama gibi ısıtma işlemlerinin etkili olduğunu göstermektedir. Enzim uygulaması işleminin jelatinizasyon sıcaklık ve entalpilerini önemli düzeylerde düşürdüğü görülmektedir.

Çizelge 4.10'a göre endoterm II pik sıcaklıkları 83,6-105,22°C arasında değişmiştir. Bu endoterm retrograde amiloz kristallerinin erimesiyle meydana gelmiştir. ΔH değerlerine bakıldığında ise en yüksek değerin 6,53J/g değeri ile DNE'ye ait olduğu görülmektedir ( $p<0,05$ ). DNE, aynı zamanda %16,35 ile en yüksek EDN değerine sahiptir. Haralampu ve diğ. (2001) yaptıkları çalışmaya göre amiloz ikili sarmalının erimesiyle EDN değeri 120°-165°C arasında pik oluşturmaktadır. Bu bilgi yukarıda bahsedilen DNE örneğinde ΔH ile EDN miktarı arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. Endoterm çeşitliliğinin olması kristalliğin homojen olmadığını göstermektedir. Yüksek jelatinizasyon sıcaklıkları daha iyi kristal yapı veya daha uzun zincir ve daha büyük kristal yapıda meydana gelmekteyken, yüksek ΔH; ikili sarmal yapının daha fazla tahrip olmasından meydana gelmektedir (Miao ve diğ.,2009).

Nohut nişastaları ve ununa ait termogramlar Şekil 4.5'de verilmektedir.



**Şekil 4.5:** Nohut nişastası ve ununa ait DSC termogramları.

Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında; Polesi ve Sarmento (2011) enzim ve asit hidrolizi ve retrogradasyonla nohut nişastasında EDN miktarını arttırmayı hedefledikleri çalışmalarında en düşük  $\Delta H$  değerlerini doğal nişastaya enzim uygulaması için 2,9 J/g; jelatinize nişastaya enzim uygulaması için 0,9 J/g; retrograde kontrol nişastası için 2,5 J/g olarak bulmuşlardır. T<sub>p</sub> değerlerini ise aynı sıralamada 54,6°C; 56 °C ve 54,1°C olarak bulmuşlardır. Çizelge 4.10’da gösterilen işlem uygulanmış nişasta örneklerine ait değerler Polesi ve Sarmento (2011) çalışmasında bildirmiş olduğu değerlerle desteklenmektedir. Singh ve diğ. (2004) çalışmalarında doğal nohut nişastasının  $\Delta H$  değerlerini 7,2-8,7 J/g arasında olduğunu bildirmiştir.

Hughes ve diğ. (2009) ise yine doğal nohut nişastasına ait  $\Delta H$  değerlerini 11,16-13,01 J/g arasında olduğunu ve pik sıcaklıklarının da 63,29°C-65,51°C aralığında görüldüğünü bildirmişlerdir. Çizelge 4.10'daki doğal nişastaya ait sonuçlar literatürde yapılan benzer çalışmaların sonuçlarıyla desteklenmektedir. Nohut unuyla yapılan çalışmalara bakıldığında; una ait jelatinizasyon entalpisinin 4,3-5,1 J/g olarak bildirildiği görülmektedir (Chung ve diğ., 2008). Jelatinizasyon sıcaklıklarındaki değişikliklerin, nişasta granüllerinin amiloz içeriği, nişasta boyutu, formu ve dağılımına bağlı olduğu bilinmektedir (Tester, 1997).

#### 4.7 Nişasta Örneklerinin ve Unun Viskozite özellikleri

Nişasta örneklerine ve una ait viskozite değerleri Çizelge 4.11'de gösterilmektedir.

**Çizelge 4.11:** Nişastalar ve unda RVA ile elde edilen değerler.\*

| örnek | PV(cP)        | TV (cP)      | BV (cP)     | FV (cP)       | SV (cP)     | PZ(dak.)   |
|-------|---------------|--------------|-------------|---------------|-------------|------------|
| DNE   | 567,5±101,5 c | 467±99 c     | 100,5±2,5 c | 791±144 c     | 324±45 c    | 4,35±0,5 c |
| RNK   | 1039±144 b    | 1010±141 b   | 29,5±3,5 d  | 1499,5±142,5b | 489,5±1,5 b | 5,54±0,4 b |
| GNE   | 1305±5 b      | 354±2 c      | 956,5±8,5 b | 616,5±28,5 c  | 257±21 c    | 3,26±0,0 c |
| KNN   | 6831,5±26,5 a | 3405,5±6,5 a | 3426±20 a   | 9629,5±74,5 a | 6224±68 a   | 3,86±0,0 c |
| KNU   | 32±2 d        | 29±1 d       | 3±1 d       | 41,5±2,5 d    | 12,5±1,5 d  | 6,76±0,1 a |

\*Değerler iki işlem tekrarı ve paralel analiz sonuçlarına ait ortalama  $\pm$  standart sapması olarak verilmiştir. Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen değerler birbirlerinden istatistiki olarak önemli düzeyde farklıdır ( $p < 0,05$ ).

PV: Pik viskozitesi (cP), TV: Through viskozite, incelme sonrası viskozite (cP), BV: Breakdown viscosity, karıştırma ile viskozite azalması: Through viskozite ile pik viskozitesi arasındaki fark (cP), FV: Son viskozite (cP), SV: Setback viscosity, katılaşma viskozitesi: son viskozite ile through viskozite arasındaki fark (cP), PZ: Pik zamanı (dakika)

Nişastanın jelatinizasyonu (çirilenmesiyle) beraber viskozitesi artmaya başlar. Jelatinizasyonun başladığı sıcaklık; nişastanın pişmesi için gerekli minimum sıcaklıktır. Nişasta tanecikleri boyut olarak heterojen oldukları için belli bir sıcaklık aralığında şişer, bu yüzden elde edilecek pikin eğimi değişkenlik göstermektedir. Hızlı şişmesi durumunda pik dik olurken, yavaş şişmesi durumunda da yatık pik oluşturmaktadır. Şişme ile viskozite artar ve pik değerine ulaşır. Buna pik viskozitesi denir. Sıcaklık belli bir süre sabit tutulduğunda (genelde 95°C) nişastanın parçalanması, çözünen amilozun ortama karışması ve karıştırma yönünde uyumu sonucunda viskozite azalır. Buna pik sonrası minimum viskozite (breakdown) veya

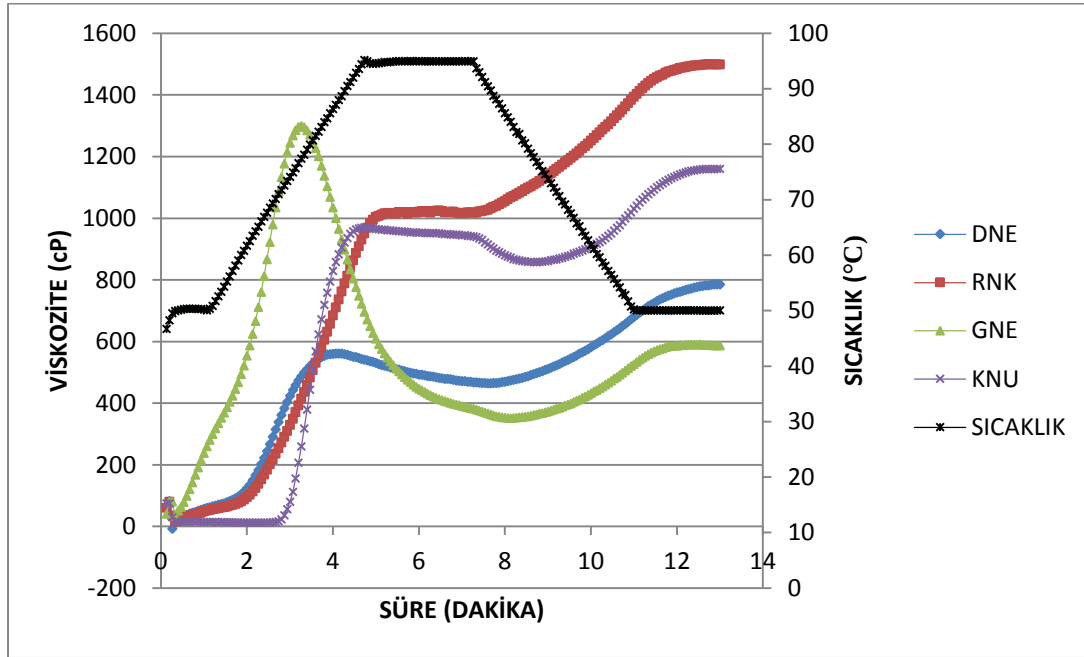
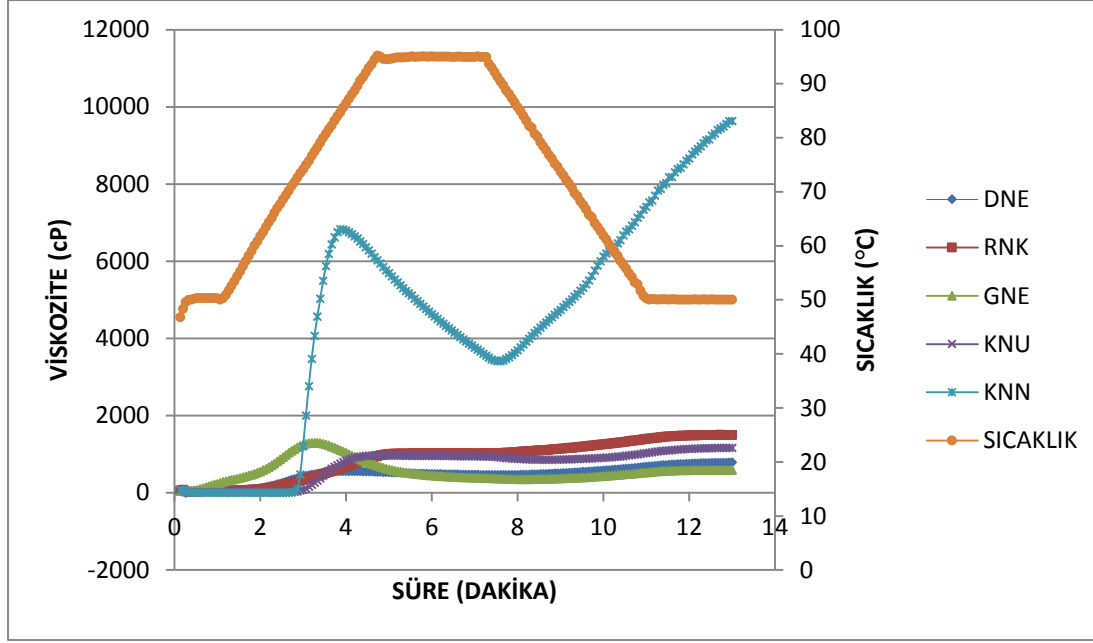
sıcak pelteleşme viskozitesi (hot paste viscosity) denir. Minimum viskozite değeri nişastanın kaynağına, sıcaklığa ve karıştırma derecesine bağlı olarak değişir. Test süresinin sonundaki viskozite final viskozite (final viscosity) olarak adlandırılır. Bu olaya 'set-back'; oluşan viskoziteye de set-back viskozitesi denir. Bu viskozitenin yüksek olması, pişmiş ve nişasta içeren gıdadan soğuma ile birlikte suyun ortamdan uzaklaştırılacağı (sinerezis) ve retrogradasyonun fazla olacağına işaret etmektedir (Doğan, 2000).

Çizelge 4.11 incelendiğinde, en yüksek pik viskozitesinin 6831,5 cP ile doğal nişastaya ait olduğu, en düşük değerin ise 32 cP ile una ait olduğu görülmektedir. Enzim uygulaması, otoklavlama ve retrogradasyon işlemleri ile pik viskozitesi azalma göstermektedir. Bu durum KNN ve diğer tüm nişasta örnekleri ile arasında istatistiksel olarak önemli fark oluşturmuştur ( $p<0,05$ ). GNE ile RNK arasında belirgin bir fark yok iken, DNE ile RNK arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0,05$ ).

Son viskozite incelendiğinde, yine en yüksek değerin KNN'ye (9629 cP) ait olduğu ve en düşük değerin de KNU'ya (41,5 cP) ait olduğu görülmektedir. Retrograde kontrol grubu nişasta ile enzim uygulaması yapılan jelatinize ve doğal nişastalar karşılaştırıldığında meydana gelen viskozite azalmasının istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ( $p<0,05$ ). DNE ile GNE arasındaki fark ise önemli bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Çizelge 4.11'den pik zaman değerleri incelendiğinde ise en kısa zamanda GNE ve KNN'nin pik oluşturdıkları (sırası ile 3,26 dk;3,86 dk.) görülmekteyken en geç pik oluşturan örneğin KNU olduğu (6,76 dk) görülmüştür. Doğal nişastaya uygulanan otoklavlama ve retrogradasyon işlemleri bu pik zamanını ilerletirken enzimatik uygulamalar daha hızlı pik oluşumuna neden olmaktadır. RNK'nın GNE ve DNE ile arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0,05$ ).

Nişasta örnekleri ve una ait mikroviskoanalizör (RVA) viskozite grafikleri Şekil 4.6'da verilmektedir.



**Şekil 4.6:** Nişasta örnekleri ve una ait RVA grafikleri.

#### 4.8 Nişasta Örneklerinin ve Unun X Işını Difraksiyon Dağılımı Özellikleri

Doğal nişasta ve una ait X ışını difraksiyon dağılımına ait değerler Çizelge 4.12’de, işlem görmüş nişasta örneklerine ait X ışını difraksiyon dağılımına ait değerler ise çizelge 4.13’de gösterilmiştir.

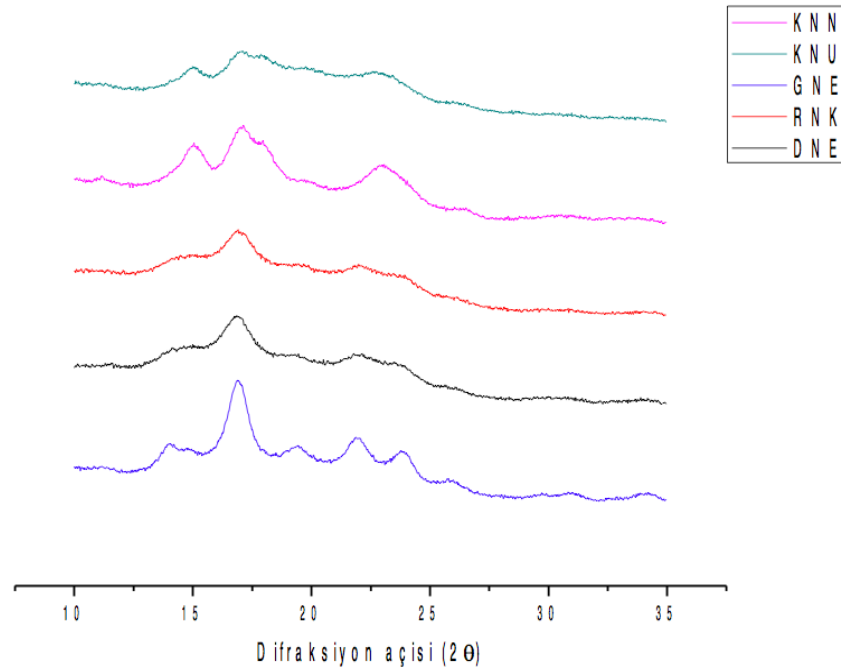
**Çizelge 4.12:** Doğal nişasta ve una ait X ışını difraksiyon dağılımına ait değerler.

| örnek | 2 $\theta$ değerindeki pik yoğunluğu (cps) |         |        |        | Kristallik derecesi (%) |
|-------|--------------------------------------------|---------|--------|--------|-------------------------|
|       | 15°                                        | 17°     | 23°    | 27°    |                         |
| KNU   | 643,04                                     | 1297,88 | 565,23 | 166,29 | 78,0                    |
| KNN   | 1916,67                                    | 3006,45 | 710,03 | 234,71 | 77,3                    |

**Çizelge 4.13:** İşlem görmüş nişasta örneklerine ait X ışını difraksiyon dağılımına ait değerler.

| örnek | 2 $\theta$ değerindeki pik yoğunluğu (cps) |         |         |         | Kristallik derecesi (%) |
|-------|--------------------------------------------|---------|---------|---------|-------------------------|
|       | 14°                                        | 17°     | 22°     | 24°     |                         |
| DNE   | 439,93                                     | 2253,58 | 544,20  | 204,46  | 69,5                    |
| RNK   | 307,56                                     | 1874,26 | 369,76  | 342,79  | 70,0                    |
| GNE   | 1136,08                                    | 5247,52 | 1163,13 | 1165,46 | 79,1                    |

Şekil 4.7'de nişasta örnekleri ve una ait kristal yapısının X ışını difraksiyon yöntemiyle incelenmesi sonucunda elde edilen dağılımlar verilmiştir.



**Şekil 4.7:** Kara nohut nişastaları ve kara nohut ununun kristal yapıları

Nişastanın XRD dağılımı, nişastanın sindirilebilirliği ve nişastanın retrogradasyonu gibi özellikler ile ilişkilidir. Farklı tür nişastaların kristal yapısındaki farklılık; kristalin boyutu, amilopektin içeriğinden etkilenen kristal kısımların miktarı, amilopektin zincir uzunluğu, kristal bölgedeki ikili sarmalların konumu ve ikili sarmalların birbiri ile interaksiyon derecesinden kaynaklanmaktadır (Agama-Acevedo ve diğ., 2011; Li ve diğ., 2011). Sandhu ve diğ. (2008) eşitli baklagil unlarıyla yapmış oldukları çalışmada X-ray difraksiyon açısının yetiştirme koşulları ve çevresel koşullardan etkilenebileceğini, kristallik ve amiloz içeriği arasında negatif korelasyon bulunduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 4.12 incelendiğinde; doğal nohut nişastasının ve unun baklagil nişastaları için karakteristik olan C tipi kristallik gösterdiği, kuvvetli pikleri  $2\theta=15^\circ-17^\circ$ , zayıf pikleri  $2\theta=23^\circ-27^\circ$  olarak görülmektedir. C tipi kristallik A tipi ve B tipi kristalliklerin karışımı olarak tanımlanmaktadır. Literatürde yapılan diğer çalışmalarda da doğal nohut nişastasının C tipi kristallik gösterdiği belirtilmiştir. (Polesi ve Sarmiento, 2011; Hughes ve diğ., 2009; Miao ve diğ., 2009).

Retrograde rnekler incelendiğinde ise B tipi kristallik gözlenmiştir. Çizelge 4.13 incelendiğinde DNE ve RNK rnekleri için kuvvetli pikler  $2\theta=17^\circ-22^\circ$ , zayıf pikler  $2\theta=14^\circ-24^\circ$ ; GNE için kuvvetli pikler  $2\theta=17^\circ-22^\circ-24^\circ$ , zayıf pik ise  $2\theta=14^\circ$  olarak görülmektedir. Düşük sıcaklık derecelerindeki retrogradasyon B tipi kristallik meydana getirmektedir. Tip-3 EDN retimi amacıyla yapılan literatürde yer alan benzer çalışmaların sonuçları bu tez çalışmasında bulunan kristallik tiplerini desteklemektedir (Shi ve diğ., 2013; Polesi ve Sarmiento, 2011; Shamaı, 2003 ).

#### **4.9 Nişasta rneklerinin ve Unun Granül Yapısı ve Dağılımı zellikleri**

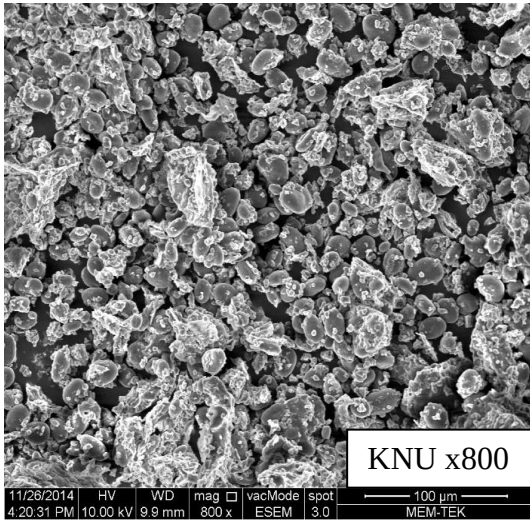
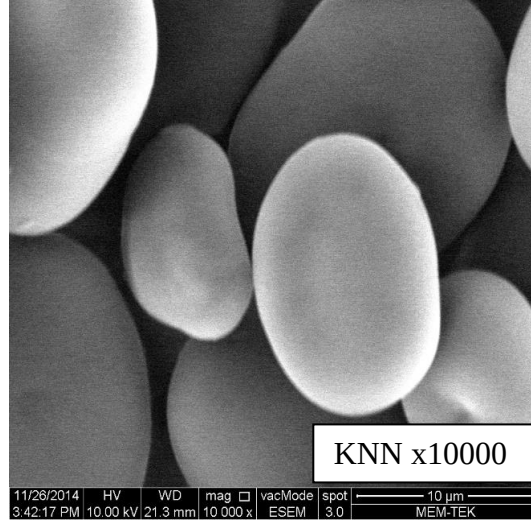
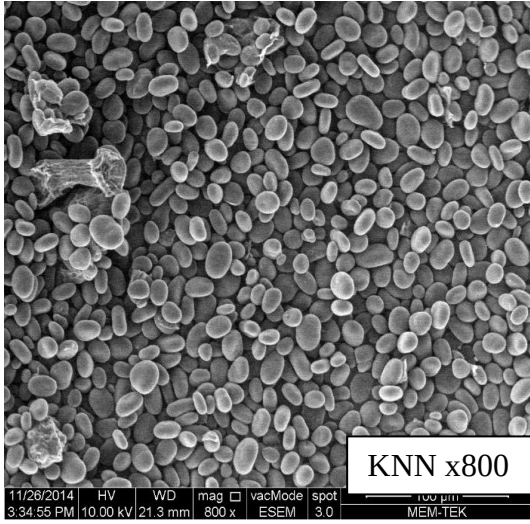
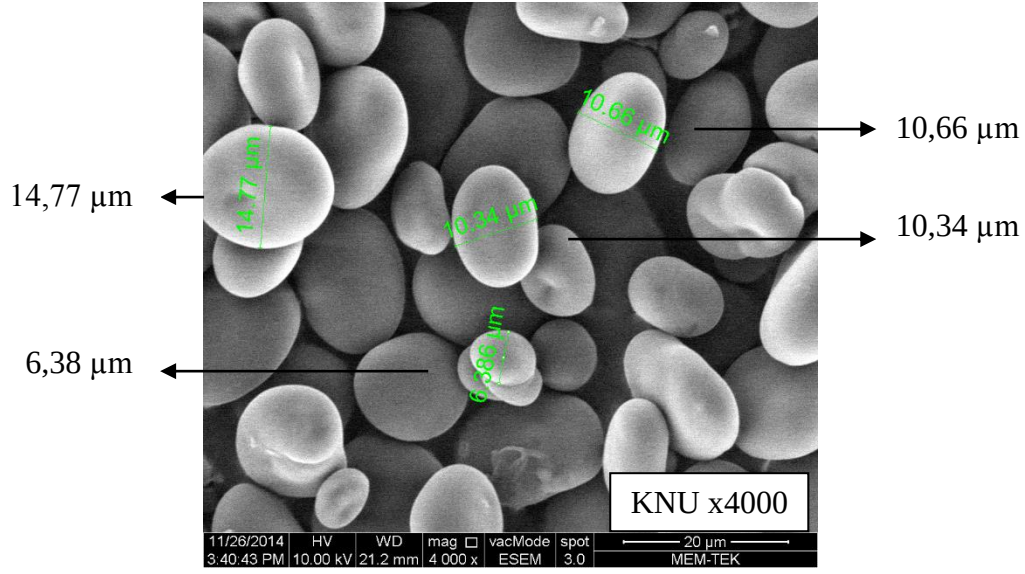
Nişasta rnekleri ve una ait granül şekli ve granül dağılımı, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile saptanmıştır. Elde edilen SEM görüntüleri şekil 4.8 ve 4.9'da gösterilmektedir.

Doğal nohut nişastası ağırlıklı olarak oval granüller halindeyken, az miktarda da küresel granüller içermektedir. Doğal nişastada taramalı elektron mikroskobu pürüzsüz bir nişasta yüzeyi sunmakta, herhangi bir prz görülmemektedir. Diğer nişasta örneklerinde ise enzim uygulaması ile yapı parçalanmaya başlamakta ve retrogradasyonun da etkisiyle granüler yapı kaybolmaktadır. Benzer bulgular nohut

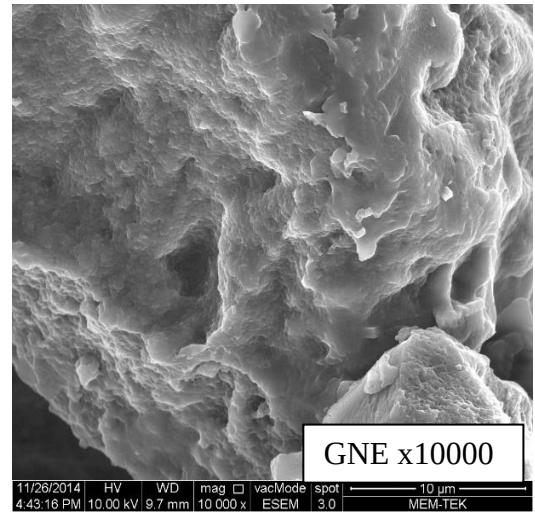
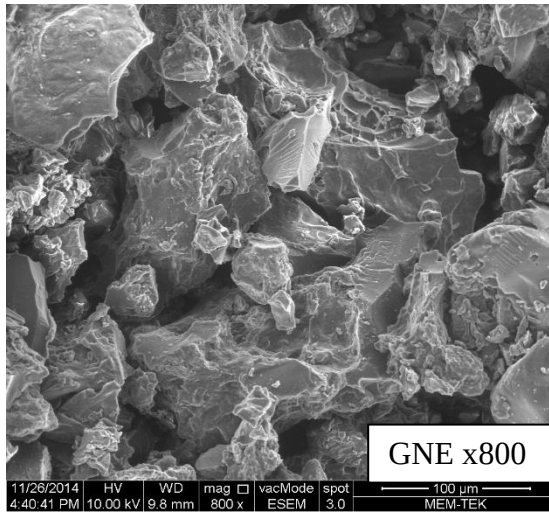
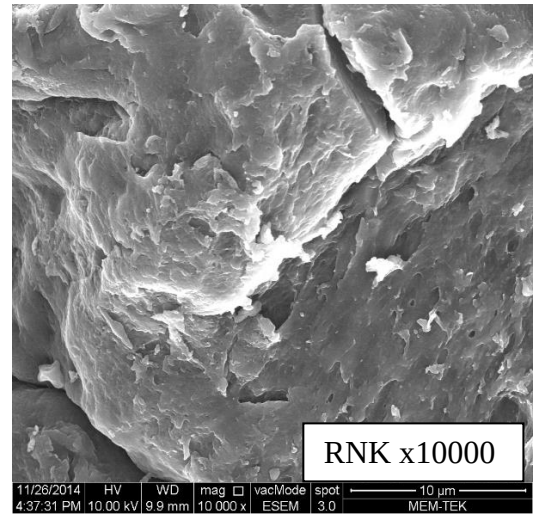
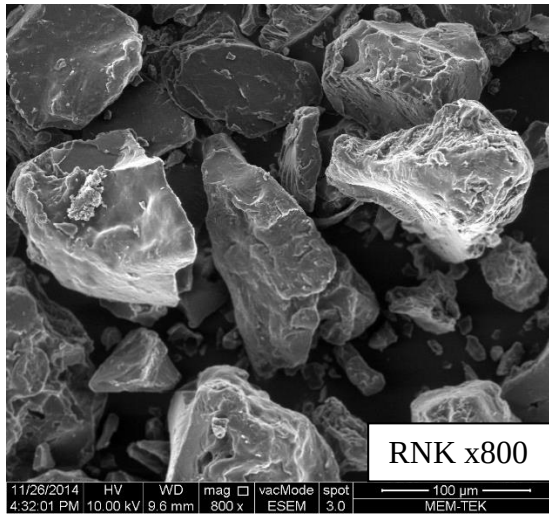
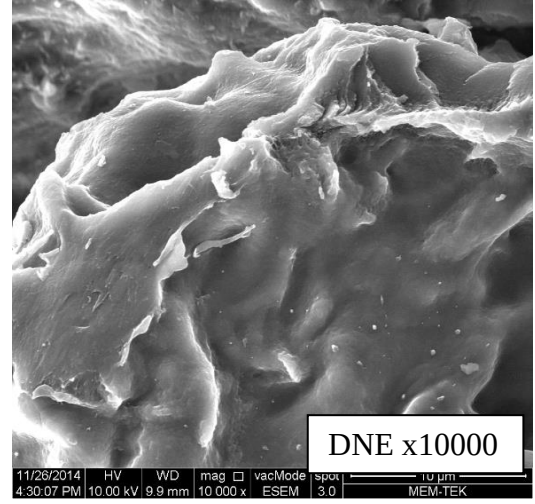
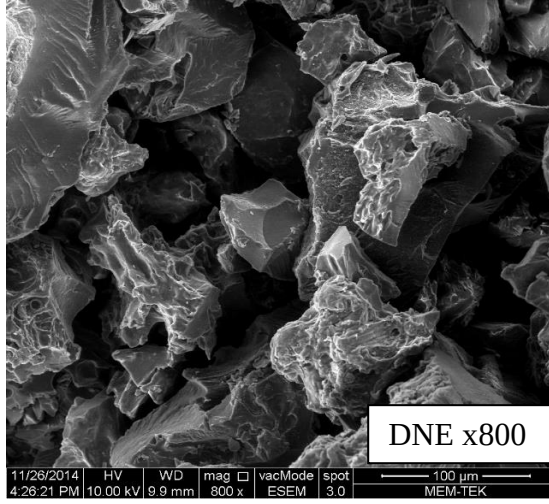


nişastasıyla yapılmış daha önceki çalışmalarda da Miao ve diğ. (2009) ile Polesi ve Sarmento (2011) tarafından da bulunmuştur.

KNN ve KNU görüntüleri arasındaki farka bakıldığında unda nişasta tutunmuş protein molekülleri net olarak görülmektedir. DNE görüntüsünde enzimin granüler yapıyı parçalamaya başladığı ve kristal yapının oluşmaya başladığı daha sıkı istiflenmenin görüntülerinden anlaşılmaktadır. GNE numunesinde ise daha yoğun bir kristal yapının oluşmuş olduğu açıkça görülmektedir.



Şekil 4.8: KNU ve KNN'ye ait SEM görüntüleri.



Şekil 4.9: DNE, RNK ve GNE'ye ait SEM görüntüleri.



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında yöresel bir ürün olan kara nohuttan elde edilen nişasta pullulanaz enzimi (40U/g) ile hidroliz edilmiş (10 sa – 60°C), termal uygulamalar (121°C-30 dak. otoklavlama) ve retrogradasyon (24 sa 4 °C) uygulanarak enzime dirençli nişasta (EDN) içeren nişasta örneklerinin üretimi gerçekleştirilmiştir. Doğal nişastanın modifikasyonu ile elde edilen ürün (DNE), jelatinize nişastanın modifikasyonu ile elde edilen ürün (GNE) ve işlem etkisini karşılaştırmak amacıyla elde edilen ürün retrograde kontrol nişastası (RNK)'nın ve ayrıca işlem uygulanmamış doğal nişasta ve unun fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikleri belirlenmiştir.

Kara nohut unu ve doğal nişastaya uygulanan temel kompozisyon analizleri sonucunda nişastaya ve una ait nem içeriği sırasıyla %11,64 ve %10,19 bulunurken aynı sıralamada kül içerikleri %0,07 ve %2,86; protein içerikleri %0,85 ve %20,99; yağ içerikleri %0,44 ve %4,28 bulunmuştur. Kara nohutun, nohuttan farklı bir kompozisyonu olmadığı anlaşılmıştır.

Çalışma kapsamı için önemli bir bileşen olan dirençli nişasta miktarları enzimatik olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada en yüksek EDN %16,35 ile DNE'de bulunmuştur. Doğal nişastaya uygulanan işlemler retrograde kontrol nişastasıyla (RNK) karşılaştırıldığında EDN miktarını %40,58 arttırmıştır. Doğal nişastaya, una ve GNE'ye ait EDN içeriği ise sırasıyla %15,19 ; %4,99, %12,34 olarak bulunmuştur. Bu değerler nohut nişastasıyla yapılan benzer uygulamalar için literatürde karşılaşılan bulgularla benzerdir. Doğal nohut nişastasına yapılan uygulamalar hızlı sindirilebilen nişasta miktarını artırırken, yavaş sindirilebilen nişasta miktarını azaltmıştır. Bu uygulamalar jelatinize nişastanın amiloz içeriğini önemli oranda artırmış ve diğer nişasta örneklerinde önemli bir değişiklik meydana getirmemiştir.

Enzimatik ve termal uygulamalar su tutma kapasiteleri ve suda çözünürlük indislerinde artışa neden olmuştur. Şişme gücü ise örneklerin EDN içeriği ile ters orantılı olarak artmıştır. Uygulamalar aynı zamanda nişasta örneklerinin yağ tutma

ve emülsiyon oluşturma kapasitelerinde de artışa neden olmuştur. Sinerezis ve bulanıklık özellikleri incelendiğinde ise ölçüm yapılan günler arasında kararlı bir artış ya da azalış görülmemiştir.

Nişasta örneklerinin ve unun termal özellikleri diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile incelenmiştir. Otoklavlama ve retrogradasyon işlemleri uygulanan örneklerde jelatinizasyon başlangıç ve pik sıcaklıkları ve entalpi değerleri azalmıştır. Mikro-visko analizör (RVA) ile ölçülen viskozite değerlerinde ise enzimatik ve hidrotermal uygulamalar sonucunda elde edilen nişasta örneklerinin doğal nişastaya göre pik viskozitesi ve son viskozitelerinde düşüş gözlenmiştir.

Doğal nişastanın ve unun X ışını difraksiyon dağılımları incelendiğinde baklagil nişastaları için karakteristik olan C tipi kristalizasyon gözlenirken retrogradasyonun etkisiye beraber nişasta örneklerinin B tipi kristalizasyona sahip olduğu görülmüştür. Granül yapısı ve dağılımı ise taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiş doğal nişastada oval granüler yapı ağırlıktayken diğer nişasta örneklerinde retrogradasyon ve enzimatik uygulamaların etkisiyle bu yapının dağıldığı görülmüştür.

Sonuç olarak bu çalışmada, kara nohut nişastasından enzimatik yöntemle Tip-3 EDN üretimi başarı ile gerçekleştirilmiştir. Kara nohut nişastası ile nişasta örnekleri, EDN içerikleri ve diğer özellikleri bakımından karşılaştırıldığında teknolojik olarak kullanımına bağlı olmak üzere farklı özellikleri karşıladıkları görülmektedir. Elde edilen nişasta örneklerinin fonksiyonel bir ingrediyen olarak ve EDN miktarını yükseltmek için doğal nişasta yerine kullanılabileceği düşünülmektedir. Özellikle diyabet hastaları için dirençli nişasta içeriği arttırılmış ürünlerin ve ingrediyenlerin yaygınlaşması büyük önem taşımaktadır. Daha yüksek yağ tutma ve emülsiyon kapasitesi istenilen kalite özelliklerinde ürün üretilmesini daha mümkün hale getirecektir, bu özelliklerin arttırılmasına yönelik araştırmaların yapılması yararlı olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Abdul-hamid, A. ve Luan, Y.S.** (2000). Functional properties of dietary fibre prepared from defatted rice bran, *Food Chemistry*, **68**, 15-19.
- Agama-Acevedo, E., Garcia-Suarez, F.J., Gutierrez-Meraz, F. Sanchez-Rivera, M.M, Martin, E.S. ve Bello-Perez, L.A.** (2011). Isolation and partial characterization of Mexican taro ( *Colocasia esculenta* L.) starch, *Starch*, **63**, 139-146.
- Akoh, C.C.** (1998). Fat replacers, *Food Technology*, **52**, 47-53.
- Babaoğlu, M.**(2003). Nohut ve Tarımı.  
<http://hayrabolutb.org.tr/media/ziraat/Nohut-ve-Tarimi.pdf> alındığı tarih 11.12.2014.
- Baixauli, R., Salvador, A., Martinez-Cervera, S. ve Fiszman, S. M.** (2008). Distinctive sensory features introduced by resistant starch in baked products, *Food Science and Technology*, **41**, 1927–1933.
- Benmoussa, M., Moldenhauer, K.A. ve Hamaker, B.R.** (2007). Rice amylopectin fine structure variability affects starch digestion properties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 1475-1479.
- Birkett, A.M., Mathers, J.C., Jones, G.P., Walker, K.Z., Roth, M.J. ve Muir, J.G.** (2000). Changes to the quality and processing of starchy foods in a Western diet can increase polysaccharides escaping digestion and improve *in vitro* fermentation variables, *British Journal of Nutrition*, **84**, 63- 72.
- Birkett, A., Muir, J., Phillips, J., Jones, G. ve Dea, K.** (1996). Resistant starch lowers fecal concentrations of ammonia and phenols in humans, *American Journal of Clinical Nutrition*, **63**, 766–772.
- Brown, I.L.** (1996). Complex carbohydrates and resistant starch, *Nutritional Reviews*, **54**, 115-119.
- Brown, I. J., McNaught, K. J., Andrew, D. ve Morita, T.** (2001). Resistant starch: Plant breeding, application, development, and commercial use, In: *Advanced Dietary Fiber Technology*, Iowa State University Press: Ames, IA, USA.
- Brown, I. L., Wang, X., Topping, D. L., Playne, M. J. ve Conway, P. L.** (1998). High amylose maize starch as a versatile prebiotic for use with probiotic bacteria, *Food Australia*, **47**, 272–275.
- Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S. S. ve Webb, C.** (2002). Application of cereals and cereal components in functional foods: A review, *International Journal of Food Microbiology*, **79**, 131–141.



- Chung, H. J., Jeong, H. Y. ve Lim, S. T.** (2003). Effects of acid hydrolysis and defatting on crystallinity and pasting properties of freeze-thawed high amylose corn starch, *Carbohydrate Polymers*, **54**, 449–455.
- Chung, H., Liu, Q. ve Hoover, R.** (2009) 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
- Chung, H.J., Qiang, Liu., Hoover, R., Warkentin, T.D. ve Vandenberg, B.** (2008). In vitro Starch digestibility expected glycemic index, and thermal and pasting properties of flours from pea, lentil and chickpea cultivars, *Food Chemistry*, **111**, 316-321.
- Doğan, I. S.** (2000). Gıda sanayinde hızlı viskozite test (HVT) cihazının kullanımı, *Gıda*, **25(6)**, 429-434.
- Dundar, A.N. ve Gocmen, D.** (2012) Effects of autoclaving temperature and storing time on resistant starch formation and its functional and physicochemical properties, *Carbohydrate Polymers*, **90**, 1204–1209.
- Englyst, H.N., Kingman, S. M. ve Cummings, J. H.** (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions, *European Journal of Clinical Nutrition*, **46**, 33-50.
- FAO**, Türkiye’de 2009-2013 nohut üretimi <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E> alındığı tarih 09.12.2014.
- Farhat, I. A., Protzmann, J., Becker, A., Valles-Pamies, B., Neale, R. ve Hill, S. E.** (2001). Effect of the extent of conversion and retrogradation on the digestibility of potato starch, *Starch/Stärke*, **53**, 431–436.
- Frediani, M. ve Caputo, P.** (2005). Phylogenetic relationships among annual and perennial species of the genus *Cicer* as inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA, *Biologia Plantarum*, **49 (1)**, 47-52.
- Fredriksson, H., Björck, I., Andersson, R., Liljeberg, H., Silverio, J., Eliasson, A. C. ve Aman, P.** (2000). Studies on  $\alpha$ -amylase degradation of retrograded starch gels from waxy maize and high-amylopectin potato, *Carbohydrate Polymers*, **43**, 81–87.
- Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M. J., Sánchez-Zapata, E. ve Pérez-Álvarez, J. A.** (2010). Resistant starch as functional ingredient: A review, *Food Research International*, **43**, 931–942.
- Garcia-Alonso, A., Jimenez-Escrig, A., Martin-Carron, N., Bravo, L. ve Saura-Calixto, F.** (1999). Assessment of some parameters involved in the gelatinization and retrogradation of starch, *Food Chemistry*, **66**, 181–187.
- Gonzalez-Soto, R.A., Mora-Escobedo, R., Hernandez-Sanchez, H., Sanchez-Rivera, M. ve Bello-Perez, L.A.** (2007). The influence of time and storage temperature on resistant starch formation from autoclaved debranched banana starch, *Food Research International*, **40**, 304-310.



- Gunes, A., Cicek, N., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Guneri, E. ve Guzelordu, T.** (2006). Genotypic response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars to drought stress implemented at pre-and post-anthesis stages and its relations with nutrient uptake and efficiency, *Plant Soil Environ*, **52(8)**, 368-376.
- Güzel, D. ve Sayar, S.** (2010). Digestion profiles and some physicochemical properties of native and modified borlotti bean, chickpea and white kidney bean starches, *Food Research International*, **43**, 2132-2137.
- Hannan, R., Açıkgöz, N. ve Robertson, L. D.** (2001). Chepter 6 Chickpeas (*Cicer* L.) , plant genetic resources of legumes in the medeterranean, *Springer Science and Business Media Dordrecht* , 115-123.
- Haralampu, S. G.** (2000). Resistant starch: A review of the physical properties and biological impact of RS3, *Carbohydrate Polymers*, **41**, 285–292.
- Haralampu, S. G., McCleary, B. V. ve Prosky, L. (Eds.)** (2001). Advanced Dietary Fibre Technology, *Blackwell Science*, 413–423.
- Hernández, O., Emaldi, U. ve Tovar, J.** (2008). In vitro digestibility of edible films from various starch sources, *Carbohydrate Polymers*, **71**, 648–655.
- Hoover, R. ve Sosulski, F.** (1991). Composition, structure, functionality and chemical modification of legume starches: A review. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, **69**, 79– 92.
- Hoover, R.T., Hughesa, H.J. ,Chung, Q. ve Liu, Q.** (2010). Composition molecular structure, properties and modification of pulse starches: A review, *Food Res. Int.*, **43**, 399–413.
- Hughes, T., Hoover, R., Liu,Q., Donner, E., Chibbar, R. ve Jaiswal, S.** (2009). Composition, morphology, molecular structure, and physicochemical properties of starches from newly released chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars grown in Canada, *Food Research International*, **42**, 627–635.
- Jacobson, M. R., Obanni, M. ve BeMiller, J. N.** (1997). Retrogradation of starches from different botanical sources. *Cereal Chemistry*, **74**, 571–578.
- Kaur, M., Pinder,M. ve Sing** (2005). Studies on functional, thermal and pasting properties of flours from different chickpea (*Cicer arietinum* L.) Cultivars *Food Chemistry* ,**91**, 403-411.
- Köksel, H., Masatcioglu, T., Kahraman, K., Öztürk, S. ve Basman, A.** (2008). Improving effect of lyophilization on functional properties of resistant starch preparations formed by acid hydrolysis and heat treatment, *Journal of Cereal Science*, **47**,275-282.
- Lehmann, U., Rössler, C., Schmied, D. ve Jacobasch, G.** (2003).Production and physicochemical characterization of resistant starch type III derived from pea starch, *Arthur-Scheunert-Allee*, 114-116.
- Leong, Y.H., Karim, A.A. ve Norziah, M.H.** (2007). Effect of pullulanase debranching of sago (Metroxylon sagu) starch at subgelatinization temperature on the yield of resistant starch, *Starch/Stärke*, **59**, 21-32.

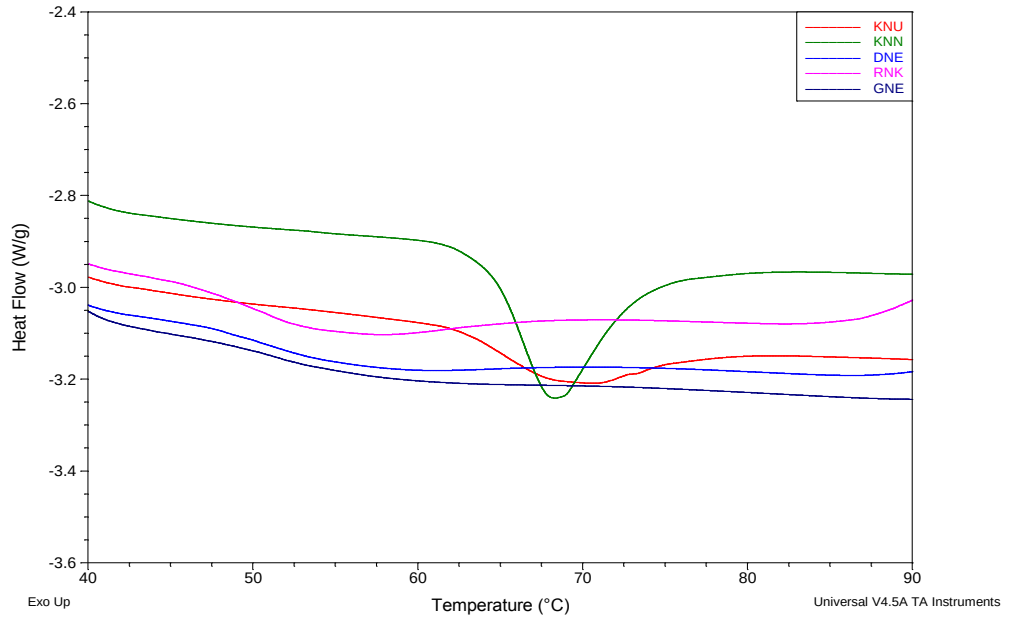
- Li, J. ve Yeh, A.** (2001). Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches, *Journal of Food Engineering*, **50**, 141-148.
- Li, S., Gao, Q. ve Ward, R.** (2011). Physicochemical properties and in vitro digestibility of resistant starch from mung bean (*Phaseolus radiatus*) starch, *Starch*, **63**, 171-178.
- Lopez, H. W., Levrat-Verny, M. A., Coudray, C., Besson, C., Krespine, V., Messager, A., Demigne, C. ve Remesy, C.** (2001). Class 2 resistant starches lower plasma and liver lipids and improve mineral retention in rats, *Journal of Nutrition*, **131**, 1283–1289.
- Ma, Z., Boye, J. I., Simpson, B. K., Prasher, S. O., Monpetit D. ve Malcolmson, L.** (2011). Thermal processing effects on the functional properties and microstructure of lentil, chickpea, and pea flours, *Food Research International*, **44**, 2534–2544.
- Martinez-Flores, H. E., Chang, Y. K., Martinez-Bustos, F. ve Sgarbierid, V.** (2004). Effect of high fiber products on blood lipids and lipoproteins in hamsters, *Nutrition Research*, **24**, 85–93.
- Medina, R.M., Mar, M., Guadix, M., Emilia, M. ve Antonio, G.** (2014). Production of resistant starch by enzymatic debranching in legume flours, *Carbohydrate Polymers*, **101**, 1176–1183.
- Miao, M., Jiang, B. ve Zhang, T.** (2009). Effect of pullulanase debranching and recrystallization on structure and digestibility of waxy maize starch. *Carbohydrat Polymer*, **76**, 214–221.
- Mikusova, L., Sturdik, E., Mosovska, S., Brindzova, L. ve Mikulajova, A.** (2009). Development of new bakery products with high dietary fibre content and antioxidant activity for obesity prevention, In Proceedings of 4th international dietary fibre conference, Vienna, Austria: *International Association for Cereal Science and Technology (ICC)*, 185.
- Mishra, S., Monro, J. ve Hedderley, D.** (2008). Effect of processing on slowly digestible starch and resistant starch in potato, *Starch*, **60**, 500-507.
- Morais, M. B., Feste, A., Miller, R. G. ve Lifschitz, C. H.** (1996). Effect of resistant and digestible starch on intestinal absorption of calcium, iron, and zinc in infant pigs, *Pediatric Research*, **39**, 872–876.
- Nugent, A. P.** (2005). Health properties of resistant starch, British Nutrition Foundation, *Nutrition Bulletin*, **30**, 27–54.
- Öztürk, S., Köksel, H. ve Perry, K. W .N.** (2011). Production of resistant starch from acid-modified amylotype starches with enhanced functional properties, *Journal of Food Engineering*, **103**, 156-164.
- Polesi, L.F. ve Sarmento, S .B .S.** (2011). Structural and physicochemical characterization of rs prepared using hydrolysis and heat treatments of chickpea starch, *Starch*, **63**, 226-235.

- Puchongkavarin, H., Bergthaller, W., Shobsngob, S. ve Varavinit, S.** (2003). Characterization and utilization of acid-modified rice starches for use in pharmaceutical tablet compression, *Starch/Stärke*, **55**, 464-475.
- Ratnayake, W. S. ve Jackson., D. S.** (2008). Thermal behavior of resistant starches RS 2, RS 3, and RS 4, *Journal of Food Science*, **73(5)**, 356–366.
- Reddy, C.K., Suriya, M. ve Haripriya, S.** (2013). Physico-chemical and functional properties of Resistant starch prepared from red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*.L) starch by enzymatic method, *Carbohydrate Polymers*, **95**, 220–226.
- Sajilata, M.G., Singhal, R.S. ve Kulkarni, P.R.** (2006). Resistant starch a review, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **5**, 1-17.
- Sandhu, K. S. ve Lim, S. T.** (2008). Digestibility of legume starches as influenced by their physical and structural properties, *Carbohydrate Polymers*, **71**, 245-252.
- Sang, Y., Prakash, O. ve Seib, P. A.** (2007). Characterization of phosphorylated cross-linked resistant starch by nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Carbohydrate Polymers*, **67**, 201–212.
- Sanz, T., Salvador, A. ve Fiszman, S. M.,** (2008). Evaluation of four types of resistant starch in muffin baking performance and relationship with batter rheology, *European Food Research & Technology*, **227**, 813–819.
- Sethy, N.K., Choudhary, S., Shokeen, B. ve Bhatia, S.** (2006). Identification of microsatellite markers from *Cicer reticulatum*: Molecular variation and phylogenetic analysis, *Theor Appl Genet.*, **112**, 347-357.
- Shamai, K., Bianco-Peled, H. ve Shimoni, E.** (2003). Polymorphism of resistant starch type III, *Carbohydrate Polymers*, **54**, 363–369.
- Sharma, A., Yadav, B. S. ve Ritika, B.** (2008). Resistant starch: Physiological roles and food applications, *Food Reviews International*, **24**, 193–234.
- Shi, M., Chen, Y., Yu, S. ve Gao, Q.** (2013). Preparation and properties of RS III from waxy maize starch with pullulanase, *Food Hydrocolloids*, **33**, 19-25.
- Simsek, S. ve Sedef, N. E.** (2012). Production of resistant starch from taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) corm and determination of its effects on health by in vitro methods, *Carbohydrate Polymers*, **90**, 1204–1209.
- Singh, J., Kaur, L. ve McCarthy, O. J.** (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications—A review, *Food Hydrocolloids*, **21**, 1–22.
- Singh, J. ve Singh, N.** (2003). Studies on the morphological and rheological properties of granular cold water soluble corn and potato starches, *Food Hydrocolloids*, **17**, 63-72.

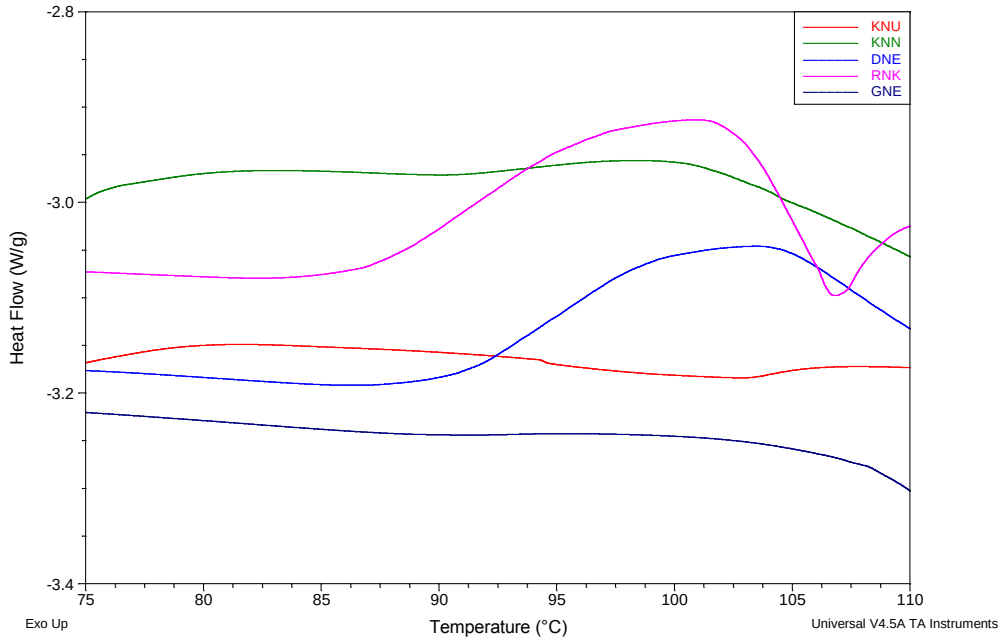
- Singh, N., Sandhu, K. S. ve Kaur, M.** (2004). Characterization of starch separated from Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars, *Journal of Food Engineering*, **63**, 441-449
- Singh, N. ve Smith, A. C.** (1997). A comparison of wheat starch, whole wheat meal and oat flour in the extrusion cooking process, *Journal of Food Engineering*, **34**, 15-32.
- Tapsell, L. C.** (2004). Diet and metabolic syndrome: Where does resistant starch fit in?, *Journal of the Association of Analytical Chemists International*, **87**, 756–760.
- Tester, R.F.** (1997). Influence of growth conditions of barley starch properties, *International Journal of Biological Macromolecules*, **21**, 37-45.
- Tester, R. F., Karkalas, J. ve Qi, X.** (2004). Starch-composition, fine structure and architecture, *Journal of Cereal Science*, **399**, 151–165.
- Tharanathan, M. ve Tharanathan, R.N.** (2001). Resistant starch in wheat-based products: isolation and characterisation, *Journal of Cereal Science*, **34**, 73-84.
- Topping, D. L. ve Clifton, P. M.** (2001). Short-chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides, *Physiological Reviews*, **81**, 1031–1064.
- Vasanthan, T. ve Bhatt, R. S.** (1998). Enhancement of Resistant Starch (RS3) in Amylomaize, Barley, Field Pea and Lentil Starches, *Starch/Stärke*, **50**, 286– 291.
- Wang, X., Conway, P. L., Brown, I. L. ve Evans, A. J.** (1999). In vitro utilization of amylopectin and high-amylose maize (Amylomaize) starch granules by human colonic bacteria, *Journal of Applied Microbiology*, **87**, 631–639.
- Wang, Y. J. ve Wang, L.** (2002). Characterization of acetylated waxy maize starches prepared under catalysis by different alkali and alkaline-earth hydroxides, *Starch/Stärke*, **54**, 25–30.
- Wepner, B., Berghofer, E., Miesenberger, E., Tiefenbacher, K. ve Ng, P. K. W.** (1999). Citrate Starch – Application as resistant starch in different food systems, *Starch/Stärke*, **51**, 354-361.
- Yurvey, V. P., Kalistratova, E. N., Van Soest, J. G. J. ve Niemann, C.** (1998). Thermodynamic properties of barley starches with different amylose content, *Starch, Journal of Food Engineering*, **50**, 463-466.
- Zhang, H. ve Jin, Z.** (2011). Preparation of products rich in resistant starch from maize starch by an enzymatic method *Carbohydrate Polymers*, **86**, 1610–1614.

## EKLER

### EK A



Şekil A.1: Kara nohut unu ve nişastasına ait DSC termogramı.

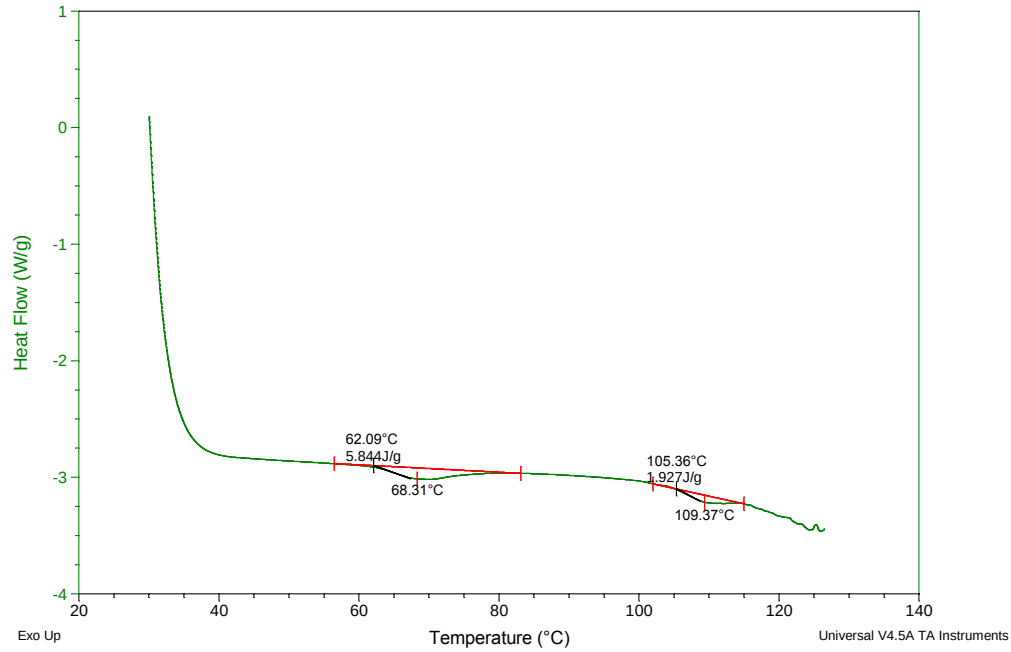


**Şekil A.2:** Kara nohut unu ve nişastasına ait DSC termogramı.

Sample: un-2-hilal-28-kasım  
Size: 3.1000 mg  
Method: Ramp

DSC

File: C:\...un-2-hilal-28-kasım.001  
Operator: Bahar  
Run Date: 28-Nov-2014 09:51  
Instrument: DSC Q10 V9.9 Build 303

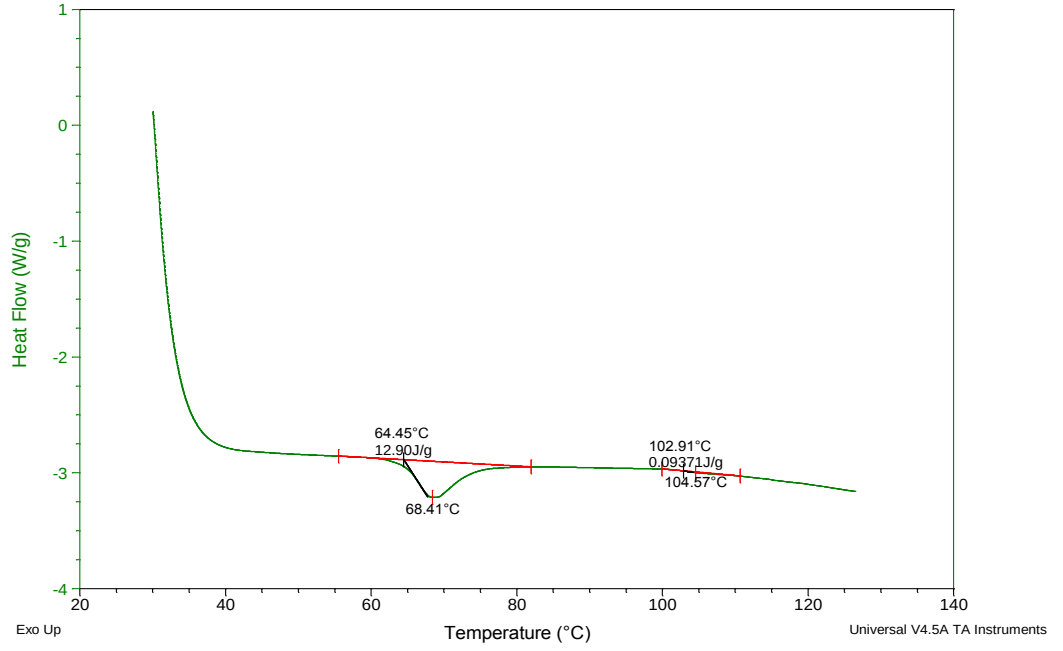


**Şekil A.3:** KNU'ya ait DSC termogramı.

Sample: native-2-hilal-28-kasim  
Size: 3.1000 mg  
Method: Ramp

DSC

File: C:\...\native-2-hilal-28-kasim.001  
Operator: Bahar  
Run Date: 28-Nov-2014 08:52  
Instrument: DSC Q10 V9.9 Build 303

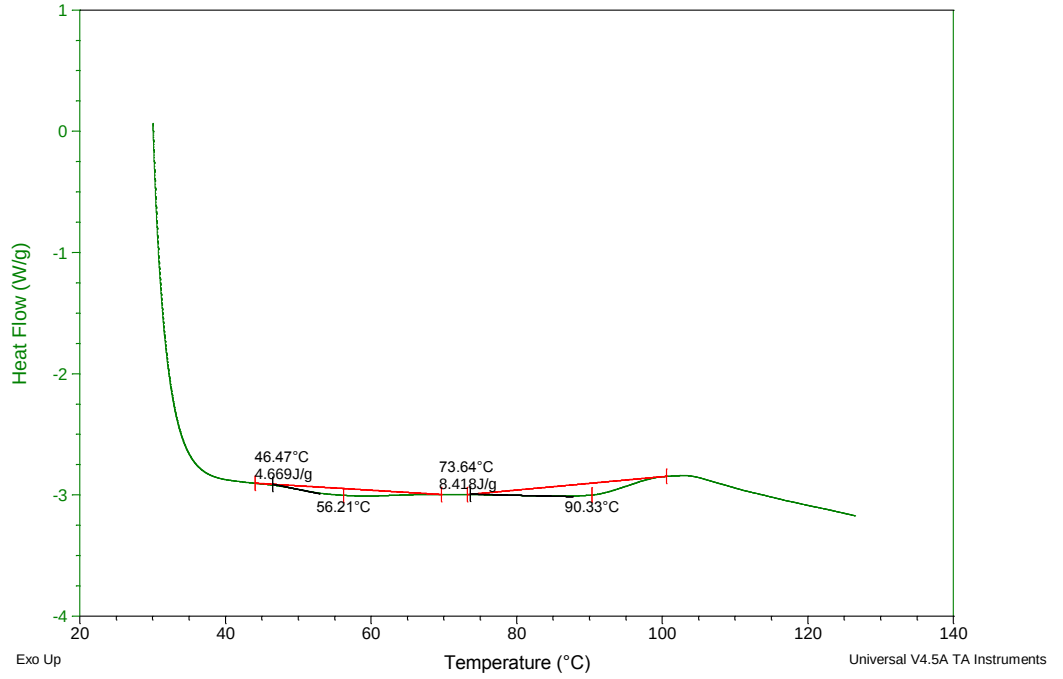


Şekil A.4: KNN'ye ait DSC termogramı.

Sample: A-2-hilal-28-kasim  
Size: 3.1000 mg  
Method: Ramp

DSC

File: C:\...\A-2-hilal-28-kasim.001  
Operator: Bahar  
Run Date: 28-Nov-2014 10:43  
Instrument: DSC Q10 V9.9 Build 303

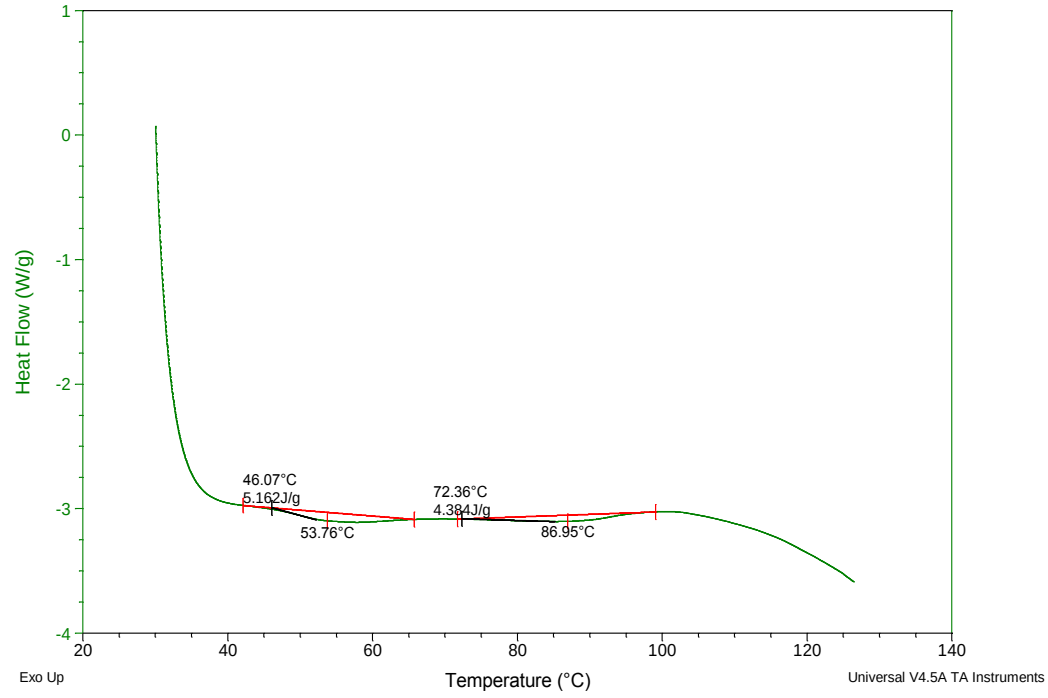


Şekil A.5: DNE'ye ait DSC termogramı.

Sample: B-2-hilal-28-kasım  
Size: 3.1000 mg  
Method: Ramp

DSC

File: C:\...B-2-hilal-28-kasım.001  
Operator: Bahar  
Run Date: 28-Nov-2014 11:34  
Instrument: DSC Q10 V9.9 Build 303

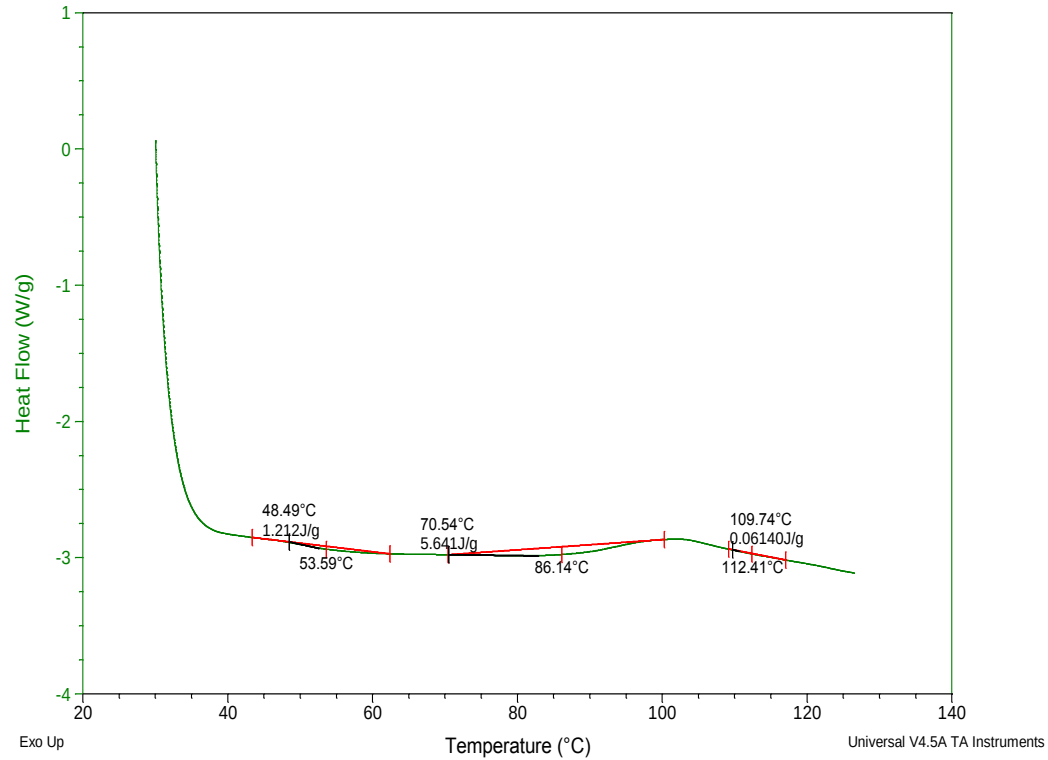


Şekil A.6: RNK'ya ait DSC termogramı.

Sample: C-2-hilal-28-kasım  
Size: 3.1000 mg  
Method: Ramp

DSC

File: C:\...C-2-hilal-28-kasım.001  
Operator: Bahar  
Run Date: 28-Nov-2014 12:21  
Instrument: DSC Q10 V9.9 Build 303



Şekil A.7: GNE'ye ait DSC termogramı.



## EK B

**Çizelge B.1:** Kara nohut unu ve nişastası ile gerçekleştirilen farklı analizlere ait istatistiksel analiz ( tek-yollu ANOVA) sonuçları.

| EDN                | Kareler<br>Toplamları | Serbestlik<br>Derecesi | Kareler<br>Ortalaması | F değeri | P     |
|--------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|----------|-------|
| Gruplararası       | 157,034               | 4                      | 39,259                | 67,531   | 0,000 |
| Grup içi           | 2,907                 | 5                      | 0,581                 |          |       |
| Toplam             | 159,941               | 9                      |                       |          |       |
| YSN                | Kareler<br>Toplamları | Serbestlik<br>Derecesi | Kareler<br>Ortalaması | F değeri | P     |
| Gruplararası       | 205,864               | 3                      | 68,621                | 46,752   | 0,001 |
| Grup içi           | 5,871                 | 4                      | 1,468                 |          |       |
| Toplam             | 211,735               | 7                      |                       |          |       |
| HSN                | Kareler<br>Toplamları | Serbestlik<br>Derecesi | Kareler<br>Ortalaması | F değeri | P     |
| Gruplararası       | 149,974               | 3                      | 49,991                | 9,592    | 0,027 |
| Grup içi           | 20,847                | 4                      | 5,212                 |          |       |
| Toplam             | 170,822               | 7                      |                       |          |       |
| Toplam Nişasta     | Kareler<br>Toplamları | Serbestlik<br>Derecesi | Kareler<br>Ortalaması | F değeri | P     |
| Gruplararası       | 2499,453              | 4                      | 624,863               | 24,800   | 0,002 |
| Grup içi           | 125,981               | 5                      | 25,196                |          |       |
| Toplam             | 2625,434              | 9                      |                       |          |       |
| Amiloz             | Kareler<br>Toplamları | Serbestlik<br>Derecesi | Kareler<br>Ortalaması | F değeri | P     |
| Gruplararası       | 1634,121              | 3                      | 544,707               | 37,474   | 0,002 |
| Grup içi           | 58,143                | 4                      | 14,536                |          |       |
| Toplam             | 1692,264              | 7                      |                       |          |       |
| Su Tutma           | Kareler<br>Toplamları | Serbestlik<br>Derecesi | Kareler<br>Ortalaması | F değeri | P     |
| Gruplararası       | 5,583                 | 3                      | 1,861                 | 29,800   | 0,003 |
| Grup içi           | 0,250                 | 4                      | 0,062                 |          |       |
| Toplam             | 5,833                 | 7                      |                       |          |       |
| Suda<br>Çözünürlük | Kareler<br>Toplamları | Serbestlik<br>Derecesi | Kareler<br>Ortalaması | F değeri | P     |
| Gruplararası       | 627,256               | 3                      | 209,085               | 1026,186 | 0,000 |
| Grup içi           | 0,815                 | 4                      | 0,204                 |          |       |
| Toplam             | 628,071               | 7                      |                       |          |       |
| Yağ Tutma          | Kareler<br>Toplamları | Serbestlik<br>Derecesi | Kareler<br>Ortalaması | F değeri | P     |
| Gruplararası       | 0,258                 | 3                      | 0,086                 | 20,707   | 0,007 |

|                             |                          |                            |                           |                 |          |
|-----------------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------|----------|
| Grup içi                    | 0,017                    | 4                          | 0,004                     |                 |          |
| Toplam                      | 0,274                    | 7                          |                           |                 |          |
| <b>Emülsiyon Kapasitesi</b> | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası                | 3,791                    | 3                          | 1,264                     | 8,307           | 0,034    |
| Grup içi                    | 0,609                    | 4                          | 0,152                     |                 |          |
| Toplam                      | 4,400                    | 7                          |                           |                 |          |
| <b>Şişme Gücü</b>           | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası                | 118,790                  | 3                          | 39,597                    | 2641,982        | 0,000    |
| Grup içi                    | 0,060                    | 4                          | 0,015                     |                 |          |
| Toplam                      | 118,850                  | 7                          |                           |                 |          |
| <b>Sinerezis 24</b>         | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası                | 1,599                    | 3                          | 0,533                     | 4,788           | 0,082    |
| Grup içi                    | 0,445                    | 4                          | 0,111                     |                 |          |
| Toplam                      | 2,044                    | 7                          |                           |                 |          |
| <b>Sinerezis 48</b>         | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası                | 1,522                    | 3                          | 0,507                     | 6,505           | 0,051    |
| Grup içi                    | 0,312                    | 4                          | 0,078                     |                 |          |
| Toplam                      | 1,834                    | 7                          |                           |                 |          |
| <b>Sinerezis 120</b>        | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası                | 1,815                    | 3                          | 0,605                     | 8,688           | 0,032    |
| Grup içi                    | 0,279                    | 4                          | 0,070                     |                 |          |
| Toplam                      | 2,093                    | 7                          |                           |                 |          |
| <b>DSC-T0</b>               | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası                | 627,284                  | 4                          | 156,821                   | 635,443         | 0,000    |
| Grup içi                    | 1,234                    | 5                          | 0,247                     |                 |          |
| Toplam                      | 628,518                  | 9                          |                           |                 |          |
| <b>DSC-Tp</b>               | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası                | 448,640                  | 4                          | 112,160                   | 343,459         | 0,000    |
| Grup içi                    | 1,633                    | 5                          | 0,327                     |                 |          |
| Toplam                      | 450,273                  | 9                          |                           |                 |          |
| <b>DSC-ΔH</b>               | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası                | 133,169                  | 4                          | 33,292                    | 237,718         | 0,000    |
| Grup içi                    | 0,700                    | 5                          | 0,140                     |                 |          |

|                |                          |                            |                           |                 |          |
|----------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------|----------|
| Toplam         | 133,870                  | 9                          |                           |                 |          |
| <b>DSC-T02</b> | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası   | 1201,427                 | 4                          | 300,357                   | 162,386         | 0,000    |
| Grup içi       | 9,248                    | 5                          | 1,850                     |                 |          |
| Toplam         | 1210,675                 | 9                          |                           |                 |          |
| <b>DSC-Tp2</b> | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası   | 567,949                  | 4                          | 141,987                   | 56,604          | 0,000    |
| Grup içi       | 12,542                   | 5                          | 2,508                     |                 |          |
| Toplam         | 580,491                  | 9                          |                           |                 |          |
| <b>DSC-ΔH2</b> | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası   | 50,981                   | 4                          | 12,745                    | 123,370         | 0,000    |
| Grup içi       | 0,517                    | 5                          | 0,103                     |                 |          |
| Toplam         | 51,498                   | 9                          |                           |                 |          |
| <b>RVA-PV</b>  | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası   | 61329787,000             | 4                          | 15332446,750              | 1206,538        | 0,000    |
| Grup içi       | 63539,000                | 5                          | 12707,800                 |                 |          |
| Toplam         | 61393326,000             | 9                          |                           |                 |          |
| <b>RVA-TV</b>  | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası   | 14833356,400             | 4                          | 3708339,100               | 311,843         | 0,000    |
| Grup içi       | 59458,500                | 5                          | 11891,700                 |                 |          |
| Toplam         | 14892814,900             | 9                          |                           |                 |          |
| <b>RVA-BV</b>  | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası   | 17170799,400             | 4                          | 4292699,850               | 21823,588       | 0,000    |
| Grup içi       | 983,500                  | 5                          | 196,700                   |                 |          |
| Toplam         | 17171782,900             | 9                          |                           |                 |          |
| <b>RVA-FV</b>  | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası   | 128684058,4              | 4                          | 32171014,600              | 1696,390        | 0,000    |
| Grup içi       | 94822,000                | 5                          | 18964,400                 |                 |          |
| Toplam         | 128778880,4              | 9                          |                           |                 |          |
| <b>RVA-SV</b>  | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası   | 56941035,400             | 4                          | 14235258,850              | 5016,301        | 0,000    |
| Grup içi       | 14189,000                | 5                          | 2837,800                  |                 |          |
| Toplam         | 56955224,400             | 9                          |                           |                 |          |
| <b>RVA-PZ</b>  | <b>Kareler Topamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |

|                               |                           |                            |                           |                 |          |
|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------|----------|
|                               |                           |                            |                           |                 |          |
| Gruplararası                  | 15,688                    | 4                          | 3,922                     | 21,663          | 0,002    |
| Grup içi                      | 0,905                     | 5                          | 0,181                     |                 |          |
| Toplam                        | 16,594                    | 9                          |                           |                 |          |
| <b>Toplam Nem Miktarı</b>     | <b>Kareler Toplamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası                  | 2,132                     | 1                          | 2,132                     | 402,189         | 0,002    |
| Grup içi                      | 0,011                     | 2                          | 0,005                     |                 |          |
| Toplam                        | 2,142                     | 3                          |                           |                 |          |
| <b>Toplam Kül Miktarı</b>     | <b>Kareler Toplamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası                  | 7,784                     | 1                          | 7,784                     | 9157,765        | 0,000    |
| Grup içi                      | 0,002                     | 2                          | 0,001                     |                 |          |
| Toplam                        | 7,786                     | 3                          |                           |                 |          |
| <b>Toplam Protein Miktarı</b> | <b>Kareler Toplamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası                  | 437,228                   | 1                          | 437,228                   | 3281,262        | 0,000    |
| Grup içi                      | 0,27                      | 2                          | 0,133                     |                 |          |
| Toplam                        | 437,495                   | 3                          |                           |                 |          |
| <b>Toplam Yağ Miktarı</b>     | <b>Kareler Toplamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası                  | 14,746                    | 1                          | 14,746                    | 167,089         | 0,006    |
| Grup içi                      | 0,177                     | 2                          | 0,088                     |                 |          |
| Toplam                        | 14,922                    | 3                          |                           |                 |          |
| <b>Bulanıklık başlangıç</b>   | <b>Kareler Toplamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası                  | 0,898                     | 3                          | 0,299                     | 13,380          | 0,015    |
| Grup içi                      | 0,089                     | 4                          | 0,022                     |                 |          |
| Toplam                        | 0,987                     | 7                          |                           |                 |          |
| <b>Bulanıklık 1.gün</b>       | <b>Kareler Toplamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası                  | 3,783                     | 3                          | 1,261                     | 55,891          | 0,001    |
| Grup içi                      | 0,090                     | 4                          | 0,023                     |                 |          |
| Toplam                        | 3,873                     | 7                          |                           |                 |          |
| <b>Bulanıklık 2.gün</b>       | <b>Kareler Toplamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası                  | 3,211                     | 3                          | 1,070                     | 17,247          | 0,009    |
| Grup içi                      | 0,248                     | 4                          | 0,062                     |                 |          |
| Toplam                        | 3,459                     | 7                          |                           |                 |          |
| <b>Bulanıklık 3.gün</b>       | <b>Kareler Toplamları</b> | <b>Serbestlik Derecesi</b> | <b>Kareler Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |

|                         |                               |                                |                               |                 |          |
|-------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-----------------|----------|
| Gruplararası            | 3,016                         | 3                              | 1,005                         | 31,792          | 0,003    |
| Grup içi                | 0,127                         | 4                              | 0,032                         |                 |          |
| Toplam                  | 3,143                         | 7                              |                               |                 |          |
| <b>Bulanıklık 4.gün</b> | <b>Kareler<br/>Toplamları</b> | <b>Serbestlik<br/>Derecesi</b> | <b>Kareler<br/>Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası            | 2,362                         | 3                              | 0,787                         | 44,206          | 0,002    |
| Grup içi                | 0,071                         | 4                              | 0,018                         |                 |          |
| Toplam                  | 2,433                         | 7                              |                               |                 |          |
| <b>Bulanıklık 5.gün</b> | <b>Kareler<br/>Toplamları</b> | <b>Serbestlik<br/>Derecesi</b> | <b>Kareler<br/>Ortalaması</b> | <b>F değeri</b> | <b>P</b> |
| Gruplararası            | 2,792                         | 3                              | 0,931                         | 18,622          | 0,008    |
| Grup içi                | 0,200                         | 4                              | 0,050                         |                 |          |
| Toplam                  | 2,992                         | 7                              |                               |                 |          |



## **ÖZGEÇMİŞ**

**Ad Soyad** : Hilal Demirkesen  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : İstanbul – 29.09.1988  
**E-Posta** : hilaldemirkesen@hotmail.com

## **ÖĞRENİM DURUMU**

**Lisans** : 2010, Namık Kemal Üniversitesi, Gıda Mühendisliği