

**TİP 4 ENZİME DİRENÇLİ NİŞASTA İLAVESİYLE
ÜRETİLEN EKMEK VE MAKARNA ÖRNEKLERİNDE
TAHMİNİ GLİSEMİK İNDEKS DEĞERLERİNİN VE BAZI
FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF ESTIMATED GLYCEMIC INDEX
AND SOME FUNCTIONAL PROPERTIES OF BREAD
AND PASTA SUPPLEMENTED WITH ENZYME
RESISTANT STARCH TYPE 4**

MERVE ARIBAŞ

PROF. DR. HAMİT KÖKSEL

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı için Öngördüğü

DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

Yanımda olan tüm sevdiklerime,

ÖZET

TİP 4 ENZİME DİRENÇLİ NİŞASTA İLAVESİYLE ÜRETİLEN EKMEK VE MAKARNA ÖRNEKLERİNDE TAHMİNİ GLİSEMİK İNDEKS DEĞERLERİNİN VE BAZI FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Merve ARIBAŞ

Doktora, Gıda Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hamit KÖKSEL

Şubat 2020, 112 sayfa

Bir gıda bileşeni olarak, sahip olduğu potansiyel fizyolojik faydalar nedeniyle enzime dirençli nişastaya (EDN) olan ilgi artmaktadır. Kepek gibi geleneksel liflerle karşılaştırıldığında, EDN genellikle daha iyi duyuşal ve besinsel özelliklere sahip ürün elde edilmesini sağlamaktadır. Bu çalışmada, Tip 4 Enzime Dirençli Nişasta (EDN4) ilavesinin ekmek ve spagettinin beslenme ve kalite özellikleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. EDN4, ekmek ve spaghetti formülasyonlarına farklı seviyelerde (%15, %20, %25) ilave edilmiştir. Ayrıca karşılaştırma yapabilmek için endüstride yaygın olarak kullanılan %15 ilave oranında buğday kepeği de ekmek ve spaghetti formülasyonlarına ilave edilmiştir.

EDN4 ilavesinin hamur reolojisi üzerinde, Farinograf su absorpsiyonunu arttırmak, hamur gelişim süresini ve stabilitesini azaltmak gibi önemli etkileri olmuştur. Kepek

ilavesi de su absorpsiyonunda artışa ve stabilite değerinde azalmaya neden olmuştur. EDN4 ilavesi Alveograf P, L ve W değerlerini azaltmıştır. Kepek ilavesi de P değeri hariç diğer değerler üzerinde benzer etkiyi göstermiştir. EDN4 ilaveli ekmeklerin hacimlerinin, kepek ilaveli ekmeklerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ekmek kabuğundaki L* ve b* renk değerleri artan EDN4 ilave oranıyla önemli oranda artarken kepek ilavesi L* ve b* renk değerlerinde azalmaya neden olmuştur. Ekmeklerin sertlik değerlerinde, EDN4 ve kepek ilavesiyle önemli bir artış gözlenirken, üç günlük depolama süresince kepek ilaveli ekmeklerin en yüksek sertlik değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durum, kepek ilavesinin ekmeğin bayatlama hızını EDN4 ilavesine göre daha fazla arttırdığını göstermiştir.

Spagetti örneklerinin TOM değerleri EDN4 ilavesiyle artmıştır. Kepek ilaveli örneğin TOM değeri, aynı seviyede EDN4 ilaveli örnekten daha yüksektir. Pişme kaybı değerlerinde EDN4 ve kepek ilavesiyle önemli bir artış gözlenmiştir. En yüksek pişme kaybı değerinin kepek ilaveli örnekte olduğu belirlenmiştir. EDN4 ve kepek ilavesi, pişmiş spagettinin sertlik değerlerinde ve pişmemiş örneklerin bükülme değerlerinde azalmaya neden olmuştur. Spagettinin yapışkanlık değerleri de EDN4 ve kepek ilavesiyle artmıştır. Spagettilerin L* ve b* değerlerinde EDN4 ilavesiyle önemli bir değişiklik olmamıştır. Ancak kepek ilavesi L* ve b* değerlerinde azalmaya neden olmuştur.

EDN4 ilavesiyle ekmek ve spagettilerin toplam besinsel lif içerikleri, safra asidi bağlama kapasitesi değerleri artmış, *in vitro* glisemik indeks (GI) değerleri azalmıştır. %15 EDN4 ilaveli ekmeğin GI değerindeki azalmanın ve besinsel lif içeriği ile safra asidi bağlama kapasitesindeki artışların aynı orandaki kepek ilaveli ekmekten daha iyi olduğu belirlenmiştir. EDN4 ilaveli spagettinin besinsel lif içeriği için aynı durum söz konusu iken safra asidi bağlama ve GI değerlerinin aynı orandaki kepek ilavesi ile benzer olduğu görülmüştür. Ayrıca, EDN4 ilaveli örnekler, kontrol ve kepek ilaveli örneklere göre daha iyi mineral biyoyararlanım değerlerine sahiptir.

Sonuçlar EDN4'ün spagetti ve ekmeğin besinsel özelliklerini geliştirdiğini göstermektedir. EDN4 ilaveli spagetti/ekmek örneklerinin kepek ilaveli örneklerden daha iyi görünüş ve tekstüre sahip olduğu belirlenmiştir. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde EDN4'ün, ekme/spagetti örnekleri için kepeğe kıyasla daha iyi besinsel lif kaynağı olabileceği düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: Enzime dirençli nişasta, ekme, makarna, *in vitro* glisemik indeks, *in vitro* safra asidi bağlama, *in vitro* mineral biyoyararlanım.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ESTIMATED GLYCEMIC INDEX AND SOME FUNCTIONAL PROPERTIES OF BREAD AND PASTA SUPPLEMENTED WITH ENZYME RESISTANT STARCH TYPE 4

Merve ARIBAŞ

Doctor of Philosophy, Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Hamit KÖKSEL

February 2020, 112 pages

Interest in resistant starch (RS) as a food ingredient has been increasing because of its potential physiological benefits. In comparison with conventional fibers, such as bran, RS generally results in end products with better sensory and nutritional properties. In the present study, the effects of resistant starch type 4 (RS4) supplementation on nutritional and quality properties of bread and spaghetti were investigated. RS4 was added into bread and spaghetti formulations at different levels (15%, 20%, 25%). Wheat bran (WB) was also added at 15% level in bread and spaghetti formulation for comparison since it is level commonly used by industry.

RS4 supplementation had significant effect on rheology, such as increasing farinograph water absorption, decreasing development time and stability. Similar to RS4, WB caused an increase in water absorption value and caused a decrease in stability value. RS4 caused a decrease in Alveography P, L and W values. Similar trend was observed

in WB supplemented samples, except for P value. Loaf volumes of the breads supplemented with RS4 were higher than the bread supplemented with WB. Crust L* and b* values of the breads increased significantly with increasing level of RS4 supplementation but WB supplementation caused decreases in L* and b* values of the breads. The firmness values of RS4 and WB supplemented samples significantly increased and during 3-day storage. WB supplementation caused the highest increase in bread firmness indicating a faster staling rate compared to RS4 supplementation.

RS4 caused increases in TOM values of spaghettis. TOM value of the sample supplemented with WB was higher than the sample supplemented with RS4 at the same supplementation level. The cooking loss (CL) values increased significantly with RS4 and WB supplementation. The spaghetti supplemented with WB had the highest CL value among all samples. Supplementation of RS4 and WB caused significant decreases in the firmness values of the cooked spaghettis and flexure values of uncooked samples. The stickiness values of the spaghettis increased significantly with RS4 and WB supplementation. RS4 did not cause a significant change in the L* and b* values of the samples. On the contrary, WB supplementation caused significant decreases in L* and b* values.

RS4 caused increases total dietary fiber content (TDF), bile acid (BA) binding capacity values and caused decreases *in vitro* glycemic index (GI) values of the bread and spaghetti samples. The decrease in GI value and increase in BA binding capacity and TDF content of the bread supplemented with RS4 were better than WB at the same supplementation level. A similar trend was also observed in TDF content of RS4 supplemented spaghetti and RS4 caused comparable GI and BA binding value at the same bran supplementation level. Moreover, RS4 supplemented samples had generally better mineral bioavailability values compared to control and WB supplemented samples.

The results showed that RS4 provided improvement in nutritional properties of spaghetti and bread. It resulted in better appearance and texture than WB supplementation in spaghetti/bread. RS4 can be a better dietary fiber source for bread/spaghetti compared to WB supplemented ones.

Keywords: Resistant starch, bread, spaghetti, *in vitro* glycemic index, *in vitro* bile acid binding, *in vitro* mineral bioavailability.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın belirlenmesi, planlanması ve yürütülmesinde bilgi ve deneyimleri ile beni yönlendiren, görüş ve katkılarıyla beni yönlendirerek destek veren tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Hamit KÖKSEL' e,

Değerli öneri ve katkılarından dolayı Tez İzleme Komitesi üyesi sayın hocam Prof. Dr. Prof. Dr. Dilek SİVRİ ÖZAY' a,

Tez çalışmamın bir kısmında laboratuvar olanaklarını kullanmama imkan sağlayan, tezimin her aşamasında desteğini ve yardımını esirgemeyen Tez İzleme Komitesi üyesi sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Kevser KAHRAMAN' a,

Çalışmamın bir bölümündeki üretim ve analizler için laboratuvarlarını bana açarak yardımlarını esirgemeyen Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Kalite Değerlendirme ve Gıda Bölümü çalışanlarına,

Hammadde temininde yardımcı olarak çalışmamada katkıda bulunan Bağışlar Un, Ankara Halk Ekmek, Nuh'un Ankara Makarna, Demirpolat Tarım Ürünleri San. Tic. ve UNMAŞ Unlu Mamüller San.ve Tic.'e,

İhtiyaç duyduğum her anda yardımcı olan Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Hububat Araştırma Grubu'nda yer alan değerli arkadaşlarıma, sayın hocam Uzm. Yelda ZENCİR'e

Aksaray Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümündeki hocalarıma ve arkadaşlarıma,

Arkadaşlıkları ile hep yanımda olan, beni destekleyen arkadaşlarım Tülin ÇELİK ve Şükran TANRIVERDİ' ye

Bütün hayatım boyunca sonsuz sevgi, destek ve ilgileriyle her zaman yanımda olan sevgili babam İdris SERT'e, annem Zeliha SERT'e ve ablalarıma,

Desteği ve sabrıyla tezimin her aşamasında yanımda olan, sevgisini ve ilgisini esirgemeyen eşim Candemir ARIBAŞ' a,

tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım.

Merve ARIBAŞ

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Glisemik İndeks.....	3
2.2. Safra Asidi Bağlama Kapasitesi	5
2.3. Mineral Biyoyararlanımı	8
2.4. Enzime Dirençli Nişasta.....	11
2.4.1. Enzime Dirençli Nişastaların Sınıflandırılması.....	13
2.4.2. Enzime Dirençli Nişastanın Sağlık Üzerine Etkileri.....	16
2.4.3. Enzime Dirençli Nişastanın Gıdalarda Kullanımı.....	19
2.4.3.1. Enzime Dirençli Nişastanın Ekmek Üretiminde Kullanımı	20
2.4.3.2. Enzime Dirençli Nişastanın Makarna Üretiminde Kullanımı	23
3. MATERYAL VE METOT.....	27
3.1. Materyal	27
3.2. Metot	27
3.2.1. Fiziksel Analizler	28
3.2.1.1. Renk Tayini	28
3.2.2. Kimyasal Analizler.....	28
3.2.2.1. Rutubet Tayini.....	28

3.2.2.2. Kül Tayini	28
3.2.2.3. Protein Tayini	28
3.2.3. Fizikokimyasal Analizler	28
3.2.3.1. Yaş / Kuru Gluten Miktarı ve Gluten İndeks Değerinin Belirlenmesi ..	28
3.2.3.2. Glutograf Analizi	29
3.2.3.3. SDS Sedimentasyon Değerinin Belirlenmesi	29
3.2.3.4. Zeleny Sedimentasyon Değerinin Belirlenmesi	29
3.2.4. Reolojik Analizler	29
3.2.4.1. Farinograf Özelliklerinin Belirlenmesi	29
3.2.4.2. Alveograf Özelliklerinin Belirlenmesi	30
3.3. Ekmek Üretimi ve Analizleri	30
3.3.1. Hacim Analizi	31
3.3.2. Renk Analizi	31
3.3.3. Rutubet Tayini	31
3.3.4. Tekstür Analizi	32
3.4. Makarna Üretimi ve Analizleri	32
3.4.1. Makarna Üretimi	32
3.4.2. Renk Tayini	33
3.4.3. Rutubet Tayini	33
3.4.4. Pişme Süresinin Belirlenmesi	33
3.4.5. Tekstür Analizleri	33
3.4.5.1. Pişmemiş Makarnada Tekstür Analizi	33
3.4.5.2. Pişmiş Makarnada Tekstür Analizleri	34
3.4.6. Toplam Organik Madde (TOM) Analizi	36
3.4.7. Pişme Sırasında Suya Geçen Madde Miktarı (Pişme Kaybı) Analizi	37
3.4.8. Pişme Sırasında Ağırlık Artışı (Su Absorpsiyonu) Analizi	38
3.5. Ekmek ve Makarnanın Besinsel Özelliklerinin Analizleri	38
3.5.1. Toplam Besinsel Lif Analizi	39
3.5.2. <i>In vitro</i> Glisemik İndeks Tayini	39
3.5.3. Safra Asidi Bağlama Kapasitesi Analizi	40
3.5.4. Mineral Madde Biyoyararlanımı Analizi	41
3.6. İstatistiksel Analizler	42

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	43
4.1. Fiziksel, Kimyasal ve Fizikokimyasal Analiz Sonuçları	43
4.2. Reolojik Analiz Sonuçları	46
4.3. Ekmek Üretimi ve Analiz Sonuçları	49
4.4. Makarna Üretimi ve Analiz Sonuçları	53
4.5. Besinsel Analiz Sonuçları	61
5. YORUM.....	72
6. KAYNAKLAR.....	80
EKLER	91
EK 1 - Tezden Türetilmiş Yayınlar.....	91
EK 2 - Tezden Türetilmiş Bildiriler	110
EK 3 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu	111
ÖZGEÇMİŞ	112

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Gıdaların glisemik indeks değerlerine göre sınıflandırılması.....	4
Şekil 2.2. Kolesterol ve safra asitlerinin yapıları	5
Şekil 2.3. Enterohepatik dolaşım ve safra asidi metabolizması.....	6
Şekil 2.4. Biyoerişilebilirlik ve biyoaktivitenin toplamı olarak biyoyararlanımın tanımı ve her aşamada yer alan fizyokimyasal olaylar.....	11
Şekil 2.5. Nişasta fraksiyonlarının sindirilme oranlarına göre sınıflandırılması.	12
Şekil 2.6. Enzime dirençli nişastaların gıdalarda kullanımı ile ilgili son 10 yılda yapılan çalışma başlıkları.	21
Şekil 3.1. Bükülme testi donanımı.....	34
Şekil 3.2. Yapışkanlık testi donanımı.	35
Şekil 3.3. Sertlik testi donanımı.....	36
Şekil 4.1. Enzime dirençli nişasta ve kepek ilavesi ile üretimi yapılan ekmek örnekleri...	50
Şekil 4.2. Enzime dirençli nişasta ve kepek ilavesi ile üretimi yapılan makarna örnekleri	54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Enzime dirençli nişasta tipleri, kaynakları ve sindirim hızları	15
Çizelge 2.2.	Enzime dirençli nişastanın önemli bazı fizyolojik etkileri ve sağlığa yararları.....	17
Çizelge 3.1.	Hammaddeler ve temin edildikleri kuruluşlar	27
Çizelge 3.2.	Mineraller için günlük referans alım değerleri	31
Çizelge 3.3.	Toplam organik madde sonuçlarının değerlendirilmesi	37
Çizelge 4.1.	Fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları	43
Çizelge 4.2.	Fizikokimyasal analiz sonuçları	45
Çizelge 4.3.	Farklı oranlarda enzime dirençli nişasta ve kepek ilavesi yapılan unların Farinograf özellikleri	47
Çizelge 4.4.	Farklı oranlarda enzime dirençli nişasta ve kepek ilavesi yapılan unların Alveograf özellikleri.....	49
Çizelge 4.5.	Farklı oranlarda enzime dirençli nişasta ve kepek ilavesi yapılan ekmeklerin hacim ve kalite özellikleri.....	52
Çizelge 4.6.	Makarna örneklerinin renk değerleri	56
Çizelge 4.7.	Farklı oranlarda enzime dirençli nişasta ve kepek ilavesi yapılan makarnaların kalite özellikleri	57
Çizelge 4.8.	Farklı oranlarda enzime dirençli nişasta ve kepek ilavesi yapılan makarnaların tekstür özellikleri	61
Çizelge 4.9.	Ekmek örneklerinin toplam besinsel lif ve in vitro glisemik indeks analizi sonuçları.....	63
Çizelge 4.10.	Ekmek örneklerinin safra asidi bağlama kapasitesi analizi sonuçları	65
Çizelge 4.11.	Makarna örneklerinin toplam besinsel lif ve in vitro glisemik indeks analizi sonuçları	67
Çizelge 4.12.	Makarna örneklerinin safra asidi bağlama kapasitesi analizi sonuçları ..	68
Çizelge 4.13.	Ekmek ve makarna örneklerinin mineral biyoyararlanım analizi sonuçları.....	70

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

L*	Parlaklık göstergesi
a*	Kırmızı-yeşil renk göstergesi
b*	Sarı-mavi renk göstergesi
L	Hamur uzayabilirlik değeri
W	Alveograf enerji değeri
P	Elastikiyete karşı direnç değeri
G	Hamur uzayabilirliğinin ölçüsü

Kısaltmalar

CHO	Karbonhidrat
EDN	Enzime Dirençli Nişasta
GI	Glisemik İndeks
GL	Glisemik Yük (Glycemic Load)
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Low Density Lipoprotein)
SCFA	Kısa Zincirli Yağ Asidi (Short Chain Fatty Acid)
AACC	Amerikan Hububat Kimyacıları Birliği (American Association of Cereal Chemists)
ICC	Uluslararası Hububat Bilimi ve Teknolojisi Birliği (International Association for Cereal Science and Technology)
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
TDF	Toplam Besinsel Lif (Total Dietary Fiber)
HI	Hidroliz indeksi
BA	Safra Asidi (Bile Acid)
TDC	Sodyum taurodeoksikolathidrat

HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography)
DAD	Diode Array Dedector
AAS	Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi
TOM	Toplam Organik Madde

1. GİRİŞ

Karbonhidratlar insanlar için temel enerji kaynağıdır. Yaşlanma ve hastalıklarda karbonhidrat (CHO) metabolizması belirgin bir rol oynamaktadır. Son dönemlerde karbonhidratların kan glukozu ve bazı hastalıklar üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılması ile glisemik indeks terimi daha sık karşımıza çıkmaktadır. Yakın dönemde yapılan epidemiyolojik araştırmaların sonucunda, tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ile diyabetik retinopati ve yaşa bağlı maküler dejenerasyon gibi retinal hastalıklarda, tüketilen gıdaların glisemik indeksinin temel rolü olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle bu hastalıklardan korunmada, CHO içeren gıdaların özelliklerinin bilinmesi ve beslenmenin buna göre düzenlenmesi çok önemlidir.

Glisemik indeksi etkileyen önemli faktörlerden birisi de gıdanın besinsel lif içeriğidir. Lifçe zengin gıdalar, glukozun absorpsiyonunu azaltması/yavaşlatması nedeniyle karbonhidrat metabolizmasına etki etmekte, bu nedenle kandaki şeker seviyesini dengede tutmaktadır. Enzime dirençli nişasta (EDN), ince bağırsakta enzimatik hidrolize uğramayan ancak kalın bağırsakta fermente olabilen nişasta fraksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Benzer fizyolojik özellikleri nedeniyle de besinsel lifler gibi etki göstermektedir. Enzime dirençli nişasta gıdalarda doğal olarak bulunabilir veya işleme koşullarına bağlı olarak oluşabilir. EDN, normal nişasta gibi sindirilememekte ve kolona geçmektedir. Bu nedenle sağlık üzerinde birçok olumlu etkisi vardır. Kolon mikroflorası için substrat niteliğinde olan EDN, bu mikroorganizmalar tarafından fermente edilerek bağırsak sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan bütirat, asetat, propiyonat gibi kısa zincirli yağ asitlerini oluşturmaktadır. Enzime dirençli nişasta ince bağırsakta sindirilemediği için bulunduğu gıdanın glisemik indeksini de azaltmaktadır. Glisemik indeks üzerindeki bu etkisinden dolayı diyabetli bireyler için hazırlanan gıda formülasyonlarında EDN kullanılmaktadır. Ayrıca, serum kolesterol ve trigliserit seviyesinin kontrolüne de yardımcı olarak kardiyovasküler sistem üzerinde olumlu etki göstermektedir.

EDN, farklı gruplar altında toplanmaktadır. Tip 1 EDN; sindirilemeyen matriks içinde tutuklu nişasta, Tip 2 EDN; granül formdaki jelatinize olmamış nişasta, Tip 3 EDN;

retrograde nişasta, Tip 4 EDN; kimyasal olarak modifiye edilmiş nişasta ve Tip 5 EDN; amiloz-lipid kompleksidir. Tip 1 ve Tip 2 EDN gıdalara uygulanan ön işlemlerle yavaş da olsa sindirilebilir hale gelirken, Tip 3 ve Tip 4 EDN sindirime karşı direnç göstermektedir. Son yıllarda yapılmış olan birçok çalışma, çapraz bağlı nişastaların enzimatik hidrolize karşı direnç gösterdiğini ve bu özelliklerinden dolayı bu nişastaların yeni bir besinsel lif kaynağı olarak kabul edilebileceğini belirtmiştir.

Lif içeriği yüksek gıda tüketiminin sağlık üzerindeki olumlu etkileri uzun zamandan beri bilinmektedir. Bu tür gıdaların tüketiminin artmasına yönelik birçok çalışma yapılmaktadır. Ancak, yüksek oranda lif ilavesinin gıdaların görünüş, tekstür ve lezzet gibi özelliklerinde bazı olumsuz etkilerinin olması tüketicilerin bu tür gıdalara olan ilgisini azaltmaktadır. EDN'nin, diğer lif kaynaklarına göre gıdaların lezzet ve diğer duysal özelliklerinde daha az olumsuz etki oluşturması, bir lif kaynağı olarak daha fazla tercih edilmesini sağlamaktır. Hem sağladığı olumlu fizyolojik etkiler hem de gıdaların besinsel özelliklerini geliştirmesi ürün formülasyonunda diğer besinsel lif kaynakları yerine kullanımını desteklemektedir.

Günlük beslenmede önemli bir yere sahip olan ekmek ve makarnaya da yüksek oranda lif ilave edilmesi, tekstürel ve duysal özelliklerinde bazı olumsuzluklar meydana getirmektedir. Bu tez çalışmasında, Tip 4 EDN ilavesi ile kalite ve tekstürel özelliklerinde büyük bir olumsuz etki yaratmadan yüksek lif içerikli ekmek ve makarna üretim imkânları araştırılmıştır. Ayrıca bu ürünlerin bazı besinsel özellikleri geliştirilirken hem teknolojik hem de tüketici beğenisi açısından avantajlı yeni ürünler elde edilmesi amaçlanmıştır.

Literatürde EDN ilavesinin ekmek ve makarnanın kalite özellikleri üzerine etkisini araştıran birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların bir kısmında Tip 4 EDN de kullanılmıştır. Ancak ilgili literatürde diğer EDN tiplerine göre daha az çalışılmış olması, EDN4 ile ilgili daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Bu tez çalışmasıyla, Tip 4 EDN ilavesinin gıdaların kalite ve besinsel özellikleri üzerine etkileri konusunda literatüre önemli katkılar sağlanacağı düşünülmektedir.

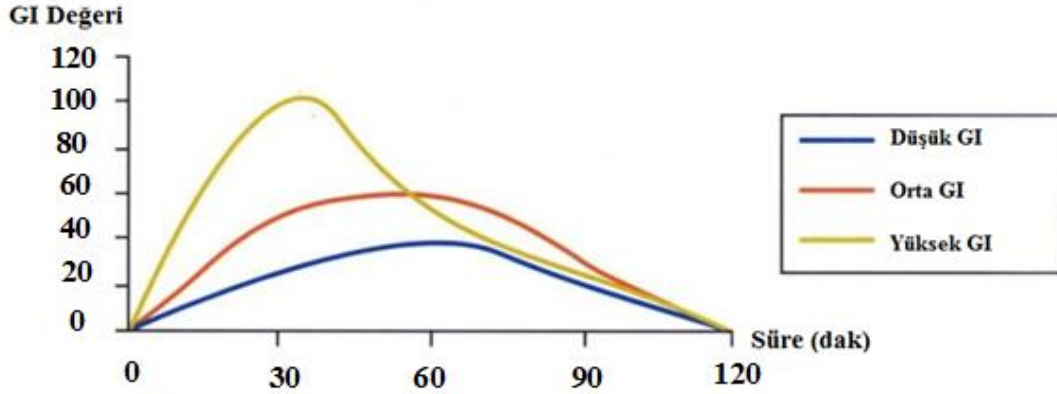
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Glisemik İndeks

Günlük beslenme düzeninde, vücut için gerekli enerjinin %50-60'ının karbonhidratlardan sağlanması gerektiği tavsiye edilmektedir (Arvidsson-Lenner ve ark., 2004). Bu durum özellikle batı ülkelerinde, karbonhidrat tüketiminin artmasına neden olmuştur. Genel olarak, karbonhidrat tüketiminin kan glukoz ve insülin seviyesini arttırdığı bilinmektedir. Ancak bu artış, karbonhidrat tipi, miktarı, işleme yöntemi ve diğer gıda maddelerinin varlığına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bu farklılık, karbonhidrat içeren gıdaların, kan glukoz seviyesini artırma yeteneklerine göre sınıflandırıldığı bir sistem olan glisemik indeks (GI) tanımı ile ifade edilmiştir (Sieri ve Krogh, 2017). En genel haliyle glisemik indeks, bir gıdanın tüketildikten sonra kan glukoz seviyesini yükseltme potansiyeli olarak tanımlanabilir (Nayak, De J. Berrios ve Tang, 2014). Glisemik indeks tanımı bu şekilde yapılmasına rağmen, bir gıdanın kan glukoz seviyesine olan genel etkisi, tüketilen karbonhidratın hem miktarı hem de kalitesi ile belirlenir. Karbonhidrat miktarının ifade edilmesi için de glisemik yük (Glycemic load; GL) kavramı ortaya çıkmaktadır. Glisemik yük, bir gıdanın kan glukoz ve insülin seviyeleri üzerindeki genel etkisinin bir ölçüsü olarak tanımlanmıştır ve gram cinsinden gıda porsiyonunda bulunan karbonhidrat miktarı ile GI değerinin çarpımıyla hesaplanmaktadır (Marsh ve ark., 2011). Glisemik yükün ve glisemik indeksin, sağlık üzerinde benzer etkilere sahip oldukları belirlenmiştir. Obezite, diyabet ve bunlardan kaynaklı hastalıkların artmasından dolayı da GI/GL oranı düşük olan gıdaların üretilmesi ihtiyaç haline gelmiştir (Zhu, 2019).

Gıdada bulunan karbonhidrat miktarı, gıdanın glisemik etkisinin bilinmesi için önemli bir kriterdir. Ancak, tek başına karbonhidrat miktarı da glisemik etkisinin bilinmesi için yeterli değildir. Çünkü bazı durumlarda aynı miktarda karbonhidrat içeren gıdalar, postprandiyal (yemek sonrası) kan glukoz seviyesi üzerinde birbirlerinden çok farklı etki göstermektedir (Marsh ve ark., 2011). Karbonhidrat içeren gıdalar sindirim ve metabolize olma hızlarına göre, diğer bir ifade ile GI değerlerine göre 3 kategoride değerlendirilebilirler (Şekil 2.1). Hızlı sindirilen ve metabolize olan gıdalar GI değeri yüksek gıdalar ($GI \geq 70$), yavaş sindirilen ve metabolize olan gıdalar GI değeri düşük

gıdalar ($GI \leq 55$) ve GI değerleri 55-70 aralığında olan gıdalar ise GI değeri orta düzeyde olan gıdalar olarak sınıflandırılmaktadır (Zhu, 2019).



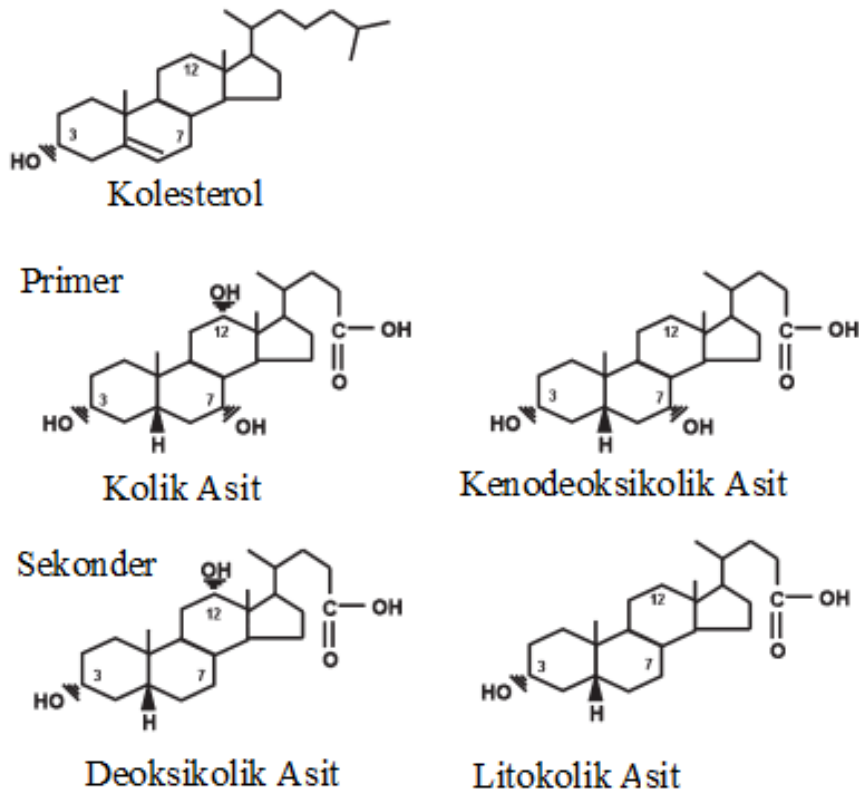
Şekil 2.1. Gıdaların glisemik indeks değerlerine göre sınıflandırılması (Anonim, 2020).

Glisemik indeksi düşük gıdaların tüketiminin diyabet, koroner kalp hastalıkları gibi kronik hastalıklara karşı koruyucu etkisi olduğu ve bu tür gıdaların kilo yönetimi ve obezite kontrolü açısından avantaj oluşturduğu belirtilmiştir. Ayrıca, karbonhidrat içeriği yüksek, ancak GI değeri düşük olan gıdalar genellikle yüksek lif içeriğine de sahip olmaları nedeniyle daha belirgin tokluk hissi sağlamaktadır (Arvidsson-Lenner ve ark., 2004).

Gıdaların glisemik indeksi, nişastanın amiloz içeriği, yağ, lif, protein içeriği ve nişasta sindirebilirliğinden etkilenmektedir. Nişasta sindirilebilirliği, vücutta sindirilebilen ve emilebilen nişasta kabiliyeti olarak tanımlanmaktadır (Nugraheni, Hamidah ve Auliana, 2018). GI düzeyini etkileyen faktörler üzerinde çok sayıda araştırma yapılmıştır. Gıdaların glisemik indeksini etkileyen önemli faktörlerden birinin nişasta içeriği olduğu belirtilmiştir. Çünkü diyetle en yaygın ve yüksek oranda bulunan karbonhidrat nişastadır (Englyst, Veenstra ve Hudson, 1996). Bundan dolayı, vücuda alınan karbonhidratların yavaş sindirilmesi ve absorbe edilmesi kan şekerinde hızlı artışa neden olmamakta ve kan şekeri seviyesinin kontrol edilebilmesini sağlamaktadır (Nugraheni, Hamidah ve Auliana, 2018).

2.2. Safra Asidi Bağlama Kapasitesi

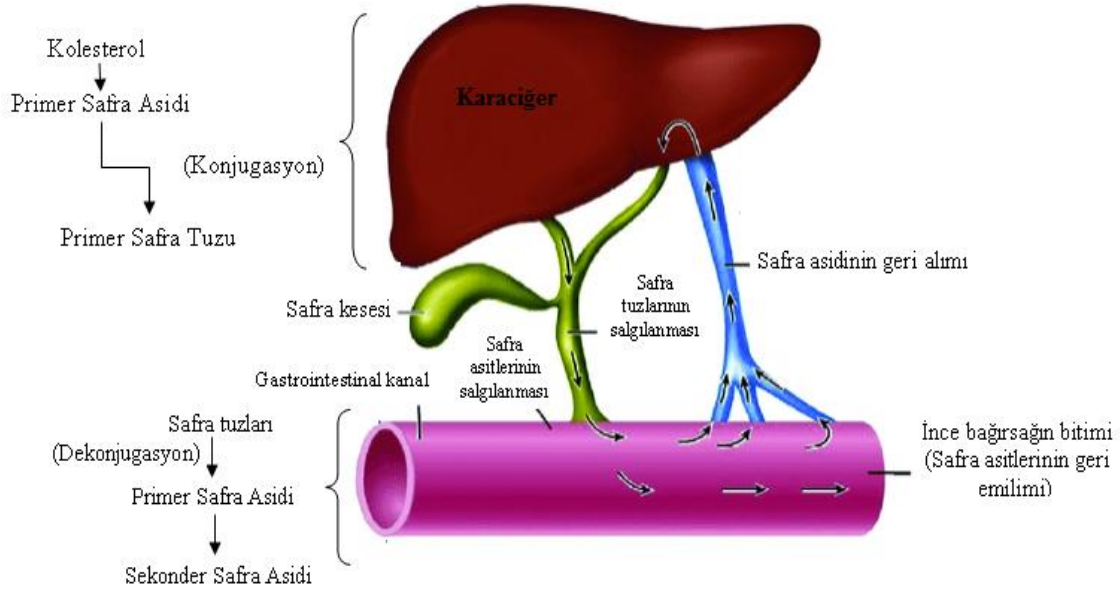
Safra asitleri, gastrointestinal sistemde lipidlerin sindirimine ve emilimine yardımcı olmak için emülgatör olarak işlev gören amfipatik moleküllerdir. Bunlar aynı zamanda kolesterol katabolizmasının son ürünleri olarak da tanımlanmaktadır. Safra asitleri karaciğerde kolesterolden sentezlenir ve safra kesesinde depolanırlar. Yağ içeren gıdaların sindirimi sırasında da ince bağırsağa salınırlar. İnsan vücudunda 14 farklı safra asidi sentezlenmektedir. Bunlardan ikisi, primer safra asitleri olarak ifade edilen kolik asit ve kenodeoksikolik asittir (Chiang, 2013; Yang, 2017). Primer safra asitleri bağırsağa ulaştığında bir kısmı bağırsak mikroflorası tarafından sekonder safra asitleri olarak adlandırılan deoksikolik asit ve litokolik asitlere dönüşür (Yang, 2017; Ghaffarzadegan ve ark., 2019). Primer ve sekonder safra asitleri ile kolesterolün moleküler yapıları Şekil 2.2’de verilmiştir.



Şekil 2.2. Kolesterol ve Safra Asitlerinin Yapıları (Hylemon ve ark., 2009).

Primer ve sekonder safra asitleri karaciğerde taurin veya glisine bağlanarak konjuge safra asitlerini oluştururlar (Chiang, 2013; Yang, 2017). Konjugasyon sonucunda primer safra asitlerinden primer safra tuzları, sekonder safra asitlerinden ise sekonder safra tuzları oluşur. Konjuge safra asitlerinin amfipatik yapılarının daha güçlü olması, safra tuzlarının safra asitlerinden daha etkili olmasını sağlar ve bundan dolayı safrada konjuge formdaki safra asitleri bulunur (Önür ve Beyler, 2001).

Karaciğerde üretilip safra kesesinde depolanan safra asitleri yağ içeren gıdaların tüketiminden sonra bağırsak sistemine salınır ve incebağırsaktan etkili bir şekilde tekrar emilirler. Emilen bu safra asitleri yeniden karaciğere gönderilirler. Döngü halinde devam eden bu işleme enterohepatik dolaşım denilmektedir (Şekil 2.3). İnce bağırsağa gelen safra asitlerinin yaklaşık %95'i yeniden emilirken %5'lik kısmı dışkıyla birlikte vücuttan atılır. Safra asidinde meydana gelen bu kayıp, karaciğerde safra asitlerinin yeniden sentezlenmesi ile karşılanır ve böylece safra asidi havuzundaki miktar sürekli olarak korunur (Chiang ve Li, 2009).



Şekil 2.3. Enterohepatik Dolaşım ve Safra Asidi Metabolizması (Mostarda ve ark., 2018).

Bağırsaktaki safra tuzlarının iki önemli görevi bulunmaktadır. Bunlardan biri emülsifiye edici etkisi nedeniyle, yağ partiküllerinin birbirleriyle birleşmesine engel olarak küçük boyutlarda kalmasını sağlamaktır. Diğeri ise lipidlerle misel adı verilen kompleks yapı oluşturarak yağ moleküllerinin taşınmasına katkıda bulunur (Üçok ve ark., 2010).

Safra asitlerini bağlama ve fekal yolla atılmalarını artırmak kolesterolün düşmesini sağlar. Safra asitlerinin vücuttan atılması kolesterol seviyesinin düşürmek için en temel yoldur (Kahlon ve Chiu, 2018). Karaciğer tarafından sentezlenen kolesterol aynı zamanda tüketilen gıdalar yoluyla da vücuda alınmaktadır. Gıdalarla alınan kolesterol, karaciğer tarafından sentezlenen kolesterol ve safra asidi olarak bağırsaklara salınan kolesterol arasında bir denge vardır. Bu denge, safra asitlerinin bir kısmı bağırsaktan atılırken bir kısmının tekrar karaciğere iletilmesi ile korunmaktadır. Ancak besinsel liflerin safra tuzlarını bağlayabilmesi bu dengeyi bozarak, karaciğerde tekrar kolesterolden safra asidi üretilmesini sağlar. Bu durum da kolesterol miktarının azalmasına neden olmaktadır (Burdurlu ve Karadeniz, 2003).

Diğeri besinsel liflere benzer şekilde, enzime dirençli nişastalar da safra asitlerini bağlayıp yeniden emilimini önler ve vücuttan atılmalarını sağlar (Hinkle, 2013; Sharma, Yadav ve Yadav, 2008). Çalışmalarda EDN2, EDN3 ve EDN4 gibi dirençli nişasta tiplerinin fekal yolla atılan safra asit miktarını arttırdığı belirlenmiştir (Naumann ve ark., 2019). Bu şekilde safra asidi havuzunda bulunan safra asitlerinin yaklaşık olarak %50'sinin atıldığı, bundan dolayı da depolanan safra asit miktarının azaldığı ifade edilmiştir. Enzime dirençli nişastanın düşük yoğunluklu lipoprotein (Low Density Lipoprotein: LDL) kolesterol seviyesi üzerindeki olumlu etkisi de bu azalma ile açıklanmaktadır (Chiang, 2009; Hinkle, 2013).

Kolestramin safra asidi bağlama etkisinden dolayı kolesterol düşürücü ilaç olarak kullanılmaktadır. Bu etki hem *in vivo* hem de *in vitro* çalışmalarda kanıtlanmıştır. Aynı etkinin her iki çalışma türünde görülmesinin yanında *in vivo* ve *in vitro* çalışmaların sonuçları arasında pozitif korelasyonlar da olduğu belirlenmiştir. Bunun dışında *in vitro* çalışmaların *in vivo* çalışmalara göre daha ekonomik olduğu da ifade edilmiştir. Bu

sebeplerden dolayı birçok gıdanın *in vitro* safra asidi bağlama kapasitesi değerlendirilerek kolesterol düşürme potansiyeli tahmin edilebilmektedir (Kahlon ve Chiu, 2018).

2.3. Mineral Biyoyararlanımı

Vücuttaki metabolik reaksiyonların gerçekleşebilmesi için beslenme düzeninde çok sayıda besin ögesine ihtiyaç vardır. Bunların önemli bir kısmını fizyolojik ve biyokimyasal olaylarda ihtiyaç duyulan mineraller oluşturmaktadır. Minerallerin günlük olarak tüketilmesi gereken miktarları incelendiğinde karbonhidrat, protein ve yağ gibi besin öğelerine göre çok daha az olduğu görülmektedir. Tüketilmesi gereken miktar az olmasına rağmen organizmanın işleyişi için vazgeçilmez olduklarından, beslenme düzeni içinde mutlaka yer almaları gerekir. Mineraller, makromineraler, mikromineraler ve iz elementler olarak üç grupta değerlendirilebilirler. Makromineraler, vücut dokularında daha büyük oranlarda bulunan ve beslenmeyle fazla miktarlarda alınması gereken minerallerdir. Mikromineraler, beslenmede makromineraler kadar önemli ancak daha küçük miktarlarda alınması yeterli olan mineraller olarak ifade edilmektedir. İz elementler ise günlük ihtiyaç duyulan miktarı çok az olan elementlerdir (Quintaes ve Diez-Garcia, 2015).

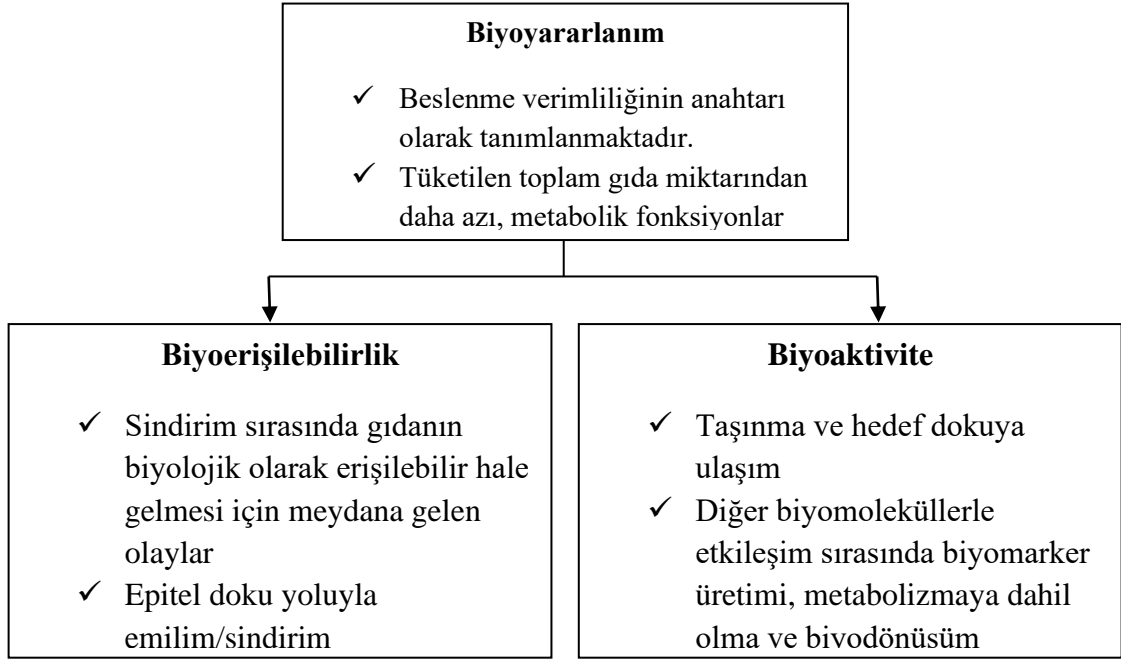
Minerallerin eksikliğinin insan sağlığı üzerinde pek çok olumsuz etkisi olduğu bilinmektedir. Özellikle demir, kalsiyum ve çinko gibi minerallerin eksikliği birçok hastalığa neden olmaktadır (Collar, 2015). İskeletin yapısal desteği olan kalsiyum vücuttaki sinir iletimi, kasların kasılması ve kanın pıhtılaşması gibi birçok biyolojik fonksiyonlar için gerekli olan minerallerden biridir. Yetersiz kalsiyum alımı raşitizm ve osteoporoz gibi hastalıklara sebep olurken, yeterli alımının hipertansiyon, kolon kanseri, meme kanseri, böbrek taşları ve yumurtalık kanseri gibi hastalık risklerini azalttığı belirtilmiştir (Alegría-Torá, Barbera-Sáez ve Cilla-Tatay, 2015). Demir eksikliğinin dünya genelindeki en yaygın beslenme bozukluğu olduğu belirlenmiştir. Metabolik ve enzimatik birçok işleve sahip olan demirin yetersiz alımında anemi meydana gelmektedir. Dünya Sağlık Örgütü 2015 yılında hazırlamış olduğu raporda, 2011 yılında yaklaşık 800 milyon çocuk ve kadında demir eksikliğinden kaynaklı anemi olduğunu

belirtmiştir (Blanco-Rojo ve Vaquero, 2019). Çinko ise çok çeşitli biyolojik fonksiyonlarda rol oynayan önemli minerallerden biridir. Hücresel metabolizma, protein sentezi, yaraların iyileşmesi ve hücre bölünmesi gibi birçok metabolik reaksiyonda görev almaktadır. Desteklediği bu biyolojik fonksiyonlara göre, çinko eksikliğinin fiziksel büyümeyi, bağışıklık sistemi ve sinir sistemi gelişimini olumsuz yönde etkilediği ve ayrıca yüksek enfeksiyon riskine de yol açabileceği belirtilmiştir. Büyüme sırasında artan çinko gereksinimi nedeniyle gelişmekte olan birçok ülkede çinko eksikliği bebekler ve çocuklar için ortak bir sorun olarak kabul edilmektedir. Son çalışmalarda, çinko eksikliğinin neden olduğu riskler azalmış olsa da hala yaygın olarak görüldüğü ifade edilmiştir. Sadece gelişmekte olan ülkelerde değil, aynı zamanda gelişmiş ülkelerde de görülen bu durum dünya genelinde yaklaşık iki milyar insanı etkilemeye devam etmektedir (Tang ve Skibsted, 2017).

Günümüzde beslenmenin amacı sadece gerekli enerji ve besinsel gereksinimlerini karşılayacak kadar gıda tüketimi değil, aynı zamanda hastalık riskini engelleyecek ve sağlık üzerinde olumlu etki gösterecek nitelikte ve nicelikte gıda alımını da sağlamaktır. Bu durum biyoyararlanım ile ilgili bilgilere daha fazla önem verilmeye başlanmasına neden olmuştur. Bu bilgiler ihtiyacı karşılamak için gerekli olan mineral madde miktarının tahmin edilmesi için gereklidir (Alegría-Torá, Barbera-Sáez ve Cilla-Tatay, 2015). Çoğu mineral için, gastrointestinal sistemde emilen miktar, biyoyararlanımın ana belirleyicisidir, ancak bu durum mineraller arasında farklılık göstermektedir. Minerallerin gastrointestinal sistemdeki emilimi, gıdalarda bulunan diğer bileşenler ile etkileşimleri gibi birçok faktörden etkilenmektedir. C vitamininin demir emilimini artırması, fitatların ve tanenlerin ise demir emilimi engelleyici etkisinin olması bu duruma örnek olarak gösterilebilir (Mamiro ve ark., 2016). Biyoyararlanım ifadesi birçok çalışmada kullanılmaktadır ve aslında yaygın olarak kabul edilmiş genel bir tanımı yoktur (Guerra ve ark., 2012). Bu tanımlardan birine göre, bir besin ögesinin biyoyararlanımı, metabolik fonksiyonlar için kullanılan miktarının gıdada bulunan toplam miktarına oranı olarak ifade edilmektedir (Gupta, Jyothi Lakshmi, ve Prakash, 2006). Biyoyararlanımın *in vivo* olarak incelenmesi, izotopik element sindirimini de içeren karmaşık süreçtir. Bu nedenle biyoyararlanımı belirlemek için çok çeşitli teknikler belirlenmiştir. Bunlardan bazıları *in vitro* çalışmalarda besin ögesine ait

Çözünürlük, ekstrakte edilebilirlik ve kısmi diyaliz edilebilirlik gibi durumların belirlenmesine dayalı yöntemlerdir. Her ne kadar *in vivo* alışmalar minerallerin biyoyararlanımını incelemenin en iyi yolu olarak görölse de *in vitro* alışmalar nispeten daha kolay, hızlı ve ucuz oldukları için ilgi çekici bir alternatif olarak kabul edilmektedir (Mamiro ve ark., 2016).

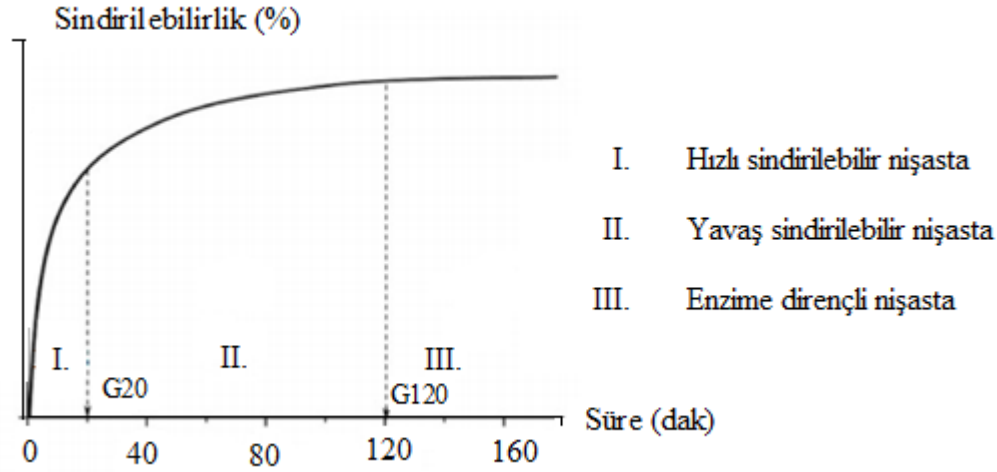
Biyoyararlanım, biyoerişilebilirlik ve biyoaktivite tanımlarını da içeren bir terimdir (Fernández-García, Carvajal-Lérída ve Pérez-Gálvez, 2009) (şekil 2.4). Biyoerişilebilirlik, tüketilen besin ögesinin potansiyel olarak emilebilir durumda olan miktarı olarak tanımlanmaktadır. Bu miktar, besin ögesinin sindirilebilme durumu ve gıda matriksinden ayrılma oranına bağlıdır (Etcheverry, Grusak ve Fleige, 2012). Biyoaktivite ise biyoaktif bileşiğin hedef dokuya nasıl taşındığı ve nasıl ulaştığı ile ilgili olayları içeren bir kavramdır. Bir besin ögesinin ya da biyoaktif bileşenin biyoaktivitesi, diğer biyomoleküllerle nasıl etkileşime girdiği, dahil olduğu metabolizma ya da biyodönüşüm, biyomarker üretimi ve bunların neden olduğu fizyolojik tepkiler gibi birçok faktörün yer aldığı bir durumdur. Ancak, bir gıda bileşenin biyoaktivitesinin ölçülmesinde uygulanabilirlik ve etik açısından zorluklar bulunmaktadır. Bu durumdan dolayı biyoyararlanım tanımında biyoaktivite terimi üzerinde durulmadan daha çok biyoerişilebilirlik terimi yer almaktadır (Fernández-García, Carvajal-Lérída ve Pérez-Gálvez, 2009).



Şekil 2.4. Biyoerişilebilirlik ve biyoaktivitenin toplamı olarak biyoyararlanımın tanımı ve her aşamada yer alan fizikokimyasal olaylar (Fernández-García, Carvajal-Lérida, ve Pérez-Gálvez, 2009).

2.4. Enzime Dirençli Nişasta

Nişasta, fizyolojik özellikleri ve sindirilebilme oranlarına göre 3 farklı grupta incelenebilir. Buna göre nişastalar, hızlı sindirilebilir nişasta, yavaş sindirilebilir nişasta ve dirençli nişasta olarak sınıflandırılabilir (Raigond ve ark., 2015). Hızlı sindirilebilir nişasta, enzimatik hidroliz ile 20 dakika içinde sindirilebilen nişasta, yavaş sindirilebilir nişasta ise 20-120 dakika arasında sindirilebilen nişasta olarak tanımlanmaktadır (Englyst ve ark., 2018) (Şekil 2.5). Ekmek ve patates gibi pişirme işleminin su bulunan ortamlarda gerçekleştirildiği gıdalarda nişasta jelatinize olduğu için hızlı sindirilebilir nişasta miktarı fazladır. Hızlı sindirilip kan glukoz seviyesini kısa sürede yükseltme etkisi olan bu tür nişastaların fazla tüketiminin sağlık açısından zararlı olabileceği belirtilmektedir (Englyst ve ark., 1999). Yavaş sindirilebilir nişasta içeren gıdalar ince bağırsakta yavaş sindirildiği için GI değeri düşüktür ve hiperglisemi ile ilişkili hastalıkların önlenmesine ve kontrolüne yardımcı olabilir (Miao ve ark., 2015).



Şekil 2.5. Nişasta Fraksiyonlarının Sindirilme Oranlarına Göre Sınıflandırılması (Miao ve ark., 2015).

Enzime dirençli nişasta (EDN) terimi ilk olarak *in vitro* koşullarda α -amilaz ve pullulanaz enzimlerinin hidrolizine direnç gösteren nişasta fraksiyonu olarak tanımlanmıştır. Bu nişasta, ince bağırsakta enzimatik hidrolize uğramayan ancak kalın bağırsakta fermente olabilen nişastadır (Englyst, Wiggins ve Cummings, 1982). EDN, potansiyel fizyolojik faydaları ve fonksiyonel özellikleri ile dikkat çekici bir bileşendir (Raigond ve ark., 2015). Dirençli nişastalar doğal olarak tohumlarda, tahıl tanelerinde ve ısıtılardan sonra soğutulan nişasta içeren gıdalarda bulunmaktadır. Enzime dirençli nişastanın doğal olarak bulunduğu çiğ patates, yüksek EDN (%75) içeren bir kaynak olarak görülmektedir. Bunun dışında yeşil muz, zengin dirençli nişasta içeriği ile işlenmemiş doğal bir gıda olarak dikkat çekmektedir (Homayouni ve ark., 2013). EDN'nin doğal olarak çok farklı gıdalarda bulunması, fonksiyonel bir bileşen olarak kullanımına olanak sağlamaktadır. Her ne kadar gıdalarda doğal olarak bulunsun da tüketilen EDN miktarı düşüktür (Bello-Pérez ve Paredes-López, 2009). Ancak, besinsel lif alımını artırması nedeniyle, EDN ilaveli gıda ürünleri, son zamanlarda tüketiciler arasında daha çok ilgi görmeye başlamıştır (Raigond ve ark., 2015).

Enzime dirençli nişastaların sindirilememesi üç farklı nedenle açıklanabilmektedir;

- i. EDN'nin yoğun moleküler konfigürasyonu nedeniyle amilaz gibi sindirim enzimlerinin erişiminin kısıtlanmış olması
- ii. Nişasta granüllerinin sindirim enzimlerini engelleyen hücre duvarı ile korunuyor olması
- iii. Nişasta granüllerinin jelatinizasyon sonrası soğutulması ile retrograde nişasta oluşması (Homayouni ve ark., 2013).

2.4.1. Enzime Dirençli Nişastaların Sınıflandırılması

Enzime dirençli nişasta fiziksel ve kimyasal özellikleri açısından EDN1, EDN2, EDN3 ve EDN4 olmak üzere 4 alt gruba ayrılmaktadır. Bu dirençli nişastalar Tip 1, Tip 2, Tip 3 ve Tip 4 enzime dirençli nişasta olarak da adlandırılmaktadır (Escarpa ve ark., 1996). Bunların dışında amiloz-lipid kompleksleri de sindirim enzimlerine karşı direnç göstermeleri nedeniyle Tip 5 enzime dirençli nişasta (EDN5) olarak sınıflandırılmada yer almaktadır (Haşjim, Ai ve Jane, 2013) (Çizelge 2.1).

EDN1, kısmen öğütülmüş tahıl ve baklagillerde bulunan nişastadır (Kahraman ve Köksel 2006). Bu tip nişasta fiziksel olarak korunmaktadır ve bu nedenle de sindirilememektedir. Bunun nedeni kısmen öğütülmüş tane içinde tutuklu kalması ya da tanedeki bozulmamış hücre duvarının varlığı ile açıklanabilir. Sindirim enzimleri ve amilolitik enzimlerin nişastaya ulaşamamasından ve gastrointestinal sistemde hücre duvarını parçalayıcı enzim bulunmamasından dolayı hücre duvarı bileşenlerinin parçalanması mümkün değildir (Raigond ve ark., 2015).

EDN2, granüler nişasta olarak tanımlanmaktadır. Muz, çığ patates ve yüksek amiloz içeren gıdalarda bulunmaktadır (Jyothsna ve Hymavathi, 2017). Bu tip dirençli nişastalar çoğunlukla B tipi (X-ışını deseni) nişastalardır. EDN2 jelatinizasyona karşı yüksek direnç göstermektedir. Yüksek amiloz içeren nişastaların jelatinizasyonu için 120 °C'nin üzerinde sıcaklığa ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak, diğer bir Tip 2 EDN kaynağı olan patates su varlığında kolayca (60 °C) jelatinize olmaktadır (Champ, 2004).

Amiloz içeren nişastaların çoğunda, ısı ve nem varlığında işleme sonucunda Tip 3 EDN oluşur (Jyothsna ve Hymavathi, 2017). Bu tip EDN jelatinizasyon ve retrogradasyon olmak üzere 2 aşamalı bir işlem sonucunda elde edilmektedir. Diğer bir ifade ile EDN3 retrograde olmuş nişasta olarak tanımlanmaktadır (Kahraman ve Köksel, 2006). Tip 3 EDN oluşumu çoğunlukla amilozun retrogradasyonu ile ilişkilendirilse de retrograde olmuş amilopektin de bu tip EDN oluşumuna katkı sağlamaktadır (Jyothsna ve Hymavathi, 2017). Yüksek molekül ağırlıklı kristal amilozun erime sıcaklığının yüksek olması (150 °C) nedeniyle Tip 3 EDN ısıya dayanıklı prebiyotik gıda katkı maddesi olarak pişirilen ve fırınlanan ürünlerde kullanılabilir (Shamai, Bianco-Peled ve Shimoni, 2003).

EDN4, kimyasal olarak modifiye edilmiş nişastadır. Eterlenmiş, esterlenmiş ya da kimyasal olarak çapraz bağlanmış nişastalar bu gruba girer (Brown, 2004; Sajilata, Singhal ve Kulkarni, 2006). Kimyasal modifikasyonlardan kaynaklı farklı Tip 4 EDN alt grupları bulunmaktadır. Bu modifikasyonlar tüketim sonrasında gıdanın fonksiyonel özelliğini, sindirilebilirliğini ve fermente olabilirliğini etkilemektedir. Meydana gelen bu farklılıklar nedeniyle her bir Tip 4 EDN türünün gıda uygulamalarında kullanımı ve fizyolojik etkilerini değerlendirmek önemlidir. Fosfatlanmış formdaki Tip 4 EDN çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Stewart ve ark., 2018).

EDN5, daha önce sınıflandırılmış olan 4 tip EDN'ye (EDN1, EDN2, EDN3 ve EDN4) eklenen yeni bir dirençli nişasta kaynağıdır. Amilolitik enzim hidrolizine dayanıklı olan amiloz-lipid kompleksi Tip 5 EDN olarak tanımlanmaktadır. Amiloz-lipid kompleksinin postprandiyal glisemik ve insülin seviyelerini azalttığı belirtilmiştir (Hasjim, Ai ve Jane, 2013).

Çizelge 2.1. Enzime Dirençli Nişasta Tipleri, Kaynakları ve Sindirim Hızları (Birt ve ark., 2013; Homayouni ve ark., 2013).

Tip	Açıklama	Kaynak	Sindirim Hızı
EDN1	Hücre duvarları ile fiziksel olarak korunan EDN	Öğütülmemiş veya kısmen öğütülmüş tohumlar, tahıllar, baklagiller	Yavaş
EDN2	Kristal yapı, doğal granül nişasta	Çiğ patates, olgunlaşmamış muz, yüksek amiloz içeren nişastalar	Çok yavaş
EDN3	Retrograde nişasta	Piştirilmiş ve retrograde olmuş nişasta içeren gıdalar	Yavaş
EDN4	Kimyasal olarak modifiye edilmiş nişasta	Lif takviyesi ile modifiye edilmiş fonksiyonel gıdalar	Hidrolize karşı dirençli
EDN5	Amiloz-lipid kompleksi	Nişasta ve lipid içeren gıdalar	Yavaş

Gıdalarda EDN oluşum miktarı, nişastanın kaynağı, tipi, amiloz-amilopektin oranı, fiziksel formu, jelatinizasyon derecesi, ısıtma-soğutma ve depolama gibi koşullara bağlıdır. Gıda işleme tekniklerinin birçoğunun Tip 1 ve Tip 2 EDN'yi azalttığı veya tamamen yok ettiği görülmüştür. Ancak bu tip EDN'lerin Tip 3 EDN'ye dönüşme potansiyelleri de mevcuttur (Zhang ve Jin, 2011). Bu konudaki çalışmaların büyük bölümünde, termal stabilitesi ve sindirime karşı direncinin yüksek olması gibi özelliklerinden dolayı Tip 3 EDN üzerinde yoğunlaşmıştır (Zeng ve ark., 2015). Ancak mısır, tapyoka, patates esaslı Tip 4 EDN örnekleri kullanıldığında ihtiyaç duyulan yumuşak tekstür, pürüzsüzlük, akışkanlık, düşük pH ve yüksek sıcaklıkta depolama özelliklerinde fayda sağladığı bildirilmiştir. Bu nedenle, gıdalarda kullanılacak Tip 4 EDN konusunda yapılan araştırmalarda daha çok di-fonksiyonel fosfat ajanları tercih edilmektedir. Ayrıca, AACC tarafından besinsel lif tanımına dahil edilen EDN, tat ve dokuyu etkilemeden toplam besinsel lif içeriğini arttırmak için Japonya, Avustralya, İngiltere ve Amerika'da gıda formülasyonlarında tercih edilen yeni bir lif kaynağıdır (Sajilata, Singhal ve Kulkarni, 2006).

2.4.2. Enzime Dirençli Nişastanın Sağlık Üzerine Etkileri

Son 30 yıl içinde, EDN'nin fizyolojik etkilerini açıklığa kavuşturmak için çok sayıda araştırma yapılmıştır. EDN tüketiminin, kişilerin çeşitli hastalıklardan korunması ve fizyolojik durumlarının iyileştirilmesinde yardımcı olabildiği ifade edilmektedir (Brown, 2004). Enzime dirençli nişasta, sadece besinsel lif bileşeni olarak yararlı değildir. Aynı zamanda tüketicilerin genel sağlığı için gerekli olan bir bileşen olarak da kabul edilmektedir. EDN'nin, birçok olumlu fizyolojik etkiye sahip olmasından dolayı insanların çoğunu etkileyen metabolik hastalıkların kontrolünün sağlanmasında bir gıda bileşeni olarak önemli rol oynamaktadır. Enzime dirençli nişasta da dahil olmak üzere besinsel liflerin tüketiminin sağladığı fizyolojik etkilerden bazıları, bağırsak transit süresinin azalması, tokluk hissinin artması, kısa zincirli yağ asitlerinin (Short Chain Fatty Acid: SCFA) üretiminin artması ve kandaki glukoz, insülin LDL kolesterol seviyelerinin azalması olarak ifade edilmektedir (Maningat ve Seib, 2013; Nugent, 2005). EDN'nin sahip olduğu bu etkiler Çizelge 2.2'de özetlenmiştir.

Beslenmedeki en önemli enerji kaynağı olan nişastanın, obezite, tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıkların ortaya çıkmasında etkili olabileceği belirtilmektedir. EDN, ince bağırsakta çok düşük sindirim oranına sahip olmasından dolayı kandaki glukoz seviyesini düşürmektedir. Bu durum kandaki glisemik ve insülin yanıtının iyileşmesine olanak sağlamaktadır. EDN'nin metabolik sağlık üzerine etkilerinin incelendiği çalışmaların çoğunda EDN2, EDN3 ve EDN4 kullanılmaktadır. Bu çalışmaların çoğu insülin direnci ve diyabeti olmayan bireyler üzerinde yapılarak, EDN'nin bu bireylerde glisemik kontrolü geliştirdiği, açlık kan şekeri seviyesini ve postprandiyal yanıtı azalttığı, insülin duyarlılığında olumlu gelişme sağladığı belirtilmiştir (Lockyer ve Nugent, 2017).

Enzime dirençli nişasta, ince bağırsakta sindirilemediği için GI düzeyini düşürücü etki göstermektedir (Fredriksson ve ark., 2000). Ayrıca bazı çalışmalarda EDN'nin, serumdaki kolesterol ve trigliseritlerin seviyesini de azalttığı görülmüştür (Kim ve ark., 2003). Pişirilmiş normal nişasta ile enzime dirençli nişastanın metabolize olma durumları karşılaştırıldığında, EDN'nin postprandiyal glukoz ve insülin seviyesini daha

fazla düşürdüğü ve tokluk hissinde daha fazla artış sağladığı görülmektedir (Raben ve ark., 1994).

Çizelge 2.2. Enzime Dirençli Nişastanın Önemli Bazı Fizyolojik Etkileri ve Sağlığa Yararları (Sharma, Yadav ve Yadav, 2008).

Sağlık Üzerine Etkisi	Fizyolojik Etkileri
Diyabetin Önlenmesi	Düşük postprandiyal insülin cevabı; artan insülin duyarlılığı; gecikmiş insülin direnci başlangıcı
Toplam Kolesterolün Azalması	Safra asitlerinin bağlanmasını sağlaması
Kolon Kanserinin Önlenmesi	EDN'nin fermentasyonu ile anaerobik bakteriler tarafından üretilen SCFA üretiminin artması
Mineral Absorpsiyonunun Artması	SCFA üretiminin artmasından dolayı kalsiyum, magnezyum gibi minerallerin emiliminin artması
Prebiyotik Ajan	Bifidobakteriler tarafından kullanılması; Laktobasillerin ve Bifidobakterilerin gelişimine katkı sağlaması;
Diyarenin Önlenmesi	EDN'nin probiyotikler üzerine olumlu etkisinden dolayı diyare süresinin kısalması
Obezitenin Önlenmesi	Düşük kalori sağlaması nedeniyle azaltılmış enerji, iştah azalması
Bağırsak Sağlığını Geliştirmesi	Fermente olabilmesi; artan SCFA üretimi; ikincil safra asitlerinin azalması; kolon transit süresinin azalması

Uzun süreli çalışmalarda GI değeri düşük gıda tüketiminin kan lipidleri üzerinde de yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir. Bunun sonucunda da enzime dirençli nişastanın, lipid metabolizmasını etkilediği, lipid metabolizması ile ilgili ölçüm değerlerinde azalmalara neden olduğu belirlenmiştir. EDN'nin etkilediği bu değerler toplam lipidler, toplam kolesterol, düşük yoğunluklu lipoproteinler, yüksek yoğunluklu lipoproteinler, çok düşük yoğunluklu lipoproteinler, ara yoğunluk lipoproteinler, trigliseritler ve trigliserit bakımından zengin lipoproteinler olarak ifade edilmiştir (Nugent, 2005; Sharma, Yadav ve Yadav, 2008).

Çözünür lifler sindirim sistemindeki safra asitlerini bağlayarak serum kolesterol seviyesinin azalmasına yardımcı olur. Bu durum azalan safra asitlerinin yerine vücudun yenilerini oluşturmak için serum kolesterolünden safra üretimine başlamasıyla gerçekleşir (Hinkle, 2013). Böylece karaciğer, kandaki LDL konsantrasyonunun düşmesini sağlar. Genetik olarak obez, zayıf ve diyabetik sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda EDN'nin plazma kolesterol seviyelerinin azaltılmasında oldukça etkili olduğu belirtilmiştir (Nugent, 2005; Sharma, Yadav ve Yadav, 2008).

İnsan kolon sisteminde üretilen başlıca SCFA'ların asetat, propiyonat ve bütirat olduğu belirlenmiştir. Özellikle bütiratların, kolon sağlığı için oldukça önemli olduğu, kolorektal kanser hücrelerinde programlanmış hücre ölümünü arttırdığı belirtilmiştir. EDN'nin, kalın bağırsakta bir dizi metabolitin üretilmesi için mikrobiyal fermentasyonda substrat olarak görev aldığı belirlenmiştir. Meydana gelen bu metabolitler bağırsak florası için yararlı ürünlerdir. Son yıllarda, artan sayıda çalışma EDN'nin kolonik fermentasyonu uyarmak ve kısa zincirli yağ asitlerinin üretimini teşvik etmek için bir substrat olarak görev alması üzerine odaklanmıştır (Zhou, Cao ve Zhou, 2013). EDN'nin yavaş ya da daha az fermente olabilir liflere göre daha yüksek seviyede bütirat üretimini desteklediği belirlenmiştir. Aynı zamanda yüksek oranda propiyonat üretimini de sağladığı ifade edilmiştir (Brouns, Kettlitz ve Arrigoni, 2002).

Enzime dirençli nişasta, bağırsak mikroflorası üzerindeki geniş etkisinden dolayı prebiyotik olarak kabul edilmektedir (Balamurugan ve ark., 2019). Prebiyotikler kolon mikroflorasının gelişimini ya da aktivitesini olumlu yönde etkileyen, sindirilemeyen gıda maddeleri olarak tanımlanır (Gibson ve Roberfroid, 1995). Probiyotikler, yeterli miktarda bulunduğu sağlık üzerinde olumlu etkileri bulunan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Hem probiyotik hem de prebiyotik içeren bir gıda ürünü fonksiyonel gıda özellikleri taşır ve sinbiyotik olarak adlandırılır. Prebiyotikler, probiyotikler tarafından karbon veya enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bu durum hem probiyotik sayısında artışa hem de bağırsaktaki patojen mikroorganizma sayısında azalmaya neden olmaktadır (Homayouni ve ark., 2008). *In vitro* çalışmalarda, EDN'nin probiyotikler için substrat olarak davrandığı, bu bakterileri

üst gastrointestinal sistemden geçerken, aynı *in vivo* koşullarda olduğu gibi koruduğu belirtilmiştir. Ayrıca, EDN2 ve EDN4'ün de bulunduğu birçok EDN tipinin, gıdanın hazırlanması, depolaması gibi işlemlerde ve gastrointestinal sistemden geçiş sırasında bazı Bifidobakteri türleri ile fiziksel bir ilişki içinde olarak onları koruduğu belirlenmiştir (Nugent, 2005).

Çalışmalar EDN'nin mineral absorpsiyonu üzerinde de olumlu rol oynadığını göstermektedir. EDN içeriği bakımından zengin gıdalarla beslenen sıçanlar üzerine yapılan çalışmalarda kalsiyum, magnezyum, çinko, demir ve bakır gibi minerallerin emiliminde artış olduğu gözlenmiştir. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmada ise EDN'nin kalsiyum emilimini arttırdığı ifade edilmiştir. Başka bir çalışmada ise EDN'nin ve sindirilebilir nişastaların kalsiyum, fosfor, demir ve çinko gibi minerallerin emilimi üzerindeki etkisi karşılaştırılmış, EDN'nin kalsiyum ve demir emilimini sindirilebilir nişastaya göre önemli ölçüde arttırdığı açıklanmıştır (Ashwar ve ark., 2016). EDN'nin mineral emilimini arttırması, kalın bağırsakta fermente olarak SCFA üretiminde görev alması ile açıklanabilmektedir. Bu durumun SCFA'ların ortam pH'ını düşürerek mineral çözünürlüğünü arttırması ve böylece mineral emilimini olumlu yönde etkilemesinden kaynaklandığı ifade edilmiştir (Younes ve ark., 2001).

2.4.3. Enzime Dirençli Nişastanın Gıdalarda Kullanımı

Fonksiyonel gıdaların tüketiciler tarafından kabulünü belirlemede etkin bir rol oynayan duyuşal özellikler, bu gıdaları üretmek için uygun besinsel lif kaynağı seçimini oldukça önemli hale getirmektedir. Gıdaların fonksiyonel özelliklerinin arttırılması için yapılan uygulamalar genellikle duyuşal özellikleri üzerinde de etki yaratmaktadır. Birçok durumda, gıda formülasyonuna besinsel liflerin eklenmesi, son ürünün duyuşal özelliklerinde istenmeyen değişikliklere yol açtığı ve bu nedenle tüketiciler tarafından kabul edilebilirliğinde azalma olduğu belirlenmiştir (Homayouni ve ark., 2013). Enzime dirençli nişasta, diğer liflere benzer potansiyel fizyolojik faydaları nedeniyle gıda üreticileri ve beslenme uzmanları için oldukça dikkat çekici bir lif kaynağıdır (Sharma, Yadav ve Yadav, 2008). EDN, çözünmeyen besinsel liflerle kıyasladığında, olumlu fizyolojik özelliklerine ek olarak istenilen kalitede ürün üretilmesini de mümkün

kılmaktadır. Besinsel lif içeriği yüksek ürünler, rafine ve işlenmiş ürünlere göre bazı durumlarda daha az lezzetli, daha düşük hacimli ve yoğun olması nedeniyle tüketici açısından bazı dezavantajlara sahiptir. Bunun yerine EDN'nin gıda bileşeni olarak kullanıldığı durumda hem gıdanın lezzeti ve tekstürü diğer besinsel liflerin ilave edildiği ürünlere göre daha az etkilenmekte hem de duyuşal özellikleri olumlu yönde etkilenmektedir (Fuentes-Zaragoza ve ark., 2010). Bir besinsel lif kaynağı olan EDN, aynı zamanda düşük su tutma kapasitesi, küçük parçacık boyutu ve ilave edildiği gıdanın tadında herhangi bir değışime neden olmayacak yapıda olması gibi arzu edilir özelliklere de sahiptir. EDN'nin fırıncılık ve makarna ürünlerinin formülasyonuna dahil edilmesi sağılık üzerinde olumlu etki sağılarken ürünlerin tekstürel özelliklerinin de gelişmesini sağılamaktadır. Viskozite artışı, jel oluşumu, şişme ve su tutma kapasitesi gibi fizikokimyasal özelliklere sahip olması EDN'nin çeşitli gıdalarda kullanımına olanak sağılamaktadır. Enzime dirençli nişastanın sahip olduğı bu özellikler hamur işleme ya da reolojisini önemli ölçüde etkilemeden lif takviyesi olarak un yerine kullanımını mümkün kılmaktadır (Sharma, Yadav ve Yadav, 2008).

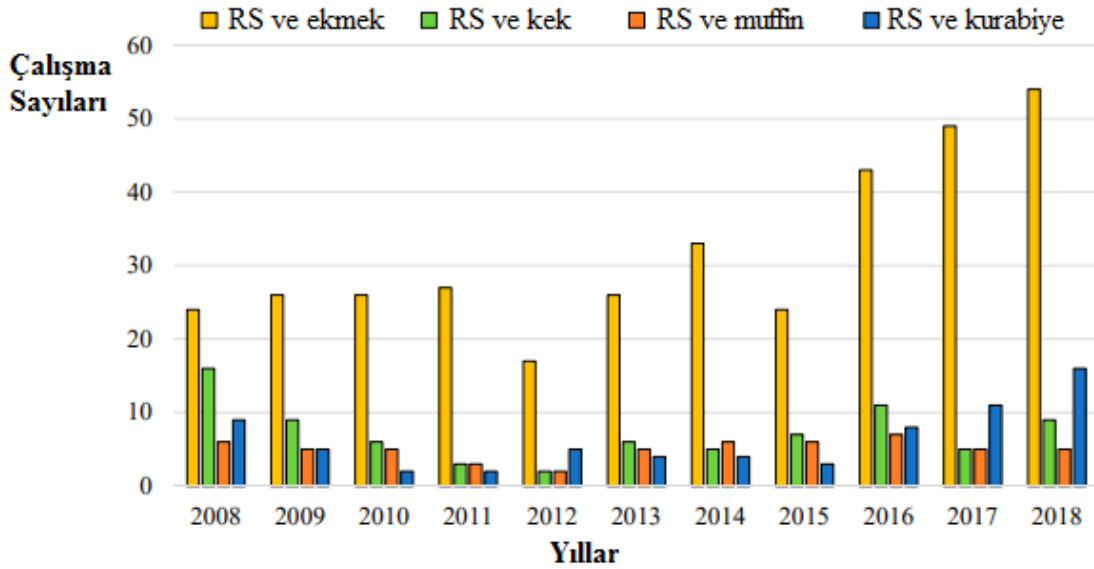
EDN, endüstriyel olarak farklı nem içeriklerine sahip ekmek, makarna, bisküvi, kek ve kahvaltılık gevrekler gibi ürünlerde kullanılmaktadır. Kraker ve waffle gibi proses sırasında yüksek yüzey sıcaklığına ulaşan düşük nem içerikli veya yüzey nem içeriğı düşük olan ürünlerin gevrekliğinde artış sağılamaktadır. Bunların dışında EDN, çerez gıda üretiminde de sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca dondurma, sütlü tatlılar, peynir, yoğıurt gibi nem içeriğı yüksek ürünlerde de kullanılma potansiyeline sahiptir (Taş ve El 2000;Homayouni ve ark., 2013).

2.4.3.1. Enzime Dirençli Nişastanın Ekmek Üretiminde Kullanımı

Tam tahıllı ürünlerin sağılık üzerinde birçok olumlu etkisi olmasına rağmen, ürünlerin duyuşal özelliklerinde meydana gelen bazı olumsuzluklar nedeniyle beyaz undan yapılan ekmek, tüketicilerin ilk tercihi olmaya devam etmektedir. Bu durum, ekmek kalitesi üzerindeki etkilerine göre ilave edilecek besinsel lif kaynağının ve miktarının seçimini oldukça önemli hale getirmektedir (Roman ve Martinez, 2019). Ekmeklerde lif içeriğinin artırılması için genellikle tahıl kepekleri gibi geleneksel lif kaynakları

kullanılır. Ancak ilave edilen bu lif kaynakları ekmek kalitesi üzerinde bazı olumsuz etkilere neden olmaktadır. Bunlar, daha koyu ekmek rengi, ekmek hacminin azalması, tadın baskılanması gibi etkilerdir (Sajilata, Singhal ve Kulkarni, 2006).

Besinsel lif tüketiminin sağlığa birçok yararı olduğu bilinmesine rağmen beyaz ekmek tüketiminin daha fazla olması, yeni bir lif kaynağının araştırılmasına neden olmuştur. Tüm bu durumlar göz önüne alındığında ekmeklere enzime dirençli nişasta ilavesinin yapılması iyi bir seçenek olarak görülmektedir. Çünkü EDN ilavesi, beyaz ekmek tüketiminin sağlık üzerindeki olumsuz etkilerine (Tip 2 diyabet, obezite, kardiyovasküler hastalık ve diğer metabolik ilişkili sağlık problemleri) benzer bir etki göstermeyerek iyi bir besinsel lif kaynağı olarak kullanılmaktadır (Roman ve Martinez, 2019). Enzime dirençli nişastanın gıda formülasyonlarına ilave edilerek ürün özelliklerinin incelendiği çalışmalarda ekmeğin kek, muffin ve kurabiye gibi gıdalara göre daha fazla kullanıldığı ve bu çalışmaların da son yıllarda daha çok artış gösterdiği görülmektedir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Enzime dirençli nişastaların gıdalarda kullanımı ile ilgili son 10 yılda yapılan çalışma başlıkları (Web of Science verilerine göre) (Roman ve Martinez, 2019).

Ekmek formülasyonuna EDN ilavesinin yapıldığı çalışmalarda ekmeğin kalite, tekstür ve reolojik özelliklerinde bazı değişiklikler meydana geldiği gözlenmiştir. Ekmek üretiminde farklı oranlarda (%10, %20, %30) ticari EDN'lerin kullanıldığı bir çalışmada artan oranlarda ilave edilen EDN'nin, ekmek renginde, gözenek yapısında ve dış görünüşünde herhangi bir olumsuzluğa sebep olmadığı, %20'nin üzerindeki ilave oranlarında ise ekmek hacminde azalma olduğu gözlenmiştir (Öztürk, Köksel ve Ng, 2009).

EDN'nin ekmek kalite özellikleri üzerine etkisinin incelendiği başka bir çalışmada iki farklı ticari EDN (HylonVII ve Novelose 240) kullanılmıştır. Bu iki EDN'nin geleneksel besinsel lif kaynakları (selüloz, yulaf lifi, buğday lifi) ile karşılaştırması yapılmış ve EDN ilaveli ekmeklerin, diğer lif ilaveli ekmeklere kıyasla daha büyük hacme, daha iyi gözenek yapısına sahip olduğu görülmüştür (Baghurst, Baghurst ve Record, 1996).

Buğday ununa ilave edilen çapraz bağlı mısır nişastasının, unun reolojik özellikleri ve ekmek kalitesini etkisinin incelendiği bir çalışmada farklı oranlarda (%5, %10, %15) çapraz bağlı mısır nişastası kullanılmıştır. Buğday unu ve çapraz bağlı mısır nişastası ilavesinin olduğu un örneklerinin Farinograf özelliklerinin karşılaştırıldığı durumda, %5 ve %10 oranındaki çapraz bağlı nişasta ilavesinin hamur direncini değiştirmediği görülmüştür. Ancak %15 oranındaki ilave ile daha güçlü hamur elde edildiği tespit edilmiştir. Ekstensograf özelliklerinin incelendiği durumda ise kontrol örneklerine göre hamur direncinde ve uzayabilirliğinde artış olduğu belirtilmiştir. Ayrıca %5-15 oranında çapraz bağlı mısır nişastası içeren buğday unlarından yapılan ekmek hacimlerinde artış olduğu gözlenmiştir (Van Hung ve Morita, 2004).

Enzime dirençli nişastanın hamur ve ekmek performansına etkisinin incelendiği bir başka çalışmada, modifiye edilmiş bezelye nişastasına enzime dirençli nişasta ilave edilerek ekmek üretilmiştir. EDN ilave edilen hamur ile kontrol hamur örnekleri karşılaştırıldığında, dirençli nişastanın hamurun işlenebilirliğini önemli ölçüde etkilemeden sertlik, yapışkanlık, esneklik gibi tekstürel özelliklerini koruduğu

belirtilmiştir. Ekmeğin tekstürel özellikleri incelendiğinde ise esnekliğin önemli ölçüde değişmediği, sertlik ve çiğnenebilirlikte artış olduğu belirtilmiştir (Sanz-Penella ve ark., 2010).

2009 yılında yapılan bir çalışmada farklı ticari EDN'ler (Tip 2, Tip 3, Tip 4 EDN) kullanılarak üretilen ekmek örneklerinin kalite özellikleri incelenmiştir. Tip 4 EDN (Fibersym) ilave edilmiş unlarda yapılan miksograf analizinde, kontrol hamuru ile karşılaştırıldığında absorpsiyon değerlerinde çok az değişiklik olduğu, miksograf yoğurma sürelerinin ise arttığı belirlenmiştir. Tip 4 EDN ilave edilen ekmek hamurlarının daha yapışkan olduğu gözlenmiş ancak meydana gelen bu yapışkanlığın ikinci havalandırma ve şekil verme sırasında azaldığı görülmüştür (Yeo ve Seib, 2009).

Tip 4 EDN'nin (asetillenmiş retrograde nişasta) ekmek kalitesi üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada, EDN4 ilavesi yapılan ekmeklerin kontrol ekmeğine göre daha açık kabuk rengine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ekmek örneklerinin TDF içeriklerinin, artan EDN4 ilave seviyesi (%10, %20, %30 ve %40) ile arttığı ifade edilmiştir (Wojciechowicz ve ark., 2015).

Başka bir çalışmada ise farklı oranlarda (%5, %10, %15, %20 ve %25) Tip 4 EDN (fosfotlanmış çapraz bağlı) içeren ekmek üretimi gerçekleştirilmiştir. Artan EDN oranıyla ekmeklerin TDF içeriklerinde artış olduğu gözlenmiştir. Ekmeklerin hacim değerlerinde ise önemli bir farklılık bulunmadığı sadece %25 EDN ilaveli örneğin hacminin kontrol ekmeğine kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Miller ve Bianchi, 2017).

2.4.3.2. Enzime Dirençli Nişastanın Makarna Üretiminde Kullanımı

Makarna günlük beslenme düzeninde önemli bir gıda ürünü olarak yer almaktadır. Kolay hazırlanan, pişirilen ve depolanan bir gıda olması da makarna için iyi bir avantajdır. Makarnanın pişme süresi, su absorpsiyonu, tekstürü ve tadı gibi kalite özellikleri tüketiciler açısından son derece önemlidir. Makarnaya olan talebin sürekli

artması makarna kalitesini geliştirmek için daha fazla çalışma yapılması gerekliliğini ortaya koymuştur (Agama-Acevedo ve ark., 2009).

Makarna besinsel lif takviyesinin yapılabileceği en uygun gıdalardan biri olarak görölmektedir. Tüketicilerin doğrudan yeterli miktarda lif tüketememeleri ve besinsel liflerin obezite, tip 2 diyabet ve kilo yönetimi üzerinde olumlu etkiye sahip olmaları da makarnaya besinsel lif ilavesi yapılmasını desteklemektedir. Günlük beslenmede temel bir gıda olarak yer alması, büyük miktarlarda besinsel lif ilavesi yapılmasına da olanak sağlayacağı için bisküvi ve benzeri atıştırmalıklara göre daha iyi bir kaynak olarak görölmektedir (Agama-Acevedo ve ark., 2009; Rakhesh, Fellows ve Sissons, 2014).

Makarnaya kepek, inülin gibi farklı besinsel lif kaynaklarının ilavesi yapılarak duyuşal, teknolojik ve besinsel özelliklerinin incelendiği çok sayıda çalışma yapılmıştır (Rakhesh, Fellows ve Sissons, 2014). Ancak, özellikle kepek ve tam buğday ilaveli makarnaların renk, sertlik gibi kalite özelliklerinde bazı dezavantajlar meydana gelmesi tüketici tarafından kabul edilebilirliğini etkilemiştir (Bustos, Perez ve Leon, 2015). Buna karşın EDN'nin geleneksel lif kaynakları ile kıyaslandığında daha iyi görünüm ve tekstürel özelliklere sahip ürün üretimini sağladığı belirtilmiştir. Bunun yanında gıdanın duyuşal özellikleri üzerinde olumsuz yönde büyük bir değişime neden olmadan lif içeriğini arttırmasının teknolojik olarak avantaj sağladığı ifade edilmiştir (Gelencsér ve ark., 2008).

Formülasyonunda EDN ile kepek içeren makarna örnekleri üzerinde yapılan bir çalışmada, pişirme işlemi sonrası EDN içeren ürünün kepek içeren ürüne göre daha az yapışma özelliği ve pişme kaybı gösterdiği, sertliklerinin ise benzer özelliklerde olduğu belirtilmiştir (Sözer, Dalgıç ve Kaya, 2007). Makarna üretiminde nohut unu ilavesinin yapıldığı bir çalışmada ise makarnanın EDN miktarında artış olduğu gözlenmiştir. Artan EDN ile birlikte toplam nişasta miktarında ve tahmini glisemik indeks değerlerinde azalma olduğu belirtilmiştir (Agama-Acevedo ve ark., 2009).

Bir çalışmada makarnaya farklı oranlarda (%2.5, %5, %7.5, %10) Tip 2 ve Tip 4 yüksek amilozlu mısır nişastaları ilave edilmiştir. Tip 4 EDN ilave seviyesi arttıkça, makarnanın sertliğinin arttığı, ancak esneklik, yapışkanlık ve çiğnenebilirlik değerlerinin azaldığı ifade edilmiştir. %10 EDN4 ilave oranı makarnanın b* renk değerlerinde azalmaya, a* değerinde ise artışa neden olurken, L* değerinde istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca %5 ve %10 EDN4 ilave oranlarında makarnanın pişme kaybı değerlerinin kontrol örneğine göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (Bustos, Pérez ve León, 2011). Bir başka çalışmada %5 ve %10 EDN4 ilavesinin makarnanın pişme kaybında azalmaya, %15 EDN4 ilavesinin ise pişme kaybında artışa neden olduğunu belirtilmiştir (Makhlouf ve ark., 2019).

Yulaf kepeği, Tip 2 ve Tip 4 EDN'nin makarnanın teknolojik ve besinsel özellikleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, Tip 2 ve Tip 4 EDN'nin makarnanın pişme özelliklerine olumlu etki yaptığı, yulaf kepeğinin ise pişme kalitesini olumsuz yönde etkilediği belirtilmiştir (Bustos, Perez ve León, 2013).

2008 yılında farklı tip EDN (EDN2; Himaize™ 260, Hi-maize™ 1043 ve EDN4; Fibersym™ 70) içeriğinden oluşan EDN karışımının makarnanın kalite özellikleri üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışmada EDN ilavesinin makarnanın pişme özellikleri üzerinde olumsuz bir etkiye neden olmadığı belirtilmiştir (Gelencsér ve ark., 2008).

Ekmek örneklerinde Tip 4 EDN'nin kullanıldığı çalışmalarda hacim, tekstürel özellikler, renk parametreleri ve toplam besinsel lif içerikleri belirlenerek EDN4'ün bu değerler üzerindeki etkilerini incelenmiştir. Tip 4 EDN'nin makarna örneklerine ilave edildiği çalışmalarda ise pişme kalitesi, nişasta sindirilebilirliği ve renk değerleri belirlenmiş ve EDN4'ün belirtilen bu kalite ve besinsel özellikler üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu tez çalışmasında, ekmek örneklerinde tekstürel özellikler, renk değerleri, bayatlama durumu, makarna örneklerinde ise pişmemiş ve pişmiş makarna örneklerinde tekstür özellikleri, renk değerleri ve pişme kalitesi özellikleri belirlenerek Tip 4 EDN ilavesinin bu özellikler üzerindeki etkisi incelenmiştir. Ayrıca, literatürdeki

Çalışmalardan farklı olarak hem ekmek hem de makarna örneklerinde EDN4'n *in vitro* GI, safra asidi bağlama kapasitesi ve mineral biyoyararlanım değerleri üzerindeki etkisinin belirlendiği besinsel analizler yapılmıştır. Bunların dışında Tip 4 EDN'nin makarnanın tekstürel özelliklerine etkisi de belirlenmiştir. Ayrıca kepek ilave edilerek üretilen ekmek ve makarna örneklerinin kalitesi ile tekstürel ve besinsel özellikleri de incelenerek EDN4 ilaveli örneklerle kıyaslaması yapılmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu tez çalışması kapsamında kepek ve farklı oranlarda Tip 4 EDN (fosfodiester bağlarıyla çapraz bağlı buğday nişastasası) ilave edilerek ekmek ve makarna üretimi gerçekleştirilmiştir. Ekmek ve makarna üretiminde kullanılmak üzere, enzime dirençli nişasta ve kepek ilavesinin olumsuz etkisini tolere edecek özelliklerde un ve irmik seçimi yapılmıştır. Mineral madde biyoyararlanım analizi için örneklere Ca, Zn ve Fe ilavesi yapılmıştır. Mineral ilavesi yapılan örnekler sadece mineral biyoyararlanım analizinde kullanılmıştır Kullanılan hammaddelerin temin edildiği kuruluşlar Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Hammaddeler ve temin edildikleri kuruluşlar.

Hammaddeler	Kuruluş
Un	Bağışlar Un, Adana
Kepek	Ankara Halk Ekmek
İrmik	Nuh'un Ankara Makarna
Enzime Dirençli Nişasta	Demirpolat Tarım Ürünleri San. Tic.
Ca, Fe, Zn	UNMAŞ Unlu Mamüller San.ve Tic.

3.2. Metot

Ekmek ve makarna üretiminde kullanılacak olan un, irmik, Tip 4 EDN ve kepek örnekleri için aşağıda verilen fiziksel, kimyasal, fizikokimyasal ve reolojik analizler yapılmıştır. Ekmek ve makarna üretiminin ardından da örneklere ait bazı fiziksel, reolojik ve besinsel analizler gerçekleştirilmiştir.

3.2.1.Fiziksel Analizler

3.2.1.1. Renk Tayini

Makarna yapımında kullanılacak irmik örneğinde renk tayini, spektrofotometre (Minolta, CM-3600d, Japonya) kullanılarak yapılmıştır. Spektrofotometredeki okuma CIE L*a*b* renk sistemine göre yapılmıştır. Örneğin parlaklığı L* değeri ile gösterilmekte olup 0 değeri siyah, 100 değeri ise beyaz olduğu anlamına gelmektedir. Örnekteki kırmızı-yeşil renk göstergesi a* değeri ile ifade edilmekte, sarı-mavi renk göstergesi ise b* değeri ile ifade edilmektedir.

3.2.2. Kimyasal Analizler

3.2.2.1. Rutubet Tayini

Un, irmik, Tip 4 EDN ve kepek örneklerinin rutubet miktarı AACC Metot No: 44-15A (AACCI, 2009) ile belirlenmiştir.

3.2.2.2. Kül Tayini

Un, irmik ve Tip 4 EDN örneklerinde kül miktarı tayini AACC Metot No: 08-01 (AACCI, 2009)'e göre yapılmıştır.

3.2.2.3. Protein Tayini

Un ve irmik örneklerinin protein miktarı tayini, Dumas azot analiz cihazı ile (Velp Scientifica NDA-701, İtalya) AACC Metot No: 46-30 (AACCI, 2009)'a göre yapılmıştır.

3.2.3. Fizikokimyasal Analizler

3.2.3.1. Yaş / Kuru Gluten Miktarı ve Gluten İndeks Değerinin Belirlenmesi

İrmik örneği Perten 3100 laboratuvar değirmeninde (Perten Ins., Hudinge, İsveç) 0.5 mm elek açıklığında olan elekten öğütülmüştür. İnceltilmiş irmik ve un örneklerinde, yaş gluten ve gluten indeks değeri AACC Metot No: 38-12A (AACCI, 2009)'ya göre

belirlenmiştir. Gluten yıkama cihazında (Glutomatic System 2200, Huddinge İsveç) elde edilen yaş glutenin gluten indeks cihazında (Gluten Index, Huddinge, İsveç) santrifüjlenmesi ile gluten indeks değeri bulunmuştur. Yaş glutenin Gluten 2020 cihazında (Glutork, Huddinge, İsveç) kurutulup tartılmasıyla kuru gluten değeri bulunmuştur (Köksel ve ark., 2000; Özkaya ve Özkaya 2005).

3.2.3.2. Glutograf Analizi

Yaş gluten elde edildikten sonra Glutograf-E (Brabender, Almanya) cihazına konularak Glutograf elastikiyeti (relaxation) ve Glutograf direnci (stretch) değerleri belirlenmiştir (Anonim a, 2017).

3.2.3.3. SDS Sedimentasyon Değerinin Belirlenmesi

Makarna üretiminde kullanılan irmik örneğinin SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) sedimentasyon değeri Williams ve ark. (1988)'a göre belirlenmiştir.

Örnek, brom fenol mavisi çözeltisi ilavesi sonrasında 37 °C'de 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda laktik asit çözeltisi ilave edilmiştir. Çözelti ilavesinden sonra Williams ve ark. (1988) yöntemi kullanılarak analiz tamamlanmış ve beklemeli SDS sedimentasyon değeri belirlenmiştir.

3.2.3.4. Zeleny Sedimentasyon Değerinin Belirlenmesi

Ekmeklik un örneğinde Zeleny sedimentasyon değeri ICC Standart No.116/1 (ICC, 2008)'e göre belirlenmiştir. Un örneğinin beklemeli Zeleny sedimentasyon değeri ise Köksel ve ark. (2000) yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

3.2.4. Reolojik Analizler

3.2.4.1. Farinograf Özelliklerinin Belirlenmesi

Ekmek üretiminde kullanılacak un, un-EDN (%15, %20 ve %25) ve un-kepek (%15) karışımlarının Farinograf özellikleri, Farinograf-E cihazında (Brabender, Almanya) AACC Metot No: 54–21 (AACCI, 2009)'e göre belirlenmiştir.

3.2.4.2. Alveograf Özelliklerinin Belirlenmesi

Ekmek üretiminde kullanılacak un, un-EDN (%15, %20 ve %25) ve un-kepek (%15) karışımlarının Alveograf özellikleri, Alveograf cihazında (Chopin, Fransa) AACC Metot No: 54-30A (AACCI, 2009)'ya göre belirlenmiştir. Analiz sonunda aşağıdaki parametreler elde edilmiştir. P değeri, hava ile şişirilen hamuru patlatmak için gerekli olan maksimum basınç olarak ifade edilir ve hamurun direncini göstermektedir. L değeri, eğrinin uzunluğunu göstermektedir ve hamurun uzama kabiliyetini ifade etmektedir. W değeri, şişirilen hamurun patlaması için gerekli olan enerji miktarı olarak ifade edilmektedir ve grafikten hesaplanarak bulunmaktadır. G değeri ise şişme indeksi ya da kabarma indeksi olarak tanımlanır. Hamurun şişirilmesi için gerekli olan hava miktarı ile bağlantılı bir değerdir (Codina ve ark., 2011; Arslan, 2018).

3.3. Ekmek Üretimi ve Analizleri

Ekmek üretimi, doğrudan hamur yapma yöntemi ile AACC Metot No: 10-10B (AACCI, 2009)'ye göre yapılmış olup, metodun Öztürk, Köksel ve Ng (2009) tarafından modifiye edilmiş olan hali kullanılmıştır. Ekmek üretimi sırasında 100 g (%14 nem esasına göre) un, 25 mL tuz çözeltisi, 25 mL maya süspansiyonu kullanılmıştır. Hamur, Farinograf su absorpsiyon ve yoğurma süresi değerlerine göre yoğurucuda (Kitchenaid, ABD) hazırlanmıştır. Hamur yuvarlanıp fermentasyon kaplarında 30 dakika ve %85 bağıl nemde ilk fermentasyona bırakılmış, süre sonunda havalandırma işlemi uygulanarak 30 dakikalık ikinci fermentasyona bırakılmıştır. İkinci fermentasyon sonunda havalandırma işlemi yapılmış ve son şekli verilen hamur aynı koşullarda 55 dakikalık son fermentasyona bırakılmıştır. Fermentasyon sonunda ekmekler 230°C'de 25 dakika, laboratuvar tipi döner fırında (Şimşek Labortechnik, Türkiye) pişirilmiştir.

Ekmek formülasyonuna farklı oranlarda Tip 4 EDN (%15, %20 ve %25) ve kepek (%15) ilave edilerek ekmek üretimi gerçekleştirilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Ekmek ve Ekmek Çeşitleri Tebliği'ne göre kepekli ekmek en az %10, en fazla %30 oranında kepek içermelidir. Sektörde, kepekli ekmek üreten bazı firmalar %15 kepek ilave oranını kullanmaktadır. Hem sektörde bu oranın kullanılması hem de yüksek orandaki

kepeğin ekmek kalitesinde meydana getireceği olumsuz etkilerden dolayı bu çalışmada da %15 kepek ilave oranı seçilmiştir.

Mineral biyoyararlanım analizi yapılacak ekmek ve makarna örneklerinde bu mineraller çok düşük oranda bulunduğu için mineral biyoyararlanım değerlerini daha iyi belirleyebilmek amacıyla örnek formülasyonlarına Türk Gıda Kodeksi Etiketleme ve Tüketicileri Bilgilendirme Yönetmeliği'nde belirtilmiş olan minerallerin günlük alım değerlerine göre kalsiyum karbonat (Vitamins, Türkiye) ve demir-çinko karışımı (Vitamins, Türkiye) ilavesi yapılmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Mineraller İçin Günlük Referans Alım Değerleri (Anonim b, 2017).

Besin Ögesi	Beslenme Referans Değeri (mg/100g)*
Kalsiyum	800
Demir	14
Çinko	10

* Belirlenen değerler 4 yaş ve üzeri sağlıklı bireyler içindir.

3.3.1. Hacim Analizi

Piştirilen ekmekler oda sıcaklığında 2 saat bekletilerek soğuması sağlanmıştır. Soğuduktan sonra ekmeklerin hacimleri hacim ölçme cihazının haznesine konularak kolza tohumuyla yer değiştirme prensibine göre ölçülmüştür.

3.3.2. Renk Analizi

Ekmek örneklerde renk tayini, 3.2.1.1'de belirtildiği şekilde yapılmıştır. Örneklerin renk değerleri, kabuk kısmındaki 8 farklı bölgeden okuma yapılarak tespit edilmiştir.

3.3.3. Rutubet Tayini

Örneklerin rutubet miktarı liyofilizatörde kurutulduktan sonra 3.2.2.1'de verilen metoda göre belirlenmiştir.

3.3.4. Tekstür Analizi

Ekmek üretiminden sonra ekmekler oda koşullarında 2 saat bekletilerek plastik poşetler içine yerleştirilip analizler için muhafaza edilmiştir. Tekstür analizi için ekmekler 3 gün boyunca oda sıcaklığında plastik poşetler içinde bekletilmiştir. 0. gün, 1. gün ve 3. gün tekstür özellikleri belirlenmiştir. Ekmeklerin sertlik değerleri TA.XT Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems, İngiltere) cihazı kullanılarak AACC Metot No: 74-09 (AACCI, 2009)' a göre belirlenmiş, analizde 30 mm çapında silindirik alüminyum prob kullanılmıştır. Sertlik analizi için, örnekler 12.5 mm kalınlıkta dilimlenerek cihaz tablasına iki dilim ekmek üst üste olacak şekilde yerleştirilmiştir. Proben, iki dilim ekmeği %40 oranında sıkıştırması için gerekli olan kuvvet (sertliği) N cinsinden ekmeklerin sertlik değerleri olarak belirtilmiştir.

3.4. Makarna Üretimi ve Analizleri

3.4.1. Makarna Üretimi

Makarna üretimi D'Egidio ve ark. (1982) tarafından belirtilen yöntemle göre 2 paralel olarak yapılmıştır. Ön yoğurucuya alınan irmiğe, denemelerle belirlenen oranlarda (%31-33) su ilave edilerek 15 dakika yoğurma işlemi uygulanmıştır. Elde edilen hamur makarna presine (Namad, İtalya) alınarak 500 mgHg vakum ve 45 °C başlık sıcaklığında 1.7 mm kalınlıkta spagetti tipi makarna üretilmiştir. Başlıktan çıkan spagetti makarnalar askılara alınarak 40 °C' ye ayarlanmış kurutma kabine (Namad, İtalya) yerleştirilerek rutubet değerleri %12' ye düşene kadar kurutulmuştur. Kurutulan makarnalar plastik torbalara konularak analizleri yapılana kadar oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Makarna formülasyonuna farklı oranlarda Tip 4 EDN (%15, %20 ve %25) ve kepek (%15) ilave edilerek makarna üretimi gerçekleştirilmiştir. Farklı oranlarda ilave edilen EDN ve kepek örneğinin irmik ile homojen bir karışım oluşturması için hem ön yoğurucuya konulmadan hem de ön yoğurucuya konulup su ilavesi yapılmadan karışması sağlanmıştır.

Makarna üretim sektöründe kepekli makarnanın genellikle %15 kepek ilavesi ile yapılıyor olması bu çalışmada belirleyici kriter olmuştur. Bu oranın sektörde yaygın olarak kullanılmasının yanında kepek ilave oranının daha fazla arttırılması ürün kalitesi ve tekstüründe olumsuz etkiye sebep olabileceği düşünülerek, bu tez kapsamında kepekli makarna üretiminde %15 kepek ilave oranı kullanılmıştır. Makarna örneklerinin *in vitro* mineral biyoyararlanımını belirlemek için makarna formülasyonuna 3.3'te belirtildiği şekilde Ca, Fe ve Zn ilavesi yapılmıştır.

3.4.2. Renk Tayini

Üretimi yapılan makarna örneklerinde renk tayini, 3.2.1.1'de belirtildiği şekilde yapılmıştır. Örnekler uygun boyutlara getirilerek örnek küvetini tam doldurulacak şekilde yerleştirilmiş ve haznedeki 6 farklı noktadan okuma yapılmıştır.

3.4.3. Rutubet Tayini

Örneklerin rutubet miktarı pişirilip liyofilize edildikten sonra 3.2.2.1'de verilen metoda göre belirlenmiştir.

3.4.4. Pişme Süresinin Belirlenmesi

Makarnanın pişme süresi, nişastanın tamamen jelatinize olması için gerekli olan süre olarak tanımlanmaktadır. Örneklerin pişme süreleri AACC Metot No: 66-50 (AACCI, 2009)'ye göre belirlenmiştir.

3.4.5. Tekstür Analizleri

3.4.5.1. Pişmemiş Makarnada Tekstür Analizi

Pişmemiş makarnaların tekstür özellikleri (bükülme testi) TA.XT Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems, İngiltere) cihazı ile AACC Metot No: 16-50 (AACCI, 2009)'ye göre belirlenmiştir. Bükülme testi için, makarna örnekleri 20 cm uzunluğunda kesilmiş ve A/SFR Flexure donanımı kullanılmıştır. Uygun uzunlukta kesilen makarnalar cihazdaki iki tabla arasına, tablaların merkezinde bulunan deliğe gelecek

şekilde yerleştirilmiştir. Üstte bulunan tablanın aşağı yönlü hareket etmesiyle makarna örnekleri kırılmıştır. Analiz için cihazda 5 kg'lık yük hücresi kullanılmıştır. Cihaz başlığının test öncesi hızı 0.5 mm/s, test hızı 2.5 mm/s, test sonrası hızı ise 10 mm/s'dir. Analiz sonunda makarnaların kırılması için gerekli kuvvet (g) ve kırılma mesafesi (mm) belirlenmiştir. Bükülme testi donanımı Şekil 3.1'de görülmektedir.



Şekil 3.1. Bükülme Testi Donanımı.

3.4.5.2. Pişmiş Makarnada Tekstür Analizleri

Optimum sürede pişirilmiş makarna örneklerinin tekstür özellikleri (sertlik ve yapışkanlık testi) TA.XT Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems, İngiltere) cihazı ile AACC Metot No: 16-50 (AACCI, 2009)'ye göre belirlenmiştir. Tekstür cihazı 5 kg'lık yük hücresine göre kalibre edilerek analizler yapılmıştır. Yapışkanlık testi için HDP/PFS Pasta firmness/stickiness donanımı kullanılmıştır. Pişirilen ve analiz için 8 dakika bekletilen makarna örnekleri cihazın alt tablasına 5 tanesi yan yana olacak

şekilde dizilmiştir. Makarnaların boyları, cihaz tablasına göre ayarlanmıştır. Dikdörtgen plaka şeklindeki cihaz başlığı, 0.5 mm/s hızla hareket edip makarnalar üzerine 2 sn süreyle 1000 g kuvvet uygulamıştır (Şekil 3.2). Plakanın makarnaların yüzeyinden ayrılması için gerekli olan maksimum kuvvet (g), yapışkanlık değeri olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.2.Yapışkanlık Testi Donanımı.

Sertlik testi için ise cihazın A/LKB-F Cooked Pasta Quality Firmness donanımı kullanılmıştır. 5 cm uzunluğa getirilmiş makarna örnekleri pişirilmiş ve buhner hunisinden süzülerek 1 dakika oda sıcaklığındaki su içinde bekletilmiştir. Bekleme süresi sonunda buhner hunisinden ikinci kez süzülerek analize başlamak için uygun hale getirilmiştir. Cihaz tablasına 2 adet makarna yerleştirilerek test hızı 0.17 mm/sn olan cihaz bıçağı ile kesme işlemi yapılmıştır (Şekil 3.3). Örneklerin kesilmesi için gerekli olan kuvvet, sertlik değeri (g.cm) olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.3.Sertlik Testi Donanımı.

3.4.6. Toplam Organik Madde (TOM) Analizi

Toplam organik madde (TOM) analizi, makarnanın pişirilip daha sonra yıkanması ve bu yıkama suyuna geçen organik madde miktarının titrasyon yöntemi ile bulunması prensibine dayanmaktadır. Makarna (100 g) kaynamakta olan 1 L su içinde optimum sürede pişirilmiştir. Süre sonunda makarnalar süzölmüş ve 5 dakika dinlendirilmiştir. 5 dakikanın sonunda 500 mL su içinde her 4 dakikada bir karıştırılarak 12 dakika bekletilmiştir. Sürenin bitiminde yıkama suyundan 5 mL alınarak 80 °C'de 2 saat etüvde bekletilerek suyun uzaklaşması sağlanmıştır. Süre sonunda 10 mL 1N potasyum dikromat, 20 mL %96'lık sülfürik asit ilave edilip 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 200 mL su ve 1 mL %0.5'lik difenilamin ilave edilerek 0.5 N $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ ile titre

edilmiştir. TOM değeri, 100 g örnekten suya geçen nişasta miktarı olarak aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (D'Egidio ve ark., 1982; Köksel ve ark., 2000).

$$\text{TOM} = \left(\frac{S-H}{H} \right) \times 20 \times 3.75 \times 100 \times 0.9 \times 1.0283 \quad (\text{Eşitlik 3.1})$$

Ş: Şahit için kullanılan 0.5 N $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ hacmi (mL)

H: Örnek için kullanılan 0.5 N $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ hacmi (mL)

20: 10mL $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ çözeltisine karşılık gelen $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ hacmi (mL)

3.75: 1 mL 0.5 N $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ 'a karşılık gelen glukoz miktarı (mg)

0.9: Glukozu nişastaya dönüştürme faktörü

1.0283: Nişastanın oksidasyona uğramayan kısmı için (%97.25) düzeltme faktörü

Farklı TOM değerlerinin ifade ettiği makarna özelliklerine ait bilgiler Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. TOM Sonuçlarının Değerlendirilmesi.

TOM Değeri (g/100g)	Makarna Özelliği
<1.4	Çok iyi kaliteli
1.4 – 2.1	İyi kaliteli
>2.1	Düşük kaliteli

3.4.7. Pişme Sırasında Suyu Geçen Madde Miktarı (Pişme Kaybı) Analizi

Pişirme işlemi, suyun düzenli olarak kaynamasını sağlayacak şekilde ayarlanmış olan kum banyosunda gerçekleştirilmiştir. Makarnada pişme kaybı analizi için 25 gram makarna kaynamış olan 250 mL suyun içine ilave edilmiştir. Makarna örnekleri optimum pişme sürelerine göre pişirildikten sonra süzülüp süzüntü alınarak darası bilinen beherlere aktarılmıştır. Beher 98 °C'de etüvde sabit ağırlığa gelene kadar suyu

uzaklaştırılmıştır. Suyun uzaklaştırılmasından sonra tartım yapılmış ve makarnada suya geçen madde miktarı aşağıda verilen eşitliğe göre hesaplanmıştır (Köksel ve ark., 2000).

$$\text{Pişme Kaybı (\%)} = \frac{G \times 4}{100 - R} * 100 \quad (\text{Eşitlik 3.2})$$

G: Beherde kalan madde miktarı

R: Rutubet

3.4.8. Pişme Sırasında Ağırlık Artışı (Su Absorpsiyonu) Analizi

Su absorpsiyon analizi için 25 g spagetti örneği pişirilmiştir. Pişirilen makarnaların suyu süzülerek 5 dakika bekletilmiş ve tartılmıştır. Spagetti örneklerinin su absorpsiyonu, örnekler tarafından absorbe edilen su miktarının pişmemiş spagetti örneklerinin ağırlığına oranı olarak tanımlanmaktadır. Bu değer % olarak verilmiştir (Özderen ve ark., 2008).

3.5. Ekmek ve Makarnanın Besinsel Özelliklerinin Analizleri

Üretimi yapılan ekmek ve makarna örneklerinde fiziksel, kimyasal, reolojik analizler yapıldıktan sonra toplam besinsel lif miktarı (TDF: Total Dietary Fiber), *in vitro* glisemik indeks (GI; *in vitro* Glycemic Index), *in vitro* safra asidi bağlama kapasitesi ve *in vitro* mineral biyoyararlanım değerleri belirlenmiştir.

Ekmek örnekleri, üretim günü ve üretim sonrasındaki depolama günleri sonunda, makarna örnekleri ise pişirildikten sonra liyofilizatörde kurutulmuş ve öğütülmüştür. Öğütülen örnekler besinsel analizler için hava almayacak şekilde muhafaza edilerek buzdolabında depolanmıştır.

3.5.1. Toplam Besinsel Lif Analizi

Öğütülen örneklerin toplam besinsel lif miktarı, AACC Metot No. 32–07.01 (AACCI, 2009)'e göre toplam besinsel lif kiti (Megazyme Int., İrlanda) kullanılarak enzimatik ve gravimetrik olarak belirlenmiştir.

Tüplere 1 g örnek tartılarak üzerine 40 mL MES-TRIS tampon çözeltisi (pH 8.2) ilave edilmiştir. 50 µL termo-stabil α-amilaz enzimi (Megazyme Int. İrlanda) ilave edilerek karıştırılmış ve 95 °C'de su banyosunda 35 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında tüpler 60 °C'ye kadar soğutulmuş ve 100 µL proteaz enzimi (Megazyme Int. İrlanda) ilave edilerek çalkalamalı su banyosunda 60 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Süre sonunda 5 mL 0.561 N HCl ve 200 µL amiloglukozidaz enzimi (Megazyme Int. İrlanda) ilave edilerek aynı koşullarda tekrar 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Örneklerin TDF değerlerini belirlemek için tüpteki örnekler inkübasyon sonrası erlenlere aktarılmış ve üzerlerine 56 mL %95'lik etil alkol ilavesi yapılarak 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Süre sonunda örnekler, sabit tartıma getirilmiş ve selit (Megazyme Int. İrlanda) içeren krozelerden %78 etanol, %95 etanol ve aseton ile yıkama yapılarak süzölmüştür. Süzme işlemi sonunda krozeler 105 °C'de 1 gece etüvde bekletilmiştir. Analiz sonuçları % (g TDF/100 g kuru madde) olarak belirtilmiştir.

3.5.2. *In vitro* Glisemik İndeks Tayini

In vitro glisemik indeks tayini için ilk olarak ekmek ve makarna örneklerinin sindirimi gerçekleştirilmiştir. Sindirim Englyst, Veenstra ve Hudson, (1996) tarafından belirtilen metoda göre gerçekleştirilmiştir. 100 mg örnek 50 mL'lik tüplere tartılmış ve her bir tüpe 10 adet cam boncuk (5 mm çap) ilave edilmiştir. Pepsin (5 mg/mL, Sigma, P7000) içeren 2 mL HCl (0.05 M) tüplere ilave edilerek çalkalamalı su banyosunda 37 °C'de 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Ardından her bir tüpe sodyum asetat tamponu (4 mL, 0.5 M, pH 5.2), 0.104 g pankreatin (Sigma, P7545) ve 14.45 U amiloglukosidaz (3300 U/mL, Megazyme Int., İrlanda) içeren enzim solüsyonundan 1 mL ilave edilmiştir. Tüpler 37 °C'deki çalkalamalı su banyosuna konularak inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 0 ve 90. dakikalarında 100 µL örnek alınarak içerisinde 1 mL mutlak etanol bulunan Eppendorf tüplerine konulmuştur. Çözeltiler 800 *xg*'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve

süpernatanttaki glukoz içeriği glukozoksidaz-peroksidaz (GOPOD, Megazyme Int., İrlanda) kullanılarak spektrofotometre cihazı (Shimadzu 1601, Japonya) ile 510 nm’de okuma yapılarak belirlenmiştir. Örneklerdeki toplam nişasta hidrolizi aşağıda verilen eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam Hidroliz (\%)} = \left[\frac{\left(\text{Serbest Hale Geçen Glukoz Miktarı} \times \frac{160}{182} \right)}{\text{Toplam Nişasta Ağırlığı}} \right] \times 100 \quad (\text{Eşitlik 3.3})$$

In vitro sindirim kinetiği Goñi, Garcia-Alonso ve Saura-Calixto, (1997) tarafından ortaya konulan lineer olmayan model ile açıklanmaktadır. Örneklerin toplam nişasta hidrolizi (%) zamana karşı grafiğe geçirilerek hidroliz eğrisinin alandan hesaplanmıştır. Hidroliz indeksi (HI), örneklerdeki nişasta sindirim hızının referans materyal olarak seçilen beyaz ekmekteki nişasta sindirilebilirliğine oranı olarak belirtilmiştir. HI değeri aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{HI} = \frac{\text{Örneğe ait eğrinin altında kalan alan}}{\text{Referansa (Beyaz ekmeğe) ait eğrinin altında kalan alan}} \quad (\text{Eşitlik 3.4})$$

GI değeri ise Goñi, Garcia-Alonso ve Saura-Calixto, (1997) tarafından verilen aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{GI} = 39.71 + 0.549 \times \text{HI} \quad (\text{Eşitlik 3.5})$$

3.5.3. Safra Asidi Bağlama Kapasitesi Analizi

Örneklerdeki safra asidi (BA: Bile Acid) bağlama kapasitesi analizi modifiye edilmiş Zacherl, Eisner ve Engel, (2011) metoduna göre yapılmıştır. Bu amaçla 50 mg örnek tüplere tartılmış ve 1:2 oranında su ilave edilip vortekste karıştırılmıştır. Karıştırma işleminden sonra oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiştir. Sindirim simülasyonunun ilk basamağı için 1 mL HCl (0.01 N) ilave edilerek 37 °C’de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası ikinci basamak sindirim için 0.1 mL NaOH (0.1 N, pH 6.3) ve 1 mL pankreatin-safra asidi karışımı (w:w, 1:9.4) ilave edilmiştir. Safra asidi olarak sodyum taurodeoksikolathidrat (TDC) kullanılmıştır. Karışımın ilavesi sonrası

tekrar 37 °C’de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sırasında her 15 dakikada bir kez 10 saniye süreyle karıştırma işlemi uygulanmıştır. İnkübasyon sonrasında örnekler alınarak 21700 *xg* hızında 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında süpernatant alınıp kaynar su banyosunda 5 dakika inkübasyona bırakılmış ve sindirimi sonlandırmak için enzim inaktivasyonu sağlanmıştır. Enzim inaktivasyonu sonunda soğuması sağlanan süpernatanttan 200 µL alınarak içinde 200 µL metanol bulunan tüplere aktarılmış ve 1 dakika boyunca vortekste karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi sonunda 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiş, ardından 1200 µL KH₂PO₄ (5 mM) ilavesi yapılmıştır.

Örnekler 0.45 µm gözenek büyüklüğündeki şırınga ucu filtrelerden geçirilerek yüksek performans sıvı kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) enjeksiyonu için hazır hale getirilmiştir. HPLC’de yapılan BA bağlama kapasitesi analizi için C18 kolonu, mobil faz olarak metanol-fosfat-deionize su karışımı (v:v:v, 70:20:10) kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda BA çözeltileri hazırlanıp HPLC’de okumalar yapılarak kalibrasyon kurvesi çizilmiştir. Bu kalibrasyon kurvesi ile bir denklem elde edilmiştir. Analiz için 20 µL örnek 0.8 mL/dk akış hızında 40 °C sıcaklıkta sisteme enjekte edilmiştir. Örneklerdeki okuma 200 nm dalga boyunda Diode Array Dedector (DAD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizde selüloz negatif kontrol, kolestramin ise pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

HPLC’deki analiz sonunda elde edilen grafikte pik değeri altında kalan alan, örnek tarafından bağlanamamış BA miktarını (serbest BA miktarı) vermektedir. Bu değer, örneğe ilave edilen toplam BA miktarından çıkarılarak örneğin BA bağlama kapasitesi değeri bulunmuştur. BA bağlama kapasitesi 2 farklı şekilde, µmol/100g ve kolestramine göre % olarak ifade edilmiştir.

3.5.4. Mineral Madde Biyoyararlanımı Analizi

Örneklerin mineral madde biyoyararlanımı değeri, sindirim sonrasında örnekte kalan mineral madde miktarının örnekteki toplam mineral madde miktarına oranı olarak ifade edilmiştir. Örneklerin enzimatik sindirimi Suliburska ve Krejpcio, (2014)’ya göre

yapılmıştır. Mineral madde biyoyararlanımı analizi için kontrol örneği, %15 EDN ve %15 kepek içeren örnekler kullanılmıştır.

Örnek (10 g) tartılmış ve üzerine 100 mL deionize su ilave edilerek vorteks ile karıştırılmıştır. Karışım 0.1 N HCl ilavesi ile pH 2.0'ye ayarlanmıştır. pH ayarından sonra 0.5 mL pepsin solüsyonu (0.5 mL/100 mL) ilave edilmiştir. Örnekler 37 °C'de çalkamalı su banyosunda 2 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında %6'lık NaHCO₃ ile pH 6.8–7.0 aralığına ayarlanmış ve pankreatin solüsyonu (10 mL/40 mL) ilave edilmiştir. Daha sonra 37 °C'de çalkamalı su banyosunda 4 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Sürenin sonunda 15100 xg hızında 20 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda 25 mL süpernatant alınıp teflon tüplere konulmuştur. Tüplerin içerisine 7 mL HNO₃ ilave edilerek basınçlı kapalı sistem mikrodalga fırında (MARS-5 CEM, ABD) örnekler yakılmıştır. Yakma işlemi sonunda örnekler külsüz filtre kağıdından 100 mL'lik balon jodelere süzölmüştür. Süzme işleminin ardından Ca analizi için balon jodelerin içerisine 1 mL LaCl₃ (%0.1, w/v) ilave edilmiş ve deionize su ile hacim çizgisine tamamlanmıştır. Sindirim sonrasında örneklerdeki Ca, Fe ve Zn konsantrasyonları atomik absorpsiyon spektrofotometresinde (AAS) (Thermo Scientific, ABD) belirlenmiştir.

Örneklerin sindirim öncesi Ca, Fe ve Zn konsantrasyonlarının belirlenmesi için ise 1 g örnek Teflon tüplere konularak 7 mL HNO₃ ile yakılmıştır. Yakma işlemi sonrasında bu minerallerin konsantrasyonu AAS ile belirlenmiştir.

3.6. İstatistiksel Analizler

Analiz sonuçları SPSS 20 istatistik programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar arasındaki farklar önemli bulunduğunda (p<0.05) DUNCAN testi kullanılarak karşılaştırma yapılmıştır. Tüm örnekler 2 tekerrürlü olarak üretilmiştir. Analizler her bir tekerrür için en az 2 paralel olacak şekilde yürütölerek istatistiksel değerdirmesi yapılmıştır.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Fiziksel, Kimyasal ve Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

Çalışmada ekmek ve makarna üretiminde kullanılan un, kepek, irmik ve EDN örneklerine ait fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Un örneğinin rutubet, kül ve protein miktarları sırasıyla; %13.9, %0.50 ve %13.6 (N x 5.7) olarak bulunmuştur. Türk Gıda Kodeksi Buğday Unu Tebliği’ne göre özel amaçlı buğday ununun rutubet miktarı en fazla %14.5, protein miktarı en az %7.0 olmalıdır (Anonim, 2013). Tebliğde verilen değerlere göre, çalışmada kullanılan un örneğinin rutubet ve protein değerlerinin istenilen değer aralığında olduğu görülmektedir. İrmik örneklerinin rutubet, kül ve protein miktarları ise sırasıyla %12.8, %0.93 ve %13.3 (N x 5.7) olarak bulunmuştur. Türk Gıda Kodeksi İrmik Tebliği’ne göre irmikte rutubet miktarının en çok %14.5, kül miktarının en çok %1.0 ve protein miktarının ise en az %10.5 olması gerekmektedir (Anonim, 2002). Çalışmada kullanılan irmiğe ait rutubet, kül ve protein miktarı tebliğde olması istenen değer aralıklarındadır.

Çizelge 4.1. Fiziksel ve Kimyasal Analiz Sonuçları.

Örnek	Rutubet (%)	Kül (%)*	Renk			Protein (%)*
			L*	a*	b*	
İrmik	12.8	0.93	91.14	2.61	25.10	13.3
Un	13.9	0.50	92.47	0.38	8.21	13.6
EDN	5.4	0.05	95.79	-0.22	1.82	-
Kepek	9.5	5.50	71.72	5.68	15.43	-

Çizelge 4.1’de verilen irmik renk değerleri incelendiğinde renk değerlerinin literatürde bulunan değerlerle uyumlu olduğu görülmektedir. Genel olarak, b* renk değerinin 21 ve üzerinde olması irmik renginin iyi olduğunu göstermektedir (Ünsal-Canay, 2018; Arslan, 2018). Parlak sarı renk irmik ve makarna için istenilen bir özelliktir ve en önemli kalite parametrelerinden biridir (Kaplan-Evlice ve Özkaya 2011). Makarna üretiminde kullanılan irmik örneğinin arzu edilen renk değerlerine sahip olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.2’de un ve irmik örneklerine ait fizikokimyasal analiz sonuçları verilmiştir. Un örneğine ait değerler incelendiğinde yaş gluten değerinin %37.1 olarak tespit edildiği görülmektedir. Gluten proteinleri, hamurun kabarması ve elastikiyeti açısından ekmeklik unlar için önemli bir bileşendir. Yaş gluten değerinin %28’in üzerinde olması, iyi kalitede hamur elde edilmesine olanak sağlamaktadır (Egesel ve ark., 2009). Bu bilgiler doğrultusunda kullanılan unun yaş gluten miktarının, kaliteli ekmek üretimi sağlayacak seviyede olduğu söylenebilir. Un örneğinin kuru gluten değeri %10.7 olarak belirlenmiştir. Bir tez çalışmasında, farklı ekmeklik unlarda yapılan gluten tayini sonucunda kuru gluten içerik değerleri %10.67-13.00 aralığında belirlenmiştir (Karakoç 2007). Bu tez çalışmasında kullanılan un örneğinin kuru gluten değerinin literatürde verilen değer aralığında olduğu görülmektedir. Un örneğinin gluten indeks değeri ise %92.0 olarak tespit edilmiştir. Gluten indeksi, gluten ve hamur kalitesi ile ilgili bilgi veren bir değerdir (Elgün ve ark., 2011). Gluten indeksinin %30’un altında bir değerde olması gluten kalitesinin zayıf, %30-80 aralığında olması gluten kalitesinin normal ve %80’in üzerinde bir değerde olması ise gluten kalitesinin yüksek olduğunu göstermektedir (Oikonomou ve ark., 2015). Bu sınıflandırmaya göre tez çalışmasında kullanılan un örneği gluten kalitesi yüksek örnek grubunda değerlendirilmektedir.

İrmik örneğinin yaş gluten değeri %41.1, kuru gluten değeri %12.2, gluten indeks değeri %64.0 olarak bulunmuştur. Bir çalışmada 2 farklı irmik çeşidinin yaş gluten içeriği %9.3 ve %8.5, gluten indeks değerleri ise %47.12 ve %37.32 olarak belirlenmiştir (Fanari ve ark., 2019). Bir başka çalışmada farklı irmik çeşitlerinin yaş gluten değerlerinin %27.66-33.26 arasında, kuru gluten değerlerinin ise %8.03-12.83 arasında değişiklik gösterdiği belirtilmiştir (Tawfeuk ve Gomaa, 2017). Farklı bir

çalışmada da 3 farklı irmik örneğinin yaş gluten değerleri %28.1, 28.8 ve 30.7; kuru gluten değerleri %9.4, 9.4 ve 9.7; gluten indeks değerlerinin %32, 87 ve 91 olduğu belirtilmiştir (Bagulho ve ark., 2016). Tez çalışmasında kullanılan irmik örneğinin yaş gluten değerinin literatürde verilen değerlerden biraz daha yüksek olduğu, kuru gluten değerinin her ne kadar bazı çalışmalarda elde edilen sonuçlardan yüksek olsa da genel olarak literatür ile uyumlu olduğu, gluten indeks değerinin ise literatürdeki değerler ile farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Bu farklılık muhtemelen EDN ve kepek ilavesinin olumsuz etkisini tolere edebilecek özellikte, yüksek kalitede bir irmik örneğinin seçilmesinden kaynaklı olabilir.

Un örneğinin sedimentasyon testi sonuçlarına göre, Zeleny sedimentasyon değeri 42 mL, beklemeli Zeleny sedimentasyon değeri ise 62 mL olarak belirlenmiştir. Farklı ticari unlarda sedimentasyon değerlerinin incelendiği bir çalışmada Zeleny sedimentasyon değerleri 22-47 mL, modifiye Zeleny sedimentasyon değerleri 22-68 mL arasında tespit edilmiştir (Acar, 2012). Çalışmamızda bulunan değerler, literatürde verilmiş olan bu değerler ile benzerlik göstermektedir. Zeleny sedimentasyon değeri unun protein kalitesi hakkında bilgi vermektedir. Unun gluten miktarının fazla ve kalitesinin yüksek olması Zeleny sedimentasyon değerinin daha yüksek çıkmasına neden olmaktadır (Menderis ve ark., 2008). Tez çalışmasında kullanılan un örneğinin Zeleny sedimentasyon değerinin yüksek olması da bu sonucu desteklemektedir.

Çizelge 4.2. Fizikokimyasal Analiz Sonuçları.

Örnek	Yaş Gluten (%)	Kuru Gluten (%)	Gluten İndeksi (%)	Direnç (sn)*	Elastikiyet (BU)*	Sedimentasyon (mL)**	Beklemeli Sedimentasyon (mL)
Un	37.1	10.7	92.0	125	428	42	61
İrmik	41.1	12.2	64.0	125	354	24	24

*Direnç, Glutograf direncini (stretch), elastikiyet ise Glutograf elastikiyetini (relaxation) ifade etmektedir.

**Un örneği için Zeleny Sedimentasyon, irmik örneği için SDS Sedimentasyon değeridir.

İrmik örneğinde yapılan sedimentasyon testi sonucunda SDS ve beklemeli SDS sedimentasyon değerlerinin her ikisi de 24 mL olarak tespit edilmiştir. Bir tez çalışmasında farklı durum buğdaylarından elde edilen irmik örneklerinde yapılan sedimentasyon analizinde SDS sedimentasyon değerleri 9-26 mL aralığında tespit edilmiştir (Ünsal-Canay, 2018). Bu çalışmada kullanılan irmiğe ait sedimentasyon değerinin literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Ekmek ve makarna örneklerinin üretiminde kullanılmak üzere seçilen un ve irmik örneklerinin genel olarak iyi kalitede, protein oranı ve gluten kalitesi yüksek örnekler olduğu görülmektedir. Ayrıca seçilen bu örneklerin, EDN ve kepek ilavesinin meydana getireceği düşünülen olumsuz etkileri de tolere edebilecek kalitede olduğu düşünülmektedir.

4.2. Reolojik Analiz Sonuçları

Ekmek üretiminde kullanılan un örneklerine farklı oranlarda EDN (%15, %20 ve %25) ve kepek (%15) ilavesi yapılarak Farinograf ve Alveograf özellikleri incelenmiştir. Örneklere ait Farinograf özellikleri Çizelge 4.3'te, Alveograf özellikleri ise Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Un örneklerine ait Farinograf sonuçları incelendiğinde EDN ilave oranının artmasıyla su absorpsiyon değerlerinde artış görülmektedir. Kontrol örneğine göre meydana gelen bu artış, %15 ve %20 EDN içeren örnekler için fazla olmamakla birlikte %25 EDN oranındaki örnekte diğerlerine göre daha fazladır. %15 kepek içeren örnekte de %25 EDN oranındaki artışa benzer bir artış görülmektedir. Hamurun gelişme süresinde, artan EDN ilavesiyle birlikte büyük bir azalma görülmektedir. Kepek içeren örnekteki gelişme süresi kontrol örneğine göre düşüş gösterse de EDN içeren örneklere göre bu düşüş daha azdır. Hamur stabilitesi EDN ve kepek ilavesiyle azalmış, yumuşama derecesi ise artmıştır. Öztürk, Köksel ve Ng (2009) tarafından yapılan çalışmada buğday ununa farklı oranlarda (%10, %20 ve %30) Tip 2 EDN (HylonVII) ve Tip 3 EDN (Novelose330 ve CrystaLean) ilave edilerek Farinograf özellikleri ve üretilen ekmeklerin kalite özellikleri belirlenmiştir. Kullanılan her 3 EDN'nin artan oranlarda

ilavesinin su absorpsiyonunu arttırdığı, hamurun gelişme süresini azalttığı tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada da buğday ununa farklı oranlarda (%10, %20 ve %30) Tip 4 EDN ilavesi (Fibersym™70) yapılmış ve Farinograf özellikleri incelenmiştir. Örneklere ait gelişme süreleri incelendiğinde %10 EDN ilavesinde kontrol grubuna göre bir değişiklik olmazken %20 ve %30 ilave oranında hamurun gelişme süresinin azaldığı tespit edilmiştir. Literatürde verilmiş olan bu sonuçlar yaptığımız çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Çizelge 4.3. Farklı oranlarda enzime dirençli nişasta ve kepek ilavesi yapılan unların Farinograf özellikleri.

Örnek	Su Absorpsiyonu (%)	Hamurun Gelişme Süresi (dk)	Stabilite (dk)	Yumuşama Derecesi (12. dk. BU)
K	61.10	8.15	20.14	29
EDN15	62.30	2.11	14.28	38
EDN20	64.00	1.50	14.17	37
EDN25	66.50	1.34	11.57	41
KP15	65.40	8.04	12.08	35

K; Kontrol unu, EDN15; %15 EDN içeren un, EDN20; %20 EDN içeren un, EDN25; %25 EDN içeren un, KP15; %15 kepek içeren un

Farklı bir çalışmada da EDN (yüksek amilozlu mısır nişastası) ilavesinin, unun su absorpsiyonunu arttırdığı ifade edilmiştir. Bu çalışmada, farklı hidrokolloidler ve besinsel liflerin, yapılarındaki fazla sayıdaki hidroksil grubu nedeniyle ilave edildikleri un örneklerinde su absorpsiyonunu arttırdığı belirtilmiştir. Bu etkinin, EDN gibi polisakkaritlerin su absorpsiyon kapasitelerinin yüksek olması ve hamur içinde diğer bileşenlerle su için rekabet edebilme yetenekleri ile ilişkili olduğu da ifade edilmektedir (Mohebbi ve ark., 2018). Tez çalışmasında EDN ilavesinin su absorpsiyonunu arttırması da bu bilgiler ile desteklenmektedir. EDN ve kepek ilavesiyle hamur stabilitesi ve gelişme süresindeki azalmanın da, bu bileşenlerin unun yapısını zayıflatması nedeniyle

meydana geldiği söylenebilir. Çünkü hamur stabilitesi ve gelişme süresinin yüksek olması kuvvetli ve dayanıklılığı yüksek olan bir hamur elde edilmesi anlamına gelmektedir (Wang, Rosell ve Benedito de Barber, 2002).

Çizelge 4.4'te verilen Alveograf özellikleri incelendiğinde EDN ilavesinin P, L, W ve G değerlerinde azalmaya neden olduğu görülmektedir. Kepek ilavesi ise L, W ve G değerleri için EDN ile aynı etkiyi gösterirken, P değerinde artışa neden olmuştur. P değeri, hamurun elastikiyete karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanmaktadır (Ngure, 2016). EDN ilavesi ile P değerinin azalması, EDN'nin gluten yapısını zayıflatarak daha yumuşak bir hamur elde edilmesini sağlaması ve bu sebeple elastikiyete karşı gösterdiği direncin azalması olarak ifade edilebilir. Kepek ilavesi ise P değerinde artışa neden olmuştur. Charalampopoulos ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada lif yapısının protein ile etkileşiminden kaynaklı olarak P değerinde artış meydana geldiği ifade edilmiştir. Kepeğin yüksek su absorpsiyon kapasitesine sahip olması ve gluten yapısının gelişimini engelleyerek hamurun genişleyemeyecek kadar sert olmasına neden olduğu ifade edilmektedir (Li ve ark., 2014). Bu tez çalışmasında kepek ilavesinin P değerini arttırması da bu durum ile açıklanabilir.

Hamurun uzayabilirliğini gösteren L değeri, EDN ve kepek ilavesi ile azalmaktadır. L değeri aynı zamanda şişirilen hamurun patlaması için gerekli olan süreyi ifade etmektedir (Tanacs, 2007). EDN ve kepek ilavesinin, gluten yapısını zayıflatıp gelişimini sınırlandırarak, şişirilen hamurun patlaması için gerekli olan süreyi ve hamurun uzayabilirliğini azaltmış olabileceği düşünülmektedir. W değeri hamurun şişirilerek patlama noktasına gelmesi için gerekli olan enerji olarak gösterilmektedir (Boros ve ark., 2009). W değeri artan EDN ilave oranı ve kepek ilavesi ile azalmıştır. Bir unun W değerinin yüksek olması kuvvetli bir un olduğu anlamına gelmektedir. EDN ve kepek ilavesi unun yapısını zayıflattığı için kontrol un örneğine göre daha düşük W değerlerine neden olmuştur. G değeri, hamurun uzayabilirliğini ölçer ve balonun patlaması için gerekli olan hava hacminin karekökü olarak tanımlanmaktadır (Bayram ve Korkut, 2018). Kepek ve EDN ilavesi G değerinde azalmaya neden olurken en düşük G değeri kepek ilaveli örnekte belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı oranlarda enzime dirençli nişasta ve kepek ilavesi yapılan unların Alveograf özellikleri.

Örnek	P (mm)	L (mm)	W(10^4 joule)	G (mm)
K	107	95	365	19,1
EDN15	99	67	272	17,0
EDN20	95	57	221	15,2
EDN25	89	48	178	13,8
KP15	156	26	140	8,9

K; Kontrol unu, EDN15; %15 EDN içeren un, EDN 20; %20 EDN içeren un, EDN 25; %25 EDN içeren un, KP15; %15 kepek içeren un

4.3. Ekmek Üretimi ve Analiz Sonuçları

Çalışmada farklı oranlarda EDN (%15, %20 ve %25) ve kepek (%15) ilavesi yapılarak ekmek üretimi gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.1). Ekmekler oda koşullarında depolanarak belirlenen günlerde (0. gün, 1. gün ve 3. gün) tekstür analizi yapılmıştır. Tekstür analizi ile ekmek örneklerinde sertlik değerleri belirlenmiştir. Ekmek örneklerinde, tekstür analizinin yanında hacim, renk (Çizelge 4.5) ve rutubet analizleri (Çizelge 4.6) de yapılmıştır. Ekmeklerdeki rutubet analizi, depolama günlerinin sonunda örnekler liyofilizatörde kurutulduktan sonra yapılmıştır.



Şekil 4.1. Enzime Dirençli Nişasta ve Kepek İlavesi ile Üretimi Yapılan Ekmek Örnekleri.

Çizelge 4.5'te ekmek örneklerinin hacimleri, kabuk renk değerleri ve tekstür özellikleri (sertlik değerleri) verilmiştir. Ekmek örneklerinin hacimleri incelendiğinde en yüksek hacmin kontrol ekmeğine (658 cm^3) ait olduğu görülmektedir. EDN ve kepek ilavesinin ekmek hacminde önemli bir azalmaya neden olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). Artan oranlarda EDN ilavesi, ekmek hacminde azalmaya neden olmuştur. Bu azalma, %15 EDN ve %20 EDN ilaveli örnekler arasında istatistiksel olarak önemli değilken %25 EDN ilave oranında meydana gelen azalma önemlidir ($p < 0.05$). Farklı çalışmalarda EDN ilavesinin gluten yapısını zayıflattığı ve ekmek hacminde azalmaya neden olduğu görülmektedir (Öztürk, Köksel ve Ng, 2009; Rosell, Santos ve Collar, 2010). Farklı oranlarda Tip 4 EDN (Fibersym™70) ilavesinin hamur ve ekmek kalitesine etkisinin incelendiği bir çalışmada ise, %10 EDN ilavesinin örnek hacmini kontrol örneğine göre önemli oranda azaltmadığı, %20 ve %30 ilave oranlarının örnek hacminde önemli bir azalmaya ($p < 0.05$) neden olduğu bildirilmiştir (Shyu ve ark., 2018). Bu tez çalışmasındaki sonuçlar da literatürdeki verileri destekler niteliktedir. Tüm EDN ilave oranlarındaki ekmek hacmi, kontrol örneği hacmine göre daha düşük olsa da bu ekmeklerin hacim değerleri kabul edilebilir seviyededir. En düşük ekmek hacminin ise %15 kepek ilaveli ekmek örneğine ait olduğu belirlenmiştir. Ekmekler arasındaki bu hacim farkı kepek ilaveli ve EDN ilavesinin tüm oranlarındaki ekmekler için istatistiksel

olarak önemlidir ($p < 0.05$). Yüksek lif içeriğine sahip ekmeklerin daha düşük ekmek hacimli, daha koyu renkli olması gibi bazı negatif özelliklere sahip olduğu ve bu durumdan kaynaklı olarak da enzime dirençli nişasta kullanımının daha önemli hale gelmesini sağlamıştır (Šárka ve ark., 2017). Çalışmada elde edilen kepek ilavesi ve EDN ilavesi arasındaki farklılıklar da bu ifadeyi destekler niteliktedir.

Ekmek örneklerinin kabuk kısmından renk ölçümleri yapılarak L^* , a^* ve b^* değerleri belirlenmiştir. Artan EDN ilave oranının L^* ve b^* renk değerlerinde artışa neden olduğu görülmüştür. Buna karşın kepek ilavesinin kontrol örneğine göre L^* ve b^* değerlerinde azalmaya neden olduğu görülmüştür. Ekmek örneklerinin kabuğunda a^* renk değerlerinin hem EDN hem de kepek ilavesi ile azaldığı tespit edilmiştir. Kepeğin renk değerlerine bakıldığında L^* , a^* , b^* renk değerlerinin sırasıyla, 71.72, 5.68 ve 15.43 olduğu, EDN'nin renk değerlerinin ise 95.79, -0.22 ve 1.82 olduğu görülmektedir. Ekmek örneklerinin kabuk rengi arasındaki farklılığın bu durumdan kaynaklı olduğu düşünülmektedir

Çalışmada bulunan sonuçlar Barros ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Belirtilen bu çalışmada, yüksek EDN konsantrasyonunun daha yüksek L^* ve daha düşük a^* renk değerine neden olduğu belirtilmiştir. 2 farklı EDN'nin (asetilenmiş nişasta ve Hi-maize®) hamur ve ekmek kalite özelliklerine etkisinin incelendiği bir çalışmada da EDN ilavesinin daha açık kabuk rengi meydana getirdiği görülmüştür (Šárka ve ark., 2017). Başka bir çalışmada da benzer şekilde EDN ilavesinin L^* renk değerlerinde artışa neden olduğu ancak a^* ve b^* renk değerlerinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Maillard reaksiyonu, pişirme işlemi sırasında kabukta esmerleşmeye neden olmaktadır. Daha açık kabuk rengi oluşumu da EDN ilavesi ile unda protein ve indirgen şekerlerin seyrelmesi ile açıklanabilir (Altuna, Ribotta ve Tadini, 2015).

Çizelge 4.5. Farklı oranlarda enzime dirençli nişasta ve kepek ilavesi yapılan ekmeklerin hacim ve kalite özellikleri.

Örnek	Hacim (cm ³)	Kabuk Rengi			Sertlik (g)		
		L*	a*	b*	0. Gün	1. Gün	3. Gün
KE	658 ^a	45.67 ^d	15.67 ^a	26.00 ^c	55.00 ^{eC}	116.00 ^{eB}	182.67 ^{eA}
EDNE15	638 ^b	54.33 ^c	14.00 ^b	27.67 ^b	66.67 ^{dC}	133.33 ^{dB}	227.00 ^{dA}
EDNE20	630 ^b	56.33 ^b	13.33 ^b	28.67 ^{ab}	94.00 ^{cC}	154.67 ^{cB}	243.00 ^{cA}
EDNE25	613 ^c	61.33 ^a	12.33 ^c	30.00 ^a	111.33 ^{bC}	179.33 ^{bB}	268.33 ^{bA}
KPE15	478 ^d	43.67 ^e	12.33 ^c	22.33 ^d	146.33 ^{aC}	207.67 ^{aB}	326.00 ^{aA}

KE; Kontrol ekme, EDNE15; %15 EDN içeren ekme, EDNE20; %20 EDN içeren ekme, EDNE25; %25 EDN içeren ekme, KPE15; %15 kepek içeren ekme

^{a-e}Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalama değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır. (p<0.05)

^{A-C}Aynı satırda farklı harflerle işaretlenmiş ortalama değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır. (p<0.05)

Oda koşullarında depolanan ekmeklerde (0. gün, 1. gün ve 3. gün) tekstür analizi yapılarak sertlik değerleri belirlenmiştir. Kepek ilaveli ekmeğin sertlik değeri, EDN ilaveli ekmeklerin (%15, %20 ve %25) sertlik değerlerinden daha yüksektir. Artan EDN ilavesinin örneklerin sertlik değerlerinde artışa neden olduğu görülmüştür. Örneklerin sertlik değerleri arasındaki bu farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05). Benzer sonuçlar başka bir çalışmada farklı oranlarda (%10, %20 ve %30) Tip 3 EDN ilavesi yapılan ekme örneklerinde de tespit edilmiştir. Çalışmada %10'un üzerindeki EDN ilavesinde sertlik değerlerinde artış olduğu belirtilmiştir (Öztürk, Köksel ve Ng, 2009). Farklı bir çalışmada da EDN ilavesi yapılan ekme örneklerinin tekstür özellikleri incelenmiş ve %20 EDN ilaveli ekme örneğindeki sertlik değeri kontrol örneğinin ve %10 EDN ilaveli örneğin sertlik değerlerinden istatistiksel olarak önemli farklılığa sahip olduğu görülmüştür (Shyu ve ark., 2018). Bir başka çalışmada farklı oranlarda (%10, %15 ve %20) Tip 2 EDN'nin ekme özelliklerine etkisi

incelenmiş ve EDN'nin sertlik değerlerinde artışa neden olduğu görülmüştür. %10 EDN ilaveli örnek, kontrol ve %15 EDN ilaveli örneklerden istatistiksel olarak farklı değilken, %20 EDN içeren örnek ile diğer örneklerin (%0 ve %10 EDN) istatistiksel olarak birbirlerinden farklı olduğu belirtilmiştir ($p<0.05$) (Barros ve ark., 2018). Tez çalışmasında bulunan sonuçların literatürdeki bu verilerle genel olarak uyumlu olduğu görülmektedir. Her bir depolama gününde EDN ilavesinin sertlik değerlerinde artışa neden olduğu ve kepek ilaveli örneğin en yüksek sertlik değerine sahip olduğu görülmüştür. Bu artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Tüm ekme örneklerinin sertlik değerleri depolama süresi boyunca (1. ve 3. gün) artmış, bu artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Sonuçlar, kepek ilaveli ekme örneklerinin bayatlama hızının EDN ilaveli örneklere göre daha fazla olduğunu göstermektedir. Enzime dirençli nişastanın, amilopektinin retrogradasyon hızını azalttığı ya da sistemde etkisiz bir bileşen olarak davrandığı belirtilmiştir (Sanz-Penella ve ark., 2010; Almeida, Chang ve Steel, 2013).

Bu çalışmada kullanılan Tip 4 EDN yüksek oranda çapraz bağlıdır ve büyük bir olasılıkla pişirme işlemi sırasında nişasta molekülleri ekmekteki granüllerden dışarıya sızmayacaktır. Bu durum, yüksek oranda çapraz bağlanmadan dolayı nişasta moleküllerinin birbiri ile etkileşime girme ve retrograde olmak için yeterli hareketliliğe sahip olmaması ile de ifade edilebilir. Bu nedenlerden dolayı EDN ilaveli ekmeklerin retrogradasyon seviyesinin yani bayatlama hızının daha sınırlı olması beklenir. Tüm bu nedenler de EDN ilaveli ekme örneklerinin kepek ilaveli örneklere göre daha yavaş bayatlama hızına sahip olmasının nedenleri olarak gösterilebilir.

4.4. Makarna Üretimi ve Analiz Sonuçları

Makarna üretimi farklı oranlarda EDN ve kepek ilavesi yapılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.2). Makarna örneklerinde renk (Çizelge 4.6), rutubet, makarna yüzeyindeki toplam organik madde miktarı (TOM), pişme kaybı, su absorpsiyonu (Çizelge 4.7), optimum pişme süresi, ve bazı tekstür özellikleri belirlenmiştir. Tekstür özellikleri pişmemiş makarnada bükülme değeri, pişmiş makarnada yapışkanlık ve sertlik değerleri tespit edilerek belirlenmiştir (Çizelge 4.8). Makarna örneklerinde rutubet analizi,

optimum pişme süresine göre pişirildikten hemen sonra bekletmeden dondurulup daha sonra liyofilizatörde kurutulması sonrasında yapılmıştır.



Şekil 4.2. Enzime Dirençli Nişasta ve Kepek İlavesi ile Üretimi Yapılan Makarna Örnekleri.

Farklı oranlarda EDN (%0, %15, %20 ve %25) ilavesi yapılan makarna örneklerinin optimum pişme süreleri 13.0 dk, 12.0 dk, 12.5 dk ve 12.8 dk, kepek ilaveli örneğin optimum pişme süresi ise 14.0 dk olarak belirlenmiştir. EDN ilavesi, makarna optimum pişme süresini az da olsa kısaltırken kepek ilavesi optimum pişme süresini arttırmıştır. Artan EDN ilavesiyle makarna örneklerinin optimum pişme süresinin arttığı görülmüştür. Bir çalışmada farklı oranlarda Tip 2 EDN (%10, %20 ve %50) ve Tip 3 EDN (%10 ve %20) ilave edilen makarna örneklerinin optimum pişme süreleri belirlenmiştir. Kontrol makarna örneğinin pişme süresinin 14.0 dk, %10 ve 50 Tip 2 EDN içeren makarnaların sırasıyla 13.0 dk ve 13.5 dk, %10 ve %20 Tip 3 EDN içeren makarnaların ise 13.0 dk ve 12.5 dk olduğu belirtilmiştir. EDN ilavesinin, makarnaların optimum pişme sürelerinde azalmaya neden olduğu belirtilmiştir (Aravind ve ark., 2013). Bir başka çalışmada da Tip 2 ve Tip 3 EDN ilavesinin, makarnaların optimum

pişme süresini azalttığı ifade edilmiştir (Rakhash, Fellows ve Sissons, 2014). Tez çalışmasında belirlenen makarna örneklerine ait optimum pişme sürelerinin literatürde verilen değerler ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.6'da makarna örneklerine ait L*, a* ve b* renk değerleri verilmiştir. Kontrol makarna örneğinin L*, a* ve b* değerleri sırasıyla 54.04, 2.12 ve 16.12 olarak belirlenmiştir. EDN ilavesinin, makarnanın L* renk değerinde artışa ve b* değerinde azalmaya neden olduğu görülmektedir. L* ve b* değerlerindeki bu değişimler istatistiksel olarak önemli değildir. EDN değerinin a* değerinde azalmaya neden olduğu ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). Kepek ilaveli makarna örneği ile EDN ilaveli makarna örnekleri arasındaki renk farklılığının esas olarak EDN (L*, a*, b*; 95.79, -0.22, 1.82) ve kepeğin (L*, a*, b*; 71.72, 5.68, 15.43) renk değerlerinden kaynaklı olduğu görülmektedir.

Farklı oranlarda Tip 4 EDN ilavesi (%2.5, %5, %7.5 ve %10) yapılarak makarna üretimin gerçekleştirildiği bir çalışmada %10 EDN ilavesinin L* ve b* değerlerinde azalmaya, a* değerinde ise artışa neden olduğu belirtilmiştir (Bustos, Perez ve Leon, 2011). Tez çalışmasında belirlenen b* değerlerindeki değişiminin literatürde verilen bu çalışmadaki değerler ile benzerlik gösterdiği, diğer renk değerlerindeki değişimlerin ise literatür verileri ile uyumlu olmadığı görülmektedir. Bir başka çalışmada Tip 2 EDN ilavesiyle (%10, %20 ve %50) üretilen makarna örneklerinde %10 ve %20 ilave oranlarında L* değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmezken, b* değerlerinde azalma olduğu ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu belirtilmiştir. %50 EDN ilavesinin, makarna örneğinin L* değerinde artışa, b* değerinde de azalmaya neden olduğu ve bu değişimlerin istatistiksel olarak önemli olduğu ifade edilmiştir (Aravind ve ark., 2013).

Kepek ilavesinin L* değerinde azalmaya, a* değerinde artışa neden olduğu ve bu değişimin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir. Kaur ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada kontrol makarna örneğinin L*, a* ve b* değerlerinin sırasıyla; 59.7, 3.52 ve 17.6, %15 kepek ilavesi yapılarak üretilen makarna örneğinin

L*, a* ve b* değerlerinin ise sırasıyla; 51.2, 5.74 ve 14.9 olarak belirlendiği ifade edilmiştir. Sonuçlar, bu tez çalışmasındaki değerlerle karşılaştırıldığında, kontrol makarna örneğinin renk değerlerinin yakın olduğu, kepekli makarnadaki L* ve a* değerlerinin uyumlu olduğu, b* değerinin ise daha yüksek olduğu görülmektedir. Makarna örneklerin b* renk değerleri incelendiğinde, EDN ve kepek ilavesinin bu renk değerinde azalmaya neden olduğu görülmektedir. Ancak bu azalma EDN ilaveli örnekler için istatistiksel olarak önemli değilken, kepek ilaveli örneklerde bu azalma önemlidir (p<0.05).

Pişme kalitesi ve tekstürel özelliklerin yanında makarnanın renk değerleri de makarna kalitesi için önemli parametrelerden biridir. Makarnanın parlak, sarı renkte olması tüketiciler tarafından daha fazla arzu edilmektedir (Debbouz ve ark., 1995; Biernacka ve ark., 2018) ve bu sarı renk, irmikte bulunan karetenoidlerin degradasyonu sonucunda oluşmaktadır (Mirhosseini ve ark., 2015). Makarna örnekleri içinde en koyu renkli olanı, diğer bir ifadeyle en düşük L* ve en yüksek a* değerine sahip olan makarnanın kepek ilaveli makarna olduğu görülmüştür. Bu durumda EDN ilavesinin kepek ilavesine göre daha iyi renk özelliklerine sahip makarna üretimi gerçekleştirdiği söylenebilir.

Çizelge 4.6. Makarna örneklerinin renk değerleri.

Örnek	Renk Değerleri		
	L*	a*	b*
KS	54.04 ^a	2.12 ^a	16.12 ^a
EDNS15	56.14 ^a	1.37 ^b	15.15 ^a
EDNS20	57.00 ^a	1.27 ^b	14.92 ^a
EDNS25	58.59 ^a	1.20 ^b	14.66 ^a
KPS15	48.32 ^b	4.74 ^c	7.60 ^b

KS; Kontrol makarna, EDNS15; %15 EDN içeren makarna, EDNS20; %20 EDN içeren makarna, EDNS25; %25 EDN içeren makarna, KPS15; %15 kepek içeren makarna

^{a-c} Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalama değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır. (p<0.05)

Çizelge 4.7’de makarna örneklerine ait makarna yüzeyindeki toplam organik madde miktarı (TOM), pişme kaybı ve su absorpsiyon değerleri verilmiştir. EDN ilavesi ile makarna örneklerinin TOM değerleri önemli ölçüde artmıştır ($p<0.05$). En yüksek TOM değeri %25 EDN ilaveli makarna örneğinde tespit edilmiştir. Kepek ilaveli makarna örneğinin TOM değeri, aynı seviyede EDN ilavesi yapılmış makarna örneğinden daha yüksektir. Artan EDN ilave oranıyla birlikte örneklerin TOM değerlerinde de önemli bir artış görülmüştür ($p<0.05$). D’Egidio ve ark. (1982) tarafından yapılan makarnaların kalite sınıflandırmasına göre; TOM değeri %1.4’ten düşük olan örnekler çok iyi kaliteli makarna, %1.4-2.1 arasında olanlar iyi kaliteli makarna ve %2.1’den daha yüksek olanlar düşük kaliteli makarna olarak değerlendirilmektedir. Bu sınıflandırmaya göre TOM değeri %1.15 olan kontrol örneği çok iyi kaliteli olarak değerlendirilmektedir. %15 EDN, %20 EDN ve %15 kepek içeren makarnalar TOM değerlerine (%1.56, %1.67 ve %1.74, sırasıyla) göre iyi kaliteli makarna olarak değerlendirilmektedir. %25 EDN içeren makarna örneği (%2.21) ise düşük kaliteli makarna olarak değerlendirilmektedir.

Çizelge 4.7. Farklı oranlarda enzime dirençli nişasta ve kepek ilavesi yapılan makarnaların kalite özellikleri.

Örnek	TOM (%)	Pişme Kaybı (%)	Su Absorpsiyonu (%)
KS	1.15 ^e	5.95 ^e	179.97 ^a
EDNS15	1.56 ^d	6.13 ^d	154.97 ^b
EDNS20	1.74 ^b	6.39 ^c	150.63 ^{bc}
EDNS25	2.21 ^a	6.55 ^b	147.18 ^c
KPS15	1.67 ^c	8.01 ^a	151.70 ^{bc}

KS; Kontrol makarna, EDNS15; %15 EDN içeren makarna, EDNS20; %20 EDN içeren makarna, EDNS25; %25 EDN içeren makarna, KPS15; %15 kepek içeren makarna

^{a-e} Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalama değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır. ($p<0.05$)

Makarna örneklerinin pişme kaybı değerleri, EDN ve kepek ilavesi ile önemli ölçüde artmıştır ($p<0.05$). Kepek ilaveli makarna örneği, en yüksek pişme kaybı değerine (%8.01) sahiptir. Makarna örneklerinin pişme kaybı değerlerine göre yapılan bir sınıflandırmada, %6'nın altındaki pişme kaybı değerine sahip makarnalar yüksek kaliteli, %6-8 arasında değere sahip makarnalar orta kaliteli, %10 ve üzerinde pişme kaybı değerine sahip makarnalar düşük kaliteli olarak değerlendirilmektedir (Sato ve ark., 2019). Bir başka değerlendirmede de makarnanın kabul edilebilir en yüksek pişme kaybı değerinin %8 olduğu bildirilmiştir (Grzybowski ve Donnelly, 1979). Pişme kaybı değerlerine göre EDN ilaveli tüm örnekler orta kaliteli makarna olarak sınıflandırılmaktadır. Bir çalışmada farklı tip EDN (Tip 2 EDN; Himaize™260 ve Himaize™1043, Tip 4 EDN; Fibersym™70) içeriğinden oluşan EDN karışımı ilavesiyle üretilen makarna örneklerinin kalite özellikleri incelenmiş ve kontrol örneğinin pişme kaybı %5.2, %10 ve %20 EDN ilave oranlarındaki örneklerin ait pişme kaybının %5.7-6.1 aralığında olduğu bildirilmiştir (Gelencsér ve ark., 2008). Bu sonuçların, tez çalışmasındaki makarna örneklerine ait pişme kaybı değerleri ile uyumlu olduğu görülmektedir. Makarnada pişme kaybının yüksek olması protein-nişasta yapısının zayıflatılması ya da bozulması ile ilgili olduğu açıklanmaktadır (Izydorczyk ve ark., 2005). EDN ve kepek ilavesinin makarna yapısında neden olduğu bu bozulma, EDN ve kepek ilaveli örneklerin pişme kaybı değerlerinin kontrol örneği değerine göre daha yüksek olmasına neden olmuştur. Farklı besinsel lif kaynaklarının makarnanın pişme kalitesine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada %5, %10 ve %20 oranında Tip 4 EDN (Hi-maize) kullanılarak ekstrüzyon yöntemi ile makarna üretilmiştir. %5 ve %10 EDN ilave oranlarının, pişme kaybı değerlerinin (%9.3 ve %12.4, sırasıyla) kontrol grubuna (%14.2) göre azalmaya neden olduğu, %15 ilave (%16.7) oranında ise artış olduğu belirtilmiştir. Ayrıca %15'den fazla EDN ilavesinin son ürün kalitesinde önemli bir düşüşe yol açacağı düşünüldüğünden bu orandan fazlasının makarna formülasyonuna ilave edilmemesi gerektiği söylenmektedir (Makhlouf ve ark., 2019). Benzer şekilde başka bir çalışmada da %5 ve %10 Tip 4 EDN ilaveli örneklerin kontrol örneğine göre daha düşük pişme kaybı değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir (Bustos, Perez ve Leon, 2011). Bu tez çalışmasının sonuçları, Makhlouf ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmadaki %15 EDN ilave oranındaki örnek sonucuyla uyumlu olsa da aynı zamanda çalışmada belirtilen ifadeyi de çürütür niteliktedir. Bu tez çalışması, %20 ve %25 EDN ilave oranlarındaki örneklerin pişme kaybı değerleri, %15 EDN ilaveli örnekten fazla

olsa da tüm EDN ilave oranlarındaki orta kaliteli makarna olarak sınıflandırıldığını ve %15'in üzerindeki ilave oranının makarna formülasyonuna uygulanabilir olduğunu göstermektedir.

Örneklere ait su absorpsiyon değerleri incelendiğinde EDN ve kepek ilavesinin örneklerin su absorpsiyonunu önemli ölçüde azalttığı görülmektedir ($p < 0.05$). En düşük su absorpsiyon değeri %25 EDN ilaveli örneğe ait olsa da %20 EDN ve kepek ilaveli örnekler ile arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamaktadır ($p < 0.05$). Bir çalışmada EDN ilavesi yapılan makarna örneklerinin su absorpsiyon değerleri kontrol örneğine göre azalsa da bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirtilmiştir (Gelencsér ve ark., 2008). Bir diğer çalışmada da EDN ilavesinin su absorpsiyonunu azalttığı, bu azalmanın %10 EDN ilave oranındaki örneklerde istatistiksel olarak önemli olmadığı, %20 ve %50 ilave oranlarındaki azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu belirtilmiştir (Aravind ve ark., 2013). Farklı bir çalışmada ise Tip 2 EDN ve Tip 4 EDN ilavesinin (%2.5, %5.0, %7.5 ve %10) su absorpsiyonunu azalttığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu bildirilmiştir (Bustos, Perez ve Leon, 2011). Vernaza ve ark. (2012)'nin yaptığı çalışmada da EDN ilavesinin su absorpsiyonunu azalttığını bildirilmiştir. Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar literatürde verilen bu çalışmalara ait sonuçlar ile genel olarak uyumludur.

Çizelge 4.8'de pişmemiş ve pişmiş makarna örneklerine ait tekstür özellikleri verilmiştir. Pişmemiş makarnaların bükülme değerleri, pişmiş makarnaların sertlik ve yapışkanlık değerleri belirlenmiştir. Pişmemiş makarnalarda yapılan bükülme testinde kırılma kuvveti ve kırılma mesafesi ölçülmüştür. Örneklere ait kırılma kuvveti, EDN ilave oranı arttıkça önemli ölçüde azalmıştır ($p < 0.05$). En düşük kırılma kuvveti (31.43 g) %25 EDN ilaveli makarna örneğinde tespit edilmiştir. Kepek ilavesi de kırılma kuvvetinin azalmasına neden olmuştur. Bu farklılık %20 EDN ilaveli örnek dışındaki tüm örnekler için istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$). Örneklerin kırılma mesafesi değerleri de kırılma kuvvetine benzer şekilde bir değişim göstermiştir. Besinsel lif ilavesinin, muhtemelen makarna yapısındaki protein-nişasta matriksinin sürekliliğini

bozduğu, bu nedenle de kontrol makarna örneğine göre bükülme değerlerinde azalmaya neden olduğu ifade edilmektedir (Tudorică, Kuri ve Brennan, 2002).

Pişmiş makarnalarda yapışkanlık değerleri EDN ve kepek ilavesi ile önemli ölçüde artmıştır. Pişmemiş makarnada yapılan bükülme testi değerlerine benzer şekilde %20 EDN ilaveli örnek ile kepek ilaveli örnek arasında istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmezken bu iki örneğe ait yapışkanlık değeri %25 EDN içeren makarna örneğinden daha düşüktür. Bir çalışmada yüksek kaliteli makarnanın iyi tekstür özelliklerine, yüksek yüzey bozulma direncine, düşük TOM değerine sahip olduğu ve yüzey yapışkanlığında artış göstermeyen özellikte olduğu belirtilmiştir (Liu, Shepherd ve Rathjen, 1996). Bu tez çalışmasında, örneklerin yapışkanlık değerlerinin TOM değerleri ile yüksek korelasyona sahip olduğu görülmüştür ($p<0.001$, $r=0.953$). İrmik proteinlerinin disülfid, hidrojen ve hidrofobik bağlarla birbirine bağlanarak bir matriks oluşturduğu ve bu matriksin pişmiş makarnadaki viskoelastik özellikleri sağladığı ifade edilmektedir. Bu matriksin devamlılığı ve kuvveti molekül içi ve moleküller arası bağların yapısına bağlı olduğu belirtilmiştir. Pişirme işlemi sırasında bu matriksin yavaş yavaş dağıldığı, nişasta jelatinizasyonu sırasında yapıdan bazı sızıntıların olduğu ve bunun da makarna yüzeyinde yapışkanlığı arttırdığı açıklanmıştır (Tudorică, Kuri ve Brennan, 2002).

EDN ve kepek ilavesinin pişmiş makarnanın sertlik değerlerinde önemli bir azalmaya neden olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Artan EDN ilave oranıyla sertlik değerinde bir azalma olduğu belirlenmiştir. En düşük sertlik değeri de kepek ilaveli makarna örneğine aittir. Bir çalışmada %10 ve %20 Tip 2 EDN ilavesinin pişmiş makarnanın sertlik ve yapışkanlık değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir farka neden olmadığı bildirilmiştir (Aravind ve ark., 2013). Başka bir çalışmada ise olgunlaşmamış muzdan elde edilen nişasta EDN kaynağı olarak makarna formülasyonuna %5, %10, %15 ve %20 oranlarında ilave edilmiştir. Pişmiş makarna örneklerinde yapılan tekstür analizinde sertlik değerinin artan EDN oranıyla azaldığı belirtilmiştir (Hernández-Nava ve ark., 2009). Dexter ve Matsuo (1980) makarnanın sertlik değerinin gluten içeriği ile ilişkili olduğunu belirtmiştir. Bu tez çalışmasındaki EDN ve kepek ilaveli örneklerin sertlik değerlerindeki düşüş bu şekilde açıklanabilir.

Çizelge 4.8. Farklı oranlarda enzime dirençli nişasta ve kepek ilavesi yapılan makarnaların tekstür özellikleri.

Örnek	Bükülme		Yapışkanlık (g)	Sertlik (g.cm)
	Kırılma Kuvveti (g)	Kırılma Mesafesi (mm)		
KS	44.80 ^a	37.42 ^a	67.07 ^d	10.59 ^a
EDNS15	36.44 ^b	28.35 ^b	91.58 ^c	9.09 ^b
EDNS20	33.93 ^c	26.29 ^c	103.22 ^b	7.50 ^c
EDNS25	31.43 ^d	20.44 ^d	116.02 ^a	6.74 ^d
KPS15	34.04 ^c	25.14 ^c	102.60 ^b	5.77 ^e

KS; Kontrol makarna, EDNS15; %15 EDN içeren makarna, EDNS20; %20 EDN içeren makarna, EDNS25; %25 EDN içeren makarna, KPS15; %15 kepek içeren makarna

^{a-e} Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalama değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır. (p<0.05)

Pişmiş makarnanın sertlik ve yapışkanlık özellikleri de dahil tüm tekstür özellikleri tüketici beğenisi açısından oldukça önemli olduğu belirtilmektedir. Ayrıca iyi kaliteli bir makarnanın yüksek sertlik ve esnekliğe sahip olması gerektiği bildirilmiştir (Dhiraj ve Prabhasankar, 2013). Bu tez çalışmasında da EDN ilaveli örnekler kepek ilaveli örneklerle karşılaştırıldığında daha yüksek sertlik değerlerine sahip olduğundan daha iyi makarna kalitesinde olduğu söylenebilir.

4.5. Besinsel Analiz Sonuçları

Üretimi yapılan ekme ve spagetti örneklerinin toplam besinsel lif, *in vitro* glisemik indeks, *in vitro* safra asidi bağlama kapasitesi ve *in vitro* mineral biyoyararlanım analizleri yapılmıştır. *In vitro* glisemik indeks ve safra asidi bağlama kapasitesi analizleri ekme örnekleri için depolama günleri sonrasında yapılmıştır. Mineral biyoyararlanım analizinde hem ekme hem de makarna örnekleri için kontrol, %15 EDN ve %15 kepek içeren örneklerin sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.9’da ekmek örneklerine ait TDF ve *in vitro* GI değerleri verilmiştir. Kontrol ekmeğinin TDF içeriği %7.0 olarak bulunmuştur. EDN ilavesi, ekmek örneklerinin TDF içeriğini önemli ölçüde arttırmıştır ($p<0.05$) ve %25 EDN ilaveli ekmek örneğinin TDF içeriği %30.6 olarak belirlenmiştir. Kepek ilaveli ekmek örneğinin TDF içeriği de kontrol örneğine göre artmıştır. Ancak aynı seviyede EDN ilaveli ekmek örneği ile karşılaştırıldığında TDF içeriğinin daha düşük olduğu görülmektedir. Örneklerin her depolama günündeki TDF değerlerindeki değişim benzer eğilim göstermektedir. 1. gün TDF değerleri 0. gün örneklerine göre azalmış, 3. gün TDF değerleri için ise artmıştır. Ancak günler arasındaki bu farklılığın anlamlı olmadığı görülmüştür. Bir çalışmada Tip 4 EDN ilavesi yapılmış bir ekmek türünde (scone) EDN ilavesinin besinsel lif içeriğini arttırdığı belirtilmiştir (Stewart ve ark., 2018). Barros ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada EDN ilavesinin ekmek kalitesini olumsuz bir şekilde etkilemeden besinsel lif içeriğini iyileştirebileceği belirtilmiştir. Literatürdeki çalışmalardan elde edilen sonuçlar bu tez çalışmasındaki sonuçları destekler niteliktedir.

Ekmek örneklerine ait *in vitro* GI değerleri incelendiğinde EDN ilavesinin GI değerlerinde büyük bir azalmaya neden olduğu görülmektedir. EDN ve kepek ilaveli ekmek örneklerinin GI değerleri kontrol örneğinden daha düşük değerlere sahiptir. EDN ilaveli ekmek örneklerinin GI değerleri 57.4-83.9 arasında değişmektedir. Kepek ilaveli ekmek örneklerinin GI değerleri (90.0-92.1) ise EDN ilaveli örneklere göre nispeten daha yüksektir. GI değerlerine göre gıdalar GI değeri düşük, orta ve yüksek olarak sınıflandırılmaktadır. GI değeri düşük gıda 55 ve altında, orta olan gıda 56-69 aralığında, yüksek olan gıda ise 70 ve üzerindeki değerlere sahiptir (Kumar ve ark., 2018). Bu sınıflandırmaya göre %20 ve üzerindeki EDN ilaveli olan ekmek örnekleri GI değeri orta ya da düşük gıdalar olarak ifade edilebilir.

Bir çalışmada farklı oranlarda (%10, %20 ve %30) Tip 2 EDN ilaveli ekmek örneklerinde tahmini GI analizi yapılmıştır. EDN ilaveli örnekler kontrol örneğine göre daha düşük GI değerlerine sahiptir. Artan oranlarda EDN ilavesiyle örneklerin GI değerleri azaldığı belirtilmiştir (Arp, Correa ve Ferrero, 2018).

Bir başka çalışmada da Tip 2 ve Tip 3 EDN ilaveli glutensiz ekmeklerin GI değerlerinin belirlenmiş ve EDN ilaveli örneklerin GI değerinin kontrol ekmeğinden daha düşük olduğu belirtilmiştir (Giuberti, Fortunati ve Gallo, 2016). Literatürdeki bu çalışmaların sonuçları tez çalışmasında elde edilen verileri destekler niteliktedir.

Çizelge 4.9. Ekmek örneklerinin toplam besinsel lif ve *in vitro* glisemik indeks analizi sonuçları.

Örnek	Toplam Besinsel Lif (%)			<i>In vitro</i> Glisemik İndeks		
	0. gün	1. gün	3. gün	0. gün	1. gün	3. gün
KE	7.0 ^{eA}	6.7 ^{eA}	7.3 ^{eA}	100.0 ^{aA}	91.3 ^{aB}	82.6 ^{aC}
EDNE15	20.4 ^{cA}	20.0 ^{cA}	20.8 ^{cA}	82.2 ^{cA}	76.6 ^{bB}	70.6 ^{bC}
EDNE20	25.3 ^{bA}	24.3 ^{bA}	25.7 ^{bA}	80.8 ^{dA}	71.2 ^{cB}	66.0 ^{cC}
EDNE25	30.6 ^{aA}	28.7 ^{aA}	30.8 ^{aA}	75.0 ^{eA}	66.9 ^{dB}	56.8 ^{dC}
KPE15	16.3 ^{dA}	16.3 ^{dA}	16.7 ^{dA}	88.4 ^{bA}	87.4 ^{aA}	82.2 ^{aB}

KE; Kontrol ekmeğ, EDNE15; %15 EDN içeren ekmeğ, EDNE20; %20 EDN içeren ekmeğ, EDNE25; %25 EDN içeren ekmeğ, KPE15; %15 kepek içeren ekmeğ

^{a-e}Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalama değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır. (p<0.05)

^{A-C}Aynı satırda farklı harflerle işaretlenmiş ortalama değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır. (p<0.05)

Ekmek örneklerinin her depolama günündeki GI değerleri incelendiğinde EDN ilavesinin önemli bir azalmaya neden olduğu ve bu azalmanın EDN ilave oranı arttıkça arttığı görülmektedir (p<0.05). Her bir depolama günündeki bu azalmanın yanı sıra günler arasında da GI değeri açısından önemli bir azalma olduğu görülmektedir (p<0.05). Hem EDN ilaveli örneklerin hem de kepek ilaveli örneklerin GI değerleri depolama süresine azalmıştır. Nişasta içeren gıdaların depolanması sırasında nişasta molekülleri retrograde olmaktadır (Birt ve ark., 2013).

Temelde amilopektinin retrogradasyonu olsa da amilozun da dahil olduğu nişastanın retrogradasyonu ekmeğin bayatlamasındaki en önemli faktördür ve ifade edildiği gibi Tip 3 EDN retrograde nişasta olarak tanımlanmaktadır (Amaral ve ark., 2016). Bu tez çalışmasındaki depolama süresi boyunca ekmeğ örneklerinin GI değerlerindeki azalmalar Tip 3 EDN içeriğinin artmasıyla açıklanabilir. Bir çalışmada da genel olarak 3 güne kadar depolanan ekmeğ örneklerinde EDN içeriğinin sabit bir şekilde arttığı ve 7 günlük depolama süresinde en yüksek EDN içeriğinin oda sıcaklığında 3 gün depolanan ekmeğ örneklerinde olduğu belirtilmiştir (Amaral ve ark., 2016).

Ekmeğ örneklerine ait BA bağlama kapasitesi değerleri Çizelge 4.10'da verilmiştir. Örneklerin BA bağlama kapasite değerleri bağlı BA miktarı ($\mu\text{mol}/100\text{g}$) ve kolestramine göre bağlı BA (%) olarak 2 farklı şekilde verilmiştir.

BA bağlama kapasitesi, besinsel liflerin en önemli özelliklerinden biridir (Hinkle, 2013). Besinsel liflerin safra asitleri ile etkileşime girerek geri emilimlerini engellediği ve kolona geçişlerini desteklediği belirtilmiştir. Ayrıca besinsel lif alımının safra asidi metabolizması, fizyolojik fonksiyonları ve safra asidiyle ilişkili hastalıkların gelişimi ile doğrudan ilgili olduğu ifade edilmiştir (Naumann ve ark., 2019). Besinsel liflerin safra asidi ile etkileşimi, safra asitlerini doğrudan absorbe etmek ve viskoz bir matriks oluşturarak safra asidi salınım oranını azaltması şeklinde açıklanmaktadır (Gunness, Flanagan ve Gidley, 2010). Besinsel liflere benzer şekilde enzim dirençli nişastalar da safra asitlerini bağlayarak onların yeniden emilimlerini engelleme ve onların vücuttan atılmalarını sağlamaktadır (Sharma, Yadav ve Yadav, 2008).

Çizelge 4.10 Ekmek örneklerinin safra asidi bağlama kapasitesi analizi sonuçları.

Örnek	Safra Asidi Bağlama Kapasitesi					
	Bağlı BA ($\mu\text{mol}/100\text{g}$)			Kolestramine Göre Bağlı BA (%)		
	0. gün	1. gün	3. gün	0. gün	1. gün	3. gün
KE	0.52 ^d	0.56 ^d	0.58 ^d	5.2 ^d	5.6 ^d	5.8 ^d
EDNE15	0.82 ^c	0.84 ^c	0.84 ^c	8.2 ^c	8.4 ^c	8.4 ^c
EDNE20	0.87 ^b	0.89 ^b	0.89 ^b	8.7 ^b	8.8 ^b	8.9 ^b
EDNE25	0.89 ^a	0.92 ^a	0.93 ^a	8.9 ^a	9.2 ^a	9.3 ^a
KPE15	0.87 ^b	0.89 ^b	0.89 ^b	8.6 ^b	8.8 ^b	8.9 ^b

KE; Kontrol ekmek, EDNE15; %15 EDN içeren ekmek, EDNE20; %20 EDN içeren ekmek, EDNE25; %25 EDN içeren ekmek, KPE15; %15 kepek içeren ekmek

^{a-d}Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalama değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır. ($p<0.05$)

Kolestraminin safra asidi bağlama kapasitesi $10.04 \mu\text{mol}/100\text{g}$ 'dır.

Örneklerin BA bağlama kapasitesi değerleri artan EDN ilave oranıyla artış göstermiştir. Örnekler arasındaki bu artışlar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$). En yüksek BA bağlama kapasitesi %25 EDN ilaveli ekmek örneğine aittir. %15 kepek ilaveli ekmek örneğinin BA bağlama kapasitesi, %20 EDN ilaveli örnek ile eşit değerlerdedir. %20 EDN ve %15 kepek ilaveli örneklerin aynı BA bağlama kapasitelerine sahip olmalarından dolayı sağlık koruma potansiyellerinin de aynı olduğu söylenebilir. Bundan dolayı kolesterol düşürücü etkilerinin de benzer olması beklenmektedir. Gölevez bitkisi nişastası ve bu bitkiden elde edilen enzime dirençli nişastanın *in vitro* BA bağlama kapasitelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, Gölevez nişastasının %5.2, enzime dirençli nişastasının %7.6 BA bağlama kapasitesi değerlerine sahip olduğu belirtilmiştir (Şimşek ve El, 2012). Bu sonuçların tez çalışmasında elde edilen sonuçlar ile benzerlik gösterdiği görülmektedir. Depolama günleri sonunda elde edilen sonuçlar birbirleri ile aynı eğilimi göstermektedir. 3 günlük depolamanın, örneklerin BA bağlama kapasite değerlerine anlamlı bir etkisi olmadığı da görülmektedir.

Çizelge 4.11’de makarna örneklerine ait TDF ve *in vitro* GI değerleri verilmiştir. TDF ve GI analizleri pişirilmiş makarna örneklerinde yapılmıştır. Kontrol makarna örneğine ait TDF içeriği %7.6 olarak belirlenmiştir. Makarna örneklerinde TDF içeriğinin belirlendiği bir çalışmada 16 dakika pişirilen örneğinin TDF içeriğinin %7.0 olduğu ifade edilmiştir (Sobota ve Zarzycki, 2013). Çalışmadaki bu sonucun tez çalışmasındaki kontrol makarna örneğine ait sonuç ile benzerlik taşıdığı görülmektedir.

EDN ve kepek ilavesi makarna örneklerinin TDF içeriğini önemli ölçüde arttırdığı görülmektedir ($p<0.05$). %25 EDN ilaveli makarna örneği en yüksek TDF içeriğine sahip makarna örneğidir. Kepek ilaveli makarna örneğinin aynı seviyede EDN ilaveli örnek ile karşılaştırıldığında daha düşük TDF içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Ekmek örneklerinin TDF içerikleri incelendiğinde aynı eğilim orda da olduğu görülmektedir. Bu durum kepeğin (%60.0) EDN’den (%85.4) daha düşük TDF içeriğine sahip olması ile açıklanabilir.

Makarna örneklerine ait *in vitro* GI değerleri incelendiğinde kontrol makarna örneğinin GI değerinin 82.75 olduğu belirlenmiştir. EDN ve kepek ilavesinin, örneklerin *in vitro* GI değerinde önemli bir azalmaya neden olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Kepeğin neden olduğu *in vitro* GI değerindeki bu azalma ile %20 EDN ilavesinin neden olduğu azalma arasında önemli bir farklılık olmadığı da belirlenmiştir. Kumar ve ark. (2018) tarafından belirtilen sınıflandırmaya göre %15 ve %20 EDN ile %15 kepek ilaveli örnekler GI değeri orta olan gıdalar arasında değerlendirilebilir. %25 ED ilaveli örnek (56.50) ise GI değeri düşük gıda grubuna (≤ 55) oldukça yakın bir değerdedir. Kontrol makarna örneği (82.75) bu sınıflandırmaya göre GI değeri yüksek gıda grubunda değerlendirilmektedir. Goñi, Garcia-Alonso ve Saura-Calixto (1997) tarafından yapılan çalışmada spagetti örneğine ait GI değeri 78 olarak bulunmuştur. Tez çalışmasında bulunun değer, literatürdeki bu değer ile uyum göstermektedir.

Bir çalışmada durum buğdayından elde edilen irmik örneğine %10 ve %20 oranında Tip 4 EDN ilavesi yapılarak makarna üretimi gerçekleştirilmiştir. %10 ve %20 EDN ilavelerinin kontrol örneğine göre grafiğin altında kalan alanın [AUC (mg glukoz/g

örnek)×dk] daha az olmasını sağladığı ifade edilmiştir. Ancak örnekler birbiri ile kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı belirtilmiştir (Gelencsér ve ark., 2008).

Çizelge 4.11. Makarna örneklerinin toplam besinsel lif ve *in vitro* glisemik indeks analizi sonuçları.

Örnek	Toplam Besinsel Lif (%)	<i>In vitro</i> Glisemik İndeks
KS	7.6 ^e	82.75 ^a
EDNS15	21.3 ^c	69.65 ^b
EDNS20	26.8 ^b	68.40 ^c
EDNS25	31.3 ^a	56.50 ^d
KPS15	17.3 ^d	69.05 ^{bc}

KS; Kontrol makarna, EDNS15; %15 EDN içeren makarna, EDNS20; %20 EDN içeren makarna, EDNS25; %25 EDN içeren makarna, KPS15; %15 kepek içeren makarna

^{a-e} Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalama değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır. (p<0.05)

Makarna örneklerine ait BA bağlama kapasitesi değerleri Çizelge 4.12’de verilmiştir. EDN ve kepek ilavesi, örneklerin BA bağlama kapasitesi değerlerini önemli ölçüde arttırmıştır (p<0.05). %25 EDN ilaveli makarna en yüksek BA bağlama kapasitesine sahiptir. Ekmek örneklerinden farklı olarak %15 kepek ilaveli örnek %20 EDN ilaveli örneğin BA bağlama kapasitesi değerinden daha düşükken aynı seviyede EDN ilaveli örnek ile aynı değerlerdedir. Bu durumda da makarna örnekleri için, aynı seviyedeki kepek ve EDN ilavesinin sağlık üzerinde benzer etkiye sahip olabileceği ifade edilebilir.

Çizelge 4.12.Makarna örneklerinin safra asidi bağlama kapasitesi analizi sonuçları.

Örnek	Safra Asidi Bağlama Kapasitesi	
	Bağlı BA (µmol/100g)	Kolestramine Göre Bağlı BA (%)
KS	0.55 ^d	5.5 ^d
EDNS15	0.84 ^c	8.4 ^c
EDNS20	0.86 ^b	8.6 ^b
EDNS25	0.89 ^a	8.9 ^a
KPS15	0.83 ^c	8.4 ^c

KS; Kontrol makarna, EDNS15; %15 EDN içeren makarna, EDNS20; %20 EDN içeren makarna, EDNS25; %25 EDN içeren makarna, KPS15; %15 kepek içeren makarna

^{a-d} Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalama değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır. (p<0.05)

Besin içeriği yetersiz olan gıdaların tüketilmesi birçok metabolik soruna neden olabilmektedir (Jambrec ve ark., 2016). Bu sorunlar, kalsiyum eksikliğinde kemik ve dişlerin zayıflaması, osteoporoz, kanın pıhtılaşmasının azalması, demir eksikliğinde anemi, çinko eksikliğinde ise bağışıklık sisteminde bozulma, fiziksel çalışma yeteneğinin ve büyümenin azalması şeklinde ortaya çıkmaktadır. Osteoporozun oldukça yaygın olmasından dolayı yetersiz kalsiyum alımı dünya genelinde önemli bir tehdit olduğu belirtilmiştir. Ayrıca bazı ülkelerde anne-çocuk beslenmesinde demir alımının yetersiz olduğu görülürken, özellikle gelişmekte olan ülkelerdeki yetersiz çinko alımı ciddi bir küresel sorun olarak ortaya çıkmaktadır. Bu sorunları azaltmak amacıyla da Ca, Fe ve Zn takviyesi için sıklıkla tahıl unları kullanılmaktadır (Ahmed ve ark., 2008). Bu nedenlerden dolayı mineral dengeyi korumak için hem mineral içeriği zengin gıda tüketimi hem de bu gıdanın mineral biyoyararlanımının iyi olması gereklidir (Jambrec ve ark., 2016). Yani bir gıdanın beslenme kalitesini etkileyen tek kriter gıdanın Ca, Fe, Zn gibi minerallerin toplam içeriği değil aynı zamanda bu minerallerin biyolojik olarak ne kadar yararlı olduğudur.

Bir gıdanın belirli bir mineral için iyi bir kaynak olup olmadığını belirlemek için ya salınan mineral madde miktarının ya da vücutta (insan/hayvan) absorbe edilen mineral madde miktarının bilinmesi gerekmektedir (Gibson ve ark., 2010).

%15 EDN ve kepek ilaveli ekme ve makarna örnekleri ile kontrol örneklerinin *in vitro* mineral biyoyararlanım değerleri Çizelge 4.13'te verilmiştir. Ca, Fe, Zn ekme ve makarna formülasyonlarına Çizelge 3.2'de verilen değerlere göre sırasıyla; 800 mg/100g, 11.7 mg/100 g ve 10 mg/100g olacak şekilde ilave edilmiştir.

Ekme örneklerine ait Ca biyoyararlanım değerleri incelendiğinde, EDN ilavesinin kontrol ekmeğine göre daha yüksek biyoyararlanıma sahip olduğu görülmektedir. İki örnek arasındaki fark küçük ancak istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0.05$). Aynı durum Zn biyoyararlanım değerleri için de geçerlidir. Her ne kadar EDN ilavesi Ca ve Zn biyoyararlanımı için kontrol örneğine göre sayısal olarak büyük bir farka neden olmasa da bu durum kepek ilaveli örnek için geçerli değildir. EDN ilaveli örneğin Ca ve Zn biyoyararlanımı, oldukça büyük bir farkla kepek ilaveli örneğe göre daha yüksektir. Fe biyoyararlanımı incelendiğinde ise, EDN ilavesinin kontrol grubu ile kıyaslandığında önemli bir değişime neden olmadığı görülmektedir. Ancak Ca ve Zn biyoyararlanımlarına benzer şekilde Fe biyoyararlanımı değerleri açısından EDN ve kepek ilaveli örnekler arasında ciddi ve büyük bir fark olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). Bu 3 mineralin her biri için EDN ilaveli örneklerin biyoyararlanım değerlerinin kepek ilaveli örneklerden yaklaşık olarak 2 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.13. Ekmek ve makarna örneklerinin mineral biyoyararlanım analizi sonuçları.

Örnekler		Mineraller		
		Ca (%)	Fe (%)	Zn (%)
Ekmek	KME	40.0 ^b	11.3 ^a	21.9 ^b
	EME15	42.5 ^a	11.5 ^a	24.3 ^a
	KPME15	22.5 ^c	6.1 ^b	15.0 ^c
Makarna	KMS	38.3 ^e	9.5 ^c	21.8 ^e
	EMS15	43.5 ^d	10.0 ^c	29.5 ^d
	KPMS15	27.2 ^f	6.0 ^d	10.3 ^f

KME; Mineral ilaveli kontrol ekmek, EME15; %15 EDN içeren mineral ilaveli ekmek, KPM15; %15 Kepek içeren mineral ilaveli ekmek, KMS; Mineral ilaveli kontrol makarna, EMS15; %15 EDN içeren mineral ilaveli makarna, KPMS15; %15 Kepek içeren mineral ilaveli makarna

^{a-f} Aynı sütunda farklı harflerle işaretlenmiş ortalama değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır. (p<0.05)

Makarna örneklerine ait mineral biyoyararlanım değerleri incelendiğinde de ekmek örneklerine ait değerlere benzer eğilim gösterdiği görülmektedir. EDN ilaveli makarna örneğinin Ca ve Zn biyoyararlanımı kontrol makarna grubuna göre daha yüksektir. Fe biyoyararlanımında ise bu durum geçerli değildir. EDN ilaveli örnek ve kontrol örneğinin Fe biyoyararlanım değerleri birbirlerinden farklı değildir. EDN ve kepek ilaveli örnekler birbirleri ile kıyaslandığında her 3 mineral için de önemli farklılıklar olduğu görülmektedir. Bu farklılık Fe biyoyararlanımı açısından sayısal olarak çok büyük olmasa da Ca ve Zn için aynı durum geçerli değildir. EDN ilaveli makarna örneğinin Ca biyoyararlanım değeri kepek ilaveli örnekten 1.5 kat daha büyükken, Fe biyoyararlanımın değeri ise yaklaşık 3 kat daha büyüktür. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde Tip 4 EDN ilaveli ekmek ve makarna örneklerinin mineral biyoyararlanımları ile ilgili bir çalışma olmadığı görülmüştür. Bir çalışmada ekmek örneklerinin mineral biyoerişilebilirlikleri incelenmiştir. Beyaz ekmeğin Ca ve Zn biyoerişilebilirlikleri sırasıyla %36.10 ve %20.63 olduğu belirtilmiştir (Ting ve Loh, 2016). Çalışmadaki bu sonuçlar tez çalışmasında elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Absorbe edilecek

mineral madde miktarı, polifenoller, besinsel lifler, diğer gıda bileşenleri gibi birçok faktörden etkilenmektedir (Me ve Aw, 2009). Fitik asit gibi birçok tahıl, baklagil, yağlı tohumda bulunan ve kepekte fazla miktarda olan bileşen Ca, Fe, Zn, Mg, K gibi minerallerin emilimini azaltmaktadır (Jambrec ve ark., 2016). Literatürde verilen bu bilgiler tez çalışmasındaki EDN ve kepek ilaveleri arasındaki mineral biyoyararlanım farklılıklarının nedenini açıklamaktadır.

5. YORUM

Bu tez çalışmasının birinci kısmında Tip 4 EDN ve kepek ilavesinin olumsuz etkisini tolere edebilecek un ve irmik örneği seçimi yapılmıştır. Seçilen un ve irmik örnekleri ile EDN ve kepek örneklerinde fiziksel, kimyasal, fizikokimyasal ve reolojik analizler yapılmıştır.

Tez çalışmasının ikinci kısmında una ve irmiğe farklı oranlarda EDN ilave edilerek elde edilen hamurların reolojik özellikleri, üretimi yapılan makarna ve ekmek örneklerinin kalite, tekstürel ve duyuşal özellikleri incelenerek, kabul edilebilir özellikte olan ekmek ve makarna üretimini sağlayan EDN ilave oranları seçilmiştir. Seçilen bu oranlarda (%15, %20 ve %25) EDN ilavesi yapılarak ekmek ve makarna üretimi gerçekleştirilmiştir. Sektördeki üreticilerin kullandıkları ve tebliğde belirtilen değerler göz önünde bulundurularak un ve irmik örneklerine %15 oranında kepek ilave edilerek ekmek ve makarna üretimi gerçekleştirilmiştir. Farklı oranlarda EDN (%15, %20 ve %25) ve kepek (%15) ilavesi yapılarak üretilen ekmek ve makarna örneklerinin kalite ve tekstürel özellikleri belirlenmiştir. Ekmek örneklerinin 3 günlük depolama sonundaki tekstür özellikleri belirlenerek bayatlama durumundaki tekstürel özelliklerindeki değişim incelenmiştir.

Çalışmanın son kısmında ise kalite ve tekstürel özellikleri incelenmiş olan ekmek ve makarna örneklerinde *in vitro* glisemik indeks, toplam besinsel lif, safra asidi bağlama kapasitesi ve *in vitro* mineral biyoyararlanım değerleri gibi besinsel özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca besinsel özellikleri belirlenen EDN ilaveli örnekler ile kepek ilaveli örneklerin birbirleri ile kıyaslaması yapılmıştır. Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Ekmek üretiminde kullanılmasına karar verilen un örneğinin rutubet, kül ve protein değerleri Türk Gıda Kodeksi Tebliği'nde verilen değerlere göre değerlendirilmiş ve bu değerlere uygun olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde makarna üretiminde kullanılan irmik örneğine ait rutubet, kül ve protein analiz sonuçları tebliğde verilmiş olan

değerlerle kıyaslanmış ve uygun olduğu görülmüştür. Ayrıca irmik örneğine ait renk değerlerinin de literatürdeki çalışmalarla uyum içinde olduğu ve kabul edilebilir değerlerde olduğu belirlenmiştir. Un örneğine ait yaş/kuru gluten, gluten indeksi değerlerini incelendiğinde literatürdeki verilerle uyumlu olduğu görülmektedir. Un örneğinin gluten kalitesinin yüksek olduğu bundan dolayı da iyi kalitede hamur eldesi ve kaliteli ekmek üretimi sağlayabileceği görülmektedir. Yüksek gluten kalitesi ve protein miktarının fazla olması da yüksek sedimentasyon değerinin belirlenmesi ile desteklenmektedir. İrmik örneğinin sedimentasyon değeri de literatürde verilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir.

Ekmeklik un örneğine farklı oranlarda (%15, %20 ve %25) EDN ve kepek (%15) ilave edilerek Farinograf ve Alveograf özellikleri belirlenmiştir. Farinograf özellikleri incelendiğinde, EDN ve kepek ilavesinin su absorpsiyon değerini arttırdığı görülmektedir. Hamurun gelişme süresi ve stabilitesi ise EDN ve kepek ilavesiyle azalmıştır. Hamurun gelişme süresi için kepek ilavesinin etkisi EDN ilavesine göre daha az olmuştur. Farklı besinsel liflerin, yapılarında bulunan çok sayıda hidroksil grubundan dolayı un örneklerine ilave edildiklerinde su absorpsiyonunda artışa neden oldukları belirtilmiştir. Ayrıca, enzime dirençli nişastanın da dahil olduğu bazı polisakkaritler yüksek su absorpsiyon kapasitesine sahip olduklarından hamurda bulunan diğer bileşenlerle su için rekabet ederler (Mohebbi ve ark., 2018). Tez çalışmada EDN ve kepek ilavesinin su absorpsiyonunu arttırması literatürdeki bu bilgilerle açıklanmaktadır. Hamurun gelişme süresinin protein kalitesinden etkilendiği belirtilmiştir. Bunun dışında un ve una ilave edilen kepek gibi liflerin partikül boyutları da hamurun gelişme süresini etkilemektedir. Hamur stabilitesi de benzer şekilde gluten kalitesinden etkilenmektedir (Xhabiri ve ark., 2016). EDN ve kepek ilavesinin hamur gelişme süresi ve stabilitesini azaltması muhtemelen unun yapısının zayıflamasından kaynaklanmaktadır.

Un örneklerinin Alveograf özellikleri incelendiğinde, EDN ve kepek ilavesinin L, W ve G değerinde azalmaya; P değerinde ise kepek ilavesinin artışa, EDN ilavesinin azalmaya neden olduğu görülmektedir. Alveograf özelliklerine göre EDN ilaveli örneklerin kepek ilaveli örneğe göre daha iyi olduğu görülmektedir.

Çalışmalarda besinsel lif ilavesinin unun Alveograf özellikleri üzerinde belirgin bir etki yarattığı tespit edilmiştir. Kepek ilavesinin P değerinde artışa, L, W ve G değerlerinde ise azalmaya neden olduğu ifade edilmiştir. Bu durum, kepek ilavesinin glutenin seyrelmesine ve gluten matriksinde bozulmaya neden olması ile açıklanmaktadır. Hamurun deformasyona karşı gösterdiği direncin (P), glutende bulunan polipeptid zincirlerine bağlı olduğu belirtilmiştir. Hamurun daha iyi viskoelastik bir yapıya sahip olması ve gluten matriksinin stabilitesinin artması zincir içi / zincirler arası yeniden düzenlemeyle disülfid bağlarının oluşumundan kaynaklanmaktadır (Banu ve ark., 2012).

Kontrol ekmeğin hacmi 658 cm^3 iken EDN ve kepek ilavesiyle bu hacim değerinden daha düşük hacimlerde ekmeğin elde edilmiştir. Artan EDN ve kepek ilave oranıyla hacim değerleri azalmıştır ($p < 0.05$). %15 ve %20 EDN ilaveli ekmeğin örneklerinin hacim değerleri arasında fark olsa da bu fark istatistiksel olarak önemli değildir. Kepek ilaveli örnek hacmi en düşük hacme sahiptir (478 cm^3) ve EDN ilaveli örneklerden önemli ölçüde daha küçük hacimdedir ($p < 0.05$). Ekmeğin hacminde meydana gelen bu azalmalar, öncelikle glutenin seyreltilmesinden kaynaklanmaktadır. Bunun yanında unna ilave edilen lif kaynakları protein yapısının devamlılığını bozmaktadır. Bunun sonucunda gluten yapısı da seyreltilmiş olur. Bu durum hamurun fermentasyonu sırasında gaz tutma kabiliyetini azaltarak daha düşük hacimli ekmeğin elde edilmesine neden olur (Lauková ve ark., 2017).

Ekmeğin kabuğunun L^* , a^* ve b^* değerleri kepek ilavesi ile azalırken, EDN ilavesiyle L^* , b^* değerleri artmış, a^* değeri azalmıştır ($p < 0.05$). L^* değerindeki değişimle, EDN ilavesinin daha açık kabuk rengi oluşmasına neden olduğu görülmektedir. Ekmeğin örneklerinde yapılan tekstür analizi sonucunda EDN ve kepek ilavesinin ekmeğin sertlik değerini arttırdığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu gözlenmiştir ($p < 0.05$). Her bir depolama gününde yapılan tekstür analizinde (0. gün, 1. gün ve 3. gün) kepek ilavesinin ekmeğin sertlik değerini EDN ilavesine göre daha fazla arttırdığı belirlenmiştir. Bütün ekmeğin sertlik değerlerinin de depolama süresi boyunca arttığı ve bu artışların önemli olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). Depolama süresi boyunca

yapılan tekstür analizleri sonuçlarına göre EDN ilavesinin ekmeklerin bayatlama hızını kepek ilavesine göre daha az arttırdığı görülmektedir.

Makarna örneklerin pişme sürelerinde EDN ve kepek ilavesiyle farklılık gözlenmiştir. Bu farklılıklar çok az da olsa kepek ilavesi pişme süresini arttırmış, EDN ilavesi ise azalmıştır. Literatürdeki diğer çalışmalar da EDN ilavesinin optimum pişme süresini azalttığını ifade ederek tez çalışmasındaki bu sonuçları desteklemektedir. Makarna örneklerinin renk değerleri incelendiğinde EDN ilavesi L* değerini arttırdığı, a* ve b* değerlerini azalttığı, kepek ilavesinin ise L* ve b* değerini azalttığı, a* değerini arttırdığı görülmektedir. EDN ilavesinin neden olduğu L* ve b* değerlerindeki değişim kontrol örneğine göre istatistiksel olarak önemli değilken a* değerindeki değişim önemlidir ($p<0.05$). Kepek ilavesi ile üretilen makarnanın, EDN ilaveli makarna örneklerine göre daha koyu renkli olmasından dolayı, EDN ilavesinin makarna rengi üzerinde daha iyi bir etkiye sahip olduğu görülmektedir.

Makarna örneklerinin TOM ve pişme kaybı değerleri EDN ve kepek ilavesiyle önemli ölçüde artmıştır ($p<0.05$). En büyük TOM değeri %25 EDN ilaveli makarna örneğine aitken, en büyük pişme kaybı değeri kepek ilaveli makarna örneğine aittir. Su absorpsiyon değerleri incelendiğinde en düşük değer %25 EDN ilaveli örneğe ait olduğu görülmektedir. Ancak bu örneğe ait değerinin %20 EDN ve kepek ilaveli örneğin su absorpsiyon değerinden istatistiksel olarak farklı olmadığı görülmektedir. İrmik proteinleri matriks oluşturmak için disülfid, hidrojen ve hidrofobik bağlarla birbirlerine bağlanmıştır. Bu protein matriksinin sürekliliği ve sağlamlığı, molekül içi ve moleküller arası bağlarla ilişkilidir. Bu matriks pişirme sırasında yavaşça parçalanır ve pişmiş makarna yüzeyindeki yapışkanlık artmaya başlar (Tudorică, Kuri ve Brennan, 2002). Bu artıştan dolayı makarnanın TOM değeri de artmaktadır. Hem EDN hem de kepek ilavesi protein yapısındaki bağları zayıflattığı için örneklerin TOM değeri artış göstermiştir. Endosperm olmayan bileşenlerin hamura ilave edilmesi gluten protein matriksinin fiziksel bozulmasını arttırmaktadır (Gan ve ark., 1989). Gluten konsantrasyonundaki azalma (ilave edilen materyale bağlı olarak seyrelme), gluten ağının zayıflamasına neden olan faktörlerden biridir (Brennan ve Cleary, 2007; Courtin ve Delcour, 2002). Bazı çalışmalar liflerin hamur sistemine dahil edilmesinin gluten

proteinlerinin moleküller arası ilişkilerini bozarak gluten ağını zayıflattığını ve protein-matriksin sürekliliğini değiştirdiğini göstermiştir (Skendi ve ark., 2010; Sullivan ve ark., 2011; Bustos, Perez ve Leon, 2015). Lif ilavesiyle pişmiş makarnanın en çok etkilenen parametresinin pişme kaybı olduğu belirlenmiştir. Gluten matriksinde meydana gelen bozulma, pişirme işlemi sırasında makarnadan daha fazla jelatinize nişastanın ayrılmasına neden olur ve bu da pişme kaybında bir artış ile sonuçlanmaktadır (Brennan, Kuri ve Tudorica, 2004; Inglett, Peterson ve Carriere, 2005; Manno ve ark., 2009). Buğday kepeği ile dirençli nişasta arasındaki partikül büyüklüğü farkı, pişme kaybı üzerindeki farklı etkilerin bir başka nedeni olabilir. 150-500 µm partikül büyüklüğüne sahip kepek ilavesinin, makarnanın çeşitli duyuşal ve teknolojik özellikleri üzerinde olumsuz etkileri olduğunu belirtmiştir (Aravind ve ark., 2012). Dirençli nişastanın parçacık boyutu ise 10-15 µm'dir (Sajilata, Singhal ve Kulkarni, 2006). Bundan dolayı daha yüksek parçacık boyutunun, gluten matriksinde daha fazla bozulmaya, dolayısıyla daha yüksek pişirme kaybına neden olduğu söylenebilir. Makarnanın su absorpsiyonunun, nişasta şişmesi ve jelatinizasyonu ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Bustos, Perez ve Leon, 2015). Gluten matriksinin bozulması, granüllerin daha fazla su absorbe etmesine ve jelatinizasyonuna neden olarak su absorpsiyonunda artışa neden olmaktadır. Diğer taraftan, güçlü protein-nişasta matriksinin makarnanın su absorpsiyonunu arttırdığı belirtilmiştir (Nilusha ve ark., 2019). Literatürde bu konuyla ilgili olarak bazı çelişkili sonuçların var olduğu görülmektedir. Bundan dolayı da su absorpsiyonu genellikle makarnada çok önemli bir kalite parametresi olarak kabul edilmemektedir.

Pişmemiş makarna örneklerinin bükülme testi sonucunda EDN ve kepek ilavesinin hem kırılma kuvvetini hem de kırılma mesafesini azalttığı görülmektedir. Kepek ilaveli örneğe ait bükülme testi sonuçları aynı seviyede EDN ilaveli örnekten daha düşükken %20 EDN ilaveli örnek ile benzer değerlere sahiptir. Pişmiş makarnada yapılan sertlik testinin sonuçları bükülme testi ile aynı eğilimi gösterirken, yapışkanlık testinde EDN ve kepek ilavesi yapışkanlık değerlerini arttırmıştır. Kepek ilaveli örnek en düşük sertlik değerine sahipken, yapışkanlık testinde %20 EDN ilaveli örnek ile benzer değerlere sahiptir. Pişmemiş makarnanın kırılma kuvveti, makarnanın üretiminin, ne kadar iyi olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Ayrıca makarnanın gluten kalitesi ve

protein matriksinin bütünlüğü taşıma, depolama ve pişirme gibi işlemlerinin makarna üzerinden ne kadar az olumsuz etki bırakabileceğini göstermektedir. Makarnanın kırılma kuvvetinin düşük olması makarna yapısının zayıf olduğunu göstermektedir (Smweing, 1997; Aranibar ve ark., 2019). Protein matriksinin bütünlüğündeki kayıp, pişmemiş makarnanın kırılma kuvvetinde azalmaya neden olacaktır. EDN ve kepek ilavesi de protein matriksinde bozulmaya neden olduğundan, kırılma kuvvetinde bir azalma gözlenmiştir. Ayrıca kepeğin Tip 4 EDN'ye kıyasla daha büyük partikül büyüklüğüne sahip olması da daha düşük kırılma kuvvetine neden olmuştur. Pişmiş makarnadaki yapışkanlık artışı da Tip 4 EDN ve kepek ilavesinin protein matriksini zayıflatması ile açıklanabilir.

Ekmek örneklerinin TDF değerleri EDN ve kepek ilavesiyle artış göstermektedir. En yüksek TDF değerine sahip örnek %25 EDN ilaveli örnektir. %15 kepek ilaveli örnek aynı seviyede EDN ilaveli ekmek örneğinden daha düşük TDF değerine sahiptir. Her bir depolama günündeki TDF değerindeki değişim benzer eğilim göstermektedir. Ekmeklerin *in vitro* GI değerleri EDN ve kepek ilavesiyle azalmıştır. %15 kepek ilaveli örnek kontrol örneğinden sonra en yüksek GI değerine sahiptir. Artan EDN oranıyla birlikte örneklerin GI değerleri azalmıştır. Her depolama günü için aynı eğilim söz konusudur. Depolama süresi boyunca GI değerlerinde azalma görülmüştür ve bu azalma her ekmek örneği için önemlidir ($p < 0.05$). Kepek/EDN ilavesinin protein matriksinde bozulmaya neden olmasıyla, makarnanın pişirilmesi sırasında daha fazla jelatinize nişasta yapıdan ayrılır. Bunun yanı sıra makarna örneklerindeki sindirilebilir nişasta oranı da makarnaya kepek/EDN ilavesiyle azalır. *In vitro* GI değerlerindeki azalma, kepek/EDN' nin sindirim enzimlerine karşı dirençleri ve nişasta oranında azalmaya neden olmaları ile açıklanabilir. TDF değerlerine benzer şekilde ekmek örneklerinin BA bağlama kapasiteleri de EDN ve kepek ilavesiyle artmıştır. En yüksek BA bağlama kapasitesi %25 EDN ilaveli örneğe aittir. Her depolama günü için de bu durum geçerliliğini korumaktadır. EDN ve kepek ilavesi, makarna örneklerinin TDF ve GI değerlerinde ekmek örneklerine benzer şekilde değişiklik meydana getirmiştir. En yüksek TDF ve en düşük GI değeri %25 EDN ilaveli örneğe aittir. Kepek ilaveli örneğin GI değeri %15 ve %20 EDN ilaveli örnekler ile benzer değerlere sahipken,

TDF değeri bu örneklerden daha düşüktür. Makarna örneklerinin BA bağlama kapasitesindeki farklılıklar da ekmek örnekleri ile benzerlik göstermektedir.

Ekmek ve makarna örneklerinin Ca, Fe ve Zn biyoyararlanımları EDN ilavesiyle artmış, kepek ilavesi ile azalmıştır. %15 EDN ilaveli ekmek örneğinin Ca ve Zn biyoyararlanımları %15 kepek ilaveli örneklerden yaklaşık olarak 2 kat daha fazladır. Makarna örneklerinde de %15 EDN ve %15 kepek ilaveli örnekler arasında yaklaşık olarak 3 kat fark görülmektedir. Fe biyoyararlanımı dışında, EDN ilavesi, örneklerin mineral biyoyararlanımını önemli ölçüde arttırmıştır. Kül içeriği %0.93 olan irmik örneğinden hazırlanan kontrol makarna örneğinde kepek kontaminasyonu ve daha yüksek oranda fitik asit olduğu söylenebilir. Öte yandan, bu çalışmada kullanılan Tip 4 EDN örneğinde metalik katyonları bağlayabilecek herhangi bir fitik asit bulunmamaktadır. Bu nedenle, Tip 4 EDN ilavesinin makarnadaki fitik asit içeriğinde bir seyreltme etkisine neden olması, kepek ilavesinin ise fitik asit miktarını arttırması beklenmektedir. Tahıl kepeğinde bulunan fitat, Ca, Fe, Zn gibi metalik katyonları güçlü bir şekilde bağlayarak onları çözünmez hale getirmektedir. Çözünmez formda oldukları için de bu minerallerin absorpsiyonu engellenmiş olur (Emanuelli ve ark., 2014). Bu nedenle, tez çalışmasındaki kepek ilaveli makarna örnekleri daha düşük mineral biyoyararlanım değerlerine sahiptir.

Tez çalışması sonunda elde edilen veriler genel olarak değerlendirilirse;

EDN ilavesi unun reolojik özelliklerinde, ekmek hacminde ve tekstür özelliklerinde olumsuz etkilere sebep olsa da elde edilen sonuçların kabul edilebilir değerlerde olduğu görülmektedir. Ekmek örneklerinin TDF, *in vitro* GI, BA bağlama kapasitesi ve mineral biyoyararlanım gibi besinsel özelliklerinde meydana getirdiği olumlu etkilerden dolayı da örneklerin besinsel özelliklerinin gelişimini sağlamıştır. Benzer şekilde EDN ilavesi makarna örneklerinin kalite ve tekstür özelliklerinde olumsuz etkiye sebep olsa da örneklerin besinsel özellikleri üzerinde olumlu etki yaratmıştır.

EDN ilavesi kepek ilavesiyle karşılaştırıldığında örneklerin reolojik, kalite ve tekstür özelliklerinde daha az olumsuz etkiye sebep olması ve örneklerin besinsel özelliklerinin

gelişimine daha fazla katkı göstermesi bakımında ekmek ve makarna örneklerinde kullanılabilir alternatif besinsel lif kaynağı olduğu görülmektedir. Ayrıca EDN ilave oranının artması her ne kadar reolojik, kalite ve tekstür özelliklerinde meydana gelen olumsuzluğu arttırsa da besinsel özelliklerdeki artış %25 ilave oranının ekmek ve makarna örneklerinde kullanılabilir bir oran olduğunu göstermektedir.

Literatürde, Tip 4 EDN ilavesiyle üretilen ekmek ve makarna örneklerinin BA bağlama kapasitesi ve mineral biyoyararlanımları ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tez çalışması, EDN ilavesinin örneklerin BA bağlama kapasitesi ve mineral biyoyararlanımlarını arttırdığını göstermesi açısından son derece önemlidir. Çalışmanın sonuçları, ekmek ve makarna endüstrisinde besinsel lif kaynağı olarak Tip 4 EDN kullanımının yeni bir alternatif oluşturacağını göstermektedir. Ayrıca EDN ile ilgili yapılan çalışmalarda Tip 4 EDN'nin gıdalarda kullanımı ile ilgili daha fazla çalışma yapılması konusunda yararlı olacağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

AACC International. American Association of Cereal Chemist International, Approved methods of the AACC, St. Paul, MN, USA. **2009**.

Acar, O., Baklava Kalite Karakteristiklerinin ve Bazı Buğday Çeşitlerinden Elde Edilen Unların Baklava Üretimine Uygunluğunun Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2012**.

Agama-Acevedo, E., Islas-Hernandez, J. J., Osorio-Díaz, P., Rendón-Villalobos, R., Utrilla Coello, R. G., Angulo, O. and Bello-Pérez, L. A., Journal of Food Science, 74 (2009) 263.

Ahmed, A., Anjum, F. M., Ur Rehman, S., Randhawa, M. A. and Farooq, U., Plant Foods For Human Nutrition, 63 (2008) 7.

Alegría-Torán, A., Barberá-Sáez, R. and Cilla-Tatay, A., Bioavailability of minerals in foods. Handbook of Mineral Elements in Food, De la Guardia, M. and Garrigues, S. (Eds), John Wiley ve Sons, West Sussex, 41-67, **2015**.

Almeida, E. L., Chang, Y. K. and Steel, C. J., LWT - Food Science and Technology, 50 (2013) 545.

Altuna, L., Ribotta, P. D. and Tadini, C. C., LWT - Food Science and Technology, 64 (2015) 867.

Amaral, O., Guerreiro, C. S., Gomes, A. and Cravo, M., European Food Research and Technology, 242 (2016) 1747.

Anonim, Türk Gıda Kodeksi İrmik Tebliği, Tebliğ No:2002/21, **2002**.

Anonim, Türk Gıda Kodeksi Buğday Unu Tebliği, Tebliğ No:2013/9, **2013**.

Anonim a, Instruction Manual Glutograph-E, Brabender Measurement and Control Systems, Brabender GmbH ve Co. KG, Kulturstr, Duisburg, Germany, **2017**.

Anonim b, Türk Gıda Kodeksi Gıda Etiketleme ve Tüketicileri Bilgilendirme Yönetmeliği, Sayı:29960, **2017**.

Anonim, Glycemic Index and Glycemic Load, <https://drsarahbrewer.com/glycemic-index-and-glycemic-load> (Erişim tarihi: **7 Ocak 2020**).

- Aranibar, C., Pedrotti, F., Archilla, M., Vázquez, C., Borneo, R. and Aguirre, A., *Journal of Food Science and Technology*, 57 (2019) 693.
- Aravind, N., Sissons, M., Egan, N. and Fellows, C., *Food Chemistry*, 130 (2012) 299.
- Aravind, N., Sissons, M., Fellows, C. M., Blazek, J. and Gilbert, E. P., *Food Chemistry*, 136 (2013) 1100.
- Arslan, E. Z., Unun kalite parametrelerinin yakın ve orta kızılötesi spektroskopisi kullanılarak tahmin edilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2018.
- Arp, C. G., Correa, M. J. and Ferrero, C., *Food and Bioprocess Technology*, 11 (2018) 2182.
- Arvidsson-Lenner, R., Asp, N. G., Axelsen, M., Bryngelsson, S., Haapa, E., Järvi, A., Karlström, B., Raben, A., Sohlström, A., Thorsdottir, I. and Vessby, B., *Food & Nutrition Research*, 48 (2004) 84.
- Ashwar, B. A., Gani, A., Shah, A., Wani, I. A. and Masoodi, F. A., *Starch*, 68 (2016) 287.
- Baghurst, P. A., Baghurst, K. I. and Record, S. J., *Food Australia*, 48 (1996) 1.
- Bagulho, A. S., Monho, A., Almeida, A. S., Costa, R., Moreira, J., Pais, I., Scotti, P., Countinho, J. and Maças, B., *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28 (2016) 389.
- Balamurugan, R., Pugazhendhi, S., Balachander, G. M., Dharmalingam, T., Mortimer, E. K., Gopalsamy, G. L., ... and Ramakrishna, B. S., *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16 (2019) 3922.
- Banu, I., Stoenescu, G., Sorina Ionescu, V. and Aprodu, I., *Food Technology*, 36 (2012) 39.
- Barros, J. H. T., Telis, V. R. N., Taboga, S. and Franco, C. M. L., *Journal of Food Science and Technology*, 55 (2018) 4578.
- Bayram, M. E. ve Korkut, K. Z., *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 31 (2018) 161.
- Bello-Pérez, L. A. and Paredes-López, O., *Food Engineering Reviews*, 1 (2009) 50.

- Biernacka, B., Dzik, D., Różyło, R., Wójcik, M., Miś, A., Romankiewicz, D. and Krzysiak, Z., *International Agrophysics*, 32 (2018) 217.
- Birt, D. F., Boylston, T., Hendrich, S., Jane, J.-L., Hollis, J., Li, L., ...and Whitley, E. M., *Advances in Nutrition*, 4 (2013) 587.
- Blanco-Rojo, R. and Vaquero, M. P., *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 51 (2019) 126.
- Boros, N., Tarján, Z., Mars, É., Borbély, M. and Györi, Z., *Acta Agraria Debreceniensis*, 30 (2009) 27.
- Brennan, C. S. and Cleary, L. J., *Food Research International*, 40 (2007) 291.
- Brennan, C. S., Kuri, V. and Tudorica, C. M., *Food Chemistry*, 86 (2004) 189.
- Brouns, F., Kettlitz, B. and Arrigoni, E., *Trends in Food Science & Technology*, 13 (2002) 251.
- Brown, I. L., *Journal of AOAC International*, 87 (2004) 727.
- Burdurlu, H. S. ve Karadeniz, F., *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 7 (2003) 18.
- Bustos, M. C., Pérez, G. T. and León, A. E., *Food Science and Technology International*, 17 (2011) 213.
- Bustos, M. C., Perez, G. T. and León, A. E., *International Journal of Food Science & Technology*, 48 (2013) 309.
- Bustos, M. C., Perez, G. T. and Leon, A. E., *RSC Advances*, 5 (2015) 30780.
- Champ, M., Resistant starch. *Starch in Food*, Eliasson, A. C. (Eds.), *Woodhead Publishing*, London, 560–574, 2004.
- Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S. S. and Webb, C., *International Journal of Food Microbiology*, 79 (2002) 131.
- Chiang, J. Y. L., *Journal of Lipid Research*, 50 (2009) 1955.
- Chiang, J. Y. L. and Li, T., *PPAR Research*, 2009 (2009) 1.
- Chiang, J. Y. L., *Comprehensive Physiology*, 3 (2013) 1191.

- Codina, G. G., Gutt, S., Gutt, G. and Mironeasa, S., Alveograph as a rheological tool to predict the quality characteristics of wheat flour, Katalinic, B. (Ed), Annals of DAAAM for 2011 & Proceedings of the 22nd International DAAAM Symposium, Vienna, 23-26 November 2011, DAAAM International, Vienna **2011**, p. 1027.
- Collar, C., Bread and bakery products. Handbook of Mineral Elements in Food, De la Guardia, M. and Garrigues, S. (Eds), John Wiley ve Sons, West Sussex, 569-572, **2015**.
- Courtin, C. M. and Delcour, J. A., Journal of Cereal Science, 35 (**2002**) 225.
- D'Egidio, M. G., De Stefanis, E., Fortini, S., Galterio, G., Nardi, S., Sgrulletta, D. and Bozzini, A., Cereal Foods World, 27 (**1982**) 367.
- Debbouz, A., Pitz, W. J., Moore, W. R. and D'appolonia, B. L., Cereal Chemistry, 72 (**1995**) 128.
- Dexter, J. E. and Matsuo, R. R., Journal of Agricultural and Food Chemistry, 28 (**1980**) 899.
- Dhiraj, B. and Prabhasankar, P., International Journal of Food Science, 2013 (**2013**) 1.
- Egesel, C. Ö., Kahrıman, F., Tayyar, Ş. ve Baytekin H., Anadolu Tarım Bilim Dergisi, 24 (**2009**) 76.
- Elgün, A., Ertugay, Z., Certel, M., Kotancılar H. G., Tahıl ve Ürünlerinde Analitik Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Klavuzu, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, **2011**.
- Emanuelli, T., Milbradt, B. G., Kolinski Callegaro, M. da G. and Augusti, P. R., Wheat Bran and Cadmium in Human Health. Wheat and Rice in Disease Prevention and Health, Watson, R. R., Preedy, V. R. and Zibad, S. (Eds), Academic Press, Massachusetts, 241-260, **2014**.
- Englyst, H., Wiggins, H. S. and Cummings, J. H., Analyst, 107 (**1982**) 307.
- Englyst, H. N., Veenstra, J. and Hudson, G. J., British Journal of Nutrition, 75 (**1996**) 327.
- Englyst, K. N., Englyst, H. N., Hudson, G. J., Cole, T. J. and Cummings, J. H., The American Journal of Clinical Nutrition, 69 (**1999**) 448.

Englyst, K., Goux, A., Meynier, A., Quigley, M., Englyst, H., Brack, O. and Vinoy, S., *Food Chemistry*, 245 (2018) 1183.

Escarpa, A., González, M. C., Mañas, E., García-Diz, L. and Saura-Calixto, F., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44 (1996) 924.

Etcheverry, P., Grusak, M. A. and Fleige, L. E., *Frontiers in Physiology*, 3 (2012) 1.

Fanari, F., Carboni, G., Grosso, M. and Desogus, F., *Chemical Engineering Transactions*, 75 (2019) 343.

Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I. and Pérez-Gálvez, A., *Nutrition Research*, 29 (2009) 751.

Fredriksson, H., Björck, I., Andersson, R., Liljeberg, H., Silverio, J., Eliasson, A. C. and Åman, P., *Carbohydrate Polymers*, 43 (2000) 81.

Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M. J., Sánchez-Zapata, E. and Pérez-Álvarez, J. A., *Food Research International*, 43 (2010) 931.

Gan, Z., Ellis, P. R., Vaughan, J. G. and Galliard, T., *Journal of Cereal Science*, 10 (1989) 81.

Gelencsér, T., Gál, V., Hódsági, M. and Salgó, A., *Food and Bioprocess Technology*, 1 (2008) 171.

Ghaffar zadegan, T., Essén, S., Verbrugge, P., Marungruang, N., Hållenius, F. F., Nyman, M. and Sandahl, M., *Scientific Reports*, 9 (2019) 3800.

Gibson, G. R. and Roberfroid, M. B., *The Journal of Nutrition*, 125 (1995) 1401.

Gibson, R. S., Bailey, K. B., Gibbs, M. and Ferguson, E. L., *Food and Nutrition Bulletin*, 31 (2010) 134.

Giuberti, G., Fortunati, P. and Gallo, A., *Journal of Cereal Science*, 70 (2016) 253.

Goñi, I., Garcia-Alonso, A. and Saura-Calixto, F., *Nutrition Research*, 17 (1997) 427.

Grzybowski, R. A. and Donnelly, B. J., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27 (1979) 380.

Guerra, A., Etienne-Mesmin, L., Livrelli, V., Denis, S., Blanquet-Diot, S. and Alric, M., *Trends in Biotechnology*, 30 (2012) 591.

- Gunness, P., Flanagan, B. M. and Gidley, M. J., *Journal of Cereal Science*, 52 (2010) 444.
- Gupta, S., Jyothi Lakshmi, A. and Prakash, J., *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86 (2006) 2147.
- Hasjim, J., Ai, Y. and Jane, J., *Novel Applications of Amylose-Lipid Complex as Resistant Starch Type 5*. Resistant Starch, Shi, Y. C. and Maningat, C. C. (Eds), John Wiley ve Sons, New Jersey, 79–94, 2013.
- Hernández-Nava, R. G., Berrios, J. D. J., Pan, J., Osorio-Díaz, P. and Bello-Perez, L. A., *Food Science and Technology International*, 15 (2009) 73.
- Hinkle, E., *A Study of Cooking and Varietal Effects on Potato in Vitro Bile Acid Binding Capacity*, Honors Thesis, University of Maine, Food Science and Human Nutrition, Maine, 2013.
- Homayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M. R., Yarmand, M. S. and Razavi, S. H., *Food Chemistry*, 111 (2008) 50.
- Homayouni, Aziz, Amini, A., Keshtiban, A. K., Mortazavian, A. M., Esazadeh, K. and Pourmoradian, S., *Starch*, 66 (2013) 102.
- Hylemon, P. B., Zhou, H., Pandak, W. M., Ren, S., Gil, G. and Dent, P., *The Journal of Lipid Research*, 50 (2009) 1509.
- ICC, ICC Standards, International Association for Cereal Science and Technology (ICC), Vienna, Austria, 2008.
- Inglett, G. E., Peterson, S. C. and Carriere, C. J., *Food Chemistry*, 90 (2005) 1.
- Izydorczyk, M., Lagassé, S., Hatcher, D., Dexter, J. and Rosnagel, B., *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85 (2005) 2094.
- Jambrec, D., Sakač, M., Jovanov, P., Mišan, A., Pestorić, M., Tomović, V. and Mandić, A., *Chemistry*, 22 (2016) 319.
- Jyothsna, E. and Hymavathi, T. W., *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6 (2017) 67.
- Kahlon, T. S. and Chiu, M. C. M., *Medical Research Archives*, 6 (2018) 1.

- Kahraman, K., Köksel, H., Enzime dirençli nişasta üretimi ve fonksiyonel özelliklerinin incelenmesi, Hububat Ürünleri Teknoloji Kongresi, 7-8 Eylül, Gaziantep, **2006**.
- Kaplan-Evlice, A. ve Özkaya, H., Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 20 (**2011**) 33.
- Karakoç, I., Farklı Buğday Unu Tiplerinin Halla Ekmeği Kalitesi Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, **2007**.
- Kaur, G., Sharma, S., Nagi, H. P. S. and Dar, B. N., Journal of Food Science and Technology, 49 (**2012**) 467.
- Kim, W. K., Chung, M. K., Kang, N. E., Kim, M. H. and Park, O. J., The Journal of Nutritional Biochemistry, 14 (**2003**)166.
- Köksel, H., Sivri, D., Özboy, Ö., Başman, A., Karacan, H. D., Hububat Laboratuvarı El Kitabı, Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, **2000**.
- Kumar, A., Sahoo, U., Baisakha, B., Augustine Okpani, O., Ngangkham, U., Basak, N., ... and Sharma, S., Journal of Cereal Science, 79 (**2018**) 348.
- Lauková, M., Kohajdová, Z., Karovičová, J., Kuchtová, V., Mínaviřová, L. and Tomášiková, L., Food Science and Technology International, 23 (**2017**) 490.
- Li,J., Hou, G.G., Chen, Z.,Chung, A. L. and Gehring, K., LWT - Food Science and Technology, 55 (**2014**) 43.
- Liu, C.Y., Shepherd, K. W. and Rathjen, A. J., Chemistry, 73 (**1996**) 155.
- Lockyer, S. and Nugent, A. P., Nutrition Bulletin, 42 (**2017**) 10.
- Makhlouf, S., Jones, S., Ye, S. H., Sancho-Madriz, M., Burns-Whitmore, B. and Li, Y. O., Food Quality and Safety, 3 (**2019**) 117.
- Maningat, C. C. and Seib, P. A., RS4-Type Resistant Starch: Chemistry, Functionality and Health Benefits. Resistant Starch: Sources, Applications and Health Benefits, Shi, Y. C. and Maningat, C. C. (Eds), John Wiley ve Sons, New Jersey,43–77, **2013**.
- Manno, D., Filippo, E., Serra, A., Negro, C., De Bellis, L. and Miceli, A., International Journal of Food Science & Technology, 44 (**2009**) 2218.

- Marsh, K., Barclay, A., Colagiuri, S. and Brand-Miller, J., *Current Diabetes Reports*, 11 (2011) 120.
- Me, N. and Aw, N. F. A., *Malaysian Journal of Nutrition*, 15 (2009) 213.
- Menderis, M., Atli, A., Köten, M. ve Kılıç, H., *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 12 (2008) 57.
- Miao, M., Jiang, B., Cui, S. W., Zhang, T. and Jin, Z., *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55 (2015) 1642.
- Miller, R. A. and Bianchi, E., *Cereal Chemistry*, 94 (2017) 185.
- Mirhosseini, H., Rashid, N. F. A., Amid, B. T., Cheong, K. W., Kazemi, M. and Zulkurnain, M., *LWT - Food Science and Technology*, 63 (2015) 184.
- Mohebbi, Z., Homayouni, A., Azizi, M. H. and Hosseini, S. J., *Journal of Food Science and Technology*, 55 (2018) 101.
- Mostarda, S., Passeri, D., Carotti, A., Cerra, B., Colliva, C., Benicchi, T., ... and Gioiello, A., *European Journal of Medicinal Chemistry*, 144 (2018) 349.
- Naumann, S., Schweiggert-Weisz, U., Eglmeier, J., Haller, D. and Eisner, P., *Nutrients*, 11 (2019) 1.
- Nayak, B., De J. Berrios, J. and Tang, J., *Food Research International*, 56 (2014) 35.
- Ngure, K. S., *Determination of Zinc, Iron, Resistant Starch, Phytic Acid and Their Effect on Rheological and Organoleptic Properties for Selected Kenyan Wheat Varieties*, Master Thesis, Egerton University, Biochemistry and Molecular Biology, Njoro, 2016.
- Nilusha, R. A. T., Jayasinghe, J. M. J. K., Perera, O. D. A. N. and Perera, P. I. P., *International Journal of Food Science*, 2019 (2019) 1.
- Nugent, A. P., *Nutrition Bulletin*, 30 (2005) 27.
- Nugraheni, M., Hamidah, S. and Auliana, R., *International Food Research Journal*, 25 (2018) 314.
- Oikonomou, N. A., Bakalis, S., Rahman, M. S. and Krokida, M. K., *International Journal of Food Properties*, 18 (2015) 1.

- Önür, N. D. ve Beyler, A. R., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 54 (2001) 1.
- Özderen, T., Olanca, B., Şanal, T., Özay, D. S. and Köksel, H., Journal of Cereal Science, 48 (2008) 464.
- Özkaya, H., Özkaya, B., Tahıl ve Ürünleri Analiz Yöntemleri, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Ankara, 2005.
- Öztürk, S., Köksel, H. and Ng, P. K. W., International Journal of Food Sciences and Nutrition, 60 (2009) 449.
- Mamiro, P., Mwanri, A., Mamiro, D., Nyagaya, M. and Ntwenya, J., African Journal of Agricultural Research, 11 (2016) 730.
- Quintaes, K. D. and Diez-Garcia, R. W., The importance of minerals in the human diet. Handbook of Mineral Elements in Food, De la Guardia, M. and Garrigues, S. (Eds), John Wiley ve Sons, West Sussex, 1-21, 2015.
- Raben, A., Tagliabue, A., Christensen, N. J., Madsn, J., Holst, J. J. and Astrup, A., The American Journal of Clinical Nutrition, 60 (1994) 544.
- Raigond, P., Ezekiel, R., Singh, B., Dutt, S., Joshi, A. and Rinki., Potato Journa, 42 (2015) 81.
- Rakhesh, N., Fellows, C. M. and Sissons, M., Journal of the Science of Food and Agriculture, 95 (2014) 2.
- Roman, L. and Martinez, M. M., Foods, 8 (2019) 267.
- Rosell, C. M., Santos, E. and Collar, C., European Food Research and Technology, 231 (2010) 535.
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S. and Kulkarni, P. R., Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 5 (2006) 1.
- Sanz-Penella, J. M., Wronkowska, M., Soral-Śmietana, M., Collar, C. and Haros, M., European Food Research and Technology, 231 (2010) 499.
- Šárka, E., Kubová, M., Wiege, I., Horák, P., Smrčková, P., Dvoráček, V. and Chena, D., Czech Journal of Food Sciences, 35 (2017) 67.
- Sato, R., Cilli, L. P. de L., Oliveira, B. E. de, Maciel, V. B. V., Venturini, A. C. and Yoshida, C. M. P., Food Science and Technology, 38 (2019) 28.

Shamai, K., Bianco-Peled, H. and Shimoni, E., *Carbohydrate Polymers*, 54 (2003) 363.

Sharma, A., Yadav, B. S. and Yadav, R. B., *Food Reviews International*, 24 (2008) 193.

Shyu, Y. S., Hwang, J. Y., Huang, T. C. and Sung, W. C., *Journal of Food and Nutrition Research*, 6 (2018) 335.

Sieri, S. and Krogh, V., *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 27 (2017) 18.

Şimşek, S. and El, S. N., *Carbohydrate Polymers*, 90 (2012) 1204.

Skendi, A., Biliaderis, C. G., Papageorgiou, M. and Izydorczyk, M. S., *Food Chemistry*, 119 (2010) 1159.

Smweing, J., *Cereal Foods World*, 42 (1997) 8.

Sobota, A. and Zarzycki, P., *Journal of Food Quality*, 36 (2013) 127.

Sözer, N., Dalgıç, A. C. and Kaya, A., *Journal of Food Engineering*, 81 (2007) 476.

Stewart, M. L., Wilcox, M. L., Bell, M., Buggia, M. A. and Maki, K. C., *Nutrients*, 10 (2018) 1.

Suliburska, J. and Krejpcio, Z., *Journal of Food Science and Technology*, 51 (2014) 589.

Sullivan, P., O'Flaherty, J., Brunton, N., Arendt, E. and Gallagher, E., *Journal of Food Engineering*, 105 (2011) 493.

Tanacs, L., *Cereal Research Communications*, 35 (2007) 1197.

Tang, N. and Skibsted, L. H., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65 (2017) 8727.

Taş, A. A. and El, S. N., *Food Chemistry*, 70 (2000) 493.

Tawfeuk, H. Z. and Gomaa, R. A., *Egyptian Journal of Food Science*, 45 (2017) 155.

Ting, S. R. and Loh, S. P., *International Food Research Journal*, 23 (2016) 2175.

Tudorică, C. M., Kuri, V. and Brennan, C. S., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (2002) 347.

- Üçok, K., Mollaoğlu, H., Genç, A., Akkaya, M. ve Şener, Ü., *Cerrahi Sanatlar Dergisi* Cerrahi Sanatlar Dergisi, 1 (2010) 1.
- Ünsal-Canay, F., Durum Buğdayı Çeşitlerinin Fitik Asit Miktarları, Makarnaya İşleme Sırasındaki Değişiklikler ve Fitik Asitin Azaltılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2018.
- Van Hung, P. and Morita, N., *Food Research International*, 37 (2004) 461.
- Vernaza, M. G., Biasutti, E., Schmiele, M., Jaekel, L. Z., Bannwart, A. and Chang, Y. K., *International Journal of Food Science & Technology*, 47 (2012) 1302.
- Wang, J., Rosell, C. M. and Benedito de Barber, C., *Food Chemistry*, 79 (2002) 221.
- Williams, P., El-Haramein, F. J., Nakkoul, H., Rihavi, S., *Crop Quality Evaluation Methods and Guidelines*, Aleppo, Syria, 1988.
- Wojciechowicz, A., Gil, Z., Szychaj, R., Czaja, A., Pejcz, E., Czubaszek, A. and Zmijewski, M., *Journal of Food Processing & Technology*, 6 (2015) 1.
- Xhabiri, G. Q., *MOJ Food Processing & Technology*, 2 (2016) 1.
- Yang, I. F., Understanding The Relationship of Bile Acid Binding Capacity, Phenolic Compounds and Their Bioaccessibility of Selected Vegetables, Master Thesis, Texas AveM University, Food Science and Technology, Texas, 2017.
- Yeo, L. L. and Seib, P. A., *Cereal Chemistry*, 86 (2009) 210.
- Younes, H., Coudray, C., Bellanger, J., Demigné, C., Rayssiguier, Y. and Rémésy, C., *British Journal of Nutrition*, 86 (2001) 479.
- Zacherl, C., Eisner, P. and Engel, K. H., *Food Chemistry*, 126 (2011) 423.
- Zeng, S., Wu, X., Lin, S., Zeng, H., Lu, X., Zhang, Y. and Zheng, B., *Food Chemistry*, 186 (2015) 213.
- Zhang, H. and Jin, Z., *Carbohydrate Polymers*, 86 (2011) 1610.
- Zhou, Z., Cao, X. and Zhou, J. Y. H., *Starch*, 65 (2013) 509.
- Zhu, F., *Trends in Food Science & Technology*, 86 (2019) 252.

EK 1 - Tezden Türetilmiş Yayınlar

Received: 10 June 2019 | Revised: 9 September 2019 | Accepted: 30 September 2019

DOI: 10.1002/cche.10229

RESEARCH ARTICLE



Effects of resistant starch type 4 supplementation of bread on in vitro glycemic index value, bile acid-binding capacity, and mineral bioavailability

Merve Aribas^{1,2} | Kevser Kahraman³ | Hamit Koksel^{2,4} ¹Department of Food Engineering, Aksaray University, Aksaray, Turkey²Department of Food Engineering, Hacettepe University, Ankara, Turkey³Department of Material Science and Nanotechnology Engineering, Abdullah Gul University, Kayseri, Turkey⁴Department of Nutrition and Dietetics, Işnye University, Istanbul, Turkey**Correspondence**

Hamit Koksel, Department of Food Engineering, Hacettepe University, Ankara, Turkey.

Email: koksel@hacettepe.edu.tr

Abstract

Background and objectives: RS4 is an alternative dietary fiber source with some potential physiological benefits giving better quality end products. Common dietary fiber sources including bran usually have deteriorative effect on color, textural properties, and consumer acceptability of breads. This study was designed to investigate the effect of RS4 supplementation on the bread quality as well as mineral bioavailability, bile acid-binding capacity, in vitro glycemic index.

Findings: Loaf volumes of the breads supplemented with RS4 were higher than the bread supplemented with wheat bran (WB). Among the bread samples, the one supplemented with WB had the darkest color and highest firmness values. During storage, WB supplementation caused the highest increase in bread firmness. RS4 supplementation caused higher total dietary fiber (TDF) and mineral bioavailability values and lower in vitro glycemic index than bran supplementation.

Conclusions: RS4 supplementation of bread caused increases in TDF content, bile acid-binding capacity, and mineral bioavailability and has less deteriorative effect on the quality than WB supplementation. Breads supplemented with WB had a faster staling rate than the breads supplemented with RS4.

Significance and novelty: Besides the better appearance and texture of the RS4 supplemented bread samples, the improvement in nutritional properties proved that RS4 is a better dietary fiber source than WB.

KEYWORDS

in vitro bile acid-binding capacity, in vitro glycemic index, mineral bioavailability, resistant starch type 4

1 | INTRODUCTION

Resistant starch (RS) is defined as the fraction of starch, which escapes digestion in the small intestine but may be fermented in the colon. It has been classified into four categories (RS1, RS2, RS3, RS4; Englyst, Kingman, & Cummings, 1992). RS1 is a starch form, which is physically nondigestible. It has been trapped in the food matrix such as partly milled grains and seeds. RS2 is ungelatinized granular starch. It comprises of native, uncooked granules like raw potato or unripe banana

starches (Sharma, Yadav, & Ritika, 2008). RS3 is retrograded starch and is produced by gelatinization followed by retrogradation of starch molecules (Sajilata, Singhal, & Kulkarni, 2006). RS4 is a chemically modified starch and include starches, which are etherized, esterified, or cross-linked (Nugent, 2005). Amylose-lipid complexes have also been proposed as resistant starch type 5 (RS5), because of its resistance to enzyme hydrolysis (Hasjim, Ai, & Jane, 2013).

Product developers and nutritionists are interested in resistant starch as a food ingredient for two reasons: the potential

physiological benefits and better quality of end products. Many studies report that RS has physiological functions similar to dietary fiber (DF; Baixauli, Salvador, Martínez-Cervera, & Fiszman, 2008). Because of the bile-binding ability of fibers, bile acids are excreted from the body after the consumption of high fiber products. Thus, gall bladder signals the liver to increase bile acid synthesis from serum low-density lipoprotein (LDL) cholesterol. The LDL cholesterol removed from the bloodstream is used to synthesize new bile acids, causing a drop in the LDL serum cholesterol levels (Hinkle, 2013). Glycemic index (GI) is the value that shows the increase in blood glucose after the intake of carbohydrate-containing foods, compared to the increase in blood glucose following the digestion of white bread (Rizkalla, Bellisle, & Slama, 2002). RS has been associated with reduced digestibility, providing prolonged, and slow glucose release; therefore, a low GI compared to regular starch. Foods with low GI are known to reduce the risk of cardiovascular disease and type 2 diabetes. Besides, RS produces short-chain fatty acids (SCFAs) due to its fermentation by the colonic microorganisms and SCFAs promote normal colonic function (Nugent, 2005) and prevents colonic cancer (Hasjim et al., 2013). RS has a fine particle size, white color, mild flavor, lower water-holding capacity, and higher water-binding capacity. Moreover, it can be either water soluble or insoluble. Because of their functional properties, resistant starches can be added in a wide range of foods including dairy products, breads, cakes, muffins, pasta, and battered foods (Homayouni et al., 2014; Sanz, Salvador, & Fiszman, 2008).

Due to the increased interest in healthy foods, dietary fiber is currently accepted as an essential food ingredient. Popular food products, such as bread, are being used as vehicles for increasing DF consumption (Fuentes-Zaragoza, Riquelme-Navarrete, Sánchez-Zapata, & Pérez-Álvarez, 2010). However, high fiber breads have several negative attributes such as dark color, decreased loaf volume, poor mouthfeel, and undesirable flavor (Sajilata et al., 2006). In comparison with conventional fibers, such as bran, whole grains, or fruit fibers, RS has advantages of affecting the sensory properties of the end products less and it provides better appearance, texture, and mouthfeel than conventional fibers (Fuentes-Zaragoza et al., 2010). In a study evaluating the effects of RS on bread characteristics and comparing their performance with traditional fibers (cellulose, oat fiber, wheat fiber), two commercial RS samples (HylonVII and Novelose 240) were used. The breads supplemented with RS had greater loaf volume and better cell structure compared to the breads supplemented with traditional fibers (Baghurst, Baghurst, & Record, 1996; Sajilata et al., 2006).

RS4 is a distinctive class of RS due to the large variety of possible chemical modifications, which might decrease digestibility (Stewart & Zimmer, 2017) and can be produced from various starch sources such as maize, tapioca, and potato.

Functional properties of RS4 can vary depending on the source of starch and type of chemical modification (Sajilata & Singhal, 2005; Stewart & Zimmer, 2017). These variations affect their functionality, digestibility, and fermentability as they are added into food formulations (Maningat & Seib, 2013; Stewart, Wilcox, Bell, Buggia, & Maki, 2018). RS4 has been useful in formulations needing pulpy texture, smoothness, flowability, low pH, and high temperature storage (Sajilata & Singhal, 2005). Since new types of RS4 have been emerging, the studies on RS4 as a food ingredient are intensified in the recent years (Stewart et al., 2018). There are some studies investigating the effect of RS4 supplementation on the volume, textural properties, color parameters, firmness, and total dietary fiber (TDF) values of the breads in the literature.

A study on the effect of RS4 (acetylated retrograded starch) on bread quality indicated that breads supplemented with RS4 had a lighter crust color than the control bread. Moreover, TDF contents of the bread samples increased significantly with increasing level (10%, 20%, 30%, and 40%) of RS4 supplementation (Wojciechowicz et al., 2015). In another study, bread samples supplemented with 25% RS4 (phosphorylated cross-linked) had significantly lower loaf volume compared to the control bread (Miller & Bianchi, 2017).

To the best of authors' knowledge, there are no studies investigating the mineral bioavailability, *in vitro* glycemic index, and bile acid-binding capacity in RS4 supplemented breads. The aim of this study was to investigate the effect of RS4 supplementation on the bread quality as well as mineral bioavailability, bile acid-binding capacity, *in vitro* glycemic index. For this purpose, RS4 samples were added into the bread formulations at different levels (15%, 20%, 25%; flour basis). Wheat bran was also used (at 15% level) in the bread formulation for comparison.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Materials

Bread wheat flour was obtained from Bagislar Un. RS4 (phosphorylated cross-linked) sample was kindly donated by Demirpolat Inc. Wheat bran was obtained from Ankara Halk Ekmek Inc. and milled by using a Perten 3100 (Perten Ins.) to pass 500 μm . CaCO_3 as Ca and Fe-Zn mixture were obtained from UNO for mineral analysis. The chemicals used in this study were of analytical reagent grade, unless otherwise specified.

2.2 | Chemical and physicochemical analyses

Moisture, ash, and protein (Velp-NDA 701 Dumas Nitrogen Analyzer) contents of the samples (wheat flour, wheat bran, and RS4) were determined by using the AACC Method 44-15A, 08-01.01, and 46-30 (AACC International, 2009),

respectively. The Zeleny sedimentation value of the flour sample was measured according to the AACC Method 56-60 (AACC International, 2009). Dry gluten content (Perten Glutomatic and Glutork 2020) of the flour sample was determined according to the AACC Method 38-12A (AACC International, 2009).

The TDF contents of RS4, bran, and bread samples were determined according to AACC Method No. 32-07.01 (AACC International, 2009) using TDF determination kit (Megazyme Int.). Sequential enzymatic digestion was applied to the samples using heat-stable α -amylase, protease, and amyloglucosidase to remove digestible starch and protein. Enzyme digestate was treated with alcohol before filtering through a preweighted crucible containing celite as a filter aid. TDF residue was washed with alcohol and acetone, dried, weighed, and expressed as % (g TDF/100 g dry sample).

2.3 | Bread making and storage experiment

Bread samples were prepared according to the AACC Method 10-10B (AACC International, 2009) as modified by Ozturk, Koksel, and Ng, (2009). The formula included 100 g of flour, 25 ml salt solution (noniodized, 6.0%), 25 ml yeast suspension (8.0%), and water according to the Farinograph water absorption value. Doughs were mixed by using a stand mixer (Kitchenaid). The dough samples were punched after 30 min of fermentation and left for fermentation for another 30 min. After the second fermentation, the dough was molded and panned. Final proof was 55 min. The loaves were baked in a laboratory rotary oven (Simsek Labor teknik) at 230°C for 25 min. RS4 and wheat bran samples were added into the respective bread formulations at different levels (15%, 20%, 25% for RS4, and 15% for wheat bran; flour basis). Wheat bran supplementation level was kept at 15%, due to its extreme deteriorative effects on bread quality. The bread making was performed in triplicate, and mean values were reported. The bread samples were cooled at room temperature for 2 hr. Afterward, they were packed in plastic bags and stored at room temperature for 1 and 3 days.

For determination of in vitro calcium, iron, and zinc bio-availability; calcium carbonate (Vitamik) and Fe–Zn mixture (Vitamik) were added to the bread formulation at the levels of daily intake values stated at the Turkish Food Codex Regulation on labeling and provision of food information to consumers (Table 1; Codex, 2017).

2.4 | Bread quality

The volume, textural properties, and color parameters of the bread samples were determined after cooling to room temperature. The volumes of bread samples were determined using the rapeseed displacement method in a loaf volumeter (National Mfg). Bread firmness was measured according to

TABLE 1 Daily reference intake values for vitamins and minerals indicated in the Turkish Food Codex (Codex, 2017)

Nutrient	Nutrition reference value (mg/100 g) ^a
Calcium	800
Iron	14
Zinc	10

^aAcceptable for healthy individuals at 4 years and over.

AACC Method 74-09 (AACC International, 2009). A texture analyzer (Stable Microsystems; TA-XT plus) equipped with 5 kg load cell, and a 30-mm cylinder probe was used for the texture analysis. The force (firmness, N) required to compress 40% of two slices (1.25 cm each) was determined at 1.7 mm/s test speed. The crust color of breads was assessed using a spectrophotometer (Minolta; CM-3600d). The color of each sample was measured from eight different points according to CIE L^* , a^* , b^* color space parameters.

2.5 | In vitro glycemic index value

The samples were digested according to the method of Englyst, Veenstra, and Hudson, (1996). For this purpose, 100 mg of sample was weighed into 50 ml tubes containing 10 glass beads (5 mm diameter). Two milliliters of HCl (0.05 M) containing pepsin (5 mg/ml, Sigma; P7000) was added to the tubes, and the tubes were incubated at 37°C in a shaking water bath for 30 min. Sodium acetate buffer (4 ml, 0.5 M, pH 5.2), 1 ml of enzyme solution containing 0.104 g pancreatin (Sigma; P7545), and 14.45 U amyloglucosidase (3,300 U/ml; Megazyme Int.) were added to each tube. The tubes were incubated horizontally at 37°C in a shaking water bath. Aliquots (100 μ l) were taken into Eppendorf tubes at 0 and 90 min intervals and mixed with 1 ml of absolute ethanol. These solutions were centrifuged at 800 g for 10 min, and glucose content was measured with glucoseoxidase–peroxidase (GOPOD) reagent (Megazyme Int.) by using a spectrophotometer (Shimadzu 1601) at 510 nm wavelength. The hydrolysis index (HI) shows starch digestion rate, and in vitro glycemic index (GI) indicates the digestibility of the starch against white bread (reference, GI:100). The hydrolysis index (HI) is the ratio of the area under the hydrolysis curve of sample to the area under the hydrolysis curve of white bread as reference sample. The HI was calculated as follows:

$$HI = \frac{\text{Area under the curve of the sample}}{\text{Area under the curve of white bread}}$$

The in vitro GI was determined by using the following equation of Goñi, Garcia-Alonso, and Saura-Calixto, (1997).

$$GI = 39.71 + 0.549HI$$

2.6 | In vitro bile acid-binding capacity

Bile acid (BA)-binding capacity of the samples was determined according to the method described previously (Zacherl, Eisner, & Engel, 2011) with some modifications. Sample (50 mg) was dissolved in water (ratio 1:2) and homogenized. After adding HCl (1 ml, 0.01 N), the samples were incubated in a 37°C water bath for 60 min. After the incubation, NaOH (0.1 ml, 0.1 N, pH 6.3) and pancreatin-bile acid mixture (w:w, 1:9.4, 1 ml) were added. Sodium taurodeoxycholate hydrate (TDC) was used as the bile acid. After the incubation, the sample was centrifuged at 21,734 g for 10 min; the supernatant was kept in boiling water for 5 min to inactivate enzymes. After cooling, methanol and KH_2PO_4 were added to the solution. The sample was filtered through a 0.45 μm filter to be used for HPLC analysis. The mobile phase for HPLC was methanol–sodium phosphate–water (v:v:v, 70:20:10) solution and a flow of 0.8 ml/min at a temperature of 40°C. The results were measured using Diode Array Detector (DAD) at wavelength of 200 nm. A calibration curve prepared with bile acid standard solution was used for the quantification of the bile acid. Unconjugated bile acid content was calculated using the area under the curve. BA-binding value of the samples was calculated by subtracting the unconjugated bile acid from the total bile acid content and expressed as $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ and % bound relative to Cholestyramine.

2.7 | In vitro mineral bioavailability

In vitro mineral bioavailability is expressed as a ratio of the amount of the mineral released during enzymatic digestion to the total amount of the mineral contained in the sample. Enzymatic digestion was made according to Suliburska and Krejpcio, (2014). In vitro mineral bioavailability was determined for the samples supplemented with 15% RS and 15% WB. Control sample (100% wheat flour) was also analyzed.

The samples (10 gr) were mixed with deionized water (100 ml). The pH of the mixture was adjusted to pH 2.0 with 0.1 N HCl solution and treated with pepsin (0.5 ml). The samples were incubated in a 37°C shaking water bath for 2 hr. After the incubation, the pH was adjusted to 6.8–7.0, subjected to pancreatin (25 ml; 0.4 g/100 ml NaHCO_3) and incubated in a shaking water bath under the same conditions for 4 hr. After the digestion, the samples were centrifuged for 20 min at a speed of 15,093 g. The supernatant (25 ml) was transferred to Teflon vessels and ashed with HNO_3 (7 ml) by means of a closed pressurized system microwave oven (MARS-5 CEM). Then, it was filtered into a volumetric flask (100 ml). Lanthanum chloride solution (1 ml) was added (0.1%, w/v) for calcium determination. Lastly, it was diluted to 100 ml with deionize water and the minerals were determined by atomic absorption spectrophotometer (AAS; Thermo Scientific).

For the determination of total amount of the mineral contained in the sample, approximately 1 g sample was weighed and ashed with HNO_3 in Teflon vessels in a microwave oven. The concentration of Ca, Zn, and Fe were determined by AAS.

2.8 | Statistical analysis

All of the results are reported as means of at least duplicate analyses. Data were analyzed by using one-way analysis of variance (ANOVA). When significant ($p < .05$) differences were found, Duncan's test was used to determine the differences among means.

3 | RESULTS AND DISCUSSION

3.1 | Chemical and physicochemical properties of flour, wheat bran, and RS4 samples

Zeleny sedimentation value, protein ($\text{N} \times 5.7$, dry basis), moisture, ash, TDF, and dry gluten contents of the flour sample were 61 ml, 13.6%, 13.9%, 0.50%, 4.3%, and 10.7%, respectively. A flour sample with relatively high gluten quality was selected to tolerate the potential negative effects of resistant starch and bran addition on the quality of bread. Moisture, ash, and TDF contents of wheat bran were 9.5%, 5.50%, and 60.0%, respectively, while the corresponding values of the RS4 sample were 5.4%, 0.05%, and 85.4%, respectively.

The TDF contents of bread samples are presented in Table 2. TDF content of control bread was 7.0%. TDF contents of RS4 supplemented breads increased significantly ($p < .05$) with RS4 supplementation and reached to 30.6% at the 25% supplementation level. While significant increase in TDF content of wheat bran supplemented bread was observed compared to the control bread, TDF content of this bread was significantly lower as compared to the bread supplemented with RS4 at the same level ($p < .05$). A study on RS4 supplemented bread indicated that RS4 supplementation resulted in significant increases in TDF content ($p < .05$; Stewart et al., 2018). These results are in line with our study.

3.2 | Physical properties of bread samples

Crust properties of breads supplemented with RS4 and wheat bran are shown in Figure 1, and loaf volume, crust color, and firmness values of the breads supplemented with different levels of RS4 and wheat bran are presented in Table 3. Significant decreases in loaf volumes of RS4 supplemented breads were observed as the supplementation level increased. The results of the present study are in line with various other studies (Ozturk et al., 2009; Rosell, Santos, & Collar, 2010) indicating that RS weakens the

TABLE 2 TDF contents of bread samples

Sample	Total dietary fiber (%)		
	Day 0	Day 1	Day 3
CB	7.0 e	6.7 e	7.3 e
RS15	20.4 c	20.0 c	20.8 c
RS20	25.3 b	24.3 b	25.7 b
RS25	30.6 a	28.7 a	30.8 a
WB15	16.3 d	16.3 d	16.7 d

Note: Means with different small letters within each column are significantly different ($p < .05$).

Abbreviations: CB, control bread; RS15, breads supplemented with RS4 at 15% level; RS20, breads supplemented with RS4 at 20% level; RS25, bread supplemented with RS4 at 25% level; TDF, total dietary fiber; WB15, breads supplemented with wheat bran at 15% level.

gluten and decreases the specific volume of bread. While the difference in the loaf volumes of the breads supplemented with 15% and 20% RS4 was not significant, their loaf volumes were significantly higher than the bread supplemented with 25% RS4 ($p < .05$). The lowest loaf volume was observed for the bread supplemented with 15% wheat bran. The loaf volume of this bread was significantly lower as compared to the breads supplemented with RS4 at all levels ($p < .05$). Although loaf volumes of all breads supplemented with RS4 were significantly lower than the control bread, their loaf volumes were acceptable. Shyu, Hwang, Huang, and Sung, (2018) reported that the loaf volumes of breads made from flours substituted with 10% RS4 (Fibersym™70) were not significantly different from those of the control, whereas the substitution with 20% and 30% RS4 decreased the loaf volume.

Table 3 displays color values of crust for the bread samples. Crust L^* and b^* values of the breads increased significantly with increasing level of RS4 supplementation. On the other hand, supplementation of wheat bran caused decreases in L^* and b^* values as compared to the control bread. The

a^* values of breads decreased with both RS4 and wheat bran supplementation. The results of the present study are in line with Barros, Telis, Taboga, and Franco, (2018) indicating that the higher the concentration of RS, the higher the L^* , and the lower the a^* values. Similarly, the crust L^* values of bread increased with resistant starch supplementation in another study. However, a^* and b^* values decreased. Since Maillard reaction caused the browning of the crust during baking, the dilution of the wheat proteins might have been resulted in a lighter colored crust (Altuna, Ribotta, & Tadini, 2015).

Firmness values of the bread samples are presented in Table 3. The firmness value of wheat bran supplemented bread was significantly higher as compared to the breads supplemented with RS4 at all levels. Significant increases in firmness values of RS4 supplemented breads were observed as the supplementation level increased ($p < .05$). Similar results were also observed in a study in which breads were supplemented with different levels (10%, 20%, 30%) of Novelose330 (RS3; Ozturk et al., 2009). They indicated that Novelose330 addition caused increases in firmness values above the 10% level. In another study, the textural properties of bread containing resistant starch at the 20% level were significantly different from those of the controls (0% RS) and 10% level (Shyu et al., 2018).

Within each storage day, the firmness values of the breads supplemented with RS4 increased and wheat bran supplementation caused the highest increase in firmness values. These increases were statistically significant ($p < .05$). The firmness values of the breads increased over days 1 and 3 during storage. These increases were statistically significant for RS4 and bran supplemented samples and control bread ($p < .05$). The results indicated that the breads supplemented with wheat bran had a faster staling rate than the breads supplemented with RS4. The RS4 sample used in the present study is highly cross-linked, and it is quite likely that starch molecules will not leach out of the granules within the bread loaf during baking ($<100^\circ\text{C}$). In other words, due

FIGURE 1 External properties of breads supplemented with RS4 (15%, 20%, and 25%) and wheat bran (15%)

TABLE 3 Loaf volumes and quality characteristics of breads supplemented with different levels of RS4 and wheat bran samples

Sample	Addition level (%)	Loaf volume (cm ³)	Crust color			Firmness (g)		
			L*	a*	b*	Day 0	Day 1	Day 3
CB	0	658 a	45.67 d	15.67 a	26.00 c	55.00 eC	116.00 eB	182.67 eA
RS15	15	638 b	54.33 c	14.00 b	27.67 b	66.67 dC	133.33 dB	227.00 dA
RS20	20	630 b	56.33 b	13.33 b	28.67 ab	94.00 cC	154.67 cB	243.00 cA
RS25	25	613 c	61.33 a	12.33 c	30.00 a	111.33 bC	179.33 bB	268.33 bA
WB15	15	478 d	43.67 e	12.33 c	22.33 d	146.33 aC	207.67 aB	326.00 aA

Note: Means with different small letters within each column are significantly different ($p < .05$).

Means with different capital letters within each row are significantly different ($p < .05$).

Abbreviations: CB, control bread; RS15, breads supplemented with RS4 at 15% level; RS20, breads supplemented with RS4 at 20% level; RS25, breads supplemented with RS4 at 25% level; WB15, breads supplemented with wheat bran at 15% level.

TABLE 4 Bile acid-binding and in vitro GI value of bread samples

Sample	Bile acid (BA)-binding capacity						In vitro GI		
	Bound BA ($\mu\text{mol}/100\text{ g}$)			Bound BA relative to cholestyramine (%)			Day 0	Day 1	Day 3
	Day 0	Day 1	Day 3	Day 0	Day 1	Day 3			
CB	0.52 d	0.56 d	0.58 d	5.2 d	5.6 d	5.8 d	100.0 aA	91.3 aB	82.6 aC
RS15	0.82 c	0.84 c	0.84 c	8.2 c	8.4 c	8.4 c	82.2 cA	76.6 bB	70.6 bC
RS20	0.87 b	0.89 b	0.89 b	8.7 b	8.8 b	8.9 b	80.8 dA	71.2 cB	66.0 cC
RS25	0.89 a	0.92 a	0.93 a	8.9 a	9.2 a	9.3 a	75.0 eA	66.9 dB	56.8 dC
WB15	0.87 b	0.89 b	0.89 b	8.6 b	8.8 b	8.9 b	88.4 bA	87.4 aA	82.2 aB
Cholestyramine	10.04								

Note: Means with different small letters within each column are significantly different ($p < .05$).

Means with different capital letters within each row are significantly different ($p < .05$).

Abbreviations: CB, control bread; RS15, breads supplemented with RS4 at 15% level; RS20, breads supplemented with RS4 at 20% level; RS25, breads supplemented with RS4 at 25% level; WB15, breads supplemented with wheat bran at 15% level.

to high level of cross-linking, starch molecules do not have enough mobility to interact with each other and go through retrogradation. Therefore, the level of retrogradation (hence staling rate) is expected to be limited in the loaves supplemented with RS4. It is also reported that RS decreases amylopectin retrogradation rate (Sanz-Penella, Wronkowska, Soral-Šmietana, Collar, & Haros, 2010) or behave as an inert ingredient in the system (Almeida, Chang, & Steel, 2013). These are probably the main reasons for the slower staling effect in the samples supplemented with RS4 as compared to the one supplemented with bran. Therefore, RS4 seems to be a better dietary fiber source than wheat bran in terms of affecting the bread staling rate.

3.3 | Nutritional properties of bread samples

The in vitro GI values of bread samples are presented in Table 4. RS4 supplementation caused a great decrease in GI values. The breads supplemented with RS4 and wheat bran had lower in vitro GI values than the control sample

(white bread). The in vitro GI values of the breads supplemented with RS4 ranged from 57.4 to 83.9, whereas the in vitro GI values of the breads supplemented with bran were relatively higher (90.0–92.1). RS4 supplementation of bread caused a lower GI compared to bran supplementation. Foods are classified as low ($GI \leq 55$), medium ($GI 56$ – 69), and high ($GI \geq 70$) glycemic index foods (Kumar et al., 2018). According to the results, the bread samples supplemented with 20% or higher RS4 levels can be categorized as medium or low GI food.

Within each storage day, GI values of the RS4 supplemented breads significantly decreased ($p < .05$) as the RS4 supplementation level increased. Furthermore, as the GI values of breads are compared at each RS4 supplementation level, significant decreases were observed in both 1st and 3rd storage days ($p < .05$). A similar trend was also observed in control and wheat bran supplemented breads during the storage. Bread staling is closely related to starch retrogradation, and it is known that RS3 is produced due to retrogradation of starch molecules. The decrease in GI can

be associated with the formation of RS3 during the storage of the bread samples.

Bile acid binding is one of the most important characteristics of dietary fiber. Similar to other types of dietary fiber, RS binds to bile acids, prevents their reabsorption, and removes them from the body (Hinkle, 2013; Sharma et al., 2008). BA-binding capacity values of the bread samples are presented in Table 4. BA-binding capacity results are stated in two different ways: the amount of BA bound ($\mu\text{mol}/100\text{ g}$) and percent BA bound relative to Cholestyramine (%). BA-binding capacity of bread samples increased significantly with increasing level of RS4 supplementation. The highest BA-binding capacity was observed in the bread supplemented with 25% RS4. The BA-binding capacity of the bread supplemented with 15% wheat bran was equal to that of the bread supplemented with 20% RS4. Hence, both of the breads supplemented with 20% RS4 and 15% wheat bran may have same health-protecting potential due to their same BA-binding capacity. They are expected to have similar cholesterol-lowering effect. The *in vitro* binding of bile acids by taro starch and taro resistant starch relative to Cholestyramine reported by Simsek and El, (2012) were comparable to (5.2% and 7.6%, respectively) the results of the present study.

In vitro bioavailability of minerals of bread samples supplemented with 15% RS4 and wheat bran are presented in Table 5. Ca, Fe, and Zn were added to the bread formulation according to reference values (Table 1) 800 mg/100 g, 11.7 mg/100 g, and 10 mg/100 g, respectively. When the bread supplemented with RS4 was compared to the control bread, it was detected that supplementation of RS caused small but significant increases in Ca and Zn bioavailability. However, Ca and Zn bioavailability values of the bread sample supplemented with 15% RS4 were significantly greater than the sample supplemented with 15% wheat bran. While the difference in the Fe bioavailability of breads supplemented with RS4 and control bread was not significant, Fe bioavailability of breads supplemented with RS4 was significantly higher than the bread supplemented with wheat

bran ($p < .05$). To the best of authors' knowledge, there are no studies investigating the mineral bioavailability in RS4 supplemented breads. In a study about *in vitro* bioaccessibility of minerals from bread samples, the Ca and Zn bioaccessibility values of white bread were detected as 36.10% and 20.63%, respectively (Ting & Loh, 2016). These results are similar to the values obtained for the control bread in the present study.

4 | CONCLUSIONS

RS4 has a good potential to be used as a dietary fiber source in bread formulations. RS4 provides better appearance and texture than wheat bran. The wheat bran had substantial deteriorative effect on the crust color, loaf volume, and firmness values of the breads. The RS4 resulted in a lighter crust color than the control bread and bread supplemented with wheat bran. Hence, the bread supplemented with RS4 is expected to be more desirable than the bread supplemented with wheat bran in terms of consumer acceptability. In addition to its lower negative effects on baking quality, RS4 supplementation caused increases in TDF, BA-binding capacity, and mineral bioavailability values and decrease in *in vitro* glycemic index as compared to the wheat bran supplementation. The results of this study proved that RS4 is a better dietary fiber source than wheat bran in terms of mineral bioavailability and BA-binding capacity and RS supplementation level could be increased, without substantial adverse effects on bread quality.

ACKNOWLEDGMENTS

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors. The authors would like to thank Demirpolat Inc. for providing RS4 sample.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have no conflict of interest regarding the content of this paper.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

H. Koksel and M. Aribas: designed the study; M. Aribas: involved in chemical and physicochemical analysis, bread making and quality determination, *in vitro* bile acid-binding capacity, glycemic index value and mineral bioavailability, total dietary fiber content analysis, statistical analysis, and manuscript writing under H. Koksel supervising; K. Kahraman: involved in *in vitro* glycemic index value, total dietary fiber content analysis, statistical analysis, and manuscript writing.

TABLE 5 Bioavailability of calcium, iron, and zinc of bread samples

Sample	Minerals		
	Ca (%)	Fe (%)	Zn (%)
CM	40.0 b	11.3 a	21.9 b
RSM15	42.5 a	11.5 a	24.3 a
WBM15	22.5 c	6.1 b	15.0 c

Note: Means with different small letters within each column are significantly different ($p < .05$).

Abbreviations: CM, breads supplemented with CaCO_3 and Fe=Zn mixture; RSM15, breads supplemented with RS4 at 15% level and CaCO_3 and Fe=Zn mixture; WBM15, breads supplemented with wheat bran at 15% level and CaCO_3 and Fe=Zn mixture.

ORCID

Hamit Koksel  <https://orcid.org/0000-0003-4150-2413>

REFERENCES

- AACC International (2009). *AACC International approved methods*. <https://doi.org/10.1094/aaccintmethods>
- Almeida, E. L., Chang, Y. K., & Steel, C. J. (2013). Dietary fibre sources in bread: Influence on technological quality. *LWT - Food Science and Technology*, *50*(2), 545–553. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.012>
- Altuna, L., Ribotta, P. D., & Tadini, C. C. (2015). Effect of a combination of enzymes on dough rheology and physical and sensory properties of bread enriched with resistant starch. *LWT - Food Science and Technology*, *64*(2), 867–873. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.024>
- Baghurst, P. A., Baghurst, K. I., & Record, S. J. (1996). *Dietary fibre, non-starch polysaccharides and resistant starch: A review*. Retrieved from <https://publications.csiro.au/rpt/pub?list=BRO&pxml:id=procite:1fb4f67a-47a3-4c8d-84a1-e3709102a1c2>
- Baixaulli, R., Salvador, A., Martínez-Cervera, S., & Fiszman, S. M. (2008). Distinctive sensory features introduced by resistant starch in baked products. *LWT - Food Science and Technology*, *41*(10), 1927–1933. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.01.012>
- Barros, J. H. T., Telis, V. R. N., Taboga, S., & Franco, C. M. L. (2018). Resistant starch: Effect on rheology, quality, and staling rate of white wheat bread. *Journal of Food Science and Technology*, *55*(11), 4578–4588. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3393-6>
- Codex, T. F. (2017). *Turkish Food Codex Regulation on labeling and provision of food information to consumers*.
- Englyst, H. N., Kingman, S. M., & Cummings, J. H. (1992). Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, *46*(Suppl 2), S33–S50.
- Englyst, H. N., Veenstra, J., & Hudson, G. J. (1996). Measurement of rapidly available glucose (RAG) in plant foods: A potential in vitro predictor of the glycaemic response. *The British Journal of Nutrition*, *75*(3), 327–337.
- Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M. J., Sánchez-Zapata, E., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*, *43*(4), 931–942. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.02.004>
- Gofñi, I., Garcia-Alonso, A., & Saura-Calixto, F. (1997). A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*, *17*(3), 427–437. [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(97\)00010-9](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(97)00010-9)
- Hasjim, J., Ai, Y., & Jane, J. (2013). Novel applications of amylose-lipid complex as resistant starch type 5. In Y. C. Shi & C. C. Maningat (Eds.), *Resistant starch* (pp. 79–94). Hoboken, NJ: John Wiley and Sons.
- Hinkle, E. (2013). *A study of cooking and varietal effects on potato in vitro bile acid binding capacity*. Honors College. <https://digitalcommons.library.umaine.edu/honor>
- Homayouni, A., Amini, A., Keshtiban, A. K., Mortazavian, A. M., Esazadeh, K., & Pourmoradian, S. (2014). Resistant starch in food industry: A changing outlook for consumer and producer. *Starch - Stärke*, *66*(1–2), 102–114. <https://doi.org/10.1002/star.201300110>
- Kumar, A., Sahoo, U., Baisakha, B., Augustine Okpani, O., Ngangkham, U., Basak, N., ... Sharma, S. (2018). Resistant starch could be decisive in determining the glycemic index of rice cultivars. *Journal of Cereal Science*, *79*, 348–353. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.11.013>
- Maningat, C. C., & Seib, P. A. (2013). RS4-type resistant starch: Chemistry, functionality and health benefits. In Y. C. Shi & C. C. Maningat (Eds.), *Resistant starch* (pp. 43–77). Chichester, UK: John Wiley & Sons.
- Miller, R. A., & Bianchi, E. (2017). Effect of RS4 resistant starch on dietary fiber content of white pan bread. *Cereal Chemistry Journal*, *94*(2), 185–189. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-03-16-0048-R>
- Nugent, A. P. (2005). Health properties of resistant starch. *Nutrition Bulletin*, *30*(1), 27–54. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2005.00481.x>
- Ozturk, S., Koksel, H., & Ng, P. K. W. (2009). Farinograph properties and bread quality of flours supplemented with resistant starch. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *60*(6), 449–457. <https://doi.org/10.1080/09637480701822450>
- Rizkalla, S. W., Bellisle, F., & Slama, G. (2002). Health benefits of low glycaemic index foods, such as pulses, in diabetic patients and healthy individuals. *British Journal of Nutrition*, *88*(S3), 255. <https://doi.org/10.1079/BJN2002715>
- Rosell, C. M., Santos, E., & Collar, C. (2010). Physical characterization of fiber-enriched bread doughs by dual mixing and temperature constraint using the Mixolab®. *European Food Research and Technology*, *231*(4), 535–544. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1310-y>
- Sajilata, M. G., & Singhal, R. S. (2005). Specialty starches for snack foods. *Carbohydrate Polymers*, *59*(2), 131–151. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.08.012>
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch? A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *5*(1), 1–17. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2006.tb00076.x>
- Sanz, T., Salvador, A., & Fiszman, S. M. (2008). Resistant starch (RS) in battered fried products: Functionality and high-fibre benefit. *Food Hydrocolloids*, *22*(4), 543–549. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.01.018>
- Sanz-Penella, J. M., Wronkowska, M., Soral-Šmietana, M., Collar, C., & Haros, M. (2010). Impact of the addition of resistant starch from modified pea starch on dough and bread performance. *European Food Research and Technology*, *231*(4), 499–508. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1294-7>
- Sharma, A., Yadav, B. S., & Ritika, A. (2008). Resistant starch: Physiological roles and food applications. *Food Reviews International*, *24*(2), 193–234. <https://doi.org/10.1080/87559120801926237>
- Shyu, Y.-S., Hwang, J.-Y., Huang, T.-C., & Sung, W.-C. (2018). Effect of resistant starch on physicochemical properties of wheat dough and bread. *Journal of Food and Nutrition Research*, *6*(5), 335–340. <https://doi.org/10.12691/jfnr-6-5-9>
- Simsek, S., & El, S. N. (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*(3), 1204–1209. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.039>
- Stewart, M., Wilcox, M., Bell, M., Buggia, M., & Maki, K. (2018). Type-4 resistant starch in substitution for available carbohydrate reduces postprandial glycemic response and hunger in acute, randomized, double-blind, controlled study. *Nutrients*, *10*(2), 129. <https://doi.org/10.3390/nu10020129>
- Stewart, M., & Zimmer, J. (2017). A high fiber cookie made with resistant starch type 4 reduces post-prandial glucose and insulin responses

- in healthy adults. *Nutrients*, 9(3), 237. <https://doi.org/10.3390/nu9030237>
- Suliburska, J., & Krejpcio, Z. (2014). Evaluation of the content and bioaccessibility of iron, zinc, calcium and magnesium from groats, rice, leguminous grains and nuts. *Journal of Food Science and Technology*, 51(3), 589–594. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0535-5>
- Ting, S. R., & Loh, S. P. (2016). In vitro bioaccessibility of calcium, iron and zinc from breads and bread spreads. *International Food Research Journal*, 23(5), 2175–2180.
- Wojciechowicz, A., Gil, Z., Spychaj, R., Czaja, A., Pejcz, E., Czubaszek, A., & Zmijewski, M. (2015). Effect of acetylated retrograded starch (resistant starch RS4) on the nutritional value and microstructure of the crumb (SEM) of wheat bread. *Journal of Food Processing & Technology*, 6(6), 2. <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000450>
- Zacherl, C., Eisner, P., & Engel, K.-H. (2011). In vitro model to correlate viscosity and bile acid-binding capacity of digested water-soluble and insoluble dietary fibres. *Food Chemistry*, 126(2), 423–428. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.113>

How to cite this article: Aribas M, Kahraman K, Koksel H. Effects of resistant starch type 4 supplementation of bread on in vitro glycemic index value, bile acid-binding capacity, and mineral bioavailability. *Cereal Chem.* 2019;00:1–9. <https://doi.org/10.1002/cche.10229>



In vitro glycemic index, bile acid binding capacity and mineral bioavailability of spaghetti supplemented with resistant starch type 4 and wheat bran



Merve Aribas^{a,b}, Kevser Kahraman^c, Hamit Koksel^{b,d,*}

^a Department of Food Engineering, Aksaray University, Aksaray, Turkey

^b Department of Food Engineering, Hacettepe University, Ankara, Turkey

^c Department of Material Science and Nanotechnology Engineering, Abdullah Gul University, Kayseri, Turkey

^d Department of Nutrition and Dietetics, Istinye University, Istanbul, Turkey

ARTICLE INFO

Keywords:

Spaghetti

Resistant starch type 4

In vitro glycemic index

In vitro bile acid binding capacity

In vitro mineral bioavailability

ABSTRACT

In this study effects of resistant starch type 4 (RS4) on nutritional and quality properties of spaghetti were investigated. RS4 was added into spaghetti at different levels (15, 20 and 25%). Wheat bran was also added to spaghetti at 15% level. RS4 supplementation caused lower negative effects on quality properties (total organic matter value, color and textural properties) than bran supplementation. The results point out that RS4 supplementation of spaghetti caused higher total dietary fiber content and comparable glycemic index value at the same bran supplementation level. RS4 caused an increase in bile acid binding capacity and expected to have positive effects on cholesterol metabolism. Moreover, RS4 supplemented spaghetti had generally better mineral bioavailability values compared to bran supplemented and control spaghetti. Overall results indicated that RS4 supplementation provided improvement in nutritional properties of spaghetti and can be an alternative ingredient for fiber supplemented spaghetti compared to bran.

1. Introduction

Pasta is the most commonly consumed food made of wheat following bread. It has been consumed in the Mediterranean countries for centuries (Tazrart, Lamacchia, Zaidi, & Haros, 2016). A good quality pasta should have a bright yellow color and “*al dente*” textural characteristics, good surface integrity and not have sticky surface (Dhiraj & Prabhasankar, 2013). Unlike simple sugars which offer a quick and short-term boost of energy, pasta products are a good carbohydrate source providing a slow release of energy (Gull, Prasad, & Kumar, 2018). While starch content of pasta products is generally high, their dietary fiber, mineral, vitamin and phenolic compound contents are relatively low (D’Amico et al., 2015). Several studies have been focused on enhancing nutritional and functional value of pasta with addition of proteins, dietary fibers, resistant starches, legume flours and banana flour (Menon, Padmaja, Sajeev, & Sheriff, 2012). Supplementation of pasta with fiber generally cause detrimental effects on the quality parameters such as texture, flavor, color, cooking time and dry matter loss to cooking water (Vernaza et al., 2012).

Resistant starch is defined as a fraction of starch that cannot be digested in the small intestine and passes to the colon to be fermented by the microbiota. There are 5 types of resistant starch (Birt et al., 2013). Resistant starch type 1 is physically entrapped in cellular matrix such as whole grains or partly milled cereal grains (Joye, 2019). Resistant starch type 2 is ungelatinized starch granules such as high amylose corn starch, unripe banana and raw potatoes. Resistant starch type 3 is a retrograded starch. It is found in cooked and cooled potatoes, rice and pasta (Snelson et al., 2019). Resistant starch type 4 (RS4) is a chemically modified starch which is formed typically through esterification, cross-linking or transglycosylation (Mah, Garcia-Campayo, & Liska, 2018). These modifications can prevent its digestion by blocking enzyme access (Nissar, Ahad, Naik, & Hussain, 2017). Its resistance to digestion depends on the type and extent of the chemical modification. Although it is widely used in commercial applications, producers share limited information about nature of RS4 and its modification levels. Different forms of RS4 are produced from different starch sources such as potato, tapioca, wheat, and/or high-amylose maize and supplied by commercial companies (Roman & Martinez, 2019). Resistant starch

* Corresponding author at: Department of Food Engineering, Hacettepe University, Ankara, Turkey and Department of Nutrition and Dietetics, Istinye University, Istanbul, Turkey.

E-mail address: koksel@hacettepe.edu.tr (H. Koksel).

<https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103778>

Received 30 September 2019; Received in revised form 24 December 2019; Accepted 1 January 2020

Available online 08 January 2020

1756-4646/ © 2020 The Authors. Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

type 5 is starch that the amylose component forms complexes with lipids (Hasjim, Ai, & Jane, 2013).

When resistant starches are compared to the conventional fibers such as whole grains, bran and fruit fibers, they have many advantages such as less color change, bland flavor, lower water absorption capacity, better sensory properties, higher gelatinization temperature, and good extrusion product quality when included in food formulations (Sajilata, Singhal, & Kulkarni, 2006; Sanz-Penella, Wronkowska, Soral-Smietana, Collar, & Haros, 2010; Vernaza et al., 2012).

Resistant starches are valuable ingredients as fiber source (Erickson, Carlson, Stewart, & Slavin, 2018). All types of RS have a lot of health benefits such as increasing the number of probiotic microorganisms in the colon, releasing glucose slowly and lowering insulin response, reducing the activity of lipogenic enzymes such as fatty acid synthesis, reducing the risk of the development of type 2 diabetes, obesity, coronary heart diseases, inflammatory bowel diseases, and gastrointestinal disorders (Gelencsér et al., 2008; Ghodke & Ananthanarayan, 2008; Homayouni et al., 2014). On the other hand, RS is a good ingredient which does not negatively affect textural and taste properties and improves sensory properties compared with the traditional fibers (Buttriss & Stokes, 2008). Cooking time, total organic matter, water absorption, cooking loss and the textural properties are the most important characteristics influencing the quality of pasta products (Gelencsér et al., 2008). The supplementation of foods with functional fibers reported to cause undesirable changes in sensory properties of the final products and consumer acceptability can decrease due to these changes (Homayouni et al., 2014). There are several studies investigating the effect of RS4 supplementation on the cooking quality, color parameters and starch digestibility values of pasta in the literature. In a study investigating the cooking properties of RS2 and RS4 supplemented pasta samples, it was found that RS did not disrupt the starch-protein interaction and quality characteristics of pasta samples were not negatively affected during cooking. 10% and 20% RS4 supplementation caused a lower starch digestibility value [the total area under curve (AUC, $\text{mg}_{\text{glucose}}/\text{g}_{\text{sample}} \times \text{min}$)] than control sample (Gelencsér et al., 2008). In another study, 10% RS4 supplementation caused a decrease in the L* and b* color values and caused an increase in the a* value. The cooking loss values of pasta containing RS4 at the 5% and 10% level were lower than the control sample (0% RS4). Additionally, RS2 and RS4 supplementation resulted in significant increases in water absorption values (Bustos, Pérez, & León, 2011). Makhlof et al. (2019) indicated that the supplementation of spaghetti with 5% and 10% RS4 caused a decrease and 15% RS4 supplementation caused an increase in cooking loss values.

To the best of authors knowledge, there are no studies investigating textural properties (uncooked and cooked), TDF contents, *in vitro* mineral bioavailability and bile acid binding capacity in RS4 supplemented spaghetti. The difference of this study from the previous ones was to investigate the effect of RS4 supplementation on the nutritional properties of spaghetti such as total dietary fiber (TDF) content, *in vitro* mineral bioavailability, *in vitro* glycemic index (GI) and bile acid (BA) binding capacity. Common dietary fiber sources including wheat bran usually cause undesirable changes on quality and some of the nutritional properties of spaghetti resulting in decreased consumer acceptability and mineral bioavailability. This is a major problem in high fiber spaghetti production. The aim of this study was to develop high fiber spaghetti by RS4 supplementation with better consumer acceptability and improved nutritional properties. Therefore, RS4 was added into the spaghetti at different levels (15%, 20%, 25%; semolina basis). Wheat bran (WB) was also used (at 15% level) in the spaghetti formulation for comparison.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Semolina, RS4 (phosphorylated cross-linked wheat starch with 85.4% TDF content) and commercial wheat bran were obtained from Nuh'un Ankara Makarna (Ankara, Turkey), Demirpolat Inc. (Konya,

Turkey) and Ankara Halk Ekmek Inc. (Ankara, Turkey), respectively. Bran was milled by using Perten 3100 laboratory grinder (Perten Ins., Hudinge, Sweden) equipped with 500 μm sieve. Ca (in the form of CaCO_3) and Fe-Zn mixture were obtained from UNO (Istanbul, Turkey). The chemicals used in this study were of analytical reagent grade, unless otherwise specified.

2.2. Methods

2.2.1. Chemical and physicochemical analyses

Moisture and ash contents of the samples (semolina, bran and RS4) were determined using AACC Method 44-15A and 08-01.01, respectively (AACC International, 2009). Protein content of the semolina sample was determined using AACC Method 46-30 with Dumas Nitrogen Analyzer (Velp-NDA 701, Usmate, Italy). SDS sedimentation value and dry gluten content of the semolina sample were measured according to Williams, El-Haramein, Nakkoul, and Rihawi (1988) and AACC Method 38-12A, respectively (AACC International, 2009).

2.2.2. Spaghetti processing and drying

Semolina samples were processed into spaghetti using laboratory scale spaghetti processing equipment (Namad, Italy) according to the method of D'Egidio et al. (1982). RS4 and wheat bran samples were added into the respective spaghetti formulations at different levels (15%, 20%, 25% for RS4 and 15% for wheat bran; semolina basis, final mass was kept constant). 15% bran supplementation level is commonly used by commercial pasta processing industry. Furthermore, bran supplementation at 15% level and above could have more deteriorative effects on quality parameters of spaghetti especially cooking loss value. Therefore, in this study bran supplementation level was used as 15%. Wheat bran or RS4 was first blended with semolina in a 5-liter container and transferred to a pre-mixer (Namad, Italy) and was mixed for 15 min prior to water addition. The amount of water was in the range of 31–33% based on the level of RS4/bran. Water was added to the semolina or semolina-RS4/bran mixture and dough was mixed by using the pre-mixer (Namad, Italy) for 15 min. The spaghetti was extruded under vacuum at a pressure of 500 mmHg. Spaghetti samples (1.7 mm thick) were dried in a pilot-scale drier (Namad, Italy) at 40 °C to a final moisture content of 12%. Spaghetti production was performed in duplicate. The spaghetti samples were packed in plastic bags and stored at room temperature until the analyses.

For the determination of *in vitro* calcium, iron and zinc bioavailability; calcium carbonate (Vitamins, UNO, Turkey) and Fe-Zn mixture (Vitamins, UNO, Turkey) were added to the spaghetti formulation at the levels of daily intake values stated in the Turkish Food Codex Regulation on labeling and provision of food information to consumers (Anonymous, 2017). Daily Reference Intake Values are the amounts of minerals recommended per day for healthy individuals at four years and over and were indicated as 800, 14 and 10 mg/100 g for calcium iron and zinc, respectively.

2.2.3. Texture analysis of uncooked spaghetti

The textural properties of uncooked spaghetti (flexure) were determined using a TA.XT.plus texture analyzer (Stable Micro Systems, Godalming, Surrey, England) equipped with a load cell of 5 kg according to AACC Method No. 16.50 (AACC International, 2009). The spaghetti flexure (A/SFR) probe was used to measure the compression and flexure. The uncooked spaghetti sample of 200 mm length was located between upper and lower supports in centrally located holes of the probe for the flexure measurement. Then, the average force (g) and distance (mm) to break was measured. The test was done with a pre-test speed of 0.5 mm/s, test speed of 2.5 mm/s and post-test speed of 10 mm/s.

2.2.4. Spaghetti quality

The quality properties of spaghetti were evaluated by several physical, chemical, textural, and nutritional characteristics. Cooking time is

defined as the time required to obtain complete gelatinization of starch and determined according to AACC Method No. 66-50 (AACC International, 2009). Total organic matter (TOM) is the quantity of organic substances released from the surface of cooked pasta during exhaustive rinsing. It was determined by a chemical method according to D'Egidio et al. (1982). Cooking loss (CL) is the amount of solid substance lost to cooking water. The cooking water was collected in a tared beaker and evaporated in an air oven at 98 °C. The residue was weighed and expressed as percentage of the starting material.

The water absorption of the samples was evaluated by using 25 g dry spaghetti sample. The cooked spaghetti sample was weighed five minutes after draining. Water absorption was expressed as grams of water absorbed (during cooking) per gram of dry pasta (Ozderen, Olanca, Sanal, Ozay, & Koksel, 2008).

The sensory characteristics of the cooked spaghetti samples were evaluated by a panel of experts. It was determined according to the methods of D'Egidio, Mariani, Nardi, and Novaro (1993) under test conditions of the International Standard 7304 (ISO, 2016). Final judgment was obtained by averaging the values of all the experts. The sensory properties evaluated were hardness (or firmness), adhesiveness (or stickiness) and bulkiness (or clumpiness). Hardness was stated as the force required to bite through the cooked spaghetti strand with the incisors. Adhesiveness was defined as the material adhering to the surface of cooked spaghetti and bulkiness was defined as the adhesion degree of cooked spaghetti strands among each other. All of the sensory properties were evaluated by a score of 10–100. Judgment scores for bulkiness and adhesiveness were assigned as: < 20 = very high, 40 = high, 60 = average, 80 = almost absent, 100 = absent. Judgment scores for hardness were: < 20 = very low, 40 = low, 60 = sufficient, 80 = good, 100 = very good (Basman, Koksel, & Atli, 2006; Pestorić, Summary, & Pestorić, 2012).

The textural properties of cooked spaghetti (firmness and stickiness) were determined using a TA.XT.plus texture analyzer (Stable Micro Systems, Godalming, Surrey, England) equipped with a load cell of 5 kg according to AACC Method No. 16.50 (AACC International, 2009). The stickiness and firmness were determined after cooking the spaghetti for the optimum time. The pasta firmness/stickiness probe (HDP/PFS) was used to determine stickiness. The test was done with a hold time of 2 s and tracking speed of 0.5 mm/s. Stickiness (g) was stated as the maximum force to separate the probe from the sample's surface upon retraction of the probe. Cooked spaghetti quality firmness probe (A/LKB-F) was used to determine firmness. Firmness (g/cm) was determined as the force used to cut through the sample.

The color of spaghetti sample was measured using a spectrophotometer (Minolta, CM-3600d, Japan) according to CIE L*, a*, b* color space parameters.

The microstructure of surface of the uncooked spaghetti samples was determined by scanning electron microscopy (SEM). Samples were mounted on circular metal stubs coated with double-sided adhesive carbon tape. Each stub had 1 longitudinal piece for one sample selected at random from a larger sample. The mounted samples were coated with gold for 4 min using a Sputter Quorum Coater. Samples were viewed using a Zeiss GeminiSEM 300 SEM (Germany) at 250× magnification level.

2.2.5. *In vitro* glycemic index value

The samples were digested according to the method of Englyst, Veenstra, and Hudson (1996). For this purpose, 100 mg of sample was weighed into 50 mL tubes containing 10 glass beads (5 mm diameter). 2 mL of HCl (0.05 M) containing pepsin (5 mg/mL, Sigma, P7000) was added to the tubes and the tubes were incubated at 37 °C in a shaking water bath for 30 min. Sodium acetate buffer (4 mL, 0.5 M, pH 5.2), 1 mL of enzyme solution containing 0.104 g pancreatin (Sigma, P7545) and 14.45 U amyloglucosidase (3300 U/mL, Megazyme Int., Ireland) were added to each tube. The tubes were incubated horizontally at 37 °C in a shaking water bath. Aliquots (100 µL) were taken into

Eppendorf tubes at 0 and 90 min intervals and mixed with 1 mL of absolute ethanol. These solutions were centrifuged at 800 xg for 10 min, and glucose content was measured with glucoseoxidase-peroxidase (GOPOD) reagent (Megazyme Int., Ireland) by using a spectrophotometer (Shimadzu 1601, Japan) at 510 nm wavelength.

Several researchers showed a high correlation between the rate of starch digestion and the glycemic response by various *in vitro* digestion methods that imitate the *in vivo* methods (Goñi, García-Alonso, & Saura-Calixto, 1997). Goñi et al. (1997) stated that the kinetics of *in vitro* digestion is followed by a nonlinear model with a first order equation of $C = C_{\infty}(1 - e^{-kt})$, where C is the percentage of starch hydrolyzed at time t (min), C_{∞} is the equilibrium percentage of starch hydrolyzed after 180 min, and k is the kinetic constant. The hydrolysis index (HI) shows starch digestion rate and estimated glycemic index (GI) indicates the digestibility of the sample against white bread. The hydrolysis index (HI) is the ratio of the area under the hydrolysis curve of the sample to the area under the hydrolysis curve of white bread as reference sample. The HI was calculated as follows (Eq.1);

$$HI = \frac{\text{Area under the curve of the sample}}{\text{Area under the curve of white bread}} \quad (1)$$

The *in vitro* GI was determined by using the following equation (Eq. (2)) of (Goñi et al., 1997).

$$GI = 39.71 + 0.549HI \quad (2)$$

2.2.6. Total dietary fiber

The total dietary fiber contents of RS4, bran and spaghetti samples were determined according to AACC Method No. 32-07.01 (AACC International, 2009) using total dietary fiber determination kit (Megazyme Int. Ireland). Sequential enzymatic digestion was applied to the samples using heat-stable α -amylase, protease and amyloglucosidase to remove digestible starch and protein. Enzyme digestate was treated with alcohol before filtering through a pre-weighed crucible containing dietary fiber residue. Then it was washed with alcohol and acetone, filtered, dried, weighed and expressed as % (g TDF/100 g dry sample).

2.2.7. *In vitro* bile acid binding capacity

In vitro bile acid binding capacity was determined according to the method of Zacherl, Eisner, and Engel (2011) with some modifications. Sample (50 mg) was dispersed in water (ratio 1:2) by brief vortexing. HCl (1 mL, 0.01 N) was added and the samples were incubated in a 37 °C water bath for 60 min. After the incubation, NaOH (0.1 mL, 0.1 N, pH 6.3) and pancreatin-bile acid mixture (w:w, 1:9.4, 1 mL) were added. Sodium taurodeoxycholate hydrate (TDC) was used as the bile acid. After the incubation, the sample was centrifuged at 21,700 xg for 10 min, the supernatant was kept in boiling water for 5 min to inactivate the enzymes. After cooling, methanol and KH_2PO_4 were added to the solution. The sample was filtered through a 0.45 µm filter for HPLC analysis. The mobile phase for HPLC was methanol-sodium phosphate-water (v:v:v, 70:20:10) solution with a flow rate of 0.8 mL/min at a temperature of 40 °C. The results were measured using Diode Array Detector (DAD) at wavelength of 200 nm. A calibration curve prepared with bile acid standard solution was used for the quantification of the bile acid. Unconjugated bile acid content was calculated using the area under the curve. Bile acid binding values of the samples were calculated by subtracting the unconjugated bile acid content from the total bile acid content and expressed as µmol/100g and % bound relative to Cholestyramine.

2.2.8. *In vitro* mineral bioavailability

In vitro mineral bioavailability is expressed as a ratio of the amount of the mineral released during enzymatic digestion to the total amount of the mineral contained in the sample. Enzymatic digestion was carried out according to Suliburska and Krejpcio (2014). *In vitro* mineral

bioavailability was determined for the samples supplemented with 15% RS4 and 15% WB. Control spaghetti sample (100% semolina) was also analyzed.

The samples (10 g) were mixed with deionized water (100 mL). The pH of the mixture was adjusted to pH 2.0 with 0.1 N HCl solution and treated with pepsin (0.5 mL). The samples were incubated in a 37 °C shaking water bath for 2 h. After the incubation the pH was adjusted to 6.8–7.0, subjected to pancreatin (25 mL; 0.4 g/100 mL NaHCO₃) and incubated in a shaking water bath under the same conditions for 4 h. After the digestion, the samples were centrifuged for 20 min at a speed of 15,100 xg. The supernatant (25 mL) was transferred to Teflon vessels and ashed with HNO₃ (7 mL, 65%) by means of a closed pressurized system microwave oven (MARS-5 CEM, USA). Then, it was filtered into a volumetric flask (100 mL). Lanthanum chloride solution (1 mL) was added (0.1%, w/v) for calcium determination. Lastly, it was diluted to 100 mL with deionized water and the minerals were determined by atomic absorption spectrophotometer (AAS) (ICE 3000, Thermo Scientific, USA).

For the determination of total amount of the minerals contained in the sample, approximately 1 g sample was weighed and ashed with HNO₃ in Teflon vessels in a microwave oven. The concentration of Ca, Zn and Fe were determined by AAS.

2.2.9. Statistical analysis

All of the spaghetti samples were produced in two replicates. The results are reported as means of duplicate analyses on each replicate spaghetti sample (2 replicate spaghetti sample × 2 duplicate analyses). The data in this study are presented as mean ± SD. Data were analyzed by using one-way analysis of variance (ANOVA). When significant ($p < 0.05$) differences were found, Duncan's test was used to determine the differences among means.

3. Results and discussion

3.1. Chemical and physicochemical properties of semolina, wheat bran and RS4 samples

Moisture contents of semolina, bran and RS4 samples were 12.8%, 9.5% and 5.4% respectively and ash contents of semolina, bran and RS4 samples were 0.93%, 5.50% and 0.05%, respectively. SDS sedimentation value, protein (Nx5.7, dry basis), and dry gluten contents of the semolina sample were 24 mL, 13.3% and 12.2%, respectively. RS4 and bran supplementation have weakening effect on protein matrix of spaghetti, causing inferior quality. Therefore, a semolina sample with relatively high gluten content and good quality characteristics was used in the production of RS4 and bran supplemented spaghetti to eliminate their potential deteriorative effects on spaghetti quality.

3.2. Quality properties of spaghetti samples

Spaghetti was cooked in boiling water and samples were taken at certain time intervals. The cooking time was determined by squeezing the cooked spaghetti between two clear plastics. When white center core just disappeared the time was recorded as the "cooking time". The optimum cooking times of the spaghetti samples supplemented with different levels of RS4 (0, 15, 20 and 25%) and wheat bran were 13.0 min, 12.0 min, 12.5 min, 12.8 min and 14.0 min, respectively.

Total organic matter (TOM), cooking loss (CL) and water absorption values of the spaghetti samples supplemented with different levels of RS4 and wheat bran are presented in Table 1. Significant increases in TOM values of RS4 supplemented spaghetti samples were observed as the supplementation level increased. The highest TOM value was observed for the spaghetti sample supplemented with 25% RS4. TOM value of the sample supplemented with wheat bran was significantly higher as compared to the sample supplemented with RS4 at the same level. It was indicated that semolina proteins are linked together by

Table 1

Total organic matter (TOM), cooking loss and water absorption values of spaghetti samples supplemented with different levels of RS4 and wheat bran.

Sample	Addition level (%)	TOM (%)	Cooking Loss (%)	Water Absorption (%)
CS	0	1.15 ± 0.03 ^a	5.95 ± 0.21 ^a	179.97 ± 3.34 ^a
RS15	15	1.56 ± 0.05 ^d	6.13 ± 0.01 ^d	154.97 ± 1.19 ^b
RS20	20	1.74 ± 0.21 ^b	6.39 ± 0.02 ^c	150.63 ± 2.51 ^{bc}
RS25	25	2.21 ± 0.10 ^a	6.55 ± 0.03 ^b	147.18 ± 1.12 ^c
WB15	15	1.67 ± 0.05 ^c	8.01 ± 0.22 ^a	151.70 ± 0.37 ^{bc}

CS; Control spaghetti, RS15; spaghetti supplemented with RS4 at 15% level, RS20; spaghetti supplemented with RS4 at 20% level, RS25; spaghetti supplemented with RS4 at 25% level, WB15; spaghetti supplemented with wheat bran at 15% level, S; Semolina.

^{a-d}Means with different small letters within each column are significantly different ($p < 0.05$).

disulfide, hydrogen, and hydrophobic bonds to form a matrix. The continuity and strength of this protein matrix depends on inter- and intra-molecular bonds. This matrix slowly breaks apart during the cooking and stickiness on the cooked pasta surface begins to increase (Tudoricá, Kuri, & Brennan, 2002). Due to this increase, total organic matter on the pasta surface also increases. In this study, RS4 and bran supplementation caused weakening of these bonds. TOM values of the RS4 and bran supplemented samples increased because of weakening these bonds. D'Egidio et al. (1982) had stated that the TOM values can be used for the quality classification of spaghetti samples: TOM values lower than 1.4% indicate very good quality spaghetti, the values between 1.4% and 2.1% indicate good quality spaghetti and the values greater than 2.1% indicate poor quality spaghetti. TOM value of the control sample was 1.15%, indicating a very good quality. The spaghetti samples supplemented with 15% RS4, 20% RS4 and 15% bran had TOM values of 1.56%, 1.67% and 1.74%, respectively, indicating good quality. The supplementation of spaghetti with 25% RS4 caused a significant increase in TOM value (2.21%) indicating the poor quality of the sample.

The cooking loss values increased significantly with RS4 and bran supplementation. The spaghetti sample supplemented with bran had the highest CL value (8.01%) among the fiber supplemented samples. Sato et al. (2019) stated that up to 6% CL, the pasta can be specified as high quality; CL values between 6% and 8% means medium quality pasta and CL higher than or equal to 10% means poor quality pasta. Gryzbowski and Donnelly (1979) also indicated that 8% CL value is the maximum acceptable level for pasta. According to the CL values, the spaghetti samples supplemented with RS4 (at all levels) and bran can be classified as medium quality spaghetti. A study on quality characteristics of pasta supplemented with different types of RS rich ingredients (RS2; Himaize™260, Hi-maize™1043 and RS4; Fibersym™70) indicated that, the CL values of pasta supplemented with 10% and 20% RS ranged from 5.2 to 6.1% (Gelencsér et al., 2008). These results are in agreement with the values obtained for the samples supplemented with RS4 in the present study. It was stated that the weakening or disruption of the protein-starch matrix causes high cooking loss in pasta (Izydorczyk, Lagassé, Hatcher, Dexter, & Rosnagel, 2005). Due to disruptions in the protein matrix, the spaghetti samples supplemented with RS4 and bran had higher cooking loss values than the control. It is known that addition of nonendosperm components to dough promote physical disruption of the gluten protein matrix (Gan, Ellis, Vaughan, & Galliard, 1989). The decrease in the gluten concentration (dilution due to added material) is one of the responsible factors causing the weakening of the gluten network (Brennan & Cleary, 2007; Courtin & Delcour, 2002). On the other hand, some researchers showed that inclusion of fibers into a dough system weakens the gluten network by disrupting intermolecular associations of gluten proteins (Skendi, Billaderis, Papageorgiou, & Izydorczyk, 2010; Sullivan, O'Flaherty, Brunton, Arendt, & Gallagher,

2011) and altering protein-matrix continuity (Bustos, Perez, & Leon, 2015). The most affected parameter of cooked pasta due to fiber addition is the cooking loss. The disruption in the gluten matrix allows more gelatinized starch leach from the pasta during cooking which results in an increase in the cooking loss (Brennan, Kuri, & Tudorica, 2004; Inglett, Peterson, & Carriere, 2005; Manno et al., 2009). Aravind, Sissons, Egan, and Fellows (2012) investigated the effect of fiber and resistant starch addition on the pasta structure. Based on the SEM images, bran addition appears to alter protein matrix continuity. On the other hand, resistant starch appears to be easily incorporated into pasta structure while maintaining the integrity of protein matrix (Bustos, Perez, & León, 2013; Manthey & Schorno, 2002). Since RS4 does not gelatinize at spaghetti cooking temperature, it is not expected to result in an increase in the cooking loss. Aravind et al. (2012) stated that the addition of bran with a particle size of 150–500 µm had negative effects on various sensory and technological properties of pasta. Resistant starch has a particle size of 10–15 µm (Sajilata et al., 2006). Particle size difference between wheat bran and resistant starch may be the other reason of their different effects on the cooking loss. The higher particle size causes more disruption in the gluten matrix, therefore higher cooking loss.

The water absorption values of the spaghetti samples supplemented with RS4 and wheat bran was significantly ($p < 0.05$) lower than that of the control sample (Table 1). While the sample supplemented with 25% RS had the lowest water absorption value, there were no significant differences between the samples supplemented with 20% RS4 and wheat bran. Gelencsér et al., 2008 stated that RS supplementation did not cause significant effect on water absorption compared to the control pasta produced from durum wheat. It was indicated by Bustos et al. (2015) that water absorption of pasta is associated with starch swelling and gelatinization. A disrupted gluten matrix will cause granules to absorb more water and gelatinize, so that an increase of water absorption will be observed. On the other hand, it has been stated that strong protein-starch matrix caused an increase in the water absorption of pasta (Nilusha, Jayasinghe, & Perera, 2019). Hence, there seems to be some conflicting conclusions in the literature on this matter and water absorption is not generally accepted as a major quality parameter in spaghetti.

Sensory properties (hardness, adhesiveness, bulkiness) of the spaghetti samples supplemented with different levels of RS4 and wheat bran are presented in Table 2. Hardness, adhesiveness and bulkiness values of the samples supplemented with RS4 and bran were lower than those of control sample, as they caused disruption of the protein matrix. The increase in the RS4 supplementation level caused significant decreases in the hardness, adhesiveness and bulkiness ($p < 0.05$). The lowest average hardness, adhesiveness and bulkiness score were obtained for the spaghetti sample supplemented with 25% RS4 and 15% bran ($p < 0.05$). The spaghetti supplemented with 15% RS4 had the best scores of hardness, bulkiness and adhesiveness among the RS4 and bran supplemented samples. It also had lower TOM values (Table 1), indicating better quality.

Table 3 displays the textural properties of spaghetti samples supplemented with different levels of RS4 and wheat bran. The flexure values were measured for the uncooked spaghetti samples, while stickiness and firmness values were measured for the cooked spaghetti samples. The breaking force values decreased significantly with increasing RS4 supplementation level. The lowest breaking force value (31.43 g) was observed for the spaghetti sample supplemented with 25% RS4. While supplementation of bran caused decrease in breaking force value of the sample, there was no significant difference between samples supplemented with 20% RS4 and bran. The breaking strength of dry spaghetti can be a good indicator of how well it has been processed. It also indicates spaghetti's gluten quality and protein matrix integrity, how well it will cope with the handling, storage and cooking process. A low breaking force indicates a weak spaghetti (Aranibar et al., 2019; Smweing, 1997). The loss in the integrity of the protein

Table 2

Sensory characteristics (hardness, adhesiveness, bulkiness) of spaghetti samples supplemented with different levels of RS4 and wheat bran.

Sample	Sensory characteristics		
	Hardness	Adhesiveness	Bulkiness
CS	65.2 ± 2.2 ^a	62.4 ± 1.6 ^a	61.1 ± 1.2 ^a
RS15	57.4 ± 1.3 ^b	55.3 ± 1.5 ^b	54.5 ± 2.8 ^b
RS20	49.2 ± 1.3 ^c	49.1 ± 0.9 ^c	47.4 ± 2.1 ^c
RS25	41.1 ± 1.1 ^d	42.1 ± 2.1 ^d	41.2 ± 1.2 ^d
WB15	42.3 ± 1.4 ^d	45.0 ± 1.3 ^d	43.1 ± 1.3 ^d

CS; Control spaghetti, RS15; spaghetti supplemented with RS4 at 15% level, RS20; spaghetti supplemented with RS4 at 20% level, RS25; spaghetti supplemented with RS4 at 25% level, WB15; spaghetti supplemented with wheat bran at 15% level, S; Semolina.

^{a-d}Means with different small letters within each column are significantly different ($p < 0.05$).

matrix will cause a decrease in the breaking strength of dried spaghetti. As the incorporation of RS and bran causes disruption in the protein matrix, a decrease in the breaking force was observed. It was stated that fiber supplemented noodle with small particle size had higher breaking force value than the noodle supplemented with large particle size fiber (Shiau, Wu, & Liu, 2012). In the present study, the bran supplemented spaghetti had lower breaking force value as compared to 15% RS4 supplemented one probably because of its larger particle size compared to RS4. Hence, a higher concentration of RS4 (20%) was necessary to result in a comparable breaking force value provided by bran supplementation. The breaking distance values had a similar trend with the breaking force values.

The stickiness values of the spaghetti samples increased significantly with RS4 and bran supplementation. While the difference in the stickiness values of the spaghetti samples supplemented with 20% RS4 and bran was not significant. Their stickiness values were significantly lower than the spaghetti sample supplemented with 25% RS4 ($p < 0.05$) which had the highest stickiness value. RS4 and bran supplementation caused increases in the stickiness on the cooked pasta surface as they weaken protein matrix during the cooking process. Adhesiveness/stickiness is related to the quantity of amylose leached to the cooking water (Bustos et al., 2015) and as stated above, the disruption in the gluten matrix allows more gelatinized starch to leach from the pasta during cooking, causing an increase in the stickiness. The difference in the stickiness values of the spaghetti samples supplemented with 20% RS4 and bran was not significant. This is probably due to the more pronounced deteriorative effects of bran as compared to RS4. Bran and RS4 supplementation caused increases in the stickiness on the cooked spaghetti surface as they weaken protein matrix during the cooking process. Liu and Shepherd (1996) stated that high quality cooked pasta had good textural properties, high surface disintegration resistance, low TOM value and did not show increased surface stickiness. In the present study, the stickiness values of the samples were highly correlated with the TOM values ($p < 0.001$, $r = 0.953$). Supplementation of RS4 and bran caused significant decreases in the firmness values of the cooked spaghetti samples. The lowest firmness value was observed for the spaghetti sample supplemented with bran. The textural parameters including firmness and stickiness of cooked pasta are very important in terms of consumer acceptability. Good quality pasta should have high firmness and elasticity values (Dhiraj & Prabhasankar, 2013). In other words, good quality cooked pasta should be firm to the bite (*al dente*) and not sticky (Carini, Curti, Minucciani, Antoniazzi, & Vittadini, 2014). In the present study, RS4 supplementation resulted in higher firmness value as compared to bran supplementation indicating better quality spaghetti. However, they all had lower firmness values as compared to that of the control spaghetti.

The color parameters of the spaghetti samples supplemented with different levels of RS4 and wheat bran are presented in Table 4. L*, a*

Table 3
Textural properties of spaghetti samples supplemented with different levels of RS4 and wheat bran.

Sample	Flexure		Stickiness (g)	Firmness (gcm)
	Breaking force (g)	Distance (mm)		
CS	44.80 ± 3.17 ^a	37.4 ± 2.28 ^a	67.07 ± 4.26 ^a	10.59 ± 1.03 ^a
RS15	36.44 ± 4.70 ^b	28.35 ± 4.94 ^b	91.58 ± 4.34 ^b	9.09 ± 1.30 ^b
RS20	33.93 ± 3.67 ^b	26.29 ± 2.73 ^b	103.22 ± 6.13 ^b	7.50 ± 1.80 ^b
RS25	31.43 ± 3.24 ^d	20.44 ± 1.42 ^d	116.02 ± 6.47 ^a	6.74 ± 1.37 ^d
WB15	34.04 ± 4.85 ^c	25.14 ± 2.15 ^c	102.60 ± 5.72 ^b	5.77 ± 0.81 ^a

CS; Control spaghetti, RS15; spaghetti supplemented with RS4 at 15% level, RS20; spaghetti supplemented with RS4 at 20% level, RS25; spaghetti supplemented with RS4 at 25% level, WB15; spaghetti supplemented with wheat bran at 15% level, S; Semolina.
^{a-d}Means with different small letters within each column are significantly different ($p < 0.05$).

and b^* values of the control spaghetti sample was 54.04, 2.12 and 16.12, respectively. RS4 supplementation did not caused a significant change in the L^* values of the spaghetti samples. Significant decreases were observed in the a^* values of the spaghetti samples with RS4 addition ($p < 0.05$). On the contrary, wheat bran supplementation caused a significant decrease in L^* value and a significant increase in the a^* value of the control spaghetti sample. Similar to L^* values, RS4 supplementation did not cause a significant decrease in the b^* value of the spaghetti sample. However significant ($p < 0.05$) decrease in the b^* value of the spaghetti sample was observed with bran supplementation. Besides the cooking quality and textural properties, color properties are also important parameters for the quality of pasta and pasta with a bright yellow color is usually more desirable in terms of consumer acceptability (Biernacka et al., 2018; Debbouz, Pitz, Moore, & D'apollonia, 1995). Among the spaghetti samples, the darkest color, in other words the lowest L^* and the highest a^* value was observed in the spaghetti supplemented with 15% wheat bran. It can be concluded that RS4 supplementation resulted in a spaghetti with much better color properties as compared to bran supplemented one.

SEM images of surface of the control spaghetti samples and the spaghetti samples supplemented with 15% bran, 15% RS4 and 25% RS4 are shown in Fig. 1. Distinct starch granules entrapped in a matrix could be identified in control sample (Fig. 1a) and RS4 supplemented samples (Fig. 1c and d). However, in the bran supplemented spaghetti (Fig. 1b), starch granules are less distinct, possibly disrupting the continuity of the protein starch matrix. Furthermore, as can be seen from Fig. 1b, bran supplemented spaghetti had a more irregular surface with a greater number of cracks and holes compared to control and RS4 supplemented spaghetti samples. Similar observations were also reported in the literature. Ramy, Salama, and Shouk (2002) and Aravind et al. (2012) observed similar cracks and holes in the pasta samples supplemented with dietary fiber. As stated before, bran addition appears to alter protein matrix continuity (Aravind et al., 2012), while resistant

starch was easily incorporated into pasta structure probably due to its lower particle size while maintaining the integrity of protein matrix (Bustos et al., 2013; Manthey & Schorno, 2002).

TDF contents and *in vitro* GI values of the spaghetti samples are presented in Table 5. TDF content of the cooked control spaghetti sample was 7.6%. Sobota and Zarzycki (2013) reported that the TDF contents of the spaghetti samples cooked for 16 min was 7% which was similar to the value obtained for the control spaghetti sample in the present study. TDF contents of RS4 and bran were 85.4% and 60.0%, respectively. The supplementation of RS4 and wheat bran significantly ($p < 0.05$) increased the TDF content of the spaghetti samples. The highest TDF content was observed for the spaghetti sample supplemented with 25% RS4. TDF content of the bran supplemented sample was significantly lower than the sample supplemented with RS4 at the same level. Food and Drug Administration suggest that dietary fiber intake should be 25–30 g per day (FDA, 2016). Our study indicated that one portion of cooked control pasta (around 150 g) can provide around 35–45% of the suggested dietary fiber intake, while one portion of cooked pasta supplemented with 25% RS4 can easily provide more dietary fiber intake than the suggested amount.

The *in vitro* GI value of the control spaghetti sample was 82.75. Bran and RS4 supplementation caused significant ($p < 0.05$) decreases in the *in vitro* GI values of the spaghetti samples. While bran supplementation caused a decrease in *in vitro* GI value, GI value of the bran supplemented spaghetti sample was not significantly different from the 15% and 20% RS4 supplemented samples. As a result of protein matrix disruption with bran/RS supplementation, more gelatinized starch leach out from starch during the pasta cooking. Besides this, concentration of digestible starch in the spaghetti samples decrease with the supplementation of spaghetti with bran/RS4. The resistance of bran/RS4 to digestion enzymes and the decrease in the starch concentration cause decreases in the *in vitro* GI values of spaghetti samples. Foods are classified as low (GI \leq 55), medium (GI 56–69), and high (GI \geq 70) glycemic index foods (Kumar, Sahoo, Baisakha, Augustine Okpani, Ngangkham, Basak, & Sharma, 2018). The results of the present study indicated that the spaghetti samples supplemented with 15 and 20% RS4 as well as 15% bran can be categorized as medium GI food. The spaghetti sample supplemented with 25% RS4 had a GI value of 56.50 which is very close to the GI value of low GI (\leq 55) foods. Gelencsér et al. (2008) reported that although, the durum samples supplemented with 10% and 20% RS4 had significantly lower total area under curve [AUC (mg glucose/g sample) \times min] values compared to the control sample, there was no significant difference between the samples supplemented with 10% and 20% RS4.

Bile acids have an important role in lipid metabolism because of facilitating fat absorption. They are synthesized in the liver and then secreted into bile. After secretion, they are stored in the gall bladder. Then they are secreted into the duodenum for assisting numerous physiological functions such as digestion of lipids (Dziedzic et al., 2016). *In vitro* bile acid binding values of the spaghetti samples are shown in Table 6. The results are stated both as the amount of BA

Table 4
Color parameters of spaghetti samples supplemented with different levels of RS4 and wheat bran.

Sample	Color parameters		
	L^*	a^*	b^*
CS	54.04 ± 2.28 ^a	2.12 ± 0.17 ^a	16.12 ± 0.54 ^a
RS15	56.14 ± 2.46 ^a	1.37 ± 0.36 ^b	15.15 ± 0.46 ^a
RS20	57.00 ± 2.14 ^a	1.27 ± 0.29 ^b	14.92 ± 0.31 ^a
RS25	58.59 ± 1.98 ^a	1.20 ± 0.21 ^b	14.66 ± 0.29 ^a
WB15	48.32 ± 1.25 ^b	4.74 ± 0.23 ^c	7.60 ± 0.32 ^b

CS; Control spaghetti, RS15; spaghetti supplemented with RS4 at 15% level, RS20; spaghetti supplemented with RS4 at 20% level, RS25; spaghetti supplemented with RS4 at 25% level, WB15; spaghetti supplemented with wheat bran at 15% level, S; Semolina.

^{a-d}Means with different small letters within each column are significantly different ($p < 0.05$).

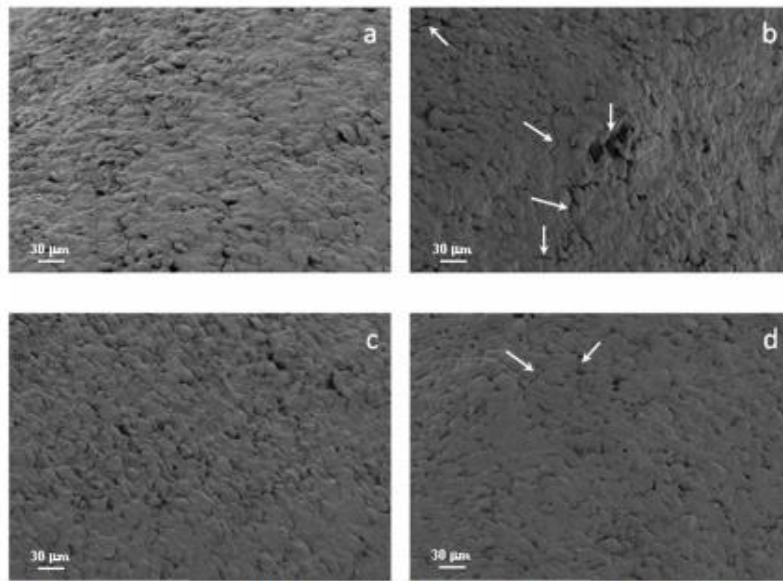


Fig. 1. SEM of surface of spaghetti samples. (a) control; (b) 15% bran supplemented; (c) 15% RS4 supplemented; (d) 25% RS4 supplemented. Magnification 250 \times . Arrows show the cracks.

Table 5
TDF contents and *in vitro* GI values of spaghetti samples.

Sample	Total Dietary Fiber (%)	<i>In vitro</i> GI
CB	7.6 \pm 0.24 ^a	82.75 \pm 0.32 ^a
RS15	21.3 \pm 0.30 ^c	69.65 \pm 0.34 ^b
RS20	26.8 \pm 0.21 ^b	68.40 \pm 0.43 ^c
RS25	31.3 \pm 0.29 ^a	56.50 \pm 0.63 ^d
WB15	17.3 \pm 0.50 ^d	69.05 \pm 0.02 ^{bc}

CS; Control spaghetti, RS15; spaghetti supplemented with RS4 at 15% level, RS20; spaghetti supplemented with RS4 at 20% level, RS25; spaghetti supplemented with RS4 at 25% level, WB15; spaghetti supplemented with wheat bran at 15% level, S; Semolina.

^{a-d}Means with different small letters within each column are significantly different ($p < 0.05$).

bound ($\mu\text{mol}/100\text{ g}$ spaghetti) and as percent BA bound relative to Cholestyramine (%). BA binding capacity of spaghetti samples increased significantly with increasing level of RS4 supplementation ($p < 0.05$). The sample supplemented with 25% RS4 had the highest BA binding capacity. Both the bran supplementation and 15% RS4 supplementation caused the same BA binding capacity values. Bile acids are the end products of cholesterol catabolism and are synthesized from cholesterol in the liver. After their function they are reabsorbed and returned to the liver (Chiang, 2013; Dawson, Lan, & Rao, 2009). Dietary fibers have been reported to bind bile salts in the duodenum and this results the synthesis of additional bile salts from cholesterol which lowers blood cholesterol. Similar to other types of dietary fibers, RS binds to bile acids; prevents their reabsorption and removes them from the body (Grubben et al., 2001; Hinkle, 2013; Sharma, Yadav, & Ritika, 2008; Simsek & El, 2012; Trautwein, Kunath-Rau, & Erbersdobler, 1999). However, further research is needed to explain bile acid binding mechanism of resistant starch.

In vitro mineral bioavailability of the spaghetti samples supplemented with 15% RS4 and wheat bran are presented in Table 7. 800 mg Ca/100 g, 11.7 mg Fe/100 g and 10 mg Zn/100 g were added to the spaghetti formulation according to Turkish Food Codex Legislation

Table 6
In vitro bile acid binding capacity of spaghetti samples.

Sample	Bile Acid (BA) Binding Capacity	
	Bound BA ($\mu\text{mol}/100\text{ g}$)	Bound BA Relative to Cholestyramine (%)
CB	0.55 \pm 0.01 ^a	5.5 \pm 0.01 ^a
RS15	0.84 \pm 0.02 ^b	8.4 \pm 0.02 ^b
RS20	0.86 \pm 0.01 ^c	8.6 \pm 0.01 ^c
RS25	0.89 \pm 0.03 ^d	8.9 \pm 0.03 ^d
WB15	0.83 \pm 0.01 ^b	8.4 \pm 0.01 ^b

CS; Control spaghetti, RS15; spaghetti supplemented with RS4 at 15% level, RS20; spaghetti supplemented with RS4 at 20% level, RS25; spaghetti supplemented with RS4 at 25% level, WB15; spaghetti supplemented with wheat bran at 15% level, S; Semolina.

^{a-d}Means with different small letters within each column are significantly different ($p < 0.05$).

(Anonymous, 2017). The Ca and Zn bioavailability values of the spaghetti sample supplemented with 15% of RS4 were significantly higher than those of the control sample enriched with minerals (CSM). The difference between the Fe bioavailability of RS4 supplemented spaghetti and CSM was not significant. Fe bioavailability of the sample supplemented with 15% of RS4 was slightly higher than that of CSM. However, the difference was not significant. Ca, Fe and Zn bioavailability of the spaghetti sample supplemented with bran was significantly lower than the sample supplemented with 15% RS4. Control spaghetti sample prepared from semolina with an ash content of 0.93% indicating that there was bran contamination and some phytic acid in the control spaghetti sample. On the other hand, RS4 sample used in the present study does not have any phytic acid to bind metallic cations. Hence, RS4 supplementation is expected to cause a dilution effect on phytic acid content of spaghetti while bran supplementation expected to increase phytic acid. Phytate is a salt form of phytic acid and located in the cereal bran. Phytate has six negatively charged phosphate groups which strongly bind metallic cations such as Ca, Fe, Zn, rendering them insoluble. They become unavailable for nutritional absorption because

Table 7
Bioavailability of calcium, iron and zinc of the spaghetti samples supplemented with 15% RS4 or wheat bran.

Sample	Minerals		
	Ca (%)	Fe (%)	Zn (%)
CSM	38.3 ± 0.14 ^b	9.50 ± 0.51 ^a	21.8 ± 0.72 ^b
RSM15	43.5 ± 1.27 ^a	10.0 ± 0.14 ^a	29.5 ± 0.29 ^a
WBM15	27.2 ± 2.16 ^c	6.0 ± 0.12 ^b	10.3 ± 0.31 ^c

CSM; Spaghetti samples enriched with CaCO₃ and Fe-Zn mixture, RSM15; Spaghetti samples enriched with RS4 at 15% level and CaCO₃ and Fe-Zn mixture, WBM15; Spaghetti samples enriched with wheat bran at 15% level and CaCO₃ and Fe-Zn mixture.

^{a,b}Means with different small letters within each column are significantly different ($p < 0.05$).

they are in insoluble form (Emanuelli, Milbradt, da Kolinski, Callegaro, & Augusti, 2014). Hence, bran supplementation caused lower mineral bioavailability values in spaghetti.

4. Conclusion

The results of the present study proved that RS4 had some advantages in terms of quality and nutritional properties in spaghetti. RS4 has a bland taste/texture and did not have deteriorative effects on taste and flavor. RS4 supplementation resulted in better appearance and texture and sensory properties than wheat bran supplementation in spaghetti. Color of spaghetti is a quite important quality parameter in terms of consumer acceptability and bright yellow color is desirable in spaghetti. RS4 supplementation caused an increase in L* value of spaghetti. However, it caused decreases in a* and b* values. While bran supplementation caused an increase in a* value, it caused a decrease in L* and b* values of spaghetti. Resistant starch type 4 caused much better color values than the wheat bran, and the wheat bran had substantial deteriorative effect on the color of spaghetti. Bran and RS4 supplementation caused increase in cooking loss values of spaghetti. The highest cooking loss value was observed in bran supplemented spaghetti. Cooking loss was affected less from RS4 supplementation as compared to bran supplementation. RS4 supplementation resulted in significantly lower TOM and stickiness values and higher firmness value than the bran supplementation at the same level ($p < 0.05$). It also caused significantly better sensory properties than the wheat bran ($p < 0.05$). In addition to its lower detrimental effects on quality parameters, significant increases in total dietary fiber and mineral bioavailability values were observed in spaghetti samples supplemented with RS4 compared to the spaghetti sample supplemented with wheat bran. The decrease in *in vitro* glycemic index value and increase in bile acid binding capacity of the sample supplemented with wheat bran were also comparable with RS supplementation at 15% level. Besides these effects, increase in the RS4 supplementation level caused an increase in nutritional properties of spaghetti samples. The spaghetti sample supplemented with 25% RS4 has better nutritional properties such as *in vitro* GI, BA binding capacity and TDF content compared to the samples supplemented with RS4 at the other levels. Overall results indicated that RS4 can be an alternative ingredient in terms of lower *in vitro* GI and higher TDF content, *in vitro* BA binding capacity and mineral bioavailability values compared to wheat bran. Hence, RS supplementation might be an advantageous fiber source for high fiber spaghetti production.

Author contributions

H. Koksel, M. Aribas designed the study.

M. Aribas - Chemical and physicochemical analysis, spaghetti processing and drying, texture analysis of uncooked spaghetti, spaghetti

quality analysis, *in vitro* bile acid binding capacity, glycemic index value and mineral bioavailability, total dietary fiber content analysis, statistical analysis, and manuscript writing under H. Koksel supervising.

K. Kahraman - *in vitro* glycemic index value, total dietary fiber content analysis, SEM analysis, statistical analysis, and manuscript writing.

Ethical statement

- This article does not contain any studies involving animals performed by any of the authors.
- This article does not contain any studies involving human participants performed by any of the authors.

CRediT authorship contribution statement

Merve Aribas: Conceptualization, Software, Validation, Formal analysis, Writing - original draft, Writing - review & editing, Visualization. Kevser Kahraman: Formal analysis, Software, Validation, Writing - original draft, Writing - review & editing, Visualization. Hamit Koksel: Conceptualization, Methodology, Validation, Writing - review & editing, Supervision, Project administration, Visualization.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors. The authors would like to thank Demirpolat Inc. for providing RS4 sample.

References

- AACC International (2009). AACC International Approved Methods. AACC International Approved Methods. <https://doi.org/10.1094/aacemethods>.
- Anonymous, T. F. (2017). Turkish Food Codex Regulation on labeling and provision of food information to consumers.
- Aranibar, C., Pedrotti, F., Archilla, M., Vázquez, C., Borneo, R., & Aguirre, A. (2019). Storage and preservation of dry pasta into biodegradable packaging made from triticale flour. *Journal of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04102-z>.
- Aravind, N., Sissons, M., Egan, N., & Fellows, C. (2012). Effect of insoluble dietary fibre addition on technological, sensory, and structural properties of durum wheat spaghetti. *Food Chemistry*, 130(2), 299–309. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.042>.
- Basman, A., Koksel, H., & Atil, A. (2006). Effects of increasing levels of transglutaminase on cooking quality of bran supplemented spaghetti. *European Food Research and Technology*, 223(4), 547–551. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0235-3>.
- Biemacka, B., Dzik, D., Różyło, R., Wójcik, M., Miś, A., Romankiewicz, D., & Krzysiak, Z. (2018). Relationship between the properties of raw and cooked spaghetti-new indices for pasta quality evaluation. *Int. Agrophys*, 32, 217–223. <https://doi.org/10.1515/intag-2017-0012>.
- Birt, D. F., Boylston, T., Hendrich, S., Jane, J.-L., Hollis, J., Li, L., ... Whitley, E. M. (2013). Resistant starch: Promise for improving human health. *Advances in Nutrition*, 4(6), 587–601. <https://doi.org/10.3945/an.113.004325>.
- Brennan, C. S., & Cleary, L. J. (2007). Utilisation Glucagel® in the β-glucan enrichment of breads: A physicochemical and nutritional evaluation. *Food Research International*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.09.014>.
- Brennan, C. S., Kurl, V., & Tudorica, C. M. (2004). Inulin-enriched pasta: Effects on textural properties and starch degradation. *Food Chemistry*, 86(2), 189–193. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.034>.
- Bustos, M. C., Perez, G. T., & León, A. E. (2015). Structure and quality of pasta enriched with functional ingredients. *RSC Advances*, 5(39), 30780–30792. <https://doi.org/10.1039/c4ra11857j>.
- Bustos, M. C., Pérez, G. T., & León, A. E. (2011). Effect of four types of dietary fiber on the technological quality of pasta. *Food Science and Technology International*, 17(3), 213–221. <https://doi.org/10.1177/1082013210382303>.
- Bustos, M. C., Perez, G. T., & León, A. E. (2013). Combination of resistant starches types II and IV with minimal amounts of oat bran yields good quality, low glycaemic index

- pasta. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(2), 309–315. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03188.x>.
- Buttriss, J. L., & Stokes, C. S. (2008). Dietary fibre and health: An overview. *Nutrition Bulletin*, 33(3), 186–200. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3018.2008.00705.x>.
- Carlini, E., Curti, E., Minuccioli, M., Antoniazzi, F., & Vittadini, E. (2014). Pasta. *Engineering aspects of cereal-based products* (pp. 211–238).
- Chiang, J. Y. L. (2013). Bile acid metabolism and signaling. *Comprehensive Physiology*, 3(3), 1191–1212. <https://doi.org/10.1002/cphy.c120023>.
- Courtin, C. M., & Delcour, J. A. (2002). Arabinosylans and endoxylanases in wheat flour bread-making. *Journal of Cereal Science*, 35(3), 225–243. <https://doi.org/10.1006/j.crs.2001.0433>.
- D'Amico, S., Mischle, J., Jekle, M., Tömösközi, S., Langó, B., & Schoenlechner, R. (2015). Effect of high temperature drying on gluten-free pasta properties. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), 391–399. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.080>.
- D'Egidio, M., Mariani, B., Nardi, S., & Novaro, P. (1993). Viscoelastograph measures and total organic matter test: Suitability in evaluating textural characteristics of cooked pasta. *Cereal Chemistry*, 70(1), 67–72. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2000.tb00286.x>.
- D'Egidio, M. G., De Stefanis, E., Fortini, S., Galterio, G., Nardi, S., Sgrulletta, D., & Bozzini, A. (1982). Standardization of cooking quality analysis in macaroni and pasta products. *Cereal Foods World (USA)*, 27(8), 367–368. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US8238725>.
- Dawson, P. A., Ian, T., & Rao, A. (2009). Thematic review series: Bile acids. Bile acid transporters. *Journal of Lipid Research*, 50(12), 2340–2357. <https://doi.org/10.1194/jlr.R900012-JLR200>.
- Debbouz, A., Pitz, W. J., Moore, W. R., & D'Apollonia, B. L. (1995). Effect of bleaching on durum wheat and spaghetti quality. *Cereal Chemistry*, 72(1), 128–131.
- Dhiraj, B., & Prabhasankar, P. (2013). Influence of wheat-milled products and their additive blends on pasta dough rheological, microstructure, and product quality characteristics. *International Journal of Food Science*, 2013, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2013/538070>.
- Dziedzic, K., Szewiel, A., Górecka, D., Gujska, E., Kaczowska, J., Drodzyńska, A., & Walkowiak, J. (2016). Effect of wheat dietary fiber particle size during digestion in vitro on bile acid, faecal bacteria and short-chain fatty acid content. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71(2), 151–157. <https://doi.org/10.1007/s1130-016-0537-6>.
- Emanuelli, T., Milbradt, B. G., da Kolinski, M., Callegaro, G., & Augusti, P. R. (2014). Wheat bran and cadmium in human health. *Wheat and Rice in Disease Prevention and Health*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-401716-0.00019-2>.
- Englyst, H. N., Veenstra, J., & Hudson, G. J. (1996). Measurement of rapidly available glucose (RAG) in plant foods: A potential in vitro predictor of the glycaemic response. *British Journal of Nutrition*, 75(03), 327. <https://doi.org/10.1079/BJN19960137>.
- Erickson, J., Carlson, J., Stewart, M., & Slavin, J. (2018). Fermentability of novel type-4 resistant starches in in vitro system. *Food*, 7(2), 18. <https://doi.org/10.3390/foods7020018>.
- FDA. (2016). Nutritional facts: Dietary fiber. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/interactivenutritionfactslabel/factsheets/DietaryFiber.pdf>.
- Gan, Z., Ellis, P. R., Vaughan, J. G., & Galliard, T. (1989). Some effects of non-endosperm components of wheat and of added gluten on wholemeal bread microstructure. *Journal of Cereal Science*, 10(2), 81–91. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(89\)80037-2](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(89)80037-2).
- Gelencsér, T., Gál, V., Hódsági, M., & Salsó, A. (2008). Evaluation of quality and digestibility characteristics of resistant starch-enriched pasta. *Food and Bioprocess Technology*, 1(2), 171–179. <https://doi.org/10.1007/s11947-007-0040-z>.
- Ghodke, S. K., & Ananthanarayan, L. (2008). Health benefits of resistant starch. *Agro Food Industry Hi Tech*, 19, 26–28.
- Goñi, I., Garcia-Alonso, A., & Saura-Calixto, F. (1997). A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutrition Research*, 17(3), 427–437. [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(97\)00010-9](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(97)00010-9).
- Grubben, M. J. A. L., Van Den Braak, C. C. M., Essenberg, M., Olthof, M., Tangerman, A., Katan, M. B., & Nagengast, F. M. (2001). Effect of resistant starch on potential biomarkers for colonic cancer risk patients with colonic adenomas: A controlled trial. *Digestive Diseases and Sciences*, 46(4), 750–756. <https://doi.org/10.1023/A:1010787931002>.
- Grzybowski, R. A., & Donnelly, B. J. (1979). Cooking properties of spaghetti: Factors affecting cooking quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27(2), 380–384. <https://doi.org/10.1021/jf60222a045>.
- Gull, A., Prasad, K., & Kumar, P. (2018). Nutritional, antioxidant, microstructural and pasting properties of functional pasta. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(2), 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.03.002>.
- Haajim, J., Ai, Y., & Jane, J. (2013). Novel applications of amylose-lipid complex as resistant starch type 5. *Resistant starch* (pp. 79–94). <https://doi.org/10.1002/9781118528723.ch04>.
- Hinkle, E. (2013). *A study of cooking and variational effects on potato in vitro bile acid binding capacity*. Honors College.
- Homayouni, A., Amini, A., Keshitban, A. K., Mortazavian, A. M., Esazadeh, K., & Pourmoradian, S. (2014). Resistant starch in food industry: A changing outlook for consumer and producer. *Starch - Stärke*, 66(1–2), 102–114. <https://doi.org/10.1002/star.201300110>.
- Inglett, G. E., Peterson, S. C., & Carriere, C. J. (2005). Noodles containing an oat cereal hydrocolloid (pp. 1–8).
- ISO - ISO 7304-1:2016 - Durum wheat semolina and alimentary pasta — Estimation of cooking quality of alimentary pasta by sensory analysis — Part 1: Reference method. (2016). Retrieved December 18, 2019, from <https://www.iso.org/standard/44312.html>.
- Izydorczyk, M., Lagassé, S., Hatcher, D., Dexter, J., & Rossnager, B. (2005). The enrichment of Asian noodles with fiber-rich fractions derived from roller milling of hull-less barley. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(12), 2094–2104. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2242>.
- Joye, I. J. (2019). Iris J Joye. Guelph, ON, Canada © 2019: University of Guelph (vol. 1, pp. 256–264). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21586-2>.
- Kumar, A., Sahoo, U., Baisakha, B., Augustine Okpani, O., Ngangkhham, U., Basak, N., ... Sharma, S. (2018). Resistant starch could be decisive in determining the glycemic index of rice cultivars. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.11.013>.
- Liu, C.-Y., Shepherd, K. W., & Rathjen, A. J. (1996). Improvement of durum wheat pastamaking and breadmaking qualities. Retrieved from https://www.aacnet.org/publications/cc/backissues/1996/Documents/73_155.pdf.
- Mah, E., Garcia-Campayo, V., & Liska, D. (2018). Substitution of corn starch with resistant starch type 4 in a breakfast bar decreases postprandial glucose and insulin responses: A randomized, controlled, crossover study. *Current developments in Nutrition*, 2(10), <https://doi.org/10.1093/cdn/nzy066>.
- Makhlof, S., Jones, S., Ye, S. H., Sancho-Madriz, M., Burns-Whitmore, B., & Li, Y. O. (2019). Effect of selected dietary fibre sources and addition levels on physical and cooking quality attributes of fibre-enhanced pasta. *Food Quality and Safety*, 3(2), 117–127. <https://doi.org/10.1093/qsaf/tyz010>.
- Manno, D., Filippo, E., Serra, A., Negro, C., De Bellis, L., & Miceli, A. (2009). The influence of inulin addition on the morphological and structural properties of durum wheat pasta. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(11), 2218–2224. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.02062.x>.
- Manthey, F. A., & Schorno, A. L. (2002). Physical and cooking quality of spaghetti made from whole wheat durum. *Cereal Chemistry*, 79(4), 504–510. <https://doi.org/10.1094/CJCHEM.2002.79.4.504>.
- Menon, R., Padmaja, G., Sajeev, M. S., & Sheriff, J. T. (2012). Effect of fortification with different starches on starch digestibility, textural and ultrastructural characteristics of sweet potato spaghetti. *Journal of Root Crops*, 38(2), 157. <http://isrc.in/ojs/index.php/jrc/article/view/25>.
- Nilusha, R. A. T., Jayasinghe, J. M. J. K., & Perera, P. I. P. (2019). Development of pasta products with nonconventional ingredients and their effect on selected quality characteristics: A brief overview 2019.
- Nissar, J., Ahad, T., Naik, H. R., & Hussain, S. Z. (2017). Resistant starch- chemistry and nutritional properties. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 2(6), 95–108.
- Ozden, T., Olanca, B., Sanal, T., Ozay, D. S., & Koksels, H. (2008). Effects of suni-bug (*Eurygaster spp.*) damage on semolina properties and spaghetti quality characteristics of durum wheats (*Triticum durum* L.). *Journal of Cereal Science*, 48(2), 464–470. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.11.004>.
- Pestorić, M. V., Summary, P. T., & Pestorić, M. (2012). Development and sensory evaluation of sensory and instrumental methods for assessment textural properties of pasta. *Food and Food Research*, 51–55.
- Ramy, A., Salama, M. F., & Shouk, A. A. (2002). Pollard as potential source of dietary fibre for pasta manufacture. *Egyptian Journal of Food Science*, 30(2), 313–330.
- Roman, L., & Martínez, M. M. (2019). Structural Basis of Resistant Starch (RS) in Bread: Natural and Commercial Alternatives. *Food*, 8(7), 267. <https://doi.org/10.3390/foods8070267>.
- Sajlata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch? A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(1), 1–17. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2006.tb00076.x>.
- Sanz-Penella, J. M., Wronkowska, M., Soral-Šmetana, M., Collar, C., & Haros, M. (2010). Impact of the addition of resistant starch from modified pea starch on dough and bread performance. *European Food Research and Technology*, 231(4), 499–508. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1294-7>.
- Sato, R., Cilli, L. P. de L., Oliveira, B. E. de, Maciel, V. B. V., Venturini, A. C., & Yoshida, C. M. P. (2019). Nutritional improvement of pasta with *Feressia aculeata* Millier: A non-conventional edible vegetable. *Food Science and Technology*, 38(1), 28–34. <https://doi.org/10.1590/1517-8595/151701035617>.
- Sharma, A., Yadav, B. S., & Ritika (2008). Resistant starch: physiological roles and food applications. *Food Reviews International*, 24(2), 193–234. <https://doi.org/10.1080/87559120801926237>.
- Shiau, S. Y., Wu, T. T., & Liu, Y. L. (2012). Effect of the amount and particle size of wheat fiber on textural and rheological properties of raw, dried and cooked noodles. *Journal of Food Quality*, 35(3), 207–216. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.2012.00436.x>.
- Simek, S., & El, S. N. (2012). Production of resistant starch from taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) corn and determination of its effects on health by in vitro methods. *Carbohydrate Polymers*, 90(3), 1204–1209. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.039>.
- Skendli, A., Billaderis, C. G., Pappageorgiou, M., & Izydorczyk, M. S. (2010). Effects of two barley β-glucan isolates on wheat flour dough and bread properties. *Food Chemistry*, 119(3), 1159–1167. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.030>.
- Smweling, J. (1997). Analyzing the texture of pasta for quality control. *Cereal Foods World*, 42(January 1997), 8–12.
- Snelson, M., Jong, J., Manolas, D., Kok, S., Louise, A., Stern, R., & Kellow, N. J. (2019). Metabolic effects of resistant starch type 2: A systematic literature review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients*, 11(8), <https://doi.org/10.3390/nu11081833>.
- Sobota, A., & Zarzycki, P. (2013). Effect of pasta cooking time on the content and fractional composition of dietary fiber. *Journal of Food Quality*, 36(2), 127–132. <https://doi.org/10.1111/jfq.12023>.
- Sullburska, J., & Krelpejo, Z. (2014). Evaluation of the content and bioaccessibility of iron, zinc, calcium and magnesium from groats, rice, leguminous grains and nuts. *Journal of Food Science and Technology*, 51(3), 589–594. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0535-5>.
- Sullivan, P., O'Flaherty, J., Brunton, N., Arendt, E., & Gallagher, E. (2011). The utilisation

- of barley middlings to add value and health benefits to white breads. *Journal of Food Engineering*, 105(3), 493–502. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.011>.
- Tazzart, K., Lamacchia, C., Zaidi, F., & Haros, M. (2016). Nutrient composition and in vitro digestibility of fresh pasta enriched with *Vicia faba*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 47, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.12.007>.
- Trautwein, E. A., Kunath-Rau, A., & Erbersdobler, H. F. (1999). Increased fecal bile acid excretion and changes in the circulating bile acid pool are involved in the hypocholesterolemic and gallstone-preventive actions of psyllium in hamsters. *The Journal of Nutrition*, 129(4), 896–902. <https://doi.org/10.1093/jn/129.4.896>.
- Tudorić, C. M., Kuri, V., & Brennan, C. S. (2002). Nutritional and physicochemical characteristics of dietary fiber enriched pasta. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(2), 347–356. <https://doi.org/10.1021/jf0106953>.
- Vernaza, M. G., Blasutti, E., Schmiele, M., Jaekel, L. Z., Bannwart, A., & Chang, Y. K. (2012). Effect of supplementation of wheat flour with resistant starch and mono-glycerides in pasta dried at high temperatures. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(6), 1302–1312. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.02974.x>.
- Williams, P., El-Haramain, F. J., Nakkoul, H., & Rihawi, S. (1988). *Crop quality evaluation methods and guidelines*. Syria: Technical Manual, International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA).
- Zacherl, C., Eisner, P., & Engel, K.-H. (2011). In vitro model to correlate viscosity and bile acid-binding capacity of digested water-soluble and insoluble dietary fibres. *Food Chemistry*, 126(2), 423–428. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.113>.

EK 2 - Tezden Türetilmiş Bildiriler

10th International Congress "Flour-Bread '19"
12th Croatian Congress of Cereal Technologists "Brašno-Kruh '19."

EFFECTS OF RESISTANT STARCH TYPE 4 AND WHEAT BRAN ON DOUGH AND BREAD PROPERTIES

Merve Arıbaş^{1*}, Hamit Köksel²

¹Aksaray University, Food Engineering Department, Aksaray, Turkey

²Hacettepe University, Food Engineering Department, Ankara, Turkey

*corresponding author: mervesert@aksaray.edu.tr

oral presentation

Resistant Starch (RS) is defined as the fraction of starch which escapes digestion in the small intestine. The physiological effects of RS are similar to those of dietary fibre. RS has potential health benefits but it has lower impact on sensory properties of foods compared with traditional sources of fibre, such as bran. It provides better appearance, texture, and mouthfeel than conventional fibres. The aim of the present study was to determine the effects of Resistant Starch Type 4 (RS4) and wheat bran (WB) addition on rheological properties of dough and the textural and colour properties of bread. Although RS4 did not have a great effect on farinograph water absorption (0.7% increase), the WB resulted in a >4% higher water absorption as compared to the control flour sample. RS4 caused slight decreases in the Alveograph P value, while WB resulted in a considerable increase. Both RS4 and WB had a decreasing effect on the Alveograph W value. Decreases were observed in loaf volumes of RS4 supplemented breads as the supplementation level increased. However, the loaf volume of bread supplemented with WB was lower. Crust L* and b* values of the breads increased significantly with the increasing level of RS4 supplementation, but the supplementation of WB caused a decrease. Significant increases in the firmness values of RS4 supplemented breads were observed as the supplementation level increased. The firmness value of WB supplemented bread was significantly higher as compared to the breads supplemented with RS4 at all levels. The results indicated that RS4 provides better volume, texture, and rheology than WB.

Keywords: Alveograph, bread, Farinograph, enzyme resistant starch