



## Morphological, Thermal and Functional Properties of Horse Chestnut Starches Produced by Alkaline and Ultrasound Assisted Methods

Zeynep İnatçı<sup>1,a</sup>, Ali Cingöz<sup>1,b,\*</sup>

<sup>1</sup>Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 60250, Tokat, Türkiye.

\*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 06.01.2025 Accepted : 16.01.2025</p> <p><b>Keywords:</b> Amylose Alkaline/ultrasonic methods Extraction Horse chestnut Starch</p>	<p>Global climate change and a growing population are driving research into alternative starch sources. The aim of this study was to produce starch from horse chestnut seeds by alkali and ultrasound assisted methods and to determine the morphological, thermal and functional properties of the produced starches. The ultrasound-assisted method increased the swelling power and water/oil holding values of the starches and decreased the syneresis values. The samples showed gel formation at a minimum starch content of 6% and 12%. The amylose contents of the starches produced by the alkaline and ultrasonic methods were 25.41% and 29.86%, respectively. The highest temperatures of thermal degradation of the starches were determined in the range 221-343°C. The ultrasonic method increased the <math>\lambda_{max}</math> value of starch from 523,0 nm to 583 nm and decreased the specific rotation angle from 59.90 to 21.75. Thermogravimetric data showed that 50% of the mass was lost in the range 302-312°C for the alkaline method and 303-304°C for the ultrasonic assisted method. Ultrasonication caused a partial change in the structure of starches with orthorhombic crystal structure. This study comprehensively investigates alternative starch sources. The starches produced have the potential to ortorombik be used in the production of gluten-free products and in products where a gel structure is desired.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 13(3): 611-619, 2025

## Alkali ve Ultrasonik Destekli Yöntemlerle Üretilen At Kestanesi Nişastalarının Morfolojik, Termal ve Fonksiyonel Özellikleri

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 06.01.2025 Kabul : 16.01.2025</p> <p><b>Anahtar Kelimeler:</b> Amiloz At kestanesi Alkali/ultrasonik yöntemler Nişasta Ekstraksiyon</p>	<p>Küresel iklim değişiklikleri ve artan nüfus alternatif nişasta kaynaklarına yönelik araştırmaları artırmaktadır. Bu çalışmanın amacı, at kestanesi tohumlarından alkali ve ultrason destekli yöntemlerle nişasta üretimi gerçekleştirmek ve üretilen nişastaların morfolojik, termal ve fonksiyonel özelliklerini belirlemektir. Ultrason destekli yöntem nişastaların şişme gücü ve su/yağ tutma kapasite değerlerini yükseltmiş, sineresis değerlerini ise düşürmüştür. Örnekler minimum %6 ve %12 nişasta oranlarına sahipken jel oluşumu göstermiştir. Alkali ve ultrasonik yöntemlerle üretilen nişastaların amiloz içerikleri sırasıyla %25,41 ve %29,86'dır. Nişastaların termal bozunmasının en yüksek olduğu sıcaklıklar 221-343°C aralığında tespit edilmiştir. Ultrasonik yöntem nişastanın <math>\lambda_{max}</math> değerini 523,0 nm'den 583 nm'ye yükseltmiş ve spesifik dönme açısını 59,90'dan 21,75'e düşürmüştür. Termogravimetrik veriler kütlenin %50'sinin alkali yöntem için 302-312°C ve ultrason destekli yöntem için 303-304°C aralığında kaybolduğunu göstermiştir. Ultrasonikasyon, ortorombik kristal yapıya sahip nişastaların yapısında kısmi bir değişikliğe neden olmuştur. Çalışmamız alternatif nişasta kaynakları ile ilgili kapsamlı bir çalışmadır. Üretilen nişastaların başta glutensiz ürün üretiminde ve jel yapısı istenen ürünlerde kullanılma potansiyeli bulunmaktadır.</p>

<sup>a</sup> [ihsanyrgn@gmail.com](mailto:ihsanyrgn@gmail.com)

<sup>b</sup> <https://orcid.org/0000-0003-1049-537X>

[ali.cingoz@gop.edu.tr](mailto:ali.cingoz@gop.edu.tr)

<https://orcid.org/0000-0003-0958-2679>



This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 International License

## Giriş

*Aesculus hippocastanum* L., yaprak ve çiçeklerinin dekoratif özellikleri ile 16. yüzyılın sonlarından günümüze kadar park, bahçe ve yol kenarlarında süs ağacı olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Aynı zamanda tohum kabukları ve çiçekleri geleneksel ve tıbbi tedavilerde kullanılan değerli bir bitkidir (Dudek-Makuch & Matławska, 2011). Önemli bir nişasta (%30-40) ve yağ (%5,5-7,7) kaynağı olan at kestanenin ana biyoaktif bileşenleri, triterpen saponinler (escin), flavonoidler, kumarinler ve proantosiyanidinler dahil olmak üzere 190 farklı bileşen olarak tanımlanmıştır (Amiri ve ark., 2019; Owczarek-Januszkiewicz ve ark., 2023).

Nişasta,  $\alpha$ -1,4 bağları ile bağlanmış  $\alpha$ -D-glukoz birimlerinden oluşan düz amiloz zincirleri ve  $\alpha$ -1,6 bağları ile bağlanmış dallanmış amilopektin zincirlerinden oluşan, bitki dokularında yarı kristal granüller halinde bulunan kompleks bir karbonhidrattır (Lemos ve ark., 2015). Nişasta, tahılların, baklagillerin, yumruların ve köklerin ana bileşenidir (Lu ve ark., 2012). Gıda maddelerinde jelatinleştirici, dolgu maddesi, stabilizatör, sorbent polimer ve yapıştırıcı olarak kullanılmaktadır (Vishal Banyal ve ark., 2023). Yaygın olarak buğday, patates, manyok, pirinç ve mısır gibi endüstriyel ürünlerden üretilen nişastalar farklı yapısal ve teknolojik kalite özelliklerine sahiptir. Bitki türü, hasat zamanı ve çevresel/iklimsel faktörlere bağlı olarak nişastaların özelliklerinde değişimler meydana geldiği bildirilmektedir (Vishal Banyal ve ark., 2023). Nişasta üretiminde genellikle geleneksel yöntemler kullanılmaktadır. Zaman ve kimyasal tüketimi açısından dezavantajları olan geleneksel ekstraksiyon uygulamalarının popülaritesi her geçen gün azalmaktadır. Geleneksel optimizasyon yöntemleri her seferinde bir değişkeni değiştirmektedir. Fakat bu durum analiz süresini ve reaktif tüketimini arttırmaktadır. Ayrıca ekstraksiyon parametrelerinin bir arada gösterebileceği potansiyel sinerjik etkisinin tespiti zorlaşmaktadır. Ultrason destekli ekstraksiyon, bileşiklerin yapısal ve moleküler özelliklerini korurken, bitkilerden hedeflenen bir maddenin ekstrakte edilmesi için kullanılan modern yöntemlerden bir tanesidir. Bu yöntem, solvent ve enerji tüketimini azaltmakta, ekstraksiyon süresini kısaltmakta ve prosesi basitleştirmektedir (Amiri ve ark., 2019).

Yapılan literatür taramalarında at kestanesinden antioksidan, glikoz ve lignin gibi katma değeri yüksek ürünlerin üretilmesine yönelik çalışmalar tespit edilmiştir (Çiçek Özkan & Güner, 2022; Gullón ve ark., 2020). Ayrıca literatürde alkali yöntem kullanılarak kestane ve at kestanesinden nişasta üretimi ve ultrasonik destekli yöntemin nişasta partiküllerinin özellikleri üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar bulunmaktadır (Castaño ve ark., 2014; Correia ve Beirão-da-Costa, 2012; Lemos & ark., 2015; Rafiq ve ark., 2016; Shah ve ark., 2016; Ahmad ve ark., 2020). Literatürde at kestanesi nişastasının fiziko-kimyasal özelliklerinin belirlendiği çalışmalar mevcuttur. Fakat fonksiyonel (teknolojik) özelliklerinin, aflatoksin içeriğinin ve morfolojik özelliklerinin kapsamlı olarak belirlendiği sınırlı sayıda çalışma tespit edilmiştir. Bu çalışmada at kestanesinden iki farklı yöntem kullanılarak nişasta ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve elde edilen nişastaların fonksiyonel (teknolojik), morfolojik ve termal özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca at kestanesinde ve nişastasında aflatoksin varlığı araştırılmıştır.

## Materyal ve Metot

### Materyal

Nişasta eldesi için at kestanesi (*Aesculum hippocastanum*) kullanılmıştır. At kestanesi İstanbul'daki (Türkiye) park ve bahçelerden toplanmıştır. Toplanan tohumlar  $-18^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmıştır.

### Nişasta Ekstraksiyonu

At kestanesi tohumları kabuğundan ayrılmış ve 3-4 mm kalınlığında parçalar halinde doğranmıştır. Dilimlenen parçalar %0,5 potasyum metabisülfid ve %1 sitrik asit çözeltisinde 30 dakika bekletildikten sonra  $70^{\circ}\text{C}$ 'de 12 saat kurutulmuştur (Singh ve ark., 2008). Alkali ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemlerinde seçilen parametreler literatür taramaları ve ön denemeler sonucunda belirlenmiştir. Alkali yöntemle nişasta ekstraksiyonunda dilimlenmiş ve kurutulmuş 100 g at kestanesi 300 mL %1'lik NaOH çözeltisi içine ilave edilmiş ve burada  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 12 saat bekletilmiştir. Süre sonunda karışım 5 dakika boyunca yüksek hızlı bir öğütücüde parçalanmış, 60 mikronluk bir süzgeçten geçirilmiş ve süzgecin üstü 2-3 kez distile su ile yıkanmıştır. Elde edilen süzöntü 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj (Boeco U-32R, Almanya) edilmiştir. Santrifüj işlemi dört kez tekrarlanmış ve her tekrardan sonra distile su ile yıkanmıştır. Son santrifüj işleminden sonra elde edilen süpernatant büyük bir cam kaba alınmış,  $40-50^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat boyunca etüvde (Memmert 100-800, Almanya) kurutulmuş ve ardından öğütülerek kapalı kaplarda saklanmıştır (Rafiq ve ark., 2015). Ultrason destekli yöntem ile nişasta ekstraksiyonunda ise 100 g at kestanesi 300 mL %0,68'lik NaOH çözeltisi içine ilave edilmiş ve burada 37W ultrason gücünde 2 saat ultrasonik su banyosunda (Elma, E30H, Schmidbauer, Almanya) muamele edilmiştir. Süre sonunda alkali yöntemle aynı işlemler tekrarlanarak nişasta üretimi gerçekleştirilmiştir.

### Fonksiyonel Özellikler

Örneklerin su ve yağ tutma kapasitesi, şişme gücü ve çözünürlük analizleri Wani ve ark., (2014) tarafından açıklanan yöntemle göre, yığın yoğunluğu analizleri Wani ve ark., (2013) tarafından açıklanan yöntemle göre, sediment hacmi ve bulanıklık analizleri Rafiq ve ark., (2015) tarafından açıklanan yöntemle göre yapılmıştır. Işık geçirgenliği ise Wani ve ark., (2013) tarafından tanımlanan yöntem kullanılarak yapılmıştır. Örneklerin jelleşme özellikleri Coffmann & Garcia (1977) tarafından açıklanan yöntemle göre belirlenmiştir.

### Donma-Çözünme Stabilitesi

%6'lık nişasta çözeltisi  $90^{\circ}\text{C}$ 'deki kaynar su banyosunda 30 dakika boyunca çalkalanarak bekletilmiştir. Elde edilen jel 16 saat boyunca  $4^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmış ve ardından  $-18^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulmuştur. Bu sıcaklıkta 24 saat kaldıktan sonra,  $25^{\circ}\text{C}$ 'de 6 saat çözdürülmüş ve ardından  $-18^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat boyunca tekrar dondurulmuştur. Bu döngü 5 kez tekrarlanmıştır. Her çözdürme işleminden sonra tüpler  $10^{\circ}\text{C}$ 'de 20 dakika boyunca  $1000\times\text{g}$ 'de santrifüj edilmiş ve ayrılan su miktarı tespit edilmiştir (Hoover & Ratnayake, 2002).

### Sineresis

%6'lık nişasta çözeltisi su banyosunda 90°C'de 30 dakika boyunca çalkalanarak bekletilmiştir. Ardından soğutulan örnekler 4°C'de 0, 24, 48, 72, 96 ve 120 saat bekletilmiştir. Süre sonunda 3000\*g'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra ayrılan su miktarı % olarak hesaplanmıştır (Wani ve ark., 2010).

### Saponin Analizi

0,5 g nişasta örneği üzerine 0,5 mL distile su eklenerek 15 dakika çalkalanmıştır. Süre sonunda yaklaşık 0,25 cm köpük oluşumu saponin varlığını göstermektedir (Janarthanan ve ark., 2012).

### Glikozit Analizi

1 g nişasta örneği üzerine 1,5 mL kloroform ve %10'luk amonyak damla damla eklenmektedir. Pembe renk oluşumu glikozit varlığını göstermektedir (Janarthanan ve ark., 2012).

### Spesifik Rotasyon ( $\alpha$ )

Spesifik çevirme açısı bir polarimetre (Atago, AP-100, Japonya) kullanılarak ölçülmüş ve Eşitlik 1 kullanılarak hesaplanmıştır (Polavarapu, 2002).

$$\alpha = a \times 100 / (L \times C) \quad (1)$$

$\alpha$ = belirli dönme derecesi

a= gözlenen dönüş açısı

L= desimetre cinsinden tüp uzunluğu

C= 100 mL başına gram cinsinden konsantrasyon

### $\lambda_{max}$ Değeri, Mavi Değer ve Amiloz İçeriği

Nişastanın max absorpsiyon spektrumları Nwokocho & Williams (2011) tarafından bildirilen yöntemle ölçülmüştür. Mavi değeri, Takeda ve ark. (1983) tarafından bildirilen yöntemle göre 680 nm'de ölçülmüş ve Eşitlik 2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Mavi değer} = \frac{\text{Abs}_{680} \times 4}{\text{Nişasta Konsantrasyonu} \left( \frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right)} \quad (2)$$

Amiloz içeriğinin tespitinde nişasta örneği 12 saat boyunca %90 dimetil sülfoksit (DMSO) çözeltisinde çözdürülmüş ve sıcak izopropanol ile çöktürülerek saflaştırılmıştır (Stevenson ve ark., 2006).

### Aflatoksin Analizi

Pietri ve ark. (2012) tarafından bildirilen aflatoksin yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır. At kestanesi tohumundan ve nişastadan 25 g alınarak 250 mL aseton/su (70 + 30 v/v) karışımı ile 45 dakika boyunca çalkalamalı su banyosunda ekstrakte edilmiştir. Karışım filtre kağıdından süzülükten sonra, süzüntüden 5 mL alınmış ve distile su ile 50 mL'ye seyreltilmiştir. Çözelti daha sonra bir immünoafinite kolonu (Rhone Diagnostic Technologies) aracılığıyla saflaştırılmıştır. Elüat azot akışı altında konsantre edilmiş ve asetonitril su (25 + 75 v/v) karışımı ile 2 mL'ye tamamlanarak vortex ile karıştırılmış ve ardından filtrelenmiştir (Millex HV 0.45 µm, Millipore). Analiz HPLC cihazında (Perkin Elmer, ABD) gerçekleştirilmiştir. Aflatoksinler Macharey Nagel CC 250/4.6 Nucleosil 100-5 C18 HD kolonunda 40°C'de su-

metanol-asetonitril (64 + 23 + 13, v/v/v) mobil fazı (pompa akış hızı: 1 mL/dak, enjeksiyon hacmi: 100 µL) ile ayrıştırılmıştır. AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2'nin farklı konsantrasyonlardaki (0.025 ve 6.0 ng/mL) altı kalibrasyon çözeltisi enjektörde edilmiş ve bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur.

### Nişastanın Granül Yapısı

%1'lik nişasta çözeltileri ışık mikroskobu (Olympus, Japonya) altında görüntülenmiş ve granül yapılarının fotoğrafları çekilmiştir (Canon 80D, Japonya).

### FT-IR Analizi

FT-IR spektrumları Jasco FT-IR 4700 spektrometresinde 400-4000 cm<sup>-1</sup> aralığında kaydedilmiştir. Tüm spektrumlar Jasco Spectra Manager Version 2 yazılımı (v 2.14.05) kullanılarak analiz edilmiştir (Akbaş, 2020).

### Termogravimetrik Analiz (TGA)

At kestanesi nişastası örnekleri TA Instruments SDT Q600 TG/DSC (ABD) tipi bir termogravimetrik analizör ile analiz edilmiştir. Nişasta örnekleri açık alümina krozeler kullanılarak 30 ila 900°C arasında ısıtılmıştır. 10,0 mg örnek miktarı, 10°C/dak ısıtma hızında 100 mL/dak sentetik hava akışında kullanılmıştır (Wendlandt, 1986).

### Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

At kestanesi nişastalarının yapısal ve morfolojik özelliklerini SEM analizi JEOL JSM-7001F Schottky SEM (Japonya) ile incelemiştir. Görüntüler ×1000 boyutunda kaydedilmiştir.

### İstatistiksel Analiz

SPSS istatistik programı (SPSS, Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılmış, sonuçların varyans analizi (ANOVA) yapılmış ve gruplar arasındaki farklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile %95 güven aralığında istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

### Bulgular ve Tartışma

İki farklı yöntemle üretilen at kestanesi nişastalarının fonksiyonel (teknolojik) özellikleri Çizelge 1'de sunulmuştur. At kestanesinin yapısında bulunan glikozit ve saponinler büyük oranda kabuk kısmında bulunmakta olup tohumda bulunan glikozit ve saponinlerin nişastaya geçmediği tespit edilmiştir. Nişasta ekstraksiyonunda ultrason destekli yöntemlerin kullanılması yağ ve su tutma kapasitesini ve şişme gücünü artırmıştır. Su tutma kapasitesi, viskoziteyi etkileyen önemli bir işleme parametresidir (Ahmad ve ark., 2020). Alkali yöntemle üretilen at kestanesi nişastasının (A-HCS) su tutma kapasitesi 234,60 g/g iken, ultrason destekli yöntemle üretilen at kestanesi nişastasının (U-HCS) su tutma kapasitesi 329 g/g'a yükselmiştir. Nişasta molekül boyutundaki azalma su tutma kapasitesini artırmaktadır (Ahmad ve ark., 2020). Ultrason destekli yöntemde su tutma kapasitesindeki artış, nişasta moleküllerinin artan yüzey alanından kaynaklanmaktadır. Kullanılan NaOH ve ultrason destekli yöntemin sinerjik etkisi ile amiopektinin kristal yapısı azalmakta veya kırılmaktadır. Bu durumda su tutma kapasitesinde artışa neden olmaktadır.

Çizelge 1. At kestanesi nişastalarının fonksiyonel özellikleri

Table 1. Functional properties of horse chestnut starches

Parametreler Parameter	A-HCS	U-HCS
Yağ tutma kapasitesi (g/g)	175,26±4,47 <sup>b</sup>	189,05±4,23 <sup>a</sup>
Su tutma kapasitesi (g/g)	234,60±1,23 <sup>b</sup>	329,00±13,42 <sup>a</sup>
Şişme Gücü (%)	273,87±3,23 <sup>b</sup>	481,35±18,54 <sup>a</sup>
Çözünürlük (%)	8,82±0,04 <sup>a</sup>	2,67±0,10 <sup>b</sup>
Yığın yoğunluğu (g/mL)	0,48±0,03 <sup>a</sup>	0,51±0,01 <sup>a</sup>
Sediment hacmi (mL)	10,00±0,01 <sup>b</sup>	17,33±2,31 <sup>a</sup>
Bulanıklık (%T)	6,24±2,92 <sup>a</sup>	0,72±0,19 <sup>b</sup>
Spesifik çevirme açısı ( $\alpha$ )	59,90	21,75
Mavi değer	0,182±0,001 <sup>b</sup>	0,253±0,001 <sup>a</sup>
Amiloz içeriği	25,41±0,18 <sup>b</sup>	29,86±0,23 <sup>a</sup>
$\lambda_{\max}$ (nm)	523,0±1,0 <sup>b</sup>	583,0±4,0 <sup>a</sup>
Aflatoksin (B1, B2, G1 ve G2)	Tespit edilememiştir	Tespit edilememiştir

a, b, c, ... harfleri aynı satırdaki örneklerin P<0.05 düzeyinde istatistiksel farklılıklarını göstermektedir.

Niştasta moleküllerinin boyutundaki ve polimerik moleküllerin ağ yapısındaki değişiklikler niştasta partiküllerinin hidrofobikliğini etkilemektedir (Ahmad ve ark., 2020). A-HCS ve U-HCS'nin yağ tutma kapasiteleri sırasıyla 175,26 ve 189,05 g/g olarak belirlenmiştir. Yağ tutma kapasitesi, suyu iyi tutamayan sarmal amiloz zincirlerinin hidrofobik iç yüzeyi ile ilişkilidir (Kong ve ark., 2014). Yapılan çalışmalarda at kestanesi niştastasının su tutma kapasitesinin %85-94, yağ tutma kapasitesinin ise %62-65 arasında olduğu bildirilmiştir (Rafiq ve ark., 2016; Wani ve ark., 2014). Ultrason destekli yöntemle elde edilen niştastaların alkali yöntemle kıyasla daha yüksek viskoziteye, daha iyi termal stabiliteye, artan su tutma kapasitesine sahip olduğu bildirilmiştir (Ahmad ve ark., 2020). A-HCS'nin şişme gücü %273,87 ve U-HCS'nin şişme gücü %481,35'tir. Niştastanın sudaki şişme gücü ve çözünürlüğü amilopektinin zincir dal uzunluğundaki dağılım ve fosfor içeriğindeki değişikliklerle ilgilidir. Amilopektinin yapısındaki kısa zincirler, kısa ve zayıf çift sarmallar oluşturarak niştasta granüllerinin şişme gücünü arttırmaktadır (Castaño ve ark., 2014). Ultrason uygulaması niştastalarda amiloz ve özellikle amilopektin yapısında kırılma yada kopmalara neden olmaktadır. Bu durumda ortamdaki kısa zincirli yapıları arttırmaktadır. Castaño ve ark. (2014) at kestanesi niştastasının çözünürlüğünü %3,1 ve şişme gücünü %65 olarak bildirmişlerdir. Niştastaların yığın yoğunluğu 0,48 g/mL ve 0,51 g/mL olup, literatür verileri olan 0,85 g/mL (Ahmad ve ark., 2020) ve 0,86 g/mL (Wani ve ark., 2014) değerlerinden daha düşük tespit edilmiştir.

Mililitrede 1 g madde içeren bir çözeltinin spesifik rotasyonu, uzun bir tüpte ölçülen spesifik çevirme açısı olarak tanımlanmaktadır. Her aktif maddenin karakteristik bir spesifik çevirme açısı bulunmaktadır (Hossain ve ark., 2015). A-HCS'nin spesifik rotasyon ( $\alpha$ ) değeri 59,90 ve U-HCS'nin 21,75 olarak tespit edilmiştir. Mavi değer (BV), iyot komplekslerinin oluşumundaki farklılıklardan yararlanarak amiloz içeriğini hesaplamak için kullanılan yöntemlerden birisidir (Stawski, 2008). Niştasta-iyot absorpsiyon spektrumları, maksimum absorpsiyon dalga boyu ( $\lambda_{\max}$ )'nu göstermektedir. A-HCS'nin mavi değeri,  $\lambda_{\max}$  değeri ve amiloz içeriği sırasıyla 0,182, 25,41 ve 523,0 nm iken, U-HCS'ninki 0,253, 29,86 ve 583,0 nm'dir. Amiloz içeriği arttıkça, mavi değer ve  $\lambda_{\max}$  da artmaktadır (Yu ve ark., 2012). Niştastanın  $\lambda_{\max}$  değerinin

polimerizasyon derecesi ve amiloz ve amilopektinin ortalama zincir uzunluğu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Hung ve ark., 2008). Ayrıca  $\lambda_{\max}$ 'taki artış, sulu çözeltide iyot-amiloz kompleksi oluşturmak üzere amilozun bulunabilirliğinde bir artış olduğunu göstermektedir (Nwokocha & Williams, 2011).

At kestanesi niştastalarının ışık geçirgenliği, donma-çözünme kararlılığı ve sineresis değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Niştasta çözeltilerinin depolanması sırasında, yapıdan salınan amiloz ve amilopektin miktarı, amiloz ve amilopektinin moleküler ağırlığı ve zincir uzunluğu ve niştasta granüllerinin şişme özellikleri gibi faktörler bulanıklığı arttırmakta ve ışık geçirgenliğinin azalmasına neden olmaktadır (Rafiq ve ark., 2015; Wani ve ark., 2014). Niştasta örneklerinin ışık geçirgenliği 120 saatlik depolama süresince incelenmiş ve 48 saat sonunda daha opak bir karışım elde edilmiştir. Niştasta örneklerinin sediment hacmi A-HCS ve U-HCS için sırasıyla 10,00 ve 17,33 mL olarak belirlenmiştir. Ultrason uygulaması ile niştasta moleküllerinin amorf yapısının bozulması su tutma kapasitesini yükseltmekte ve bu durumda da sediment hacminde artışa neden olmaktadır. Başlangıç ışık geçirgenliği (%T) değerleri alkali yöntemle elde edilen niştastalarda daha yüksek bulunmuştur. Ultrason uygulaması ile niştastada meydana gelen mikro yapısal değişiklikler ortamdaki karboksil gruplarının miktarında artışa neden olmaktadır. Oluşan karboksil grupları su molekülleri ile hidrojen bağı oluşturmaktadır. Bu da niştasta jelinin ışık geçirgenliğini ve berraklığını arttırmaktadır (Singh ve ark., 2006). Opak jeller daha düşük %T vermektedirler (Rafiq ve ark., 2015). U-HCS'nin A-HCS'ye kıyasla daha düşük ışık geçirgenliği göstermesi karboksil gruplarının oluşumundan kaynaklanmaktadır. Çizelge 2'de gösterildiği gibi, niştastaların sineresisi depolama süresiyle birlikte artmış ve 96 saatte en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Ultrason uygulaması niştasta moleküllerinin amiloz ve amilopektin birleşme bölgelerini etkilemekte buda yapıda ki suyun serbest aklmasına neden olmaktadır (Perera & Hoover, 1999). Ultrason destekli ekstraksiyon yönteminin sineresis değerlerinde düşüşe neden olduğu belirlenmiştir. Depolama nedeniyle sineresis yüzdesindeki artışın, sızan amiloz ve amilopektin zincirleri arasındaki etkileşimden kaynaklandığı, bunun da birleşme bölgelerinin gelişmesine ve suyun serbest kalmasına yol açtığı bildirilmektedir (Perera & Hoover, 1999). Jelleşmiş

nişasta karışımlarının donma-çözünme stabilitesi A-HCS için %0-33,65 ve U-HCS için %0,22-37,41 arasında belirlenmiştir. Donma çözünme işlemi esnasında yapıdan ayrılan su miktarındaki artış, nişasta moleküler yapısındaki değişim ve partikül boyutundaki azalmadan kaynaklanmaktadır. Jellerden ayrılan su miktarı depolama süresi ile artmıştır. Alkali yöntemle üretilen at kestanesi nişastalarının minimum %6 konsantrasyonda jel oluşturduğu, ultrason destekli yöntemle üretilen nişastaların ise minimum %12 konsantrasyonda jel oluşturduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3). Literatürde at kestanesi nişastasının minimum jel oluşturma konsantrasyonuna ilişkin veri bulunmamaktadır.

### Aflatoksin içeriği

Çeşitli tarımsal ürünlerde bulunan mikotoksinler, hasattan tüketime kadar bazı küf türleri tarafından çevresel koşullara bağlı olarak üretilen ikincil metabolitlerdir. Mikotoksinler arasında aflatoksinler en toksik, tehlikeli ve yaygın olanıdır (Atasoy ve ark., 2017). Park ve bahçe atığı olarak sulama suyu ve yağmura maruz kalan at kestanesi tohumlarında küflenme ve bozulma gibi sorunlar ortaya çıkabilmektedir. At kestanesinde üretilen nişastalar aflatoksin kontaminasyonu açısından kontrol edilmiştir. Her iki yöntemle üretilen nişastalarda ve at kestanelerinde B1, B2, G1 ve G2 tipi aflatoksinler tespit edilmemiştir (Çizelge 1). Nişasta örnekleri aflatoksin açısından güvenli bulunmuştur.

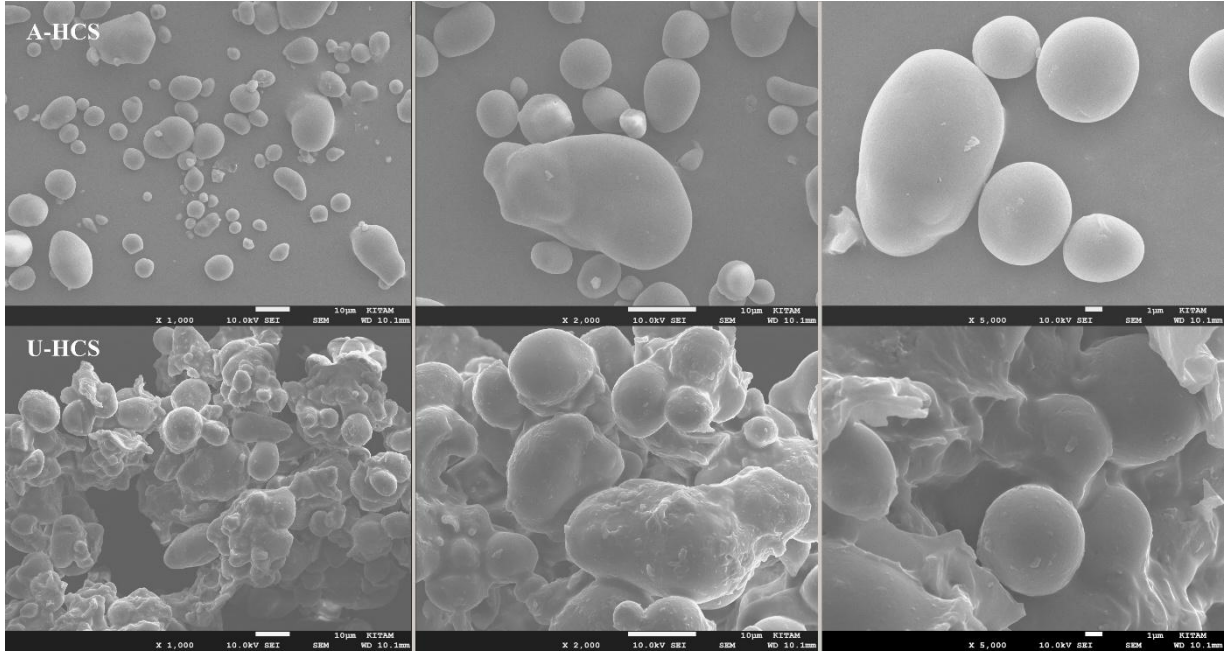
Çizelge 2. At kestanesi nişastalarının ışık geçirgenliği, donma-çözünme stabilitesi ve sineresis değerleri  
Table 2. Light transmittance, freeze-thaw stability and syneresis values of horse chestnut starches

Parametreler	A-HCS	U-HCS
Işık geçirgenliği (%)		
0h	37,31±6,80 <sup>a</sup>	25,33±1,34 <sup>b</sup>
24h	66,02±0,89 <sup>a</sup>	33,97±2,93 <sup>b</sup>
48h	68,90±1,26 <sup>a</sup>	38,48±1,33 <sup>b</sup>
72h	62,40±1,63 <sup>a</sup>	39,37±3,45 <sup>b</sup>
96h	55,95±22,45 <sup>a</sup>	38,47±1,26 <sup>b</sup>
120h	22,74 ± 4,11 <sup>a</sup>	13,63±8,54 <sup>b</sup>
Donma-çözünme stabilitesi (%)		
0. çözündürme 0 thaw	0,00±0,00 <sup>b</sup>	0,22±0,00 <sup>a</sup>
1. çözündürme 1 thaw	0,18±0,01 <sup>b</sup>	1,48±0,02 <sup>a</sup>
2. çözündürme 2 thaw	2,40±0,04 <sup>b</sup>	5,85±0,07 <sup>a</sup>
3. çözündürme 3 thaw	10,31±0,07 <sup>b</sup>	10,55±0,12 <sup>a</sup>
4. çözündürme 4 thaw	33,65±0,18 <sup>b</sup>	37,41±0,12 <sup>a</sup>
Sineresis (%)		
0h	76,6±0,8 <sup>a</sup>	72,7±1,3 <sup>b</sup>
24h	80,0±1,9 <sup>a</sup>	74,2±2,3 <sup>b</sup>
48h	82,7±1,2 <sup>a</sup>	73,5±1,8 <sup>b</sup>
72h	84,7±0,7 <sup>a</sup>	73,7±1,5 <sup>b</sup>
96h	85,0±1,4 <sup>a</sup>	72,4±1,8 <sup>b</sup>
120h	83,2±0,3 <sup>a</sup>	66,7±0,4 <sup>b</sup>

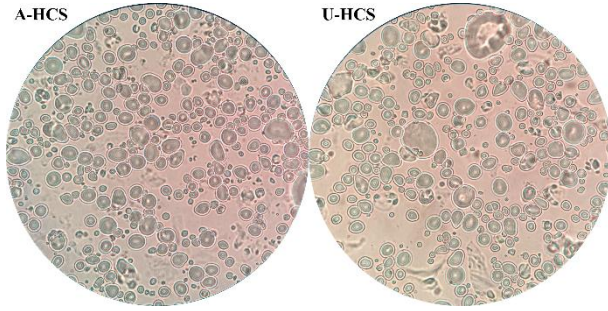
a, b, c, ... harfleri aynı satırdaki örneklerin P<0.05 düzeyinde istatistiksel farklılıklarını göstermektedir.

Çizelge 3. At kestanesi nişastalarının minimum jel oluşturma konsantrasyonları  
Table 3. Minimum gel forming concentration of horse chestnut starches

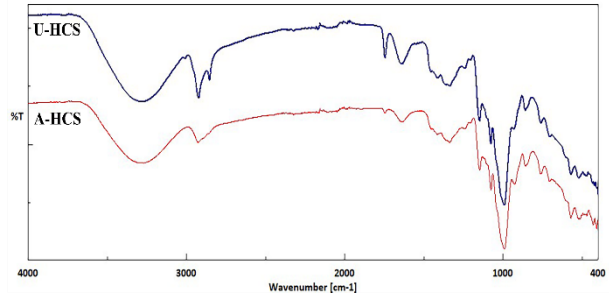
Konsantrasyon (%)	A-HCS			U-HCS		
	1	2	3	1	2	3
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-
5	-	-	+	-	-	-
6	+	+	+	-	-	-
7	+	+	+	-	-	-
8	+	+	+	-	-	-
9	+	+	+	-	-	-
10	+	+	+	-	-	-
11	+	+	+	-	-	-
12	+	+	+	+	+	+
13	+	+	+	+	+	+
14	+	+	+	+	+	+



Şekil 1. At kestanesi nişastalarının kırılma yüzeylerinin SEM mikrografları  
Figure 1. SEM micrographs of fracture surfaces of horse chestnut starches



Şekil 2. At kestanesi nişastalarının ışık mikroskopu görüntüleri  
Figure 2. Polarised light microscope images of horse chestnut starches



Şekil 3. At kestanesi nişastalarının IR spektrumları  
Figure 3. IR spectrum of horse chestnut starches

### Taramalı elektron mikroskopu (SEM)

Alkali ve ultrason destekli yöntemlerle üretilen nişastalardaki değişiklikleri ve nişasta moleküllerinin şekil ve gözeneklilik gibi morfolojik özelliklerini gözlemlemek için taramalı elektron mikroskopu (Şekil 1) ve ışık mikroskopu (Şekil 2) kullanılmıştır. Işık mikroskopu ile tespit edilen görüntüleri göre ultrason uygulamasının nişasta boyutunu küçülttüğü tespit edilmiştir. SEM görüntüleri dikkate alındığında oluşan nişasta moleküllerinin poligonal yapıda olduğu görülmüştür. Alkali ve ultrason destekli yöntemlerin kombinasyonu nişasta moleküllerinin hücre duvarlarını kırarak daha küçük ve küresel parçaların oluşmasına neden olmaktadır (Zhu ve ark., 2016). Ultrason işlemi nişasta moleküllerinin yüzeylerinde aşınmalara neden olmakta ve nişasta şekillerini değiştirmektedir. Mikrograflar, nişasta granüllerinin şekil ve boyut olarak düzensiz olduğunu ve tek tip bir desene sahip olmadığını göstermektedir. Ayrıca, ultrason işlemi küçük kaviteasyonlar nedeniyle nişasta granüllerinin amorf katmanlarını bozmaktadır. Bozulan amorf katmanlar nişastanın jel yapısının içinde görüntülenmesine neden olmaktadır. SEM sonuçları Ahmad ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışma ile benzerlik göstermektedir.

### FT-IR analizi

FT-IR spektroskopisi, nişasta granülleri içindeki yarı kristal ve amorf alanlarda meydana gelen değişiklikleri karakterize ederek nişastanın kristalliliğini belirlemek için de kullanılmaktadır (Ahmad ve ark., 2020). Alkali ve ultrason destekli yöntemlerle üretilen nişastaların IR spektrumlarında 4000 ve 400  $\text{cm}^{-1}$  arasında meydana gelen değişimler Şekil 3'te gösterilmektedir. A-HCS ve U-HCS IR spektrumları 3271  $\text{cm}^{-1}$ 'de -OH bozunmasına atfedilen güçlü absorpsiyon bantları göstermektedir (Ahmad ve ark., 2017). IR spektrumlarının genişliği, moleküller arası ve molekül içi hidrojen oluşumunun derecesini göstermektedir. Alkalizasyon ve ultrason işlemleri -OH gruplarının serbest kalmasına yol açtığı bildirilmektedir (Chun ve ark., 2015). Rodriguez-Garcia ve ark. (2021) nişastanın ortorombik ve hegzagonal kristal yapılarına sahip, nanokristallerden oluştuğunu göstermiştir. Ortorombik kristal yapı kristal kafes yapılarından biridir. Bu sistemde a, b ve c eksenleri farklı boylarda, bunlar arasındaki açılar da 90°'e eşittir (Cabrera-Ramirez ve ark., 2021). Nişasta moleküllerindeki O-H germe bantları A-HCS'de daha yüksek bir dalga boyuna kaymıştır. Diğer karakteristik bantlar susuz glikoz halkasındaki C-O bağı, C-O-H ve C-O-C grupları ile ilişkili 1148, 1077 ve 992  $\text{cm}^{-1}$  dalga



boylarında ve  $-CH_2$  grubu ile ilişkili 2923 ve 2926  $cm^{-1}$  dalga sayısındaki bantlarda gözlenmiştir. 1739  $cm^{-1}$ 'deki bant esterleşmiş nişastadaki ester bağı ile ilişkilidir ve bu bant U-HCS'de azalmaktadır. 1643  $cm^{-1}$ 'deki karakteristik bant, nişastadaki bağılı sudan kaynaklanmaktadır ve nişasta boyutunun küçültülmesinden sonra bant yoğunluğunda önemli bir değişiklik göstermemektedir (Ahmad ve ark., 2020). Alkali yöntemle üretilen nişastalarda 1148 ile 992  $cm^{-1}$  arasındaki ve ultrason destekli yöntemle üretilen nişastalarda 1337 ile 993  $cm^{-1}$  arasındaki bantların yoğunluğu, nişastanın parçalanması ve kristalinitenin azalması nedeniyle azalmıştır. U-HCS'de parçalanma seviyesi daha yüksek rapor edilmiştir (Van Soest ve ark., 1995). Özellikle, nişastadaki C-O bağı ile ilişkili 1019  $cm^{-1}$ 'deki C-O-C bandı spektrumlarında gözlenmemiştir (Jiugao ve ark., 2005). 859  $cm^{-1}$ 'deki karakteristik bantlar örneklerdeki  $\beta$ -glikozidik bağların varlığına işaret etmektedir. Nişasta molekülünün yapısındaki şeker fraksiyonlarının bağlarındaki titreşimler, 480-950  $cm^{-1}$  aralığındaki bantların yoğunluğundaki değişikliklerle tespit edilmektedir (Wójcik ve ark., 2023).

### Termogravimetrik analiz (TGA)

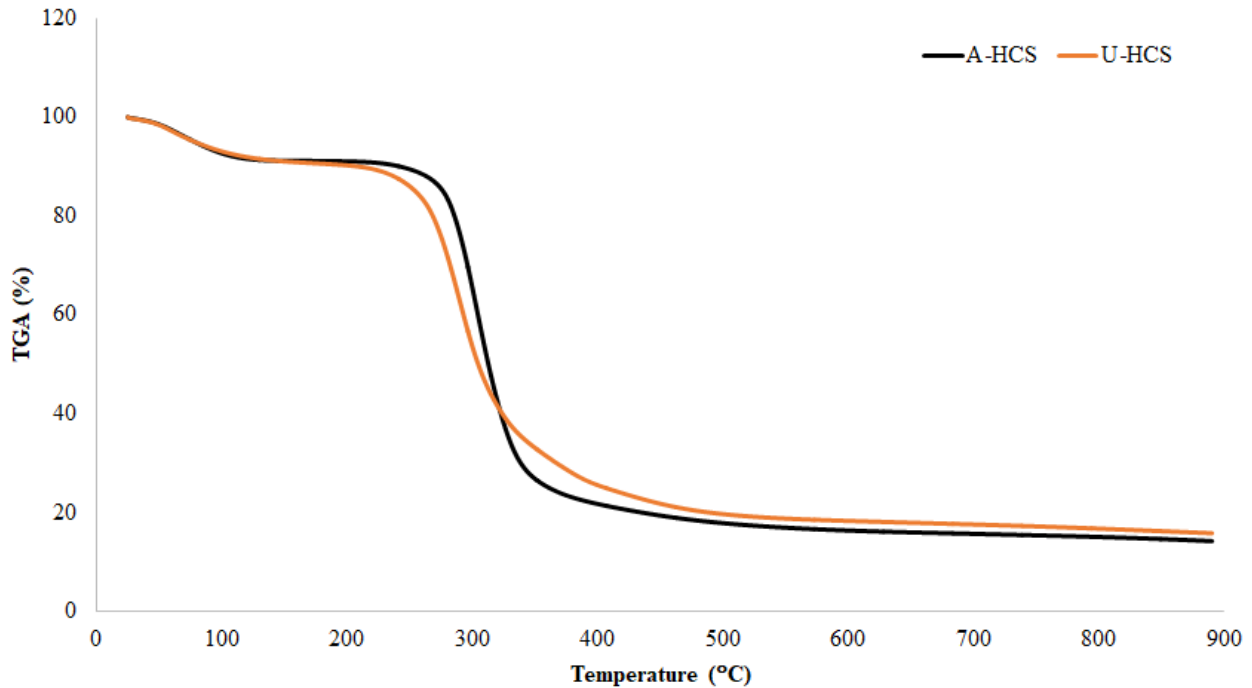
At kestanesi nişastası örneklerinin termogravimetrik analiz (TGA) eğrileri Şekil 4'te termogravimetresi ise Çizelge 4'de gösterilmektedir. Dehidrasyon aşaması olarak bilinen ilk aşama (25-132°C) da her iki nişasta da stabilite göstermiştir. İkinci aşamada, A-HCS nişastaları 243-343°C'de hızlı ağırlık kaybı gösterirken, U-HCS nişastaları 221-326°C'de hızlı ağırlık kaybı göstermiştir. Bu aşamadaki kayıplar organik maddenin (amiloz ve amilopektin) bozunmasına karşılık gelmektedir (Boukhelkhal & Moulai-Mostefa, 2017). Ağırlık kaybının üçüncü aşaması A-HCS için 343°C'yi U-HCS içinse 326°C'yi aşan sıcaklıklarda nihai kalıntıların (kül) oluşumu gerçekleşmektedir. Bu sonuçlar homopolisakkaritin özelliklerini ortaya koymaktadır. 900°C işleminin sonunda, A-HCS'nin toplam kütlelerinin %85,82'si ve U-HCS'nin %84,23'ü kaybolduğu belirlenmiştir. Kütlelerin %50'sinin kaybolduğu sıcaklık (%T50) değeri A-HCS ve U-HCS için sırasıyla 302-312°C ve 303-304°C aralığında tespit edilmiştir. Ultrason uygulaması örneklerin T50 değerinde azalmaya neden olmaktadır.

Çizelge 4. Termogravimetrik (TGA) analiz sonuçları

Table 4. Thermogravimetric (TGA) analysis results

Örnek	Aşama	$\Delta m$ (%)	$\Delta T$ (°C)
A-HCS	1st	8,49±0,12	25-132
	Stabilite	-	132-243
	2nd	67,42±0,16	243-343
	3rd	24,01±0,08	350-900
	T50%		302-312
U-HCS	1st	8,47±0,03	25-132
	Stabilite	-	132-221
	2nd	65,50±0,21	221-326
	3rd	25,80±0,16	350-900
	T50%		303-304

$\Delta m$ : kütle kaybı (%),  $\Delta T$ : sıcaklık aralığı (°C), T50%: Kütlelerin %50'sinin kaybolduğu sıcaklık



Şekil 4. At kestanesi nişastalarının TGA kurveleri  
Figure 4. TGA curves of horse chestnut starches

## Sonuç

Bu çalışma, at kestanesi tohumlarından katma değeri yüksek bir bileşen olan nişastanın iki farklı yöntemle üretimini ve üretilen nişastaların morfolojik, termal ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesini kapsamaktadır. Nişasta üretimi için alkali ve ultrason destekli olmak üzere iki farklı yöntem kullanılmıştır. Ultrason destekli yöntem, nişastaların su ve yağ tutma kapasitesini artırmakta, şişme gücünü yükseltmekte ve sineresisi azaltmaktadır. Alkali ekstraksiyona kıyasla ultrason destekli ekstraksiyonda nişastaların donma-çözülme stabilitesinde daha fazla su kaybettiği ve nişastaların minimum jel oluşturma konsantrasyonunun arttığı tespit edilmiştir. Ultrasonik yöntem nişastanın  $\lambda_{max}$  değerini 523,0 nm'den 583 nm'ye yükseltmiş ve spesifik dönme açısını 59,90'dan 21,75'e düşürmüştür. Termogravimetrik veriler kütlenin %50'sinin 303-304°C aralığında kaybolduğunu göstermiştir. Ultrasonikasyon, ortorombik kristal yapıya sahip nişastaların yapısında kısmi bir değişikliğe neden olmuştur. Bu çalışma, alternatif nişasta kaynaklarına ilişkin kapsamlı bir karşılaştırmalı çalışmadır. Bu çalışmadan elde edilen bilgilerin araştırmacılara yol gösterebileceğine inanılmaktadır. Üretilen nişastaların endüstriyel uygulama potansiyeli için glutensiz kek üretiminde, jelleşme istenen pudding, muhallebi gibi ürünlerde uygulanabilirliği araştırılabilir. Ayrıca atık bir hammaddeden katma değeri yüksek ürün üretilerek ülke ekonomisine katkıda bulunulacaktır.

## Beyanlar

### Etik Onay Belgesi

Bu çalışmada etik onay belgesine ihtiyaç bulunmamaktadır.

### Yazar Katkı Beyanı

Ali Cingöz; projenin tasarlanması, metodoloji, bulguların değerlendirilmesi ve makale yazımını gerçekleştirmiştir. Zeynep İnatçı; Metodoloji, bulguların değerlendirilmesi ve makalenin düzenlenmesine katkıda bulunmuştur.

### Fon Beyanı

Bu çalışma "Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü" tarafından 2022/27 nolu yüksek lisans tez proje ile desteklenmiştir.

### Çıkar Çatışması

Yazarlar bu araştırma makalesinde herhangi bir kişi ve/veya kurum ile çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

## Kaynaklar

Ahmad, M., Ashraf, B. Gani, A. & Gani, A. (2017). Microencapsulation of saffron anthocyanins using  $\beta$  glucan and  $\beta$  cyclodextrin: Nutraceutical, morphological, structural and the release behavior of capsules during in-vitro digestion. *Int. J. Biol. Macromol.*, 109, 435-442. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.122>

Ahmad, M., Gani, A., Hassan, I., Huang, Q. & Shabbir, H. (2020). Production and characterization of starch nanoparticles by mild alkali hydrolysis and ultra-sonication process. *Scientific Reports*, 10, 3533. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60380-0>

Akbaş, H. (2020). Spectroscopic, crystallographic and thermal characterizations of monospiro (N/N) cyclotriphosphazenes with 9-ethyl-3-carbazolyl pendant arm. *Journal of Molecular Structure*, 1200, 127079. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127079>

Amiri, S., Shakeri, A., Sohrabi, M., Khalajzadeh, R. & Ghasemi, S. E. (2019). Optimization of ultrasonic assisted extraction of fatty acids from *Aesculus hippocastanum* fruit by response surface methodology. *Food Chemistry*, 271, 762-766. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.144>

Atasoy, A. F., Hayoğlu, İ., Korkmaz, A., Esra, K. & Yıldırım, A. A. (2017). study on the determination of aflatoxin content of traditional home isot spice. *Harran Journal of Agriculture and Food Sciences*, 21(1), 35-40. <https://doi.org/10.29050/harranziraat.303132>

Boukhelkhal, M. & Moulai-Mostefa, N. (2017). Physicochemical characterization of starch isolated from soft acorns of holm oak (*Quercus ilex* subsp. *ballota* (Desf.) Samp.) grown in Algeria. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11, 1995-2005. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9582-6>

Cabrera-Ramírez, A. H., Cervantes-Ramírez, E., Morales-Sánchez, E., Rodríguez-García, M. E., Reyes-Vega, M. D. L. L., & Gaytán-Martínez, M. (2021). Effect of extrusion on the crystalline structure of starch during RS5 formation. *Polysaccharides*, 2(1), 187-201. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides2010013>

Castaño, J., Rodríguez-Lamazares, S., Contreras, K., Carrasco, C., Pozo, C., Bouza, C. & Giraldo, D. (2014). Horse chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.) starch: basic physico-chemical characteristics and use as thermoplastic material. *Carbohydrate Polymers*, 112, 677-685. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.06.046>

Chun, A., Lee, H. J., Hamaker, B. R. & Janaswamy, S. (2015). Effects of ripening temperature on starch structure and gelatinization, pasting, and cooking properties in rice (*Oryza sativa*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(12), 3085-3093. <https://doi.org/10.1021/jf504870p>

Coffmann, C. W. & Garciaj, V. V. (1977). Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour. *International Journal of Food Science & Technology*, 12(5), 473-484. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb00132.x>

Correia, P. R. & Beirão-da-Costa, M. L. (2012). Starch isolation from chestnut and acorn flours through alkaline and enzymatic methods. *Food and Bioproducts Processing*, 90(2), 309-316. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.06.005>

Çiçek Özkan, B., & Güner, M. (2022). Isolation, characterization, and comparison of nanocrystalline cellulose from solid wastes of horse chestnut and chestnut seed shell. *Cellulose*, 29(12), 6629-6644. <https://doi.org/10.1007/s10570-022-04682-8>

Dudek-Makuch, M. & Matławska, I. (2011). Flavonoids from the flowers of *Aesculus hippocastanum*. *Acta Pol. Pharm*, 68(3), 403-408.

Gullón, P., Gullón, B., Muñiz-Mouro, A., Lú-Chau, T. A. & Eibes, G. (2020). Valorization of horse chestnut burs to produce simultaneously valuable compounds under a green integrated biorefinery approach. *Science of the Total Environment*, 730, 139143. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139143>

Hoover, R. & Ratnayake, W. S. (2002). Starch characteristics of black bean, chick pea, lentil, navy bean and pinto bean cultivars grown in Canada. *Food chemistry*, 78(4), 489-498. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(02\)00163-2](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(02)00163-2)

Hossain, M. S., Kabir, M. R., Reybroeck, W. & Alam, M. Z. (2015). Study on the quality of honey collected from three floral sources of Bangladesh. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 302.



- Janarthanan, U. K., Varadharajan, V. & Krishnamurthy, V. (2012). Physicochemical evaluation, Phytochemical screening and chromatographic fingerprint profile of *Aegle marmelos* (L.) leaf extracts. *World journal of pharmaceutical research*, 1(3), 813-837.
- Jiugao, Y., Ning, W. & Xiaofei, M. (2005). The effects of citric acid on the properties of thermoplastic starch plasticized by glycerol. *Starch-Stärke*, 57(10), 494-504. <https://doi.org/10.1002/star.200500423>
- Kong, L., Lee, C. Kim, S. H. & Ziegler, G. R. (2014). Characterization of starch polymorphic structures using vibrational sum frequency generation spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry B*, 118(7), 1775-1783. <https://doi.org/10.1021/jp411130n>
- Lemos, A. M., Abraao, A. S., Cruz, B. R., Morgado, M. L., Rebelo, M. & Nunes, F. M. (2015). Effect of granular characteristics on the viscoelastic and mechanical properties of native chestnut starch (*Castanea sativa* Mill). *Food Hydrocolloids*, 51, 305-317. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.05.021>
- Lu, Z. H., Donner, E., Yada, R. Y. & Liu, Q. (2012). Impact of  $\gamma$ -irradiation, CIPC treatment, and storage conditions on physicochemical and nutritional properties of potato starches. *Food Chemistry*, 133(4), 1188-1195. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.028>
- Nwokocha, L.M. & Williams, P.A. (2011). Comparative study of physicochemical properties of breadfruit (*Artocarpus altilis*) and white yam starches. *Carbohydrate polymers*, 85(2), 294-302. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.01.050>
- Owczarek-Januszkiewicz, A., Kicel, A. & Olszewska, M. A. (2023). *Aesculus hippocastanum* in the pharmaceutical industry and beyond-Phytochemistry, bioactivity, present application, and future perspectives. *Industrial Crops and Products*, 193, 116187. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.116187>
- Perera, C. & Hoover, R. (1999). Influence of hydroxylpropylation on retrogradation properties of native, defatted and heat-moisture treated potato starches. *Food Chemistry*, 64(3), 361-375. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(98\)00130-7](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(98)00130-7)
- Pietri, A., Rastelli, S., Mulazzi, A. & Bertuzzi, T. (2012). Aflatoxins and ochratoxin A in dried chestnuts and chestnut flour produced in Italy. *Food Control*, 25(2), 601-606. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.11.042>
- Polavarapu, P.L. (2002). Optical rotation: recent advances in determining the absolute configuration. *Chirality*, 14(10), 768-781. <https://doi.org/10.1002/chir.10145>
- Rafiq, S. I., Jan, K., Singh, S. & Saxena, D. C. (2015). Physicochemical, pasting, rheological, thermal and morphological properties of horse chestnut starch. *J. Food Sci. Technol.*, 52(9), 5651-5660. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1692-0>
- Rafiq, S. I., Singh, S. & Saxena, D. C. (2016). Effect of heat-moisture and acid treatment on physicochemical, pasting, thermal and morphological properties of Horse Chestnut (*Aesculus indica*) starch. *Food Hydrocolloids*, 57, 103-113. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.01.009>
- Rodriguez-Garcia, M. E., Hernandez-Landaverde, M. A., Delgado, J. M., Ramirez-Gutierrez, C. F., Ramirez-Cardona, M., Millan-Malo, B. M. & Londoño-Restrepo, S. M. (2021). Crystalline structures of the main components of starch. *Current Opinion in Food Science*, 37, 107-111. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.10.002>
- Shah, U., Gani, A., Ashwar, B. A., Shah, A., Wani, I. A. & Masoodi, F. A. (2016). Effect of infrared and microwave radiations on properties of Indian Horse Chestnut starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, 84, 166-173. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.12.020>
- Singh, J., McCarthy, O. J. & Singh, H. (2006). Physico-chemical and morphological characteristics of New Zealand Taewa (Maori potato) starches. *Carbohydrate Polymers*, 64(4), 569-581. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.11.013>
- Singh, G. D., Sharma, R., Bawa, A. S. & Saxena, D. C. (2008). Drying and rehydration characteristics of water chestnut (*Trapa natans*) as a function of drying air temperature. *Journal of food engineering*, 87(2), 213-221. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.11.027>
- Stawski, D. (2008). New determination method of amylose content in potato starch. *Food Chemistry*, 110(3), 777-781. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.009>
- Stevenson, D.G., Doorenbos, R.K., Jane, J.L. & Inglett, G.E. (2006). Structures and functional properties of starch from seeds of three soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) varieties. *Starch-Stärke*, 58(10), 509-519. <https://doi.org/10.1002/star.200600534>
- Takeda, C., Takeda, Y. & Hizukuri, S. (1983). Physicochemical properties of lily starch. *Cereal Chem.*, 60(3), 212-216.
- Van Soest, J. J., Tournois, H., de Wit, D. & Vliegthart, J. F. (1995). Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy. *Carbohydrate research*, 279, 201-214. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(95\)00270-7](https://doi.org/10.1016/0008-6215(95)00270-7)
- Vishal Banyal, S., Shukla, A. K., Kumari, A., Kumar, A., Khatak, A. & Kumar, M. (2023). Effect of modification on quality parameters of jackfruit (*artocarpus heterophyllus*) seed starch to valorize its food potential and in-silico investigation of the pharmacological compound against salmonellosis. *Waste and Biomass Valorization*, 14, 1597-1610. <https://doi.org/10.1007/s12649-022-01945-0>
- Wani, I. A., Sogi, D. S., Wani, A. A., Gill, B. S. & Shivhare, U. S. (2010). Physico-chemical properties of starches from Indian kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars. *International journal of food science & technology*, 45(10), 2176-2185. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02379.x>
- Wani, I. A., Sogi, D. S. & Gill, B. S. (2012). Physicochemical properties of acetylated starches from some Indian kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(9), 1993-1999. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03062.x>
- Wani, I. A., Sogi, D. S. & Gill, B. S. (2013). Physicochemical and functional properties of flours from three Black gram (*Phaseolus mungo* L.) cultivars. *International journal of food science & technology*, 48(4), 771-777. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12025>
- Wani, I. A., Jabeen, M., Geelani, H., Masoodi, F. A., Saba, I. & Muzaffar, S. (2014). Effect of gamma irradiation on physicochemical properties of Indian Horse Chestnut (*Aesculus indica* Colebr.) starch. *Food hydrocolloids*, 35, 253-263. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.002>
- Wendlandt, W.W. (1986). The development of thermal analysis instrumentation *Thermochimica acta*, 100(1), 1955-1985.
- Wójcik, M., Dżiki, D., Matwijczuk, A. & Gawlik-Dżiki, U. (2023) Walnut flour as an ingredient for producing low-carbohydrate bread: physicochemical, sensory, and spectroscopic characteristics. *Foods*, 12(17), 3320. <https://doi.org/10.3390/foods12173320>
- Yu, S., Ma, Y., Menager, L. & Sun, D. W. (2012). Physicochemical properties of starch and flour from different rice cultivars. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 626-637. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0330-8>
- Zhu, X. Cheng, Y. Chen, P. Peng, P. Liu, S. Li, D. & Ruan, R. (2016). Effect of alkaline and high-pressure homogenization on the extraction of phenolic acids from potato peels, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 37(A), 91-97. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.08.006>