

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**  
**DOKTORA PROGRAMI**

**ANTEP FISTIĞI DIŞ KABUĞU VE KESTANE KABUĞUNDAN**  
**YENİLİKÇİ YÖNTEMLERLE ÜRETİLEN**  
**NANOSELÜLOZUN FARKLI TEKNOLOJİLERLE**  
**DONDURULMUŞ EKMEK HAMURUNDA**  
**KRİYOPROTEKTAN OLARAK KULLANIM**  
**POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI**

**AHMET GÖRGÜÇ**  
**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Fatih Mehmet YILMAZ**

Bu tez Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 120O772 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN – 2023**

## KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Doktora Programı öğrencisi Ahmet GÖRGÜÇ tarafından hazırlanan “ANTEP FISTIĞI DIŞ KABUĞU VE KESTANE KABUĞUNDAN YENİLİKÇİ YÖNTEMLERLE ÜRETİLEN NANOSELÜLOZUN FARKLI TEKNOLOJİLERLE DONDURULMUŞ EKMEK HAMURUNDA KRİYOPROTEKTAN OLARAK KULLANIM POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 09/06/2023

|            |                                |                     |       |
|------------|--------------------------------|---------------------|-------|
| Üye (T.D.) | : Doç. Dr. Fatih Mehmet YILMAZ | ADÜ                 | ..... |
| Üye        | : Doç. Dr. Aslı YORULMAZ       | ADÜ                 | ..... |
| Üye        | : Prof. Dr. Mehmet KARAASLAN   | Harran Üniversitesi | ..... |
| Üye        | : Prof. Dr. Murat UYGUN        | ADÜ                 | ..... |
| Üye        | : Doç. Dr. Seda ERSUS          | Ege Üniversitesi    | ..... |

### ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca uygun görülmüş ve Fen Bilimleri Enstitüsünün ..... tarih ve ..... sayılı oturumunda alınan ..... numaralı Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa SÜRMEN  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimimin başlangıcından itibaren her konuda destek olan ve akademik çalışma disiplinini öğreten, benim için hem hoca hem abi hem de arkadaş olan ve bugünlere gelmemde üzerimde büyük emeği bulunan Saygıdeğer danışman Hocam Doç. Dr. Fatih Mehmet YILMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim süresince değerli yorum ve yönlendirmeleriyle tez çalışmasının gelişimine katkıda bulunan, tez izleme komitesi üyeleri Saygıdeğer Hocalarım Doç. Dr. Aslı YORULMAZ'a ve Prof. Dr. Mehmet KARAASLAN'a gönülden teşekkür ederim.

Tezin değerlendirilmesi aşamasında değerli zamanlarını ayıran ve katkılar sunan, tez savunma sınavı jüri üyeleri Saygıdeğer Hocalarım Prof. Dr. Murat UYGUN'a ve Doç. Dr. Seda ERSUS'a gönülden teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimimin başlangıcından itibaren her konuda desteklerini esirgemeyen ve tez çalışmasının tamamlanmasında büyük katkıları olan, dostlukları ile tüm zorlu süreçleri birlikte atlattığımız değerli çalışma arkadaşlarıma; Gıda Yük. Müh. Esra GENÇDAĞ'a, Gıda Müh. Kardelen DEMİRCİ'ye ve Gıda Müh. Beyzanur BAYRAKTAR'a teşekkür ederim.

Tez çalışması için maddi destek sağlayan TÜBİTAK Araştırma Destek Programları Başkanlığına (Proje no: 120O772) ve proje ile tez çalışmasının tamamlanmasındaki değerli katkılarından dolayı proje ekip üyeleri Dr. Öğr. Üyesi Aslı ZUNGUR BASTIOĞLU'na ve Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesinden Dr. Öğr. Üyesi Selim YILMAZ'a teşekkür ederim.

Tez çalışması boyunca farklı aşamalarındaki yardımlarından dolayı Harran Üniversitesinden Dr. Öğr. Üyesi Bülent BAŞYİĞİT'e ve Rekos Endüstriyel ve Ticari Soğutma Sistemleri San. ve Tic. Ltd. Şti.'den Sn. Ferhat SÖKER'e teşekkür ederim.

Son olarak, ömür boyu maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve her daim yanımda olan sevgili aileme; annem Selma GÖRGÜÇ'e, babam Mehmet Kadri GÖRGÜÇ'e, kardeşim Leyla GÖRGÜÇ'e ve yetişmemde büyük katkıları olan dedem Temir YÜKSEL'e ve anneannem Leyla YÜKSEL'e teşekkürü borç bilirim.

Ahmet GÖRGÜÇ

# İÇİNDEKİLER

|                                                                         |     |
|-------------------------------------------------------------------------|-----|
| KABUL VE ONAY .....                                                     | i   |
| TEŞEKKÜR .....                                                          | ii  |
| İÇİNDEKİLER .....                                                       | iii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....                                    | ix  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                   | x   |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                 | xii |
| ÖZET .....                                                              | xiv |
| ABSTRACT .....                                                          | xvi |
| 1. GİRİŞ .....                                                          | 1   |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ .....                                                | 5   |
| 2.1. Lignoselülozik Materyaller .....                                   | 5   |
| 2.1.1. Selüloz, Hemiselüloz ve Lignin .....                             | 6   |
| 2.1.2. Lignoselülozik Materyallere Uygulanan Ön İşlemler .....          | 7   |
| 2.2. Nanoselüloz .....                                                  | 7   |
| 2.2.1. Nanoselüloz Çeşitleri .....                                      | 8   |
| 2.2.2. Nanoselüloz Üretiminde Mekanik Yöntemlerin Kullanımı .....       | 9   |
| 2.2.3. Nanoselüloz Üretiminde Kimyasal Yöntemlerin Kullanımı .....      | 9   |
| 2.3. Nanoselüloz Ekstraksiyonunda Yenilikçi Yöntemlerin Kullanımı ..... | 10  |
| 2.4. Ekstraksiyon İşlemlerinde Optimizasyon Uygulamaları .....          | 13  |
| 2.5. Kriyoprotektanlar .....                                            | 14  |
| 2.5.1. Kriyoprotektan Türleri .....                                     | 15  |
| 2.5.2. Kriyoprotektanların Gıdalarda Kullanım Alanları .....            | 16  |
| 2.6. Dondurma İşlemi .....                                              | 17  |
| 2.7. Dondurarak Muhafaza Teknikleri .....                               | 20  |
| 2.7.1. Statik Dondurma .....                                            | 21  |
| 2.7.2. Hava Akımlı Dondurma .....                                       | 21  |
| 2.7.3. Bireysel Hızlı Dondurma (IQF) .....                              | 22  |

|                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.8. Dondurulmuş Gıdalar .....                                                         | 23 |
| 2.9. Dondurulmuş Gıdaların Depolanması Esnasında Meydana Gelen Kalite Değişimleri .... | 25 |
| 2.9.1. Fiziksel Değişimler .....                                                       | 25 |
| 2.9.2. Kimyasal ve Biyokimyasal Değişimler .....                                       | 26 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM .....                                                            | 28 |
| 3.1. Nanoselüloz Üretimi .....                                                         | 28 |
| 3.1.1. Nanoselüloz Üretimi için Hammaddelerin Temini .....                             | 28 |
| 3.1.2. Kriyoprotektan Üretimi için Hammaddelere Uygulanan İşlemler .....               | 29 |
| 3.1.3.1. Mikroselüloz Üretimi .....                                                    | 30 |
| 3.1.3.2. Nanoselüloz Ekstraksiyonu .....                                               | 31 |
| 3.2. Fermente Ekmek Hamurunun Hazırlanması ve Uygulanan İşlemler .....                 | 34 |
| 3.2.1. Fermente Ekmek Hamurunun Hazırlanması .....                                     | 34 |
| 3.2.2. Fermente Ekmek Hamuruna Nanoselüloz Ekleme İşlemleri .....                      | 34 |
| 3.2.3. Fermente Ekmek Hamuruna Uygulanan Dondurma İşlemleri .....                      | 35 |
| 3.2.3.1. Statik Dondurma .....                                                         | 35 |
| 3.2.3.2. Hava Akımlı Dondurma .....                                                    | 35 |
| 3.2.3.3. Bireysel Hızlı Dondurma (IQF) .....                                           | 35 |
| 3.3. Uygulanan Analizler .....                                                         | 36 |
| 3.3.1. Toplam Kuru Madde Miktarı .....                                                 | 36 |
| 3.3.2. Su Aktivitesi Değeri .....                                                      | 36 |
| 3.3.3. Toplam Mineral Madde Miktarı .....                                              | 36 |
| 3.3.4. pH Değeri .....                                                                 | 36 |
| 3.3.5. Renk Farkı Değeri .....                                                         | 37 |
| 3.3.6. Donma Süresi .....                                                              | 37 |
| 3.3.7. Termal Özellikler .....                                                         | 37 |
| 3.3.8. $\alpha$ -amilaz Aktivitesi .....                                               | 37 |
| 3.3.9. İyon Sızıntısı Değeri .....                                                     | 38 |

|                                                                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.3.10. Zeta Potansiyeli .....                                                                                                                                                                      | 39 |
| 3.3.11. Damlama Kaybı.....                                                                                                                                                                          | 39 |
| 3.3.12. Viskozite ve Reolojik Özellikler .....                                                                                                                                                      | 39 |
| 3.3.13. Tekstür Özellikleri.....                                                                                                                                                                    | 39 |
| 3.3.14. Toz Ürün Analizleri.....                                                                                                                                                                    | 40 |
| 3.3.14.1. Su Tutma Kapasitesi .....                                                                                                                                                                 | 40 |
| 3.3.14.2. Yağ Bağlama Kapasitesi .....                                                                                                                                                              | 40 |
| 3.3.14.3. Emülsiyon Aktivitesi .....                                                                                                                                                                | 40 |
| 3.3.14.4. Yığın ve Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluğu .....                                                                                                                                              | 40 |
| 3.3.14.5. Akabilirlik .....                                                                                                                                                                         | 41 |
| 3.3.14.6. Partikül Yoğunluğu .....                                                                                                                                                                  | 41 |
| 3.3.14.7. Islanabilirlik .....                                                                                                                                                                      | 41 |
| 3.3.14.8. Dağılabilirlik .....                                                                                                                                                                      | 41 |
| 3.3.14.9. Çözünürlük.....                                                                                                                                                                           | 42 |
| 3.3.15. Spesifik Ekmek Hacmi .....                                                                                                                                                                  | 42 |
| 3.3.16. Ekmek Değer Sayısı .....                                                                                                                                                                    | 42 |
| 3.3.17. Kristallik Derecesi.....                                                                                                                                                                    | 43 |
| 3.3.18. Fourier Dönüştürümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) .....                                                                                                                                 | 44 |
| 3.3.19. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM) .....                                                                                                                                                      | 44 |
| 3.3.20. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM).....                                                                                                                                                   | 44 |
| 3.4. İstatistik Analizler .....                                                                                                                                                                     | 44 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....                                                                                                                                                                        | 46 |
| 4.1. Kriyoprotektan Ajanlar için Konvansiyonel, Mikrodalga Destekli, Hidrotropik Solvent ve Derin Ötektik Solvent Ekstraksiyon İşlemlerinin Etkilerinin Belirlenmesi ve Optimizasyon İşlemleri..... | 46 |
| 4.1.1. Ekstraksiyon İşlemlerinin Antep Fıstığı Dış Kabuğu Nanoselüloz Verimi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi .....                                                                                 | 46 |

|                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1.1.1. Antep Fıstığı Dış Kabuğu Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlemlerine Ait Deneme Planları .....                                            | 46 |
| 4.1.1.2. Antep Fıstığı Dış Kabuğu Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlemlerine Ait Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM) ile Elde Edilen Model Katsayıları..... | 51 |
| 4.1.1.3. Antep Fıstığı Dış Kabuğu Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlemlerine Ait Genetik Algoritma (GA) ile Elde Edilen Model Katsayıları.....    | 52 |
| 4.1.1.4. Antep Fıstığı Dış Kabuğundan Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlem Koşullarının Optimizasyonu.....                                        | 54 |
| 4.1.2. Ekstraksiyon İşlemlerinin Kestane Kabuğu Nanoselüloz Verimi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi.....                                    | 55 |
| 4.1.2.1. Kestane Kabuğu Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlemlerine Ait Deneme Planları .....                                                      | 55 |
| 4.1.2.2. Kestane Kabuğu Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlemlerine Ait Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM) ile Elde Edilen Model Katsayıları .....          | 60 |
| 4.1.2.3. Kestane Kabuğu Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlemlerine Ait Genetik Algoritma (GA) ile Elde Edilen Model Katsayıları.....              | 61 |
| 4.1.2.4. Kestane Kabuğundan Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlem Koşullarının Optimizasyonu                                                       | 64 |
| 4.2. Nanoselülozlara ait Ürün Karakterizasyonu .....                                                                                        | 65 |
| 4.2.1. Farklı Ekstraksiyon Tekniklerinin Nanoselüloz Toz Ürün Özellikleri Üzerine Etkileri                                                  | 68 |
| 4.2.1.1. Zeta Potansiyeli .....                                                                                                             | 68 |
| 4.2.1.2. Reolojik Özellikler .....                                                                                                          | 70 |
| 4.2.1.3. Kristallik Derecesi.....                                                                                                           | 71 |
| 4.2.1.4. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi .....                                                                           | 72 |
| 4.2.1.5. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM) .....                                                                                             | 75 |
| 4.2.1.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM).....                                                                                            | 79 |
| 4.2.2. Optimum Yöntem ve İşlem Koşullarında Üretilen Nanoselülozların Karakterizasyonu .....                                                | 80 |
| 4.2.2.1. Toplam Kuru Madde Miktarı.....                                                                                                     | 81 |
| 4.2.2.2. Su Aktivitesi.....                                                                                                                 | 82 |
| 4.2.2.3. Toplam Mineral Madde Miktarı.....                                                                                                  | 82 |

|                                                                                                                               |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.2.2.4. pH Değeri.....                                                                                                       | 83  |
| 4.2.2.5. Renk Özellikleri .....                                                                                               | 83  |
| 4.2.2.6. Termal Özellikler .....                                                                                              | 84  |
| 4.2.2.6.1. Camsı Geçiş Sıcaklığı.....                                                                                         | 84  |
| 4.2.2.6.2. Kristalizasyon Entalpisi .....                                                                                     | 85  |
| 4.2.2.6.3. Erime Sıcaklığı.....                                                                                               | 85  |
| 4.2.2.6.4. Isı Kapasitesi .....                                                                                               | 85  |
| 4.2.2.7. Toz Ürün Özellikleri.....                                                                                            | 85  |
| 4.2.2.7.1. Su Tutma Kapasitesi.....                                                                                           | 85  |
| 4.2.2.7.2. Yağ Bağlama Kapasitesi.....                                                                                        | 86  |
| 4.2.2.7.3. Emülsiyon Aktivitesi .....                                                                                         | 86  |
| 4.2.2.7.5. Yığın ve Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluğu.....                                                                        | 87  |
| 4.2.2.7.6. Akabilirlik .....                                                                                                  | 87  |
| 4.2.2.7.7. Partikül Yoğunluğu .....                                                                                           | 88  |
| 4.2.2.7.8. Islanabilirlik .....                                                                                               | 88  |
| 4.2.2.7.9. Dağılabilirlik .....                                                                                               | 89  |
| 4.3. Fermente Ekmek Hamuruna ait Donma Süreleri ve Dondurucu Sistem Enerji Tüketimi Değerleri.....                            | 89  |
| 4.4. Kriyoprotektan Türü, Dondurma Yöntemi ve Depolama Süresinin Fermente Ekmek Hamurunun Kalite Özelliklerine Etkileri ..... | 90  |
| 4.4.1. Toplam Kuru Madde Miktarı.....                                                                                         | 91  |
| 4.4.2. Su Aktivitesi Değeri .....                                                                                             | 92  |
| 4.4.3. pH Değeri.....                                                                                                         | 93  |
| 4.4.4. Renk Farkı Değeri .....                                                                                                | 94  |
| 4.4.5. Ekmek Sertlik Değeri .....                                                                                             | 95  |
| 4.4.6. Ekmek Esneklik Değeri .....                                                                                            | 97  |
| 4.4.7. Damlama Kaybı .....                                                                                                    | 99  |
| 4.4.8. İyon Sızıntısı .....                                                                                                   | 101 |



|                                          |     |
|------------------------------------------|-----|
| 4.4.9. $\alpha$ -amilaz Aktivitesi ..... | 102 |
| 4.4.10. Spesifik Ekmek Hacmi .....       | 105 |
| 4.4.11. Ekmek Değer Sayısı .....         | 107 |
| 5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....               | 111 |
| KAYNAKLAR.....                           | 113 |
| BİLİMSEL ETİK BEYANI .....               | 148 |
| ÖZ GEÇMİŞ.....                           | 149 |



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                               |                                                                                         |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>AFM</b>                    | : Atomik Kuvvet Mikroskobu (Atomic Force Microscope)                                    |
| <b>ANOVA</b>                  | : Varyans Analizi (Analysis of Variance)                                                |
| <b><math>\beta</math></b>     | : Regresyon Katsayısı                                                                   |
| <b>CCD</b>                    | : Merkezi Tümlşik Dizayn (Central Composite Design)                                     |
| <b>CI</b>                     | : Carr İndeksi                                                                          |
| <b>CO<sub>2</sub></b>         | : Karbondioksit                                                                         |
| <b><math>\Delta E</math></b>  | : Renk Farkı Değeri                                                                     |
| <b>DSC</b>                    | : Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (Differential Scanning Calorimeter)                 |
| <b>FTIR</b>                   | : Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy) |
| <b><math>G'</math></b>        | : Depolama modülü                                                                       |
| <b><math>G''</math></b>       | : Kayıp modülü                                                                          |
| <b>GA</b>                     | : Genetik Algoritma                                                                     |
| <b>GP</b>                     | : Genetik Programlama                                                                   |
| <b><math>h^\circ</math></b>   | : Hue açısı                                                                             |
| <b>IQF</b>                    | : Bireysel Hızlı Dondurma (Individual Quick Frozen)                                     |
| <b><math>L^*</math></b>       | : Parlaklık (Luminosity)                                                                |
| <b>MANOVA</b>                 | : Çok Değişkenli Varyans Analizi (Multivariate Analysis of Variance)                    |
| <b><math>P</math></b>         | : İstatistiki Anlamlılık Seviyesi                                                       |
| <b><math>R^2</math></b>       | : Uyum Katsayısı                                                                        |
| <b>RMSE</b>                   | : Hata Kareler Ortalamasının Karekökü (Root Mean Square Error)                          |
| <b>RSM</b>                    | : Yanıt Yüzey Yöntemi (Response Surface Methodology)                                    |
| <b>SEM</b>                    | : Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope)                           |
| <b><math>T_g</math></b>       | : Camsı Geçiş Sıcaklığı                                                                 |
| <b>UV/VIS</b>                 | : Mor Ötesi/Görünür Bölge (Ultraviolet/Visible)                                         |
| <b><math>v</math></b>         | : Hacim                                                                                 |
| <b><math>w</math></b>         | : Ağırlık                                                                               |
| <b><math>X_i / X_j</math></b> | : Bağımsız Değişken                                                                     |
| <b>XRD</b>                    | : X-Işını Kırınımı (X-Ray Diffraction)                                                  |
| <b><math>Y</math></b>         | : Bağımlı Değişken                                                                      |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1. Lignoselülozik materyalin bileşenleri .....                                                                                                      | 5  |
| Şekil 2.2. RSM ve GA optimizasyon yöntemlerine ait akış diyagramları.....                                                                                   | 14 |
| Şekil 2.3. Gıdaların farklı hızlarda dondurulması ile oluşan donma eğrileri .....                                                                           | 18 |
| Şekil 2.4. Hava akımlı dondurucu şeması.....                                                                                                                | 29 |
| Şekil 3.1. Antep fıstığı dış ve iç kabuğu .....                                                                                                             | 29 |
| Şekil 3.2. Antep fıstığı dış kabuğuna uygulanan ön işlemler.....                                                                                            | 29 |
| Şekil 3.3. Kestane kabuğuna uygulanan ön işlemler .....                                                                                                     | 30 |
| Şekil 3.4. Antep fıstığı dış kabuğundan mikroselüloz üretimine ait görseller .....                                                                          | 31 |
| Şekil 3.5. Mikroselüloz üretim aşamaları .....                                                                                                              | 31 |
| Şekil 3.6. Nanoselüloz üretim aşamalarına ait akış şeması.....                                                                                              | 33 |
| Şekil 3.7. Nanoselüloz tozlarına ait görseller.....                                                                                                         | 33 |
| Şekil 3.8. Fermente ekmek hamuru ve ekmek örneklerine ait örnek görseller .....                                                                             | 34 |
| Şekil 3.9. Tez çalışması kapsamında kullanılan hava akımlı dondurucu sistem.....                                                                            | 35 |
| Şekil 3.10. Tez çalışması kapsamında kullanılan bireysel hızlı dondurucu (IQF) sistem .....                                                                 | 36 |
| Şekil 3.11. $\alpha$ -amilaz aktivitesi analiz aşamalarından görseller.....                                                                                 | 38 |
| Şekil 4.1. Antep fıstığı dış kabuğundan konvansiyonel nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri.....         | 49 |
| Şekil 4.2. Antep fıstığı dış kabuğundan mikrodalga destekli nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri.....   | 49 |
| Şekil 4.3. Antep fıstığı dış kabuğundan hidrotropik solvent nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri.....   | 50 |
| Şekil 4.4. Antep fıstığı dış kabuğundan derin ötektik solvent nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri..... | 50 |
| Şekil 4.5. Kestane kabuğundan konvansiyonel nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri .....                  | 58 |
| Şekil 4.6. Kestane kabuğundan mikrodalga destekli nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri.....             | 58 |
| Şekil 4.7. Kestane kabuğundan hidrotropik solvent nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri.....             | 59 |
| Şekil 4.8. Kestane kabuğundan derin ötektik solvent nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri.....           | 59 |

|                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 4.9.</b> Ekstraksiyon işlemlerinin Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz süspansiyonlarının reolojik özellikleri üzerindeki etkileri..... | 71 |
| <b>Şekil 4.10.</b> Optimum işlem koşullarında üretilen kestane kabuğu nanoselüloz tozlarına ait reolojik özellikler .....                         | 71 |
| <b>Şekil 4.11.</b> Farklı ekstraksiyon işlemlerinin Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz tozlarının FTIR spektrumları üzerindeki etkileri.....    | 74 |
| <b>Şekil 4.12.</b> Optimum işlem koşullarında üretilen kestane kabuğu nanoselüloz tozlarına ait FTIR spektrumları.....                            | 75 |
| <b>Şekil 4.13.</b> Optimum işlem koşullarında üretilen Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz tozlarına ait AFM görüntüleri.....                    | 77 |
| <b>Şekil 4.14.</b> Optimum işlem koşullarında üretilen kestane kabuğu nanoselüloz tozlarına ait AFM görüntüleri .....                             | 78 |
| <b>Şekil 4.15.</b> Optimum işlem koşullarında üretilen Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz tozlarına ait SEM görüntüleri .....                   | 79 |
| <b>Şekil 4.16.</b> Optimum işlem koşullarında üretilen kestane kabuğu nanoselüloz tozlarına ait SEM görüntüleri .....                             | 80 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Çizelge 2.1.</b> Bazı gıda atıklarına ait lignoselülozik kompozisyon .....                                                                           | 6  |
| <b>Çizelge 3.1.</b> İşlemlerine ait yanıt yüzey yöntemi (RSM) için kodlanmış seviyeler .....                                                            | 32 |
| <b>Çizelge 3.2.</b> Gözenek faktörünün belirlenmesinde kullanılan ekmek içi gözenek boyutu aralıkları ve ilgili faktör katsayıları .....                | 43 |
| <b>Çizelge 3.3.</b> Ekmek içi değerleri puanlama çizelgesi .....                                                                                        | 43 |
| <b>Çizelge 4.1.</b> Antep fıstığı dış kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait detaylı deneme planı ve verim değerleri.....                  | 47 |
| <b>Çizelge 4.2.</b> Antep fıstığı dış kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait yanıt yüzey yöntemi model katsayıları ve ANOVA çıktıları..... | 52 |
| <b>Çizelge 4.3.</b> Antep fıstığı dış kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait yanıt yüzey yöntemi optimizasyon sonuçları.....               | 55 |
| <b>Çizelge 4.4.</b> Antep fıstığı dış kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait genetik algoritma optimizasyon sonuçları.....                 | 55 |
| <b>Çizelge 4.5.</b> Kestane kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait deneme planı ve deneysel sonuçlar .....                                 | 56 |
| <b>Çizelge 4.6.</b> Kestane kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait yanıt yüzey yöntemi model katsayıları ve ANOVA çıktıları.....           | 61 |
| <b>Çizelge 4.7.</b> Kestane kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait yanıt yüzey yöntemi optimizasyon sonuçları .....                        | 64 |
| <b>Çizelge 4.8.</b> Kestane kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait genetik algoritma optimizasyon sonuçları.....                           | 65 |
| <b>Çizelge 4.9.</b> Optimum işlem koşullarında üretilen kriyoprotektan tozlarına ait verim, çözünürlük ve viskozite değerleri.....                      | 65 |
| <b>Çizelge 4.10.</b> Farklı işlem koşullarında üretilen kriyoprotektan tozlarına ait zeta potansiyeli değerleri.....                                    | 69 |
| <b>Çizelge 4.11.</b> Farklı ekstraksiyon işlemleri ile üretilen nanoselüloz tozlarına ait kristallik derecesi değerleri .....                           | 72 |
| <b>Çizelge 4.12.</b> Optimum yöntem ve işlem koşullarında üretilen nanoselüloz örneklerine ait toz ürün karakterizasyonu .....                          | 81 |
| <b>Çizelge 4.13.</b> Fermente ekmek hamuruna ait donma süreleri ile dondurucu sistem enerji tüketimi değerleri.....                                     | 90 |

|                                                                                                                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Çizelge 4.14.</b> Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun toplam kuru madde miktarı üzerine etkileri.....    | 91  |
| <b>Çizelge 4.15.</b> Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun su aktivitesi değeri üzerine etkileri.....         | 93  |
| <b>Çizelge 4.16.</b> Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun pH değeri üzerine etkileri .....                   | 94  |
| <b>Çizelge 4.17.</b> Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun renk farkı değeri üzerine etkileri .....           | 95  |
| <b>Çizelge 4.18.</b> Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin ekmek sertlik değeri üzerine etkileri.....                                  | 97  |
| <b>Çizelge 4.19.</b> Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin ekmek esneklik değeri üzerine etkileri.....                                 | 99  |
| <b>Çizelge 4.20.</b> Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun damlama kaybı üzerine etkileri .....               | 101 |
| <b>Çizelge 4.21.</b> Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun iyon sızıntısı üzerine etkileri .....              | 102 |
| <b>Çizelge 4.22.</b> Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun $\alpha$ -amilaz aktivitesi üzerine etkileri ..... | 105 |
| <b>Çizelge 4.23.</b> Fermente ekmek hamuruna ait $\alpha$ -amilaz aktivitesi kinetik modelleri .....                                                         | 105 |
| <b>Çizelge 4.24.</b> Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin spesifik ekmek hacmi üzerine etkileri.....                                  | 107 |
| <b>Çizelge 4.25.</b> Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin ekmek değer sayısı üzerine etkileri .....                                   | 109 |
| <b>Çizelge 4.26.</b> Fermente ekmek hamuru analizleri için çok değişkenli varyans analizine (MANOVA) ait istatistikî çıktılar (I).....                       | 110 |
| <b>Çizelge 4.27.</b> Fermente ekmek hamuru analizleri için çok değişkenli varyans analizine (MANOVA) ait istatistikî çıktılar (II).....                      | 110 |

## ÖZET

### ANTEP FISTIĞI DIŞ KABUĞU VE KESTANE KABUĞUNDAN YENİLİKÇİ YÖNTEMLERLE ÜRETİLEN NANOSELÜLOZUN FARKLI TEKNOLOJİLERLE DONDURULMUŞ EKMEK HAMURUNDA KRİYOPROTEKTAN OLARAK KULLANIM POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI

**Görgüç A. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2023.**

**Amaç:** Tez çalışmasında, bitkisel atıklar olan Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğundan kriyoprotektan özellikli nanoselüloz üretimi, toz ürün özelliklerinin değerlendirilmesi ve farklı endüstriyel dondurma teknikleri uygulanan fermente ekmek hamurunda depolama süresince kalite özelliklerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal ve Yöntem:** Nanoselüloz üretiminde etkili proses parametreleri olan sıcaklık, işlem süresi ve çözücü oranı, yanıt yüzey yöntemi (RSM) ve genetik algoritma (GA) teknikleri kullanılarak optimize edilmiştir. Ekstraksiyonlarda konvansiyonel, mikrodalga destekli, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent olmak üzere dört farklı yöntem kullanılmıştır. Üretilen nanoselülozlar, fermente ekmek hamuruna eklenerek örnekler üç farklı dondurma işlemine (statik, hava akımlı ve bireysel hızlı; IQF) tabi tutulmuş ve altı aylık depolama süresi boyunca donmuş ürünün kalite özellikleri incelenmiştir.

**Bulgular:** Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu için GA, kestane kabuğu nanoselülozu için ise RSM ile gerçekleştirilen optimizasyon işlemleri daha düşük sıcaklık, işlem süresi ve/veya çözücü oranları kullanılarak deneysel olarak doğrulanabilir, %99,2'ye varan yüksek nanoselüloz verimleri elde edilmesini sağlamıştır. Verim ve toz ürün özellikleri ele alındığında, nanoselüloz tozlarının üretimi için en uygun teknik derin ötektik solvent ekstraksiyonu olarak belirlenmiştir. Yeşil ekstraksiyon yöntemleri ile üretilen nanoselüloz tozlarında fibril yapısı; asit hidrolizi sonucu ise %61,1 – %80,7 aralığında değişen kristallik derecesi ile kristal yapı hâkim olmuştur. Nanoselüloz örneklerinin ortalama çapları 1,26 – 279 nm aralığında değişim göstermiştir. Hava akımlı ve IQF dondurma işlemleri, fermente ekmek hamurunda hücre içi ve dışında küçük buz kristali oluşumu sağlayarak mikro yapıya düşük oranda zarar vermiştir. Dondurulmuş depolama süresince tüm ürün gruplarında toplam kuru

madde miktarında %14,3'e; renk farkı değerlerinde ise 13,1 katına varan oranlarda artışlar gözlenmiştir. Kontrole kıyasla hamur formülasyonuna nanoselüloz ilavesinin, ikinci dereceden polinom modeline uygunluk gösteren  $\alpha$ -amilaz aktivitesinde %23,7'ye varan oranlarda azalma sağladığı tespit edilmiştir. Nanoselüloz kullanımı tekstürel özellikler (altı aylık depolama sonunda %16,2 – %22,0 daha düşük ekmek sertliği) ile iyon sızıntısı (%22,9'a kadar azalma) gibi kalite parametrelerinin korunumunda etkili olmuş ve dondurulmuş gıda sektöründe başlıca kalite problemleri arasında yer alan damlama kaybı gibi sorunların giderilmesinde olumlu etkiler sağlamıştır. Nanoselülozun özellikle IQF gibi hızlı dondurma teknikleri ile bir arada kullanımının, dondurulmuş gıda kalitesi açısından önemli avantajlar sağlama potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir.

**Sonuç:** Ülkemizde yüksek miktarlarda proses atığı olarak ortaya çıkan yerli ve endüstriyel atıklardan yenilikçi ve yüksek katma değerli nanoselüloz kriyoprotektan üretiminin gerek ekonomik gerekse çevresel ve teknolojik açılarından fayda sağlayabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Atık değerlendirme, Yeşil ekstraksiyon, Nanoselüloz, Genetik algoritma, Fermente ekmek hamuru.



## ABSTRACT

### INVESTIGATING THE CRYOPROTECTANT POTENTIAL OF NANOCELLULOSE VALORIZED FROM PISTACHIO HULL AND CHESTNUT SHELL VIA INNOVATIVE METHODS IN BREAD DOUGH FROZEN BY DIFFERENT TECHNOLOGIES

**Görgüç A. Aydın** Adnan Menderes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Food Engineering Program, Doctorate Thesis, Aydın, 2023.

**Objective:** The objective of this thesis study is to produce nanocellulose cryoprotectants from pistachio hull and chestnut shell plant wastes, to evaluate the powder properties, and to determine the effects on the quality properties of fermented bread dough subjected to different industrial freezing techniques during storage.

**Material and Methods:** Temperature, processing time and solvent ratio, which are effective process parameters in nanocellulose production, were optimized using response surface methodology (RSM) and genetic algorithm (GA) techniques. Four different methods were used in the extractions: Conventional, microwave assisted, hydrotropic solvent and deep eutectic solvent. The produced nanocelluloses were added to the fermented bread dough, the samples were subjected to three different freezing techniques (static, air-blast and individual quick frozen; IQF), and the quality characteristics of the frozen product were examined during the six months of storage period.

**Results:** Optimization processes performed with GA for pistachio shell nanocellulose and with RSM for chestnut shell nanocellulose provided experimentally verifiable, high nanocellulose yields up to 99.2%, by using lower temperature, processing time and/or solvent ratios. Considering the yield and powder properties, deep eutectic solvent extraction was determined as the most suitable technique for the production of nanocellulose powders. Nanocellulose powders produced by green extraction methods had a fibrillated structure while after acid hydrolysis, crystal structure became dominant with varying crystallinity indexes in the range of 61.1% – 80.7%. The average diameters of the nanocellulose samples varied in the range of 1.26 – 279 nm. Air blast and IQF freezing processes caused small ice crystal

formations inside and outside of the fermented bread dough, causing low damage to the microstructure. During the frozen storage period in all product groups, increases of up to 14.3% in total dry matter and up to 13.1 times in color difference values were observed. Compared to the control, the addition of nanocellulose to the dough formulation resulted in a reduction of up to 23.7% in  $\alpha$ -amylase activity which fitted the second-order polynomial model. The use of nanocellulose has been effective in the preservation of quality parameters such as textural properties (16.2% – 22.0% lower bread firmness after six months of storage) and ion leakage (up to 22.9% reduction), and has provided positive effects in eliminating problems such as drip loss, which is among the main quality problems in the frozen food industry. It is determined that the use of nanocellulose, especially in combination with fast freezing techniques such as IQF, has the potential to provide significant advantages in terms of frozen food quality.

**Conclusion:** The production of innovative and high value-added nanocellulose cryoprotectant from domestic and industrial wastes, which occur as process waste in high quantities in our country, can provide economical, environmental and technological benefits.

**Keywords:** Waste valorization, Green extraction, Nanocellulose, Genetic algorithm, Fermented bread dough.

.

# 1. GİRİŞ

Nanoselüloz terimi, nano boyuta sahip, lignoselülozik malzemelerden ekstrakte edilebilen lif veya kristal formundaki selüloz bazlı materyalleri tanımlamak için kullanılmaktadır (Sharma vd., 2019; Garcia vd., 2016). Bitki kaynaklı bir biyopolimer olan nanoselüloz, elde edildiği kaynağa göre yüksek spesifik yüzey alanı, dispersiyon performansı ve viskozite gibi farklı fizikokimyasal özellikler göstermektedir (Nagano vd., 2020). Ayrıca, bitkisel nanoselülozun düşük molekül boyutu sayesinde vitrifikasyon veya camsı yapı oluşumunu sağlamada önemli avantajlara sahip olduğu ifade edilmektedir (Chirayil vd., 2014). Son yıllarda, nanoselülozun farklı kaynaklardan izolasyonu ve karakterizasyonu ile ilgili çalışmalar mevcuttur (Garcia vd., 2017; Yu vd., 2019; Hong vd., 2020; Suopajärvi vd., 2020). Aynı zamanda, nanoselüloz üretiminde endüstriyel ve bitkisel atıkların kullanımına bir yönelim söz konusudur (Rajinipriya vd., 2018; Garcia vd., 2016; Gupta vd., 2020). Türkiye, Antep fıstığı (*Pistacia vera* L.) üretiminde dünyada üçüncü ve kestane (*Castanea sativa* Mill.) üretiminde dördüncü lider üretici ülke konumundadır (FAO, 2021). Verimli sezonunda ülkemizde yıllık yaklaşık 240 bin ton üretimi gerçekleştirilen Antep fıstığının toplam kuru madde ağırlığının %54'ünün epikarp olarak adlandırılan dış kabuktan oluştuğu bilinmektedir (Behgar vd., 2011). Antep fıstığı işleme tesislerinde bu dış kabuk diğer kısımlarından (mezokarp, zar ve çekirdek) ayrılmakta ve bu ayrılan dış kabuğun %65 – 75 selüloz içerdiği bilinmektedir (Dönmez vd., 2016; Taghizadeh ve Rod-Moghadum, 2018; Özbek vd., 2020). Kestane ise ülkemizde farklı bölgelerde yetiştirilmesine rağmen en yüksek üretim Aydın ilinde gerçekleşmektedir. Ülkemizde yıllık ortalama 78 bin ton kestane üretildiği ve büyük oranda kestane şekeri, püresi, unu ve ezme ürünlerine işlendiği, bu işlenen ürünlerin de büyük kısmının ihraç edildiği bilinmektedir (FAO, 2021). Endüstride kestane şekeri, konservesi ve püresi üretiminde yüzeylerine çitıklar atılarak zedelenen kestane kabukları buharla muamele edilerek şişip çatlayarak açılmakta ve kabuk kısmının kestane etinden (içinden) ayrılması sağlanmaktadır. Kestanenin işlenmesi esnasında toplam ağırlığın %25 – 30'u kabuk olarak ayrılmaktadır. Kestane kabuğu da yaklaşık %50 selüloz içeren (Yao vd., 2010) ve halihazırda yakacak olarak kullanım haricinde değerlendirilmeyen bir atıktır. Bu sebeple çevresel sorun teşkil eden tarımsal atıkların nanoselüloz gibi katma değerli ürünler olarak geri dönüşümünün sağlanmasının, ülkemiz açısından yeni bir ekonomik girdi potansiyeli oluşturmalarının yanında çevresel açıdan da faydalar sağlama potansiyeli olduğu ifade edilebilir.

Son yıllarda yeşil solvent (iyonik sıvılar, derin ötektik çözelti, hidrotropik çözelti, vb.) kullanımı ile yapılan ekstraksiyon çalışmaları hız kazanmıştır (Kutlu vd., 2017; Mena-García vd., 2019). Bunlar arasında derin ötektik solventler, geleneksel organik çözücülerle karşılaştırıldığında toksik olmaması, çevre dostu ve düşük maliyetli olması gibi avantajları ile ümit vaat edici bir ekstraksiyon yöntemi olarak ön plana çıkmaktadır (Bi vd., 2013; Cunha ve Fernandes, 2018). Ekstraksiyonda bir diğer yenilikçi yaklaşım olan hidrotropik solvent kullanımı, toksik kimyasal kullanımını en aza indirgeyen/ortadan kaldıran, ekstraksiyon süresini ve sıcaklığını azaltan ve seçici solventlerin kullanılmasına izin veren alternatif bir yeşil teknolojidir (Gençdağ vd., 2021). Bu nedenle, hidrotropik ve derin ötektik solventlerin özellikle selüloz gibi suda sınırlı çözünürlüğe sahip bileşenlerin eldesinde etkili bir yöntem olabileceği bildirilmektedir.

Yanıt yüzey yöntemi (RSM), ekstraksiyon işlem parametrelerinin incelenerek en uygun koşulların elde edilmesinde sıklıkla kullanılan etkin bir yöntem olarak ön plana çıkmıştır (Ciric vd., 2020; Rivera vd., 2019). RSM, genellikle ikinci dereceden bir polinom denkleme dayanarak bir model üzerinden tahmin gerçekleştiren bir yaklaşımdır (Box ve Wilson, 1951). Ekstraksiyon işlemlerinde öğrenebilen algoritmalar kullanılarak tahmini ve deneysel sonuçlar arasındaki sapmaların azaldığı (Bingöl vd., 2012); sıcaklık, süre, solvent miktarı gibi işlem parametrelerinin azaltılabildiği ve ekstraksiyon verimliliğinin de artırılabilirdiği son zamanlarda gerçekleştirilen deneysel çalışmalar sonucu ortaya konmuştur (Mohammadzadeh vd., 2016; Saha vd., 2016; Kavuncuoğlu vd., 2018). Genetik Programlama (GP) ise girdi ve çıktı arasındaki ilişkiyi tanıyarak en uygun modeli oluşturan, hızlı eğitilebilen bir algoritmadır. RSM'deki süreçlerden farklı olarak GP algoritması temel aritmetik operatörlerin (+, -, ×) yanında matematiksel fonksiyonları da (sin, cos, ln, log, vb.) problem tanılama sürecine dâhil edebilmektedir (Hasdemir vd., 2019). Genetik Algoritma (GA) da GP ile aynı evrimsel süreçleri (çaprazlama, mutasyon, seleksiyon) işleten bir öğrenme algoritmasıdır. Bu tür optimizasyon tabanlı yaklaşımların proses parametrelerinin etkin şekilde ayarlanması sayesinde uygulamaya yönelik avantajlar sağlayabileceği ifade edilebilir.

Son yıllarda tüketicilerin kullanıma hazır ve taze ürüne yakın organoleptik özellikler sunan gıdalara olan taleplerinin artması ile beraber yenilikçi gıda muhafaza yöntemleri üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar hız kazanmıştır (Amit vd., 2017; Sharif vd., 2017; Morales-de la Peña vd., 2019). Dondurarak muhafaza, yaygın olarak kullanılan etkin bir gıda koruma yöntemidir ve modern toplumların gelişimine paralel olarak gıda endüstrisi içerisindeki büyük sektörlerden birisi haline gelmiştir (Hekimoğlu ve Altındeğer, 2016; Sun,

2016; Zhao ve Takhar, 2017). Dondurarak muhafaza teknolojisi, gıda ürünlerinde uzun raf ömrü sağlaması, ısıya duyarlı besin öğelerini koruması ve gıdanın taze formuna en yakın kalite özellikleri sunması açısından kurutma veya pastörizasyon gibi ısıl işlem temelli gıda muhafaza yöntemlerine kıyasla ön plana çıkmaktadır (James vd., 2015). Dondurulmuş gıda pazarının dünyada her geçen yıl büyüdüğü yapılan araştırmalar ile ortaya konulmaktadır (Kölzer vd., 2019). Dondurulmuş gıda pazarının global piyasa değerinin günümüzde 300 milyar Amerikan dolarını aştığı belirtilmektedir (Cleland, 2020). Türkiye’de ise dondurulmuş gıda üretiminin temelleri yaklaşık 30 yıl kadar önce atılmış ve sektör hızla gelişmiştir. Türkiye’de tüketicilerin gıda tercihlerinde ve tüketim alışkanlıklarında görülen değişimlere bağlı olarak, önceleri sadece ihracat ağırlıklı çalışan dondurulmuş gıda sektörü son yıllarda yurt içi piyasaya da artan şekilde hizmet etmeye başlamıştır. Türkiye’de en büyük arz noktası turizm sektörü olmasına rağmen özellikle son yıllarda catering, restoran ve pastacılık sektörünün dondurulmuş ekmek hamuru gibi hızlı kullanıma yönelik, pratik ürünlere artan talebi bulunmaktadır. Aynı zamanda, hizmet sektörünün gelişmesi ile bu pratik ürünlere olan talep artışı, dondurulmuş ürünlerin süpermarketlerde ürün çeşitliliğinin ve pazar payının artmasını sağlamıştır. Böylece, ülkemizde 2011 yılından 2018 yılına kadar olan süreçte dondurulmuş gıda sektörünün toplam cirosunun %300’ün üzerinde artış gösterdiği belirtilmektedir (Hekimoğlu ve Altindeğer, 2019).

Gıdaların dondurulmasında mevcut teknolojiler, gıda kalitesinin korunması ve işleme esnasında enerji verimliliği gibi bazı konularda yetersiz kalabilmektedir. Dondurulmuş gıdalarda sıklıkla gözlenen, çözündürme sonrası üründen su sızması şeklinde gerçekleşen damlama kaybı ve tekstürel deformasyon gibi kalite kusurları, dünya çapında milyonlarca dolarlık ekonomik zararlara neden olmaktadır (Chen vd., 2017). Bireysel hızlı dondurma (IQF) gibi yenilikçi yaklaşımların genellikle donma süresini kısaltarak işlem maliyetini azalttığı, küçük buz kristalleri oluşumunu sağlayarak gıda dokusunu daha çok koruduğu ve ürün yapısını tazeye en yakın formda muhafaza ettiği ifade edilmektedir (Kaur ve Kumar, 2019). Dondurma işlemi gıdanın geometrisi, boyutu, su içeriği, özgül ısısı, ısıl iletkenliği, yoğunluğu ile ortam konvektif ısı transfer katsayısı gibi birçok faktöre bağlı olduğundan yenilikçi yöntem geliştirme aşamasında sistemi yöneten işlem parametrelerinin etkilerini değerlendirme gerekliliği ortaya çıkmaktadır (Marazani vd., 2017).

Günümüzde, dondurulmuş gıdalarda buz kristal oluşumunu kontrol etmek ve uzun süreli depolama ve çözündürme aşamalarında rekristalizasyonun neden olduğu doku hasarını önlemek amacıyla kriyoprotektanların kullanımı artış göstermiştir (You vd., 2020). Diğer

yandan endüstriyel uygulamalarda ağırlıklı olarak kullanılan sentetik kriyoprotektanların toksik etkiler göstermesi nedeniyle tüketicilerin algısında endişelere yol açtığı vurgulanmaktadır (Weng vd., 2019). Sentetik kriyoprotektanlar özellikle hipoglisemi ve diyabet hastaları için endişeler oluşturmakta, bunun yanı sıra çölyak, sindirim sistemi ve diş hastalıkları ile bağlantılı olabileceğine dair bulgular nedeniyle kullanımları sınırlandırılmaktadır (Sharma vd., 2018; Sharma vd., 2019).

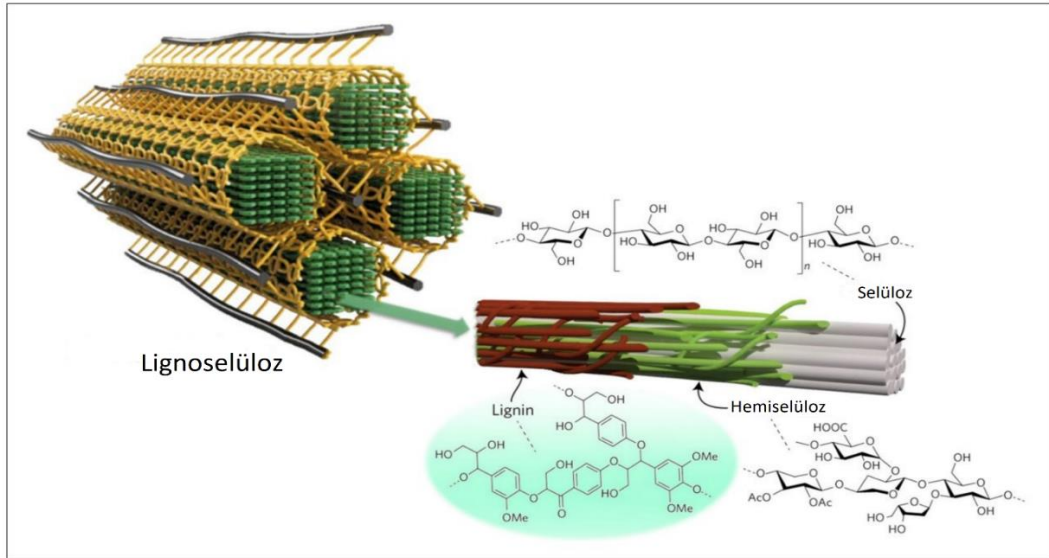
Mevcut bilgiler ışığında tez çalışmasının amacı, Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu olmak üzere iki farklı tarımsal atık kaynağından nanoselüloz üretilmesi ve nanoselüloz üretiminde farklı ekstraksiyon tekniklerinin (konvansiyonel, mikrodalga destekli, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent) etkilerinin belirlenmesidir. Bu amaçla, ekstraksiyon işlemlerinde etkili proses parametreleri olan sıcaklık, süre ve çözücü oranı iki farklı teknikle (yanıt yüzey yöntemi ve genetik algoritma) optimize edilmiş ve nanoselüloz tozlarının detaylı karakterizasyonu ortaya konulmuştur. Ayrıca, nanoselülozun fermente ekmek hamurunda kullanımı ile dondurulmuş gıda endüstrisinde sıklıkla gözlenen kalite sorunlarını engellemeye/azaltmaya yönelik kriyoprotektan ajan olarak kullanım potansiyeli değerlendirilmiştir. Bu amaçla, nanoselüloz kullanımının gıda kalite özellikleri üzerine etkileri, farklı dondurma teknikleri, depolama süresi ve faktör ilişkileri de ele alınarak detaylı olarak değerlendirilmiştir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Lignoselülozik Materyaller

Fosil kaynaklarının aşırı kullanımı ile ilişkili sosyal ve çevresel etkiler, son yıllarda birçok uygulama için çevre dostu alternatiflerin aranmasına neden olmuştur. Bu kapsamda yüksek katma değerli malzemelerin üretimi için en önemli doğal kaynaklardan birisi olan lignoselülozik materyaller, biyolojik olarak bozunabilirliklerinin yanında kolaylıkla elde edilebilir olmaları nedeniyle oldukça cazip bir konuma gelmiştir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından yayınlanan bir rapora göre bitkilerden yıllık ortalama 39,4 milyon ton doğal lif toplanmaktadır (Kamel vd., 2020). Ayrıca, son yıllarda tarımsal atıkların değerlendirilmesini ele alan çalışmaların sayısı hızla artış göstermektedir. Sonuç olarak, doğada yüksek miktarlarda bulunan lignoselülozik materyallerin kullanımı ile birçok endüstride yeni uygulama alanlarının ortaya çıkacağı öngörülebilir.

Lignoselülozik biyokütlenin hücre duvarındaki yapısı esas olarak üç çeşit polimerden oluşmaktadır: Selüloz, hemiselüloz ve lignin (Şekil 2.1). Bu üç bileşenin oranı, hammaddenin tipine ve kaynağına bağlı olarak değişmektedir (Mateo vd., 2021). Önemli birer lignoselülozik materyal kaynağı olan bazı gıda atıklarına ait selüloz, hemiselüloz ve lignin içerikleri Çizelge 2.1’de sunulmuştur.



Şekil 2.1. Lignoselülozik materyalin bileşenleri (Jung vd., 2022)

**Çizelge 2.1.** Bazı gıda atıklarına ait lignoselülozik kompozisyon (Mateo vd., 2021)

| Gıda atığı                  | Selüloz (%) | Hemiselüloz (%) | Lignin (%) |
|-----------------------------|-------------|-----------------|------------|
| Arpa sapı                   | 38          | 35              | 16         |
| Hindistan cevizi kabuk lifi | 25          | 12              | 40         |
| Mısır koçanı                | 45          | 35              | 15         |
| Mango çekirdeği             | 55          | 21              | 24         |
| Ananas yaprağı              | 75          | 13              | 10         |
| Soya kepeği                 | 48          | 24              | 6          |
| Antep fıstığı kabuğu        | 54          | 20              | 25         |

### 2.1.1. Selüloz, Hemiselüloz ve Lignin

Lignoselülozik biyokütlenin ana fraksiyonu olan selüloz, doğada en çok miktarda bulunan organik maddedir ve bitkiler tarafından fotosentez sonucu üretilmektedir. Selüloz, farklı malzemelerin üretimi için yenilenebilir ve biyolojik olarak parçalanabilir bir enerji ve hammadde kaynağı olmakla birlikte amaca göre kolaylıkla modifiye edilebilen bir kimyasal yapıya sahiptir (Mateo vd., 2021). Yıllık selüloz biyosentezinin  $10^{10}$  ve  $10^{11}$  ton arasında olduğu tahmin edilmektedir; ancak bu miktarın sadece küçük bir kısmı kâğıt, tekstil, kimyasal ve malzeme gibi bir dizi endüstriyel alanda kullanılmaktadır. Kayda geçmiş ilk selüloz ekstraksiyonu 1838 yılında Anselme Payen tarafından gerçekleştirilmiş; birkaç yıl sonra ise Herman Staudinger tarafından selüloz molekülünün kimyasal yapısı tanımlanmıştır. Selülozun yapısı temel olarak  $\beta$ -(1,4)-bağlı D-glukopiranozil birimlerinin tekrarlanmasıyla oluşmaktadır (Trache vd., 2020).

Lignoselülozik biyokütlede %15 – 40 oranında bulunan hemiselüloz, monomer olarak farklı pentoz ve hekzozlardan oluşan kısa, doğrusal ve dallı zincirlerden meydana gelen bir heteropolimerdir. En yaygın hemiselüloz tipleri olan ksilanlar ve glukomannanlar esas olarak sert ağaçların bileşiminde bulunurken glukanlar daha çok yumuşak ağaçlarda bulunmaktadır. Hemiselüloz, hidrojen bağları ve van der Waals etkileşimleri yoluyla selüloz liflerine bağlanmaktadır.

Lignin ise kuru lignoselülozik biyokütlenin ağırlıkça %5 – 35’ini temsil etmektedir ve temel fonksiyonu, selüloz ve hemiselüloz fraksiyonları arasındaki boşlukları doldurmaktadır (Thomas vd., 2020). Lignin p-kumaril, koniferil ve sinapil alkollerden sentezlenen, çapraz bağlı ve amorf yapıda bir kopolimerdir. Bitki hücre duvarının sertliğini, sıkıştırma mukavemetini, bozulma direncini ve su geçirmezliğini mümkün kılan faktörlerden birisi lignin varlığıdır (Mateo vd., 2021).



### 2.1.2. Lignoselülozik Materyallere Uygulanan Ön İşlemler

Lignoselülozik materyaller, selüloz veya nanoselüloz gibi hedef bileşenlerin eldesi için bir dizi ön işlemlerden geçirilmektedir. Buradaki temel amaç çoğunlukla materyali suda çözünür bileşikler, hemiselüloz ve lignin fraksiyonlarından arındırmaktır.

Ön işlemler kâğıt hamuru üretme (pulping) ve ağartma adımlarından oluşan biyokütlenin saflaştırılmasını içermektedir. Pektin ve suda çözünür bileşikleri ayırmak için pulping aşaması öncesi bir ekstraksiyon aşaması da uygulanabilmektedir. Bu amaçla ise genellikle su, etanol, tolüen ve/veya bunların karışımından oluşan çözeltiler kullanılmaktadır. Pulping adımı hemiselüloz ve lignin gibi selüloz dışı bileşenlerin uzaklaştırılması hedeflenmektedir. Alkali (sodyum hidroksit vb.) ve organik çözücüler gibi birçok kimyasal, pulping ajanı olarak işlev görebilmektedir. Ağartma işleminde ise etkili ağartma ajanları olan hidrojen peroksit ve sodyum klorit gibi kimyasallar kullanılmaktadır (Kamel vd., 2020).

Uygulanan ön işlemlerin ardından elde edilen materyal, mikron ölçekte boyutlara sahip olduğundan mikroselüloz olarak adlandırılmaktadır. Mikroselüloz gıda üretiminde kıvam artırıcı, emülgatör, hacim artırıcı olarak kullanılabilen rafine bir selüloz ürünüdür. Günümüzde karboksimetilselüloza alternatif olarak vitamin takviyeleri gibi ürünlerde de uygulamaları vardır. Avrupa Birliği tarafından E460 gıda katkı kodu ile kıvam artırıcı, stabilizatör veya emülgatör olarak kullanılmak üzere onaylanmıştır (Mateo vd., 2021). Mikroselüloz ayrıca nanoselüloz üretimi için temel hammadde olarak işlev görmektedir.

### 2.2. Nanoselüloz

Nanoselüloz terimi, nano boyuta sahip, lignoselülozik malzemelerden ekstrakte edilebilen lif veya kristal formdaki selüloz bazlı materyalleri tanımlamak için kullanılmaktadır (Sharma vd., 2019; Garcia vd., 2016). Nanoselüloz, en az bir boyutu 100 nm'den küçük olan selüloz parçacıklarını ifade etmektedir. Bitki kaynaklı bir biyopolimer olan nanoselüloz, ilk kez Turbak vd. (1983) tarafından üretilmiştir. Özellikle son yıllarda hızla artış gösteren nanoselüloz araştırmaları ambalaj malzemeleri, tekstil ürünleri, biyotıp uygulamaları, esnek ekran panelleri, elektronik devreler ve enerji depolama cihazları gibi büyük potansiyel uygulama alanları vaat etmektedir. Nanoselüloz türleri, selülozik hammaddelerden kimyasal, mekanik, enzimatik ve bu işlemlerin kombinasyonu ile izole edilebilmektedir. Nanoselülozlar, morfolojik özelliklerine göre genellikle enzimatik ve/veya mekanik süreçler ile elde edilen selüloz nanofibrili, genellikle konsantre mineral asitler (esas olarak HCl veya H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ile hidroliz sonucu elde edilen çubuk şekilli yüksek kristallik

derecesine sahip selüloz nanokristali ve *Gluconoacetobacter xylinus* tarafından üretilen bakteriyel nanoselüloz olmak üzere üç temel sınıfa ayrılmaktadır (Mateo vd., 2021). Ekstrakte edilen nanoselüloz, hammadde ve ekstraksiyon yöntemine bağlı olarak farklı uzunluk, genişlik, en-boy oranı, yüzey özellikleri, kristallik derecesi ve reolojik özelliklere sahip olabilmektedir (Wang vd., 2019). Nanoselülozların aynı biyopolimerden oluştuğu bilinmesine rağmen farklı hammaddelerin kullanımı ve farklı ekstraksiyon yöntemleri nanoselüloz özelliklerini ve uygulamalarını etkilemektedir (García vd., 2016).

Küresel nanoselüloz pazar büyüklüğü 2018 yılında 284,7 milyon ABD doları (\$) iken bu değerin 2023 yılında 661,3 milyon dolara yükselmesi öngörülmektedir. Hammadde fiyatı (~0,5 \$/kg) ve üretim maliyeti göz önüne alındığında, selüloz nanofibril üretim maliyetinin kilogram kurutulmuş ürün başına 7 – 12 \$ arasında olduğu bildirilmektedir. Günümüzde, farklı yapısal ve yüzey özelliklerine sahip selüloz nanokristalleri ise ticari olarak kilogram başına 4 – 10 \$ fiyat etiketi ile satılmaktadır (Dhali vd., 2021). Son zamanlarda, nanoselüloz araştırmaları nanokompozitler, aerogeller, kıvam artırıcılar, filmler, lifler, köpükler, enerji uygulamaları ve filtreleme membranları gibi çok çeşitli ürün ve uygulamaların gelişimini teşvik etmiştir (Mateo vd., 2021). Nanoselüloz, gıda ambalajları için kaplama ve film materyali üretiminde ve besinsel lif etkisi ile fonksiyonel bir gıda bileşeni olarak da kullanılmaktadır. Ayrıca salata sosu, süt ürünleri, dondurma ve ekmek gibi gıdalarda doğal emülsifiye edici ve stabilize edici bir bileşen olarak kullanılmaktadır. Bakteriyel nanoselüloz ise gıda endüstrisinde soslar, katkı maddeleri, tekstür düzenleyiciler ve kıvam artırıcı gibi farklı uygulama alanlarına sahip olmakla birlikte gıdalarda kullanılan hidrokolloidlere iyi bir alternatif olarak ön plana çıkmaktadır (Thomas vd., 2020).

### 2.2.1. Nanoselüloz Çeşitleri

Nanoselüloz elde etme yöntemleri mekanik, kimyasal, biyolojik hidroliz veya bunların bir kombinasyonunu içeren, selüloz boyutunu azaltma odaklı işlemlerdir. Bunlar arasında asit hidrolizi ve mekanik işlemler, sırasıyla selüloz nanokristali ve selüloz nanofibrili elde etmek için en yaygın kullanılan yöntemlerdir. Bununla birlikte, bu prosedürler sürecin enerji talebi ve nötralizasyon adımlarında gereken yüksek miktarda su gibi ekonomik ve çevresel yönlerle ilgili bazı dezavantajlara sahiptir. Nanoselüloz üretmek için bir başka seçenek, çevre dostu ve sürdürülebilir bir seçenek olarak ön plana çıkan enzimatik hidroliz kullanımınıdır; ancak enzimlerin yüksek maliyeti bu konuda dezavantaj oluşturmaktadır. Literatürde bazı çalışmalar selüloz demetlerinin fibrilasyonunu kolaylaştırmak ve nanoselüloz izolasyon süreçleri için

enerji gereksinimlerini azaltmak için mekanik işlemlerle birlikte enzimlerin kullanımını değerlendirmiştir (Mateo vd., 2021).

Uzunluğun çapa oranı (L/D) olarak tanımlanan selüloz nanokristallerin en-boy oranları, 10 ila 100 arasında geniş bir aralıkta değişmektedir. Mekanik işlemler ile üretilen selüloz nanofibrillerin çapları birkaç nanometreden bir mikrona kadar geniş bir aralık göstermektedir. Kimyasal veya enzimatik ön muamele ile kombine olarak gerçekleştirilen mekanik işlemler sonucu ise 5 – 60 nm civarında nispeten homojen bir çap dağılımına ve birkaç mikrona kadar uzunluğa sahip nanoselüloz elde edilebildiği ifade edilmektedir. Biyolojik süreçler sonucu üretilen bakteriyel nanoselüloz ise 20 – 100 nm çapa sahiptir (Wang vd., 2019).

### **2.2.2. Nanoselüloz Üretiminde Mekanik Yöntemlerin Kullanımı**

Bitki kaynağı ne olursa olsun, selüloz nanofibrilasyonu için yoğun bir mekanik işlem gerekli olmaktadır. Mekanik işlemlerin temel fonksiyonu yüksek basınç ve kesme kuvveti altında selülozik liflerin birbirinden ayrılmasıdır. İlgili mekanik işlemler arasında rafinasyon ve homojenleştirme, mikroakışkanlaştırma, bilyalı öğütme, kriyo-ezme, buharlı patlatma ve ultrases işlemleri yer almaktadır. Selülozun mekanik defibrilasyonunu artırmak için bir ön işlem olarak kullanılan 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidinilloksi (TEMPO) oksidasyonu ve karboksimetilasyonu ise üretilen nanoselüloz için bir yüzey modifikasyon aracı olarak kabul edilmektedir (Kamel vd., 2020). Mekanik yöntemlerin avantajları arasında basit bir işlem olması, nispeten ucuz ekipmanların kullanılması, çoğu biyokütle türünde geniş bir uygulanabilirliğe sahip olması ve oda sıcaklığında yüksek miktarlarda nanoselüloz üretilmesi gösterilebilir (Noremylia vd., 2022).

### **2.2.3. Nanoselüloz Üretiminde Kimyasal Yöntemlerin Kullanımı**

Nanoselüloz, selüloz molekülleri arasındaki glikozidik bağların kısmi kimyasal hidrolizi ile de üretilmektedir. Mekanik yöntemlerin yüksek enerji gereksinimi nedeniyle nanoselüloz üretiminde kimyasal süreçlerin kullanımı da önem kazanmıştır (Noremylia vd., 2022). Kimyasal hidroliz, asit hidrolizi, enzimatik hidroliz ve derin ötektik solvent, iyonik sıvılar, kolin klorür gibi farklı çözeltilerle selülozun hidrolizini içermektedir. Kimyasal hidrolizin avantajları arasında basit ekipman ihtiyacı, çalışma kolaylığı ve düşük maliyet gösterilebilir. Asidik hidroliz genellikle sülfürik asit, hidroklorik asit, fosforik asit gibi asitler kullanılarak yapılmaktadır ve işlem esnasında genellikle sodyum hidroksit ve potasyum hidroksit gibi alkali çözeltiler de nötralizasyon amacıyla kullanılmaktadır (Noremylia vd., 2022).

Selüloz nanokristalleri 50 nm'ye kadar çap ve 3 mikrona kadar uzunlukta kısa bir çubuk şekline sahip olup özellikleri bitki tipine ve ekstraksiyon yöntemine göre değişse de genel olarak yüksek kristallik derecesine (%54 – 88) sahiptir (Wang vd., 2019). Genel olarak, uzun reaksiyon süresi sonucu aşırı hidroliz nedeniyle mekanik yöntemlere kıyasla düşük verim elde edilmektedir. Diğer yandan, asit hidrolizi sonucu elde edilen nanoselülozların su ve organik çözücülerde stabil bir süspansiyon oluşturduğu ve düşük yüzey yükü nedeniyle topaklanma eğiliminin düşük olduğu bildirilmektedir (Noremylia vd., 2022). Hidroliz işlemini ele alan çalışmalarda genellikle %60 – 65 (w:w) sülfürik asit konsantrasyonu, 20 – 80 °C işlem sıcaklığı ve 10 – 90 dk. işlem süresi parametrelerinin ele alındığı görülmektedir.

Asidin selülozun amorf bölgelerine nüfuz etmesi, selüloz molekülleri arasında yer alan hidrojen bağları nedeniyle zorluklar doğurabilmektedir. Bu nedenle, asit hidrolizi öncesi lignoselülozik materyal genellikle alkali çözücüler ile muamele edilmektedir. Sodyum hidroksit gibi alkali çözeltiler, hemiselüloz ve ligninde yer alan moleküller arası  $\alpha$ - ve  $\beta$ -aril eter bağlarını kırarak ileri işlemler için yüzey alanını artırmaktadır (Noremylia vd., 2022). Hidroliz işleminden sonra reaksiyonu durdurmak için ise deiyonize su kullanılmaktadır. Bu karışım daha sonra bir dizi ayırma adımına (santrifüjleme veya filtrasyon) tabi tutulmakta ve kalan asit veya nötralize tuz uzaklaştırılmaktadır. Ultrases işlemi de nanoselüloz kristal veya fibrillerinin süspansiyonda dağılmasını kolaylaştırmak için kullanılabilir (Mateo vd., 2021).

### **2.3. Nanoselüloz Ekstraksiyonunda Yenilikçi Yöntemlerin Kullanımı**

Ekstraksiyon işlemi analitik prosedürlerde ve hedef bileşenlerin doğal kaynaklardan geri kazanımında önemli bir basamak olarak uygulanmaktadır (Azmir vd., 2013; Picot-Allain vd., 2021). Konvansiyonel ekstraksiyon yöntemleri, zaman alıcı olması ve yüksek miktarda organik solvent kullanımı gibi nedenlerden dolayı ekonomik, sağlık ve çevresel açılardan birtakım dezavantajlara sahiptir (Chaves vd., 2020). Son yıllarda doğal bileşenlerin kullanımına ilişkin yükseliş gösteren farkındalık ile beraber sürdürülebilir kalkınma ve çevresel korumaya ilişkin artan kamu bilinci, yeni ekstraksiyon yöntemlerinin geliştirilmesinin önünü açmıştır (More vd., 2022). Bu amaçla, sentetik ve organik kimyasalların kullanımını azaltması, işlem süresini kısaltması, alternatif solventlerin kullanımına olanak tanınması, daha yüksek ekstraksiyon verimi ve ekstrakt kalitesi sağlaması nedeniyle güvenilir ve çevre dostu olan yenilikçi ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir (Panda ve Manickam, 2019). Geleneksel olmayan ekstraksiyon yöntemleri arasında yenilikçi teknoloji (mikrodalga, ultrases, vurgulu elektrik alan, vb.) kullanımı ile işlem süresi, enerji

tüketimi ve organik çözücü kullanımı sınırlandırılırken (Zwingelstein vd., 2020), yeşil solvent (su gibi subkritik solventler, karbondioksit (CO<sub>2</sub>) gibi süperkritik solventler, iyonik sıvılar, hidrotropik çözeltiler, derin ötektik çözeltiler, vb.) kullanımı ile daha güvenli ve alternatif çözücü kullanımına imkân sağlanmaktadır (Ling ve Hadinoto, 2022). Ekstraksiyon verimi çözücü seçiminden önemli derecede etkilenmektedir (Saini ve Keum, 2018). Hedeflenen bileşiğin polaritesi çözücü seçiminde en önemli faktörlerden birisidir. Bu kapsamda, çözücü ve çözünen bileşikler arasındaki moleküler benzerlik, kütle transferi açısından etkili olmaktadır (Ameer vd., 2017).

Mikrodalga teknolojisi, etkinliği ve kolay kullanımı nedeniyle yaygın olarak kullanılmakta ve geleneksel yöntemlere iyi bir alternatif olarak kabul edilmektedir (Saini ve Keum, 2018). Mikrodalga ekstraksiyon tekniği, mikrodalga enerjisi ile materyalden bir solvent içerisinde çözünür bileşenlerin ekstraksiyonu için kullanılan yenilikçi bir yöntem olarak geliştirilmiştir (Osorio-Tobón, 2020). Bu yöntemin genel mekanizması, artan sıcaklık ve basınç altında numune matriksinin aktif bölgelerinden çözünen maddelerin ayrılması, çözücünün numune matriksi boyunca difüzyonu ve çözünen maddelerin numune matriksinden çözücüye salınması şeklinde üç adımı içermektedir (More vd., 2022). Mikrodalga ekstraksiyon işlemi daha homojen ve hızlı ısıtma ile yüksek ekstrakt verimi elde edilmesine olanak sağlamakta, ayrıca organik solvent kullanımını azaltması nedeniyle yeşil bir teknoloji olarak kabul edilmektedir (Jha ve Sit, 2022). Mikrodalga işleminin kısa işlem süresi, düşük bakım maliyetleri ve enerji tasarrufu sağlaması gibi birçok ek avantajları da bulunmaktadır (Pradhan vd., 2022). Mikrodalga destekli ekstraksiyon sonucu üretilen nanoselüloz örneklerinin, ticari nanoselüloza kıyasla daha yüksek ısıl stabiliteye sahip olduğu bildirilmektedir (Qian vd., 2021). Mikrodalga ön işleminin aynı zamanda bitkisel atıklardan selüloz dışı bileşenlerin etkin şekilde ayrıştırılmasında etkili olduğu ve işlem süresi ile enerji tüketimini önemli ölçüde azaltabildiği rapor edilmiştir (Camani vd., 2020).

Hidrotropik solvent ekstraksiyonu, toksik çözücü kullanımını en aza indiren/ortadan kaldıran, ekstraksiyon süresini ve sıcaklığını azaltan ve alternatif çözücülerin kullanımına izin veren alternatif bir yeşil teknoloji olarak özellikle son yıllarda birçok uygulamada ön plana çıkmaktadır (Gençdağ vd., 2021). Hidrotroplar, bir anyonik grup ve bir hidrofobik aromatik halkadan oluşan, suda yüksek oranda çözünür nitelikte iyonik ve organik bileşiklerdir (Narayanan vd., 2022). Hidrotropik çözücüler kullanılarak asitler, alkoller, aldehitler, esterler, yağlar, hidrokarbonlar ve ketonlar gibi çeşitli organik maddelerin çözünürlüğü artırılabilir (Dhapte ve Mehta, 2015). Hidrotropik çözücüler ilk olarak bitkisel

matriksteki hücre duvarının yüzeyine adsorbe olmaktadır. Hidrotropoların hücre duvarına nüfuz etmesiyle yapıdaki moleküler düzensizlik indüklenmekte ve böylece hücre zarının moleküler yapısında değişimler meydana gelerek zarın geçirgenlik özellikleri değişmektedir. Böylelikle, ekstrakte edilmek istenen biyomoleküle hidrotropik çözücüler tarafından kolayca erişim sağlanmaktadır (Nagarajan vd., 2016; Subbarao vd., 2012). En yaygın kullanılan hidrotropik çözücülerden olan ve geri dönüştürülebilir bir aromatik asit olan *p*-tolüensülfonik asitin, lignoselülozik materyallerde biyokütle fraksiyonasyonu sırasında yapıdaki selüloz içeriğini korurken hemiselüloz ve lignini hızlı bir şekilde çözebildiği rapor edilmiştir (An vd., 2020). Ek olarak, hidrotropik solvent kullanımı ile düşük işlem sıcaklıklarında yüksek kristallik derecesine sahip nanoselüloz üretiminin mümkün olabileceği bildirilmektedir (Jiang vd., 2020).

Derin ötektik solvent, esas olarak hidrojen bağı etkileşimleri yoluyla bağlanabilen en az birer hidrojen verici ve alıcı grup içeren ve genellikle iki veya üç bileşenden oluşan karışımlardır (El Achkar vd., 2021). Derin ötektik solventler, düşük maliyet, düşük toksisite, uçucu olmama, termal kararlılık, tekrar kullanılabilirlik ve biyolojik olarak parçalanabilirlik gibi özellikleri ile hem polar hem de apolar bileşenlerin yüksek verimlilikte eldesinde kullanılabilir (Fernandes ve Cunha, 2018; Omar ve Sadeghi, 2022). Derin ötektik solvent uygulamasının bir diğer avantajı, proton ve elektron bağışlama ve kabul etme yeteneği sayesinde hidrojen bağı oluşturma kapasitesinin yüksek olması ve böylece daha iyi çözme özellikleri sergilemesidir (Cvjetko Bubalo vd., 2016). Geleneksel organik çözücülerle karşılaştırıldığında, derin ötektik solventler genellikle çok düşük bir buhar basıncı göstermekte; böylelikle atmosferik kirlilik ve buhar yanıcılığı gibi çevresel risk faktörlerini azaltmaktadır (Wu vd., 2021). En yaygın kuaterner amonyum tuzlarından biri olan kolin klorür, yüksek termal ve kimyasal kararlılık, biyolojik olarak parçalanabilirlik ve düşük toksisite gibi özellikleri ile derin ötektik çözücüler sentezlemek için sıklıkla kullanılmaktadır (Gençdağ vd., 2021). Son yıllarda, bitkisel ve hayvansal materyallerden derin ötektik çözücüler ile biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunu ele alan çalışmalar hız kazanmıştır (Barbieri vd., 2020; Mansur vd., 2019; Oomen vd., 2020; Rashid vd., 2022; Zheng vd., 2022). Derin ötektik solvent ile üretilen nanoselüloz tozlarının sulu sistemlerde yüksek dispersiyon özellikleri göstermesi gibi önemli teknolojik avantajlara sahip olduğu bildirilmektedir (Wu vd., 2022).

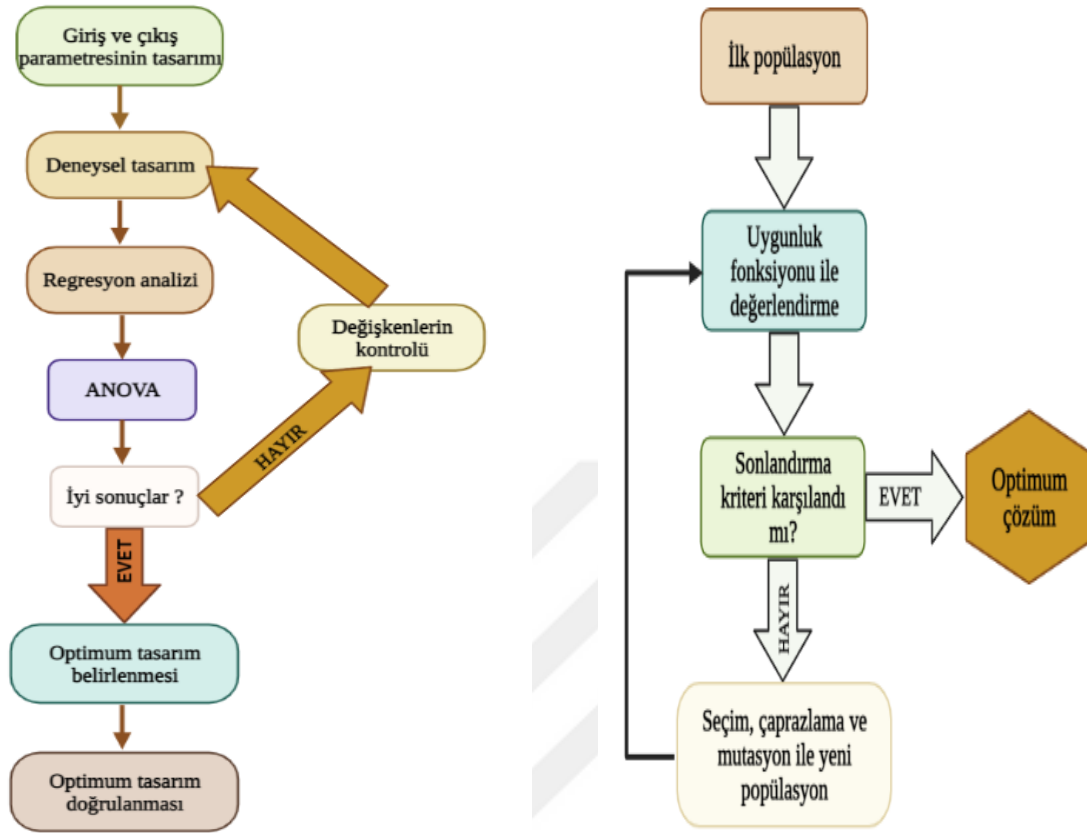
## 2.4. Ekstraksiyon İşlemlerinde Optimizasyon Uygulamaları

Optimizasyon terimi, bir prosedürde mümkün olan en iyi yanıtı (yüksek verim, düşük degradasyon oranı, vb.) üreten işlem koşullarının belirlenmesi amacıyla kullanılan uygulamaları kapsamaktadır (Bezerra vd., 2008). Bu işlem genel olarak çok değişkenli istatistiki teknikler kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Deneysel tasarım, özellikle birden fazla bağımsız faktörün yer aldığı işlemlerde parametrelerin optimizasyonuna izin veren bir araçtır (Yahya vd., 2019).

Farklı deneysel tasarım yöntemleri arasında yanıt yüzey yöntemi (RSM), birçok alanda kullanılabilen etkili bir istatistiki modelleme aracı olarak ön plana çıkmaktadır. RSM, optimum bir yanıt elde etmek için tasarlanmış deneylerin modellenmesi, simülasyonu ve optimizasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (Thakur vd., 2020). RSM yaklaşımında yaygın olarak kullanılan merkezi tümleşik tasarımda (CCD) ise, bağımsız değişkenlerin öngörülen yanıt üzerindeki ana etkileşimleri ile ikinci dereceden etkileri hesaplanmakta ve değişkenler ile yanıtlar arasındaki korelasyonlar da hesaba katılarak prosese özgü matematiksel bir denklem önerilmektedir (Salari vd., 2019). Ekstraksiyon işlem parametrelerinin RSM yöntemi ile incelenerek en uygun işlem koşullarının belirlendiği çalışmalar literatürde geniş bir yer kaplamaktadır (Bacha, 2022; Guo vd., 2020; Jouki vd., 2014; Raza vd., 2017; Wijaya vd., 2019; Xue vd., 2019; Yahya vd., 2019). Bununla birlikte, RSM'nin yalnızca ikinci dereceden doğrusal olmayan korelasyonu varsayabilmesi, bağımsız değişken sınırlarının belirlenmesinde yaşanan güçlükler gibi nedenler kullanımını sınırlandırabilmektedir (Mukherjee vd., 2019).

Genetik algoritma (GA), doğal evrimden ilham alan teknikleri kullanan, doğal seleksiyon ve genetik kavramları (Darwin evrim hipotezi, çaprazlama ve mutasyon, vb.) üzerine kurulmuş arama tabanlı algoritmalar (Salari vd., 2019). GA ile optimizasyon tekniği ilk olarak 1975 yılında genetik ve evrimsel fikirlere dayanan bazı optimizasyon problemlerini çözmek için geliştirilmiştir (Hassanat vd., 2019). GA, çok boyutlu karmaşık problemleri minimum hesaplama gereksinimleriyle çözme yeteneklerinden dolayı süreç optimizasyonunda yeni bir önem kazanmıştır (Tumulu ve Heikkilä, 2019). Son yıllarda, bitkisel materyallerden biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda, işlem koşullarının optimize edilmesi amacıyla GA yönteminin kullanıldığı çalışmalar literatürde hız kazanmıştır (Bhagya Raj ve Dash, 2020; Jha ve Sit, 2021; Muthusamy vd., 2019; Patra vd., 2022, 2021; Xue vd., 2020).

Günümüzde en sık kullanılan optimizasyon yaklaşımlardan ikisi olan RSM ve GA tekniklerine ait akış diyagramları Şekil 2.2’de sunulmuştur.



*RSM akış diyagramı*

*GA akış diyagramı*

Şekil 2.2. RSM ve GA ile optimizasyon yöntemlerine ait akış diyagramları

## 2.5. Kriyoprotektanlar

Kriyoprotektan, biyolojik bir dokuyu buz oluşumu kaynaklı donma hasarından koruyan bileşenler için kullanılan bir terimdir. Kriyoprotektanlar temel olarak sistemdeki toplam çözünen madde konsantrasyonunu artırarak donma esnasında oluşan buz miktarını azaltmaktadır (Joshi, 2016). Donma hasarını engellemek için kriyoprotektan ajan kullanılarak buz kristali oluşumunun engellenmesi/azaltılması ve hücre membranlarının yapısal bütünlüğünün korunması hedeflenmektedir. Bazı kriyoprotektanlar membran geçirgenliğini artırarak hücre içerisindeki suyun dışarı sızmasını ve dolayısıyla hücre içi buz kristali oluşumunu engelleyebilmektedir (Raju vd., 2021). Kriyoprotektan kullanımının aynı zamanda hücre içerisine oksijen girişini sınırlandırarak oksidasyon ve esmerleşme tepkimelerini engelleyebildiği bildirilmiştir. Bu etki ise hücre içerisindeki serbest su miktarının azalması ile donma noktasının düşmesi ve buna paralel olarak camsı geçiş sıcaklığının artması ile ilişkilendirilmektedir (Neri vd., 2020). Kriyoprotektan ajanlara bağlı olan su “ozmotik olarak



inaktif” kabul edilmekte ve buz kristallerinin oluşumuna katılmamaktadır (Elliott vd., 2017). Dondurulmuş gıdaların nihai kalitesi, donma hızı, dondurulacak gıda materyalinin cinsi ile donma işlemi sırasında oluşan buz kristallerinin yapısı, boyutu ve dağılımı ile değişebilmektedir (Dalvi-Isfahan vd., 2019; Yang vd., 2020).

### **2.5.1. Kriyoprotektan Türleri**

Kriyoprotektanlar hücresel yapı içerisine nüfuz edebilme kabiliyetlerine göre iki farklı gruba ayrılabilir. Yapıya nüfuz edebilenler genellikle dimetil sülfoksit ve prolin gibi küçük ve iyonik olmayan moleküllerdir; dolayısıyla hücre membranlarından kolaylıkla difüze olabilmektedirler. Bu moleküller çözünme esnasında ise buz rekristalizasyonunu engellemekte veya azaltmaktadır. Şekerler, antifriz proteinler, polivinil alkol ve grafen oksit gibi hücre membranını geçemeyen kriyoprotektanlar ise genellikle geniş ve uzun zincirli polimer yapısındadır (Liu vd., 2021a). Bu moleküller hücre içerisine girememelerine rağmen hücreler arası boşlukta buz kristali gelişimini engelleyebilmektedir. Hücreye nüfuz edemeyen kriyoprotektanlar aynı konsantrasyonda nüfuz edebilenlere kıyasla daha düşük oranda toksisite göstermektedir. Ayrıca, kullandıkları üründe dehidrasyon oranı daha düşük olmaktadır (Raju vd., 2021).

Kriyoprotektan olarak tanımlanan ilk moleküller, kutup bölgesinde yaşayan ve çok düşük sıcaklıklarda hayatta kalabilme kabiliyetine sahip balıklardan izole edilen antifriz proteinlerdir. Sonrasında böcek ve bakteri gibi farklı organizmaların dokularından da kriyoprotektan özellikli moleküllerin izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Liu vd., 2021a). Kriyoprotektan ile ilgili ilk çalışmalarda en yaygın kullanılan ajanlar gliserol ve dimetil sülfoksittir. Gliserol 1949 yılında kriyoprotektan bir ajan olarak tanımlanırken, dimetil sülfoksit 1959’da tanımlanmıştır. Yaygın kullanımlarına rağmen her iki bileşik de belirli dozlarda toksisite gösterdiğinden birçok farklı uygulama için sınırlı miktarlarda kullanılabilirler (Raju vd., 2021). Diğer yandan, endüstriyel uygulamalarda ağırlıklı olarak kullanılan sentetik kriyoprotektanların toksik etkiler göstermesi nedeniyle tüketici algısında endişelere yol açtığı vurgulanmaktadır (Weng vd., 2019). Sentetik kriyoprotektanlar özellikle hipoglisemi ve diyabet hastaları için endişeler oluşturmakta, bunun yanı sıra çölyak, sindirim sistemi ve diş hastalıkları ile bağlantılı olabileceğine dair bulgular nedeniyle kullanımları sınırlandırılmaktadır (Sharma vd., 2018; Sharma vd., 2019). Hücre içine geçirgenlik göstermeyen yüksek moleküler ağırlıklı doğal kriyoprotektan ajanların ise daha az toksik etkiye sahip olduğu belirtilmektedir (Elliott vd., 2017).

Kriyoprotektanlar basit şekerler, inorganik tuzlar, proteinler, hidrokolloidler ve dondurma işleminden kaynaklanan hasarı engelleme kabiliyeti olan diğer bileşiklerin de dahil olduğu geniş bir grubu kapsamaktadır. Kriyoprotektan ajanlar gıdalarda doğal olarak bulunabildiği gibi proses esnasında formülasyona da eklenebilmektedir. Bu ajanların etkinlikleri dondurma yöntemi ve ürünün fizikokimyasal özellikleri gibi faktörlere bağlıdır (Neri vd., 2020). Kriyoprotektan kullanımı, endüstriyel boyutta üretilen gıda ürünlerini donma hasarlarından korumak için en etkili yaklaşımlardan birisidir. Bu ajanlar genellikle bitkisel kaynaklardan doğal veya ihtiyaca göre sentetik olarak üretilmektedir (Neri vd., 2020).

### **2.5.2. Kriyoprotektanların Gıdalarda Kullanım Alanları**

Hidrokolloidlerin yüksek su tutma kapasitelerinden dolayı kriyoprotektan ajan olarak dondurulmuş gıda ürünlerinde kullanımını ele alan çalışmalar bulunmaktadır. Hidrokolloidler, polisakkaritler ve proteinler gibi polimerler, donmuş ürünleri stabilize edebilen, yeniden kristalleşmeyi, faz ayrılmasını, nem transferini veya depolama sırasında hacim azalmasını engelleyen özellikte kriyoprotektanlardır. Bu moleküller genellikle yüksek molekül ağırlığı ve hidrofiliklik derecesi ile karakterize edilmekte ve gıda sistemlerinin reolojik ve dokusal özelliklerini etkileyebilmektedir. Örneğin, dondurulmuş patates püresinde kriyoprotektan kullanımının tekstür, kremsilik, aroma ve renk özelliklerini önemli ölçüde iyileştirdiği ve nişasta retrogradasyonunu engellediği tespit edilmiştir (Neri vd., 2020). Hidrokolloidlerin donmuş fırıncılık ürünlerinde de nem kaybını engelleyerek ve bayatlamayı geciktirerek depolama stabilitesini artırdıkları bildirilmiştir. Çözünürlük, su tutma kapasitesi, reolojik özellikler ve diğer bileşenler ile etkileşimleri gibi faktörler, hidrokolloidlerin donmuş gıdalardaki kriyoprotektan etkinliği üzerindeki etkili faktörlerdendir (Maity vd., 2018). Diğer yandan, şekerler duyuşal özellikler üzerinde olumsuz olmayan etkilerinden dolayı özellikle dondurulmuş meyvelerde kriyoprotektan ajan olarak kullanılabilen tuzlar sebze ve et ürünlerinde kriyoprotektan olarak tercih edilmektedir (Neri vd., 2020). Ayrıca, nano boyuttaki moleküllerin hücresel yapılara daha kolay nüfuz edebilmesi nedeniyle buz kristali oluşum mekanizmasına etki etme potansiyelinden yola çıkılarak, bu tür bileşenlerin kriyoprotektan etkinlikleri de test edilmektedir. Nano yapıdaki bitkisel nanoselülozun düşük molekül boyutu sayesinde kriyoprotektan ajan olarak vitrifikasyon veya camsı yapı oluşumunu sağlamada hidrokolloidlere kıyasla önemli avantajlara sahip olabileceği ifade edilmektedir (Chirayil vd., 2014).

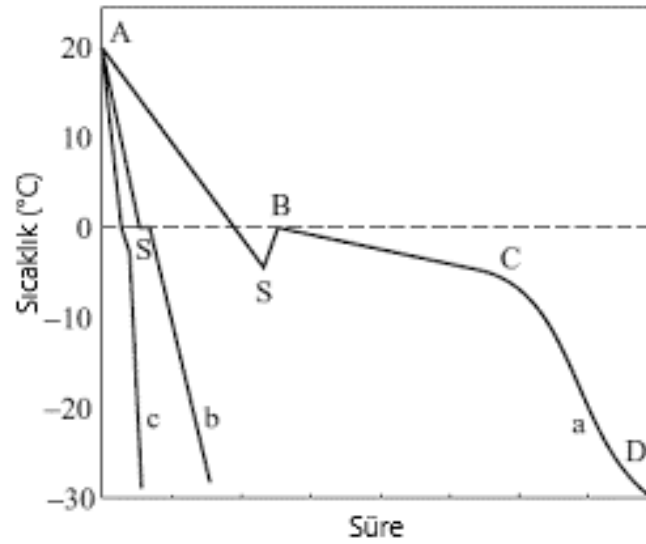
Kriyoprotektanlar püre ve meyve suyu gibi ürünlerin formülasyonuna rahatlıkla eklenebilmekte iken bütün/parçalanmamış gıdalara kriyoprotektanların uygun yöntemlerle dokulara aktarılması gerekmektedir. Gıda proseslerinde bu işlem dondurma öncesi bir ön işlem olarak genellikle ozmotik dehidrasyon ve vakumlu emdirim teknolojileri ile gerçekleştirilmektedir. Dondurulmuş meyve ve sebze ürünlerinde kriyoprotektan kullanımının bitkisel dokularda buz kristali kaynaklı hasarı azaltarak damlama kaybını azalttığı; biyoaktif bileşikler, renk ve aroma özelliklerini iyi düzeyde koruyarak ürün kalitesini üst düzeyde tutabildiği belirtilmektedir (Neri vd., 2020).

## **2.6. Dondurma İşlemi**

Dondurma işlemi gıdaların uzun süreli muhafaza edilmesini sağlayan en etkili yöntemlerden birisidir. Genel olarak “dondurma” terimi, ürün sıcaklığının donma noktasının altına düşürülmesini ifade etmektedir. Dondurma işlemi mikrobiyal gelişmeyi engellediğinden ve enzim aktivitesini önemli ölçüde yavaşlattığından gıdaların uzun raf ömrüne sahip olmasını sağlamaktadır (Hu vd., 2022; James vd., 2015). Dünya genelinde dondurulmuş gıda pazarının gün geçtikçe büyüdüğü yapılan araştırmalarla ortaya konulmaktadır (Kölzer vd., 2019). Ticari ölçekte dondurulmuş gıda üretimine 1940 yılında başlandığı bilinmesine karşın önceki dönemlerde de dondurulmuş gıda ticareti ve nakliyesinin yapıldığı; ancak nihai ürünün tüketiciye genellikle dondurulmuş formda iletilmediği bildirilmektedir. Mevcut durumda, küresel dondurulmuş gıda pazarı 300 milyar doların üzerinde bir büyüklüğe sahiptir (Cleland, 2020). Türkiye’de ise dondurulmuş gıda üretiminin temelleri 30 yıl kadar önce atılmış ve devamındaki süreçte sektör hızla gelişmeye devam etmiştir. Ülkemizde tüketicilerin gıda seçimlerinde ve tüketim alışkanlıklarında değişim meydana gelmesi ile önceleri sadece ihracat ağırlıklı çalışan dondurulmuş gıda sektörü son yıllarda yurt içi piyasasında da gelişme katetmiştir. Ayrıca, dondurulmuş et, balık, meyve ve sebze gibi gıdaların yanında dondurulmuş tatlı, unlu mamul, atıştırmalık gibi isteğe bağlı ürünlerin de geliştirilmesi dondurulmuş gıda alanında geniş bir yelpaze oluşumunun önünü açmıştır (Bektaş vd., 2010).

Gıdaların temsili donma eğrileri Şekil 2.3’te sunulmuştur. Donma işlemi, buz kristallerinin oluşup kaybolduğu ve kararsızlığın hüküm sürdüğü ön soğutma işlemi ile başlamaktadır. Bu aşamada kristalizasyon geciktiği için ürün sıcaklığı 0 °C’nin altına düşmekte, bu olay ise aşırı soğuma olarak isimlendirilmektedir (A ve S arasındaki bölge). Buz kristallerinin oluşumunun başlangıcı ile kristalizasyon gizli ısıyı ortaya çıkarmakta ve böylece sıcaklık denge donma noktasına yükselmektedir (S ve B arasındaki bölge). Donma bölgesi

olarak bilinen B–C arasında kristalizasyon gizli ısısı ile gıda içerisinde bulunan suyun neredeyse tamamı donmaktadır. Başlangıçta serbest su molekülleri buz kristallerine dönüşürken, akabinde içerisinde çözünen bileşenlerin bulunduğu su molekülleri kristalize olmaktadır. Son aşamada ise (C–D) ürün sıcaklığı ile dondurucu sistem sıcaklığı eşitlenene dek, sıcaklık düşüşü devam etmektedir. Kısacası, su içeriği ve bu suyun diğer bileşenlerle etkileşimleri gibi durumlar nedeniyle gıdalar belirli bir sıcaklıkta donmaya başlamakta, donmanın tam olarak gerçekleştirilebilmesi için ise her gıdaya özgü olan son kriyohidrik noktaya erişilmesi gerekmektedir (Demiray ve Tülek, 2010; Cemeroğlu, 2018). Ek olarak, dondurma hızının yüksek olması durumunda donma işlemi çok daha kısa sürelerde gerçekleşmekte, bu durum ise üründe küçük buz kristallerinin oluşumu ile sonuçlanmaktadır.



**Şekil 2.3.** Gıdaların farklı hızlarda dondurulması ile oluşan donma eğrileri (a: Çok yavaş, b: Hızlı, c: Çok hızlı) (Demiray ve Tülek, 2010)

Dondurma işlemi sırasında hücre zarı, duvarı, sitoplazma ve hücrelerarası boşlukta meydana gelen değişiklikler, gıdanın tekstürü, besin içeriği, tat ve aroma gibi kalite özelliklerini doğrudan etkilemektedir. Bitki hücreleri 30 – 300 µm arasında değişen boyutlara sahip, çokgen prizma şeklinde hücrelerdir. Dokuyu oluşturan bu hücrelerin arasında küçük hava boşlukları bulunmaktadır. Oluşan boşluklar, dondurma işlemi sırasında ısı ve kütle transferini etkileyerek hücre dışı buz kristali oluşumunu sağlamaktadır. Hayvan hücreleri ise 10 – 100 µm uzunluğunda, yuvarlak yapıda, hücreler arasında neredeyse hiç boşluk olmayan yapılardır. Hücrelerin boyutu, hücresel bütünlüğü korumak için donma sırasında oluşacak buz kristallerinin maksimum boyutunu belirlemektedir. Bu nedenle, donma sırasında hayvansal gıdalardaki mikro yapıyı korumak, bitki bazlı gıdalara göre daha küçük buz kristalleri oluşturmayı gerektirdiğinden daha zordur (Li vd., 2018).

Bitki hücreleri dondurulurken, suyun kristalizasyonu ilk önce hücreler arası boşluklarda gerçekleşmektedir. Hücre dışında buz kristallerinin oluşması ve büyümesi sonucunda ise, hücre içi sıvısına kıyasla konsantrasyonu daha yüksek ve donmamış bir çözelti meydana gelmekte, böylece hücre içinde ve dışındaki donmamış sıvılar arasında ozmotik basınç farkı oluşmaktadır. Oluşan ozmotik basınç farkının dengelenmesi için hücre içinden hücre dışına su transferi gerçekleşmekte ve böylece hücre dışındaki buz kristallerinin boyutu daha fazla artmaktadır. Hücre içindeki öz suyunu kaybeden hücreler kuruyarak hücre içi sıvısının yoğunluğunu artırmaktadır. Buna bağlı olarak da hücre içi sıvısının donma noktası düşmekte ve hücre içinde buz kristali oluşumu engellenmektedir. Bitki hücrelerinde bulunan “hücre zarı-hücre duvarı” kompleksi hücre içinde buz kristali oluşumunu engellerken, hayvansal hücrelerde bu engelleme rolü kısıtlıdır. Bitkisel gıdalardaki su koful, sitoplazma ve hücre dışı suyu olmak üzere farklı kategorilere ayrılmaktadır. Bu gıdalar dondurulurken su, kofulun içinden tonoplast yolu ile sitoplazmaya veya sitoplazmadan hücreler arası boşluğa transfer edilmektedir. Daha sonra su, hücre zarı ve hücre duvarı boyunca ilerleyerek hücreler arasındaki boşluğa hareket etmektedir. Hayvansal gıdalarda ise dondurma işleminde su, sitoplazmadan hücreler arası boşluklara nüfuz etmektedir (Demiray ve Tülek, 2010; Li vd., 2018).

Kristalleşme dondurma işlemi sırasında meydana gelen önemli bir termo-fiziksel olaydır ve moleküllerin bir sıvı içerisinde katı bir faz olarak düzenlenmesiyle ortaya çıkmaktadır (Banerjee ve Maheswarappa, 2019). Buz kristallerinin oluşumu, gıda bünyesindeki suyu oksidasyon, enzimatik ve diğer biyokimyasal reaksiyonlar için kullanılamaz hale getirmesinin yanında mikrobiyal çoğalmayı azaltmaktadır. Diğer yandan buz kristali oluşumu, daha uzun muhafaza süresi sağlamasına rağmen dokusal hasarlara da yol açabilmektedir (Dey vd., 2020). Kristalizasyon temel olarak aşırı soğuma, çekirdeklenme, çekirdek büyümesi ve rekristalizasyon olmak üzere dört aşamadan meydana gelmektedir. Aşırı soğuma aşamasında, sıvının sıcaklığı donma noktasının altına düştüğünde çekirdeklenme için itici bir güç meydana gelmektedir. Çekirdeklenme aşamasında ise kristallenme için bir itici güç başlamakta ve kararlı bir çekirdek yapısı oluşmaktadır. Bu aşamada çekirdek kendiliğinden oluşabildiği gibi halihazırda oluşmuş olan bir kristal parçasından da oluşabilmektedir. Çekirdek büyümesi aşamasında itici güçlere bağlı olarak kristallerin boyutunda artış meydana gelmektedir. Son aşama olan rekristalizasyonda ise kristal kütlesi sabit kalırken, kristallerin boyut ve şekillerinde değişiklikler meydana gelmektedir (Banerjee ve Maheswarappa, 2019). Donmuş gıdaların muhafazası ve taşınması

sırasında öngörülemeyen sıcaklık dalgalanmaları meydana gelebilmekte ve bu nedenle oluşan büyük buz kristalleri gıda kalitesini olumsuz yönde etkileyen rekristalizasyona neden olmaktadır (Jia vd., 2022).

Buz kristallerinin boyutu, morfolojisi ve dağılımı, kristallerin çekirdeklenmesini ve büyümesini etkileyen donma hızı gibi koşullardan büyük ölçüde etkilenmektedir. Yavaş hızda dondurmanın hücre dışında daha büyük buz kristalleri oluşturduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Cao vd., 2003; Kaale vd., 2013; Qian vd., 2022). Yavaş donma sonucu hücrelerin dışı hücre içine göre daha hızlı soğumaktadır. Aşırı soğumuş hücre dışı sıvı, buz kristalleri oluşturmak amacı ile suyun çözünen maddeden ayrıldığı bir başlangıç donma noktasına ulaşmaktadır. Hızlı dondurmada ise hem hücre içinde hem de hücre dışında buz kristalleri eş zamanlı olarak oluşmaktadır. Böylelikle hücre dışı buz kristallerinin varlığı sayesinde hücre içindeki su dışarı çıkmadan önce donmaktadır. Ek olarak, hızlı dondurma işlemi daha küçük buz kristalleri oluştururken gıdalarda doku hasarını ve kalite parametrelerindeki olumsuz değişimleri minimize edebilmektedir (Banerjee ve Maheswarappa, 2019; Chevalier vd., 2000). Bu sebeple, dondurma işlemi esnasında meydana gelen kristalizasyon aşamalarını anlamak ve buz kristallerini kontrol altına alabilmek, dondurma proseslerinin iyileştirilmesi adına önemli bir adımdır. Yaygın olarak kullanılan klasik dondurma yöntemlerine ek olarak, rekristalizasyon ve damlama kaybı gibi dezavantajların üstesinden gelmek amacı ile yenilikçi dondurarak muhafaza teknolojileri üzerine gerçekleştirilen çalışmalar günümüzde halen devam etmektedir.

## **2.7. Dondurarak Muhafaza Teknikleri**

Son yıllarda tüketiciler tarafından dondurulmuş gıdalar üzerine artan bir talep mevcuttur. Diğer yandan, kurutma ve evaporasyon gibi diğer gıda işleme yöntemlerine kıyasla çok daha sınırlı düzeyde olsa da dondurma işlemi sırasında gıda kalitesini olumsuz yönde etkileyen bazı fiziksel ve kimyasal değişmelerin meydana gelmesi kaçınılmazdır. Dondurma işlemi sonucu gıdalarda solunum ile olgunlaşma gibi fizyolojik, esmerleşme ile lipid oksidasyonu gibi biyokimyasal ve nem kaybı gibi fiziksel değişiklikler meydana gelebilmektedir. Dondurma işleminin genel olarak gıdaları muhafaza etmek için etkili bir yöntem olduğu bilinse de sıcaklık, dondurma hızı, hava sirkülasyonu gibi ortam şartları ve gıda maddesinin türü ve kompozisyonu gibi faktörler göz önünde bulundurulmadığı takdirde bazı dezavantajlar ortaya çıkabilmektedir. Bu sebeple uygun dondurma yönteminin seçimi, oluşacak dezavantajları engellemede önemli bir rol oynamaktadır (James ve James, 2014).

Günümüzde endüstriyel ölçekte en yaygın kullanılan dondurucular statik, hava akımlı (air blast) ve bireysel hızlı dondurucu (IQF) sistemler olarak ön plana çıkmaktadır.

### **2.7.1. Statik Dondurma**

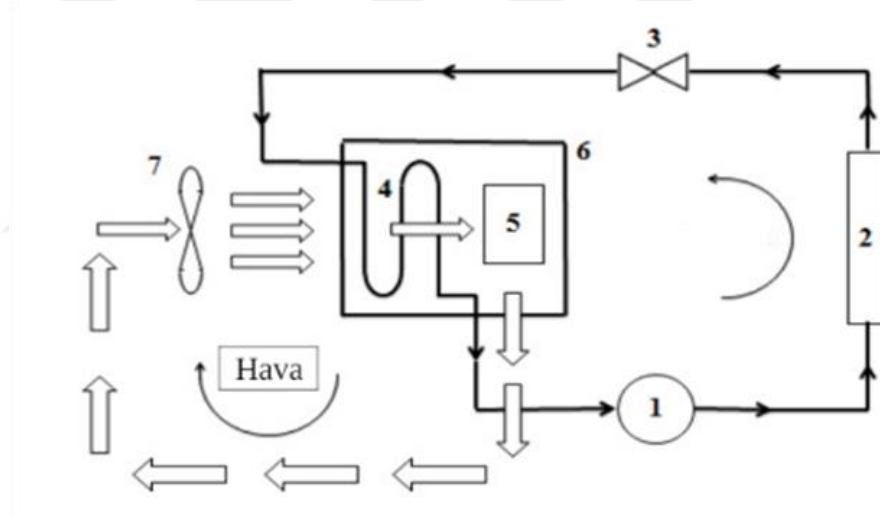
Statik dondurma yönteminde dondurucu sistem içerisindeki hava durağan halde bulunmaktadır. Bu sistemlerde kullanılan termal yalıtımlı kabinlerin sıcaklığı  $-15^{\circ}\text{C}$  ila  $-30^{\circ}\text{C}$  arasında değişmekte, dondurulacak gıdalar ise kabin içerisindeki raflara istiflenmektedir. Statik dondurma yöntemi donanım gereksinimi bakımından ucuz bir teknolojidir. Bu dondurma yönteminde hava hareketini sağlayan sistemler bulunmadığından yalnızca doğal konveksiyon yoluyla ısı transferi gerçekleşmektedir. Durgun havada ısı iletkenliği düşük olduğundan gıdaların donma süresi uzamaktadır (Alhammadity, 2022; Kayataş Ongun, 2022). Dondurma sıcaklığı dondurma süresini etkileyen en önemli faktörlerden birisidir (Devseren vd., 2018). Ayrıca ambalaj şekli, dondurulan ürünler arasındaki boşluk, dondurulan gıdanın boyutu ve cinsi gibi faktörlere bağlı olarak donma süresi değişebilmektedir (Alhammadity, 2022; Kayataş Ongun, 2022).

### **2.7.2. Hava Akımlı Dondurma**

Hava akımlı dondurma, sistem içerisinde sirküle olan düşük sıcaklıktaki hava akımının kullanıldığı hızlı bir dondurma tekniğidir. Hava akımlı dondurucu sistemlerde genellikle birden fazla pervane (fan) yardımıyla düşük sıcaklıktaki havaya hareket kazandırılmakta ve üst üste dizili tepsilerde yer alan ürünlerin hızlı ve homojen bir şekilde dondurulması sağlanmaktadır. Endüstriyel olarak 1950'li yıllardan beri kullanılan hava akımlı dondurucularda soğutma odasının iç sıcaklığında artış meydana gelmemesi için kompresör ve evaporatör gibi sistem bileşenleri tarafından sıcaklığı kontrol altında tutulan bir soğuk hava akımı kullanılmaktadır (Dempsey ve Bansal, 2012). Bu sistemler genellikle  $-35^{\circ}\text{C}$  ila  $-52^{\circ}\text{C}$  arasında bir sıcaklık aralığında çalışmaktadır. Her ürün için gereken donma sıcaklığı farklı olduğundan, enerji maliyeti gibi faktörler de hesaba katılarak amaca yönelik dondurucu sistem tasarımının gerçekleştirilmesi önem arz etmektedir. Örneğin, balık ürünlerinin muhafaza edilmesi için ortalama  $-30^{\circ}\text{C}$ 'lık bir sıcaklık gerekirken sığır eti ürünlerinin bir yıl süreli muhafazası için  $-18^{\circ}\text{C}$  ila  $-25^{\circ}\text{C}$  sıcaklık aralığı yeterli olabilmektedir (Sian vd., 2023). Hava akımlı dondurmada soğuk hava kullanımı ile ısı transfer katsayısı artırılmakta ve ürün ile hava arasındaki temas bağlı olarak zorlamalı konveksiyon ısı transferi gerçekleşmektedir (Sian vd., 2023). Hava akımlı dondurma işleminin etkinliği, dondurulacak ürünün geometrisi ve termal özellikleri, dondurucu hava hızı ve sistem içerisinde ürünlerin

yerleştirileceği rafların dizilimi gibi birtakım faktörlere bağlıdır. Bu parametreler dikkate alındığı takdirde etkin bir hava sirkülasyonu sağlanarak ürünün donması için gerekli sıcaklığa kısa sürede ulaşılabilmektedir (Syaka vd., 2019).

Hava akımlı dondurucu sistemi Şekil 2.4'te görüldüğü üzere temel olarak kompresör, kondansatör, genleşme valfi, evaporatör ve fan bileşenlerinden oluşmaktadır. Hava akımlı dondurucuda evaporatör içerisindeki bobinlerde yer alan soğutucu akışkan, dondurucu sistem içerisindeki ısıyı absorbe ederek buharlaşmaktadır. Ardından, kompresöre aktarılan gaz fazındaki soğutucu akışkan sıkıştırılarak sıvı faza geçirilmektedir. Son olarak sıkışan akışkan kondansatöre gitmekte, orada ise absorbe ettiği ısı dış ortama salınmaktadır. Bu sistem devridaim olarak devam etmektedir. Genleşme valfi yüksek ve düşük basınç noktaları arasında yeterli basınç farkının oluşmasından, fanlar ise dondurucu içindeki soğuk havanın homojen bir şekilde sirkülasyonundan sorumludur (Dempsey ve Bansal, 2012; Patel vd., 2013).



**Şekil 2.4.** Hava akımlı dondurucu şeması (1. Kompresör, 2. Tüp kondansatör, 3. Genleşme valfi, 4. Evaporatör bobini, 5. Ürün, 6. Evaporatör, 7. Fan) (Patel vd., 2013)

Hava akımlı dondurucunun en önemli avantajlarından birisi, sağladığı hava akımı sayesinde düzensiz yüzey geometrilerine sahip gıdalarda bile kolaylıkla uygulanabilir olmasıdır. Ayrıca, hava akımlı dondurucular daha yüksek çekirdeklenme noktası sağlayarak gıdalarda hücresel tahribatı engelleme açısından arzu edilen küçük buz kristalleri oluşturmaktadır (Dempsey ve Bansal, 2012).

### 2.7.3. Bireysel Hızlı Dondurma (IQF)

Bireysel hızlı dondurma (IQF), dondurarak muhafaza teknolojisinin alt dallarından olan akışkan yatak dondurucu tiplerinden birisidir. Bu teknoloji, gıdaların bir tünel içerisinde



soğuk hava akımı ile dondurulmasına dayanmaktadır. IQF sisteminde  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  ila  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  sıcaklıktaki hava, güçlü fanlar vasıtası ile üzerinde dondurulacak ürünlerin yer aldığı delikli bir bant sisteminin altından yukarı yöne iletilmektedir (Akça ve Beylikçi, 2022). Dondurulan ürünler blok olarak değil tane olarak dondurulmakta ve böylelikle ürün dış yüzeyini film gibi saran, hızlı ve bireysel bir dondurma işlemi gerçekleştirilmektedir (Kamiloğlu, 2019a). Bu sistem ile bir ürünün dondurulabilmesi için ürünün hava akımı ile akışkanlık kazanabilecek kadar küçük taneler veya parçalar halinde olması gereklidir. Bu sebeple IQF dondurma çilek, vişne, kiraz, üzüm ile dilimlenmiş şeftali, armut ve elma gibi meyveler; bezelye, bamya ile doğranmış fasulye ve karnabahar gibi sebzeler; karides ile doğranmış et ve balık gibi et ürünlerinde başarı ile uygulanmaktadır (Amit vd., 2017; Cemeroğlu 2018).

IQF sisteminde hava, güçlü fanlar yardımıyla dondurulacak ürün ve evaporatör arasında hızlı bir şekilde hareket etmekte ve böylece statik (hava akımsız) dondurma işlemine kıyasla donma işlemi çok kısa sürede gerçekleşmektedir (Kamiloğlu, 2019a). Ayrıca, IQF işlemi hava akımlı dondurma sistemlerine göre ürün kalite özelliklerini korumada avantajlar sağlayabilmektedir. Örneğin, IQF ile dondurmanın vişne örneklerinde flavonoid miktarı ve antioksidan kapasite değerini (Kamiloğlu, 2019b), çilek ve ahudududa ise askorbik asit miktarını (Stevanović vd., 2022) diğer dondurma tekniklerine kıyasla daha iyi oranda koruyabildiği gözlenmiştir. Bu durumun en önemli nedenleri arasında hızlı dondurma sonucu oluşan küçük buz kristallerinin gıda dokusunda daha az hasara sebep olması gösterilmektedir. IQF dondurucular ek olarak ticari dondurma tesisleri için daha yüksek üretim kapasitesi sağlayarak birim maliyetleri düşürdüğünden günümüzde dondurarak muhafaza teknolojisi alanında en çok tercih edilen sistemlerdendir (Amit vd., 2017; Narsaiah vd., 2021).

## **2.8. Dondurulmuş Gıdalar**

Gıdaların uzun süreli saklanması için kullanılan muhafaza teknikleri, zaman içerisinde gelişen teknolojiye bağlı olarak ilerleme göstermiştir. Geliştirilen muhafaza yöntemlerinde temel amaç, uzun vadede gıdanın kalite kriterlerini ve besin değerlerini en üst düzeyde koruyabilmektir. Tüm bu hedeflere rağmen, uygulanan her işlem sonucu ürün kalitesinde taze örneğe kıyasla değişen oranlarda kalite kayıpları meydana gelebilmektedir. Örneğin, gıdalarda yaygın olarak kullanılan kurutma ve haşlama gibi ısı işlem uygulamaları sonucu, özellikle sıcaklığa duyarlı bazı biyoaktif bileşenlerde birtakım kayıplar yaşanabilmektedir (Chutani vd., 2023). Dondurarak muhafaza, diğer yöntemlere kıyasla kalite özelliklerini en iyi derecede koruyan bir teknik olarak ön plana çıkmaktadır (George, 1993). Dondurarak muhafaza yöntemi; gıdanın kolay işlenebilir olması, besin değerini etkin şekilde koruması ve kullanım

kolaylığı gibi niteliklere sahip olmasından dolayı gerek endüstriyel gerekse bireysel tüketici çapında geniş kullanım alanı bulmaktadır (Topaloğlu ve Gülten, 2002).

Dünyada ilk olarak 1920’lerde kullanılan endüstriyel dondurma işlemi, ülkemizde 1970’li yılların başında meyve ve sebze işlemede kullanıma başlamış ve devamındaki süreçte sektör hızlı bir gelişim göstermiştir. Ülkemizdeki ilk dondurulmuş meyve-sebze işleme tesisi 1973 yılında Kayseri’de kurulmuştur. Dondurulmuş gıda sektöründe sebze ve meyvelerin yanı sıra su ürünleri ve unlu mamuller, işlem gören temel ürün grupları olarak ön plana çıkmaktadır (Hekimoğlu ve Altindeğer, 2019). Sanayileşme sürecindeki gelişmelere paralel olarak maliyetlerin düşmesi ile tüketiciler tarafından dondurulmuş gıdalara olan talep de gün geçtikçe artış göstermektedir. Dondurulmuş sebze ve meyve üretimi, toplam dondurulmuş gıda sektörü içinde %70 – 80 oranla en büyük paya sahiptir. Türkiye’de ise dondurulmuş meyve ve sebze üretiminde kullanılan hammadde ve yardımcı maddelerin tamamı yerel üreticilerden karşılanabilmektedir. Günümüzde sebzelerden patates, pırasa, bezelye ve fasulye; meyvelerden çilek, ahududu, böğürtlen, vişne, kiraz, erik ve kayısı; su ürünleri grubundan ise karides, balık kroket, kalamar, mezgit fileto gibi geniş yelpazede dondurulmuş ürün çeşitliliği mevcuttur. Unlu mamuller grubunda ise en önemli payı pizza oluştururken, milföy hamuru, ekmek hamuru, kruvasan, mantı ve bazı börek çeşitleri dondurularak pazara sunulmaktadır (Hekimoğlu ve Altindeğer, 2019).

Küresel dondurulmuş gıda pazarının her yıl büyüdüğü ve piyasa değerinin 2020 yılı itibarıyla 300 milyar doları aştığı belirtilmekte, 2024 yılına kadar ise bu değer 360 milyar dolara ulaşması beklenmektedir (Cleland, 2020; Kumar vd., 2020). Gelişmiş ülkelerde yoğun şekilde tüketilen dondurulmuş gıdalar, Türkiye’de de tüketim alışkanlıklarında görülen değişimlere bağlı olarak son yıllarda ülke ekonomisindeki payını her geçen gün artırmaktadır (Hekimoğlu ve Altindeğer, 2019). Türkiye’de en fazla ihracatı gerçekleştirilen dondurulmuş gıda ürün grupları sırasıyla tavuk, sebze, meyve, balık ve hazır gıdalar olup 2017 verilerine göre yıllık yaklaşık 100 milyon ABD doları değerinde dondurulmuş ürün, başta Avrupa Birliği ülkeleri olmak üzere tüm dünyaya pazarlanmaktadır (Bektaş vd., 2010; Karatekin, 2020).

Türkiye’de en büyük arz noktası turizm sektörü olmasına rağmen özellikle catering, restoran ve pastacılık sektörünün de dondurulmuş gıda ürünlerine yüksek oranda talebi bulunmaktadır. Aynı zamanda, tüketicilerin dondurulmuş gıda ürünlerine önyargılarının kırılması ve hizmet sektörünün gelişmesi ile birlikte bu pratik ürünlere olan talep artışının, dondurulmuş ürünlerin süpermarketlerde ürün çeşitliliği ve pazar payının artmasını

sağlamıştır. Böylece, ülkemizde 2011 yılından 2018 yılına kadar olan süreçte dondurulmuş gıda sektörünün toplam cirosunun %300'ün üzerinde artış gösterdiği belirtilmektedir (Hekimoğlu ve Altındeğer, 2019). Özellikle son dönemde, COVID-19 pandemisinin tüketici alışkanlıklarına etkilerinin incelendiği çalışmalarda insanların raf ömrü daha uzun ve stok yapmaya daha uygun olan konserve ve dondurulmuş gıdalara önceden hiç olmadığı kadar yöneldiği belirtilmektedir (Hobbs, 2020). Bu tür gelişmelerin dondurulmuş gıda endüstrisinin önümüzdeki süreçte daha da büyümesini sağlayacağına işaret edilmektedir.

## **2.9. Dondurulmuş Gıdaların Depolanması Esnasında Meydana Gelen Kalite Değişimleri**

Dondurma işlemi, gıdalarda taze örneğe yakın kalite özellikleri sağlamasına rağmen dondurulmuş ürünlerde depolama süresince bazı kalite problemleri meydana gelebilmektedir. Dondurulmuş gıda teknolojisinde yaygın olarak karşılaşılan kalite problemleri, depolama esnasında meydana gelen rekristalizasyon gibi durumların yanı sıra çözündürme esnasında meydana gelen damlama kaybı gibi fiziksel ve kimyasal/biyokimyasal değişimleri de kapsayan geniş bir yelpazeye sahiptir. Buz kristali oluşum mekanizması ve depolama esnasında meydana gelen sıcaklık dalgalanmaları, bu tür kalite problemlerinin oluşmasında en büyük etkenler arasında gösterilmektedir (Kumar vd., 2020).

### **2.9.1. Fiziksel Değişimler**

Dondurulmuş ürünlerde meydana gelen fiziksel değişimler, çoğunlukla nem migrasyonuna bağlı durumlar sonucu ortaya çıkmaktadır. Depolama esnasında meydana gelen sıcaklık dalgalanmaları, ürün içerisinde farklı sıcaklıklara sahip bölgelerin oluşmasına neden olmakta, bunun bir sonucu olarak ise ürünlerdeki nem yüksek konsantrasyona sahip bölgelerden uzaklaşma eğilimine girmektedir. Genellikle en yüksek sıcaklık farkı merkez nokta ile yüzey arasında olduğundan, nem geçişi en fazla donmuş ürünlerin yüzeyinde görülmektedir (Mulot vd., 2019). Dolayısıyla süblimasyon, rekristalizasyon ve damlama kaybı gibi nem migrasyonu kaynaklı durumlar sıklıkla ürün yüzeyinde gerçekleşmektedir. Nem migrasyonu donmuş ürünün tekstürünü önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Örneğin, dondurulmuş pizzaların hamur kısmında nem migrasyonuna bağlı yumuşama gerçekleşebilmekte, bu durum ise arzu edilmeyen tekstürel yapının yanı sıra mikrobiyal risk faktörlerini beraberinde getirmektedir (Kumar vd., 2020).

Damlama kaybı, don yanığı, don çatlağı ve rekristalizasyon, dondurulmuş ürünlerde en fazla karşılaşılan fiziksel kalite problemleri arasında gösterilmektedir. Damlama kaybı, özellikle çözündürme işlemi esnasında buzun erimesi ile ürünün nem kaybetmesi sonucu

meydana gelen bir durumdur. Damlama kaybı, uygulanan çözündürme yöntemi, ortam sıcaklığı ve ürünün geometrik yapısı gibi birçok faktörden etkilenmekte ve kimi durumda doku hasarlarına neden olabilmektedir. Buzun süblimasyonu ile üründe dehidrasyon meydana gelmekte, süblimasyonun birbirinden ayrı küçük bölgelerde gerçekleşmesiyle ise yüzeyde “don yanığı” adı verilen lekeler oluşmaktadır (Zhang vd., 2019; Demiray ve Tülek, 2010). Donma sırasında gerçekleşen en belirgin değişimlerden birisi gıdanın hacmidir. Dondurma esnasında su, buza dönüştüğünde hacmi önemli oranda artmakta, donmuş dış kabuk tarafından bastırılan iç gerilim birikiminin bir sonucu olarak ise “don çatlağı” olarak isimlendirilen çatlaklar meydana gelebilmektedir (Jiang vd., 2023). Dondurulmuş bir ürünlerdeki buz kristalleri kararsız olma eğilimindedir ve özellikle sıcaklık dalgalanmaları sonucu “rekristalizasyon” adı verilen, farklı boyut ve şekillerde buz kristallerinin oluşumu söz konusu olabilmektedir. Rekristalizasyon sonucu ortalama kristal boyutunun artması ile daha düzensiz bir mikroyapı ve dolayısıyla tekstürel kalite problemleri meydana gelmektedir (Chen vd., 2021). Tüm bu durumlardan hareketle, dondurulmuş depolama aşamasının da en az dondurma işlemi kadar büyük bir öneme sahip olduğu ifade edilebilir.

### **2.9.2. Kimyasal ve Biyokimyasal Değişimler**

Dondurulmuş gıdalarda kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonların gerçekleşmesine bağlı olarak renk ve aroma bileşenlerinin kaybı, tekstürel özelliklerde değişim ve mikrobiyal aktivitenin gerçekleşmesi gibi arzu edilmeyen durumlar söz konusu olabilmektedir. Bitkisel hücrelerde kloroplast ve kromoplast yapısının bozulmasına bağlı olarak klorofil, karotenoid ve antosiyanin gibi doğal renk maddelerinin degradasyonu; hayvansal hücrelerde ise myoglobinin metmiyoglobine dönüşümünün yanı sıra enzimatik ve enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları, renk değişiminin başlıca nedenlerindendir (Alsailawi vd., 2020). Rekristalizasyon sonucu hacim artışı gerçekleşen dondurulmuş ürünlerde hücresel yapı bozularak renk pigmentleri hücre dışına çıkabilmekte ve böylece ürün oksidasyona ve enzimatik reaksiyonlara karşı hassas durumda olmaktadır. Dondurulmuş depolama esnasında enzimatik aktivite çok düşük düzeyde olsa dahi tamamen durmamaktadır. Peroksidaz ve lipoksigenaz, özellikle dondurulmuş meyve ve sebze ürünlerinde klorofil degradasyonunda etkili enzimler olarak ön plana çıkmaktadır. Bu nedenle, istenmeyen renk değişimlerinin oluşmasını engellemek için ürün çeşidine bağlı olarak dondurma öncesi haşlama veya tuz çözeltisi ilavesi gibi yaklaşımlar uygulanmaktadır (Zhan vd., 2019).

Gıdalarda aroma oluşumunda alkoller, esterler, aldehitler, ketonlar, asitler, furanlar ve terpenler gibi farklı çeşitte bileşikler rol oynamaktadır. Dondurulmuş muhafaza esnasında genel olarak üründeki aroma maddeleri yüksek oranda korunmaktadır; ancak uygun olmayan dondurma ve çözündürme işlemleri neticesinde aroma bileşenlerinde birtakım kayıplar meydana gelebilmektedir. Aroma kayıplarında da enzimler –özellikle peroksidaz– önemli role sahiptir. Peroksidaz temel olarak lipidlerin oksidasyonuna neden olmakta ve kötü tat/koku bileşiklerinin oluşmasına yol açmaktadır (Perez-Calderon vd., 2017).

Dondurulmuş ürünlerde kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonların bir sonucu olarak meydana gelen bir başka kalite problemi ise tekstürel değişimlerdir. Bu reaksiyonlar hücre duvarı veya membranının yapısında bulunan bileşiklerin parçalanmasından dolayı oluşabilmektedir (Kumar vd., 2020). Bu nedenle donma sırasında oluşan buz kristallerinin boyutları ve hücre içinde bulunduğu yer, hücre duvarı açısından önemlidir. Buz kristalleri tarafından mekanik hasara uğrayan hücrelerde enzim aktivitesi de genel olarak artış göstermekte, bu durum ise üründe yumuşama şeklinde kendini gösteren tekstürel değişimlere neden olmaktadır.

Mikrobiyal gelişim genel olarak  $-10^{\circ}\text{C}$ 'nin altındaki sıcaklıklarda meydana gelmemektedir (Brown, 1991). Bu sebeple mikroorganizmalar, donmuş gıdalarda genellikle bir problem oluşturmazlar (Zaritzky, 2000). Burada dikkat edilmesi gereken temel nokta dondurulacak gıda maddesinin başlangıç mikrobiyal yüküdür. Ayrıca, çözündürülen bir gıda kesinlikle tekrar dondurulmamalıdır. Çözündürme sonrası başlayan mikrobiyal aktivite ile çapraz kontaminasyon gibi nedenlerle bulaşabilen patojen mikroorganizmalar ve toksinlerin varlığı, tekrar dondurulan ürünlerde ciddi gıda güvenliği sorunlarına yol açabilmektedir (Elsherbiny vd., 2019).

Bu bilgiler ışığında tez çalışmasının amacı, Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu tarımsal atıklarından konvansiyonel, mikrodalga destekli, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ekstraksiyon yöntemleri ile işlem parametreleri de ele alınarak üretilen nanoselüloz tozlarının ürün karakterizasyonunu ortaya koymak ve bu nanoselülozların fermente ekmek hamuru formülasyonunda kullanımı ile kriyoprotektan etkinliklerinin dondurma yöntemi ve depolama süresinin de ele alınarak ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmesidir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Tez çalışması, üç temel aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada, nanoselüloz üretiminde farklı ekstraksiyon tekniklerinin etkileri incelenmiştir. Bu kapsamda, konvansiyonel ekstraksiyon (I), mikrodalga destekli ekstraksiyon (II), hidrotropik solvent ekstraksiyonu (III) ve derin ötektik solvent ekstraksiyonu (IV) işlemlerinin etkileri yanıt yüzey yöntemi (response surface methodology; RSM) ve genetik programlama (GA) kullanılarak ele alınmıştır. Her bir yöntemin Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyonu üzerine etkileri ayrı ayrı incelenmiş, bunun için toplamda sekiz farklı (4×2) deneme planı oluşturulmuştur. Her bir ekstraksiyon yöntemine ait optimum işlem koşullarında üretilen nanoselüloz pelletleri diyaliz ve ardından ultrases aşamaları ile nanofibrilasyon sağlandıktan sonra liyofilizatör ile kurutularak toz forma dönüştürülmüş, sonuç olarak sekiz farklı nanoselüloz tozu üretilmiştir. Ardından, optimum yöntem ve işlem koşullarında üretilen toz ürünlerin karakterizasyon analizleri gerçekleştirilmiştir.

İkinci aşamada, toz formdaki nanoselülozlar model gıda olarak belirlenen fermente ekmek hamuru formülasyonuna eklenmiş, nanoselüloz ilavesiz örnekler ise kontrol grubunu oluşturmuştur. Ardından, örnekler statik dondurma (I), hava akımlı dondurma (II) ve bireysel hızlı dondurma (III) yöntemleri ile dondurulmuş; dondurma işlemleri sonunda depolama işlemlerine geçilmiştir.

Üçüncü aşamada, fermente ekmek hamuru örnekleri altı aylık depolama süresince her ay sonunda analizlere tabi tutulmuş, farklı tip kriyoprotektan ilavesi ve dondurma işlemlerinin fermente ekmek hamurunun kalite özellikleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

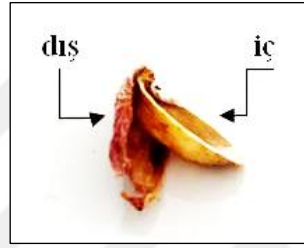
#### 3.1. Nanoselüloz Üretimi

##### 3.1.1. Nanoselüloz Üretimi için Hammaddelerin Temini

Tez kapsamında nanoselüloz tozları Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğundan üretilmiştir. Nanoselüloz kriyoprotektan üretimi için kullanılan Antep fıstığı (*Pistacia vera* L.) dış kabuğu Gaziantep ilinde faaliyet gösteren Mete Sezer Gıda ve Mak. İth. İhr. San. Ltd. Şti'den, Aydın Şekerci çeşidi kestane kabuğu (*Castanea sativa* Mill.) ise İzmir'de faaliyet gösteren bir şeker üretim firmasından temin edilmiştir.

### 3.1.2. Kriyoprotektan Üretimi için Hammaddelere Uygulanan İşlemler

Antep fıstığı, meyveyi saran iç kabuk ve iç kabuğu çevreleyen dış kabuk olmak üzere iki katmanlı bir kabuk yapısına sahiptir (Şekil 3.1). Tez çalışması kapsamında Antep fıstığı dış kabuk katmanı kullanılmıştır. Laboratuvara getirilen Antep fıstığı kabuklarının ilk olarak iç ve dış kabuk kısımları birbirinden ayrılmış, ardından dış kabuk kısmı fanlı tepsili kurutucuda (Eksis, Isparta)  $60 \pm 2$  °C’de, 1 m/s hava akış hızında nem içeriği %2’nin altına düşene kadar kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Sonrasında kurutulmuş dış kabuklarda öğütme aşamasına geçilmiştir. Ardından, hammaddeler elekten geçirilerek ( $<500$  µm) ileri işlemlere dek polietilen poşetler içerisinde buzdolabında (4 °C) bekletilmiştir. Antep fıstığı dış kabuğuna uygulanan ön işlem basamakları Şekil 3.2’de sunulmuştur.



Şekil 3.1. Antep fıstığı dış ve iç kabuğu



Şekil 3.2. Antep fıstığı dış kabuğuna uygulanan ön işlemler

Laboratuvara getirilen kestane kabukları Antep fıstığı kabuklarında olduğu şekilde, ilk olarak fanlı tepsili kurutucuda (Eksis, Isparta) (60 °C, 1 m/s hava akış hızında) kurutularak nemi %2’nin altına düşürülmüş ve öğütücüde (Waring 7011G, ABD) partikül boyutu  $<500$  µm oluncaya kadar öğütülmüştür. Toz örnekler analizlere dek oda sıcaklığında ( $24 \pm 1$  °C) polietilen tereftalat (PET) kavanozlarda depolanmıştır. Kestane kabuğuna uygulanan ön işlemler işlem sırasına göre Şekil 3.3’te gösterilmiştir.

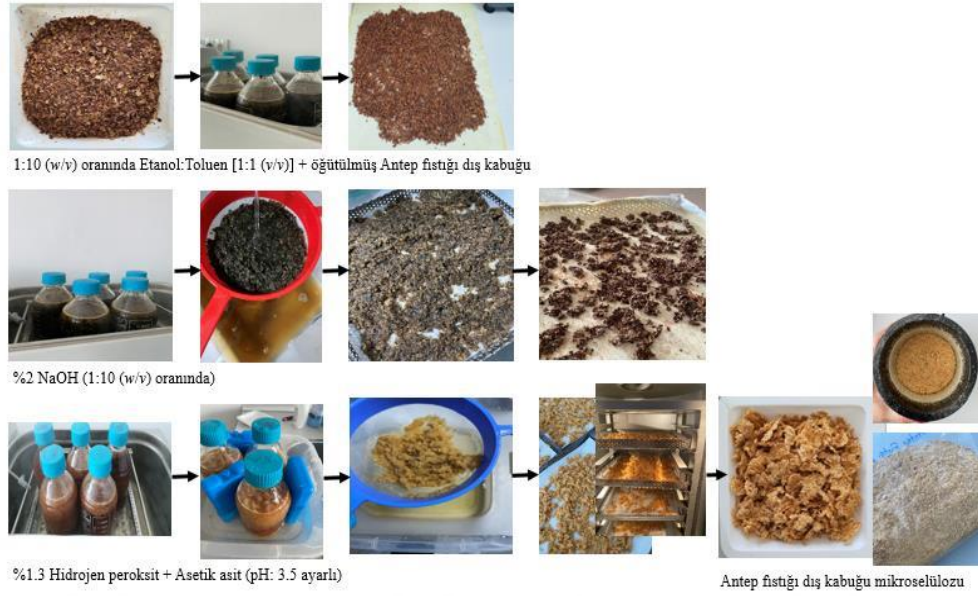


**Şekil 3.3.** Kestane kabuğuna uygulanan ön işlemler

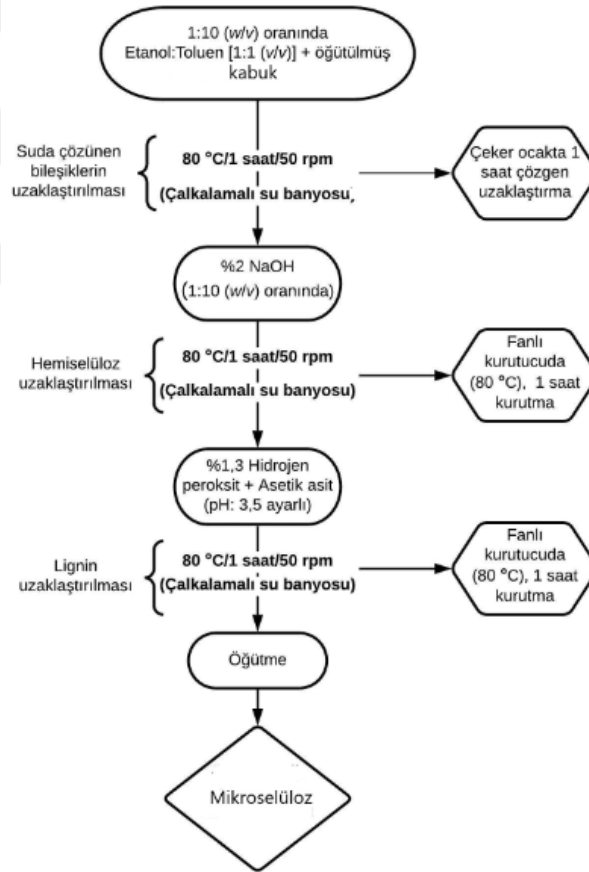
### 3.1.3.1. Mikroselüloz Üretimi

Kriyoprotektan özellikli nanoselüloz üretimi için ilk olarak Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerinde hammadde olarak kullanılacak mikroselüloz üretimi gerçekleştirilmiştir. Lignoselülozik materyallerden selüloz eldesi için hammaddeler sırasıyla suda çözünür bileşikler, hemiselüloz ve lignin fraksiyonlarından arındırılmıştır. Mikroselüloz üretiminde ilk olarak şeker ve pektin gibi suda çözünür bileşiklerin arındırılması amacıyla toz örnekler etanol:tolüen (1:1, v/v) karışımı ile 1:10 (w/v) oranında karıştırılmış, su banyosunda 80 °C ve 50 rpm çalkalama hızında 1 saat muamele edilmiştir. Ardından çeker ocak altında 1 saat süreyle kurutulan ürün, hemiselüloz fraksiyonlarından arındırılmak amacıyla %2'lik sodyum hidroksit çözeltisi ile 1:10 (w/v) oranında karıştırılmış ve çalkalamalı su banyosunda 80 °C ve 50 rpm çalkalama hızında 1 saat bekletilmiştir. Filtre edilen karışım, dealkalinizasyon amacıyla pH değeri 6,5 – 7 olana dek distile su ile yıkanmış ve elde edilen pellet 80 °C'de 1 saat süreyle etüvde kurutulmuştur. Sonraki aşamada ise ligninleri uzaklaştırmak için 1:10 (w/v) oranında %1,3'lük hidrojen peroksit çözeltisi (asetik asit ile pH değeri 3 – 4'e ayarlanmış) ile karıştırılmış ve aynı koşullarda su banyosunda bekletilmiştir. İşlemlerin ardından oda sıcaklığına soğutulan karışım filtre edilmiş ve elde edilen filtrat, çözücünden arındırılması için renksiz duruma gelene ve pH 6,5 – 7 değeri elde edilene dek distile su ile yıkanmıştır. Son olarak, elde edilen pellet yeniden 80 °C sıcaklıkta 1 saat süreyle kurutulmuş, öğütülmüş ve nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerinde hammadde olarak kullanılacak olan mikroselüloz örnekleri elde edilmiştir (Hemmati vd., 2018). İşlem aşamalarına ait örnek görseller Şekil 3.4'te, işlem akış şeması ise Şekil 3.5'te sunulmuştur.





Şekil 3.4. Antep fıstığı dış kabuğundan mikroselüloz üretimine ait görseller



Şekil 3.5. Mikroselüloz üretim aşamaları

### 3.1.3.2. Nanoselüloz Ekstraksiyonu

Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu mikroselülozlarından nanoselüloz ekstraksiyonu için dört farklı yöntemin (konvansiyonel, mikrodalga destekli, hidrotropik

solvent ve derin ötektik solvent) etkileri ayrı ayrı yanıt yüzey yöntemi (response surface methodology, RSM) ile merkezi tümleşik dizayn (central composite design, CCD) kullanılarak oluşturulan deneme planları (her bir işlemde dördü merkez nokta olmak üzere toplam 18 nokta) ile incelenmiştir (Çizelge 3.1). Tüm ekstraksiyon işlemlerinde bağımsız değişkenler sıcaklık, süre ve çözücü oranı, bağımsız değişken ise nanoselüloz verimi olarak seçilmiş; RSM ile oluşturulan deneme planlarından elde edilen deneysel sonuçlar genetik programlama ile ayrıca ele alınmıştır. İşlemler sonrasında her bir ürün ve yöntem için optimum ekstraksiyon koşulları hem RSM hem de genetik algoritma (GA) ile belirlenmiştir. Nanoselüloz verimi, aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\text{Nanoselüloz verimi (\%)} = \frac{\text{Ekstraksiyon sonunda elde edilen nanoselüloz miktarı (g)}}{\text{Ekstraksiyonda kullanılan mikroselüloz miktarı (g)}} \times 100$$

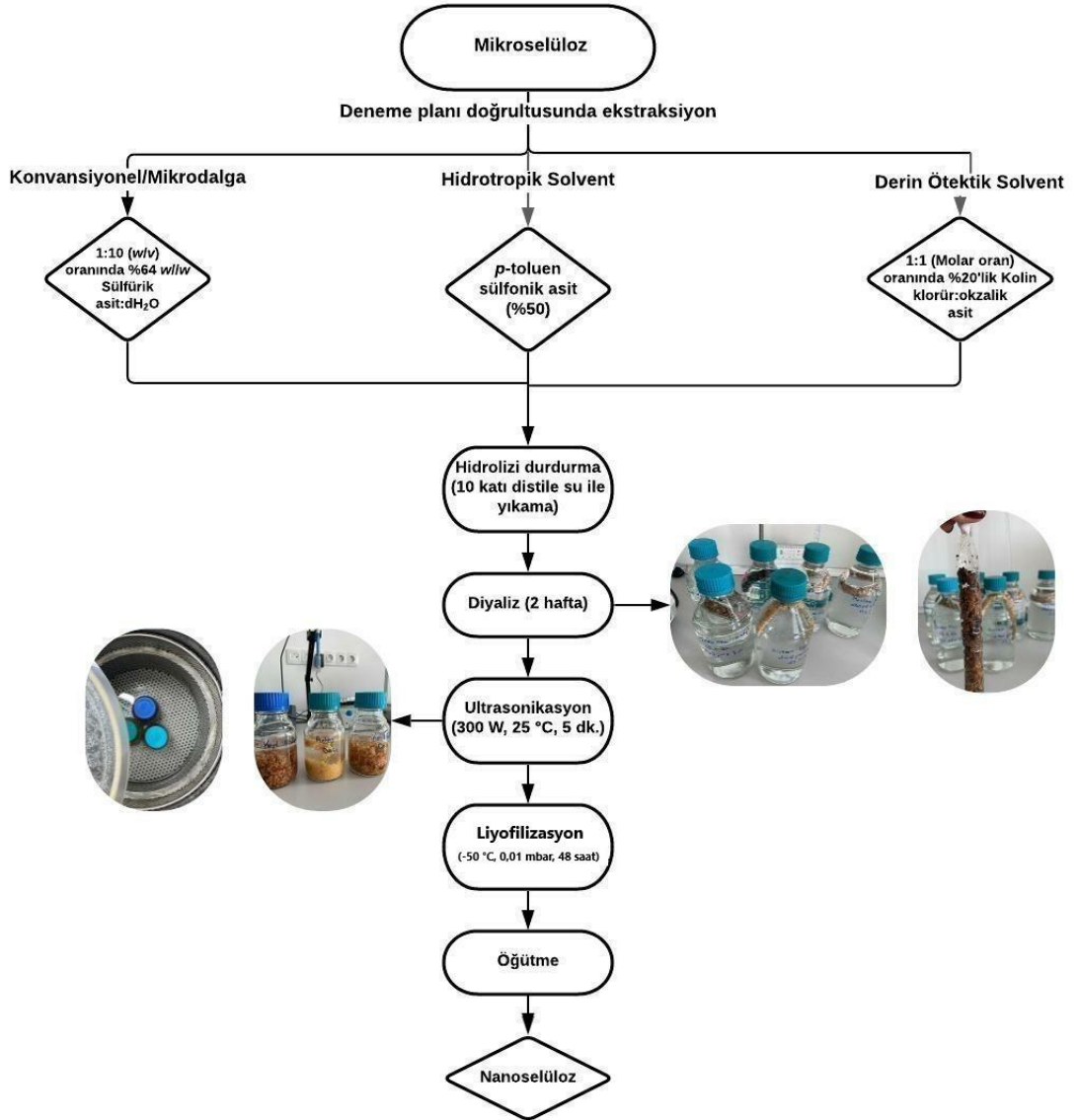
**Çizelge 3.1.** İşlemlerine ait yanıt yüzey yöntemi (RSM) için kodlanmış seviyeler

| Bağımsız değişkenler | Birim | -1 | +1 | - $\alpha$ | + $\alpha$ |
|----------------------|-------|----|----|------------|------------|
| Sıcaklık             | °C    | 48 | 72 | 40         | 80         |
| Süre                 | dk.   | 20 | 50 | 10         | 60         |
| Solvent oranı        | mL/g  | 28 | 82 | 10         | 100        |

Nanoselüloz ekstraksiyonu için hammadde olarak Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğundan elde edilen mikroselüloz örnekleri kullanılmış ve farklı yöntemler ile ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6). Konvansiyonel ve mikrodalga ekstraksiyon işlemlerinde 10 – 100 mL/g çözen oranı ile %64'lük (w/w) sülfürik asit çözeltisi kullanılmıştır. Mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemleri, kesikli mikrodalga gücü sağlayarak sıcaklık kontrolünü sağlayabilen bir mikrodalga ekstraktör düzeneği (Sineo MAS-II Plus, Çin) kullanılarak 700 W mikrodalga gücü ve 300 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir. Hidrotropik solvent ekstraksiyon işlemlerinde %50'lik (w/v) *p*-tolüen sülfonik asit çözeltisi; derin ötektik solvent ekstraksiyon işlemlerinde ise %20'lik (w/v) kolin klorür:okzalik asit (1:1, molar oran) çözeltisi kullanılmıştır. Deneme planı doğrultusunda her bir ekstraksiyon işlemi için hazırlanan çözeltiler, mikroselüloz ile 10 – 100 mL/g oranında karıştırılmıştır. Ardından karışım, 50 rpm çalkalama hızı ve 40 – 80 °C sıcaklıkta 10 – 60 dk. boyunca işleme tabi tutulmuştur.

Tüm ekstraksiyon işlemleri sonunda hidrolizi durdurmak amacıyla karışım hacminin 10 katı kadar distile su ilave edilmiş ve sonrasında karışım filtre edilmiştir. Filtrasyon işleminin ardından örnekler diyaliz torbasına alınarak saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, örneği içeren diyaliz torbasının yer aldığı saf su, pH değeri günlük olarak ölçülerek değiştirilmiş ve yaklaşık 14 gün sonunda pH değeri nötral değere ulaştığında saflaştırma

işlemi sonlandırılmıştır. Saflaştırma işleminin ardından nanofibrilasyonu sağlamak amacıyla örnekler (1:20, w/v) sıcaklık kontrollü ultrases cihazında 300 W güç ve 25 °C sıcaklıkta 5 dk. işleme tabi tutulmuştur. Son olarak, liyofilizatörde (Labconco FreeZone, ABD) 0,01 mbar basınç ve -50 °C sıcaklıkta 48 saat kurutma sonucu nanoselüloz örnekleri elde edilmiştir (Şekil 3.7) (Neto vd., 2013).



Şekil 3.6. Nanoselüloz üretim aşamalarına ait akış şeması



Şekil 3.7. Nanoselüloz tozlarına ait görseller

### 3.2. Fermente Ekmek Hamurunun Hazırlanması ve Uygulanan İşlemler

Tez çalışması kapsamında üretilen nanoselülozların kriyoprotektan ajan olarak kullanım potansiyeli model gıda olarak fermente ekmek hamuru kullanılarak ele alınmış, farklı tip nanoselüloz ilavesi ile dondurma işlemi ve depolama süresinin ürün kalite özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir.

#### 3.2.1. Fermente Ekmek Hamurunun Hazırlanması

Fermente ekmek hamurunun hazırlanışı için 100 g ekmeklik buğday unu başına 1,5 g tuz, 5 g shortening, 3 g sofr şeker, 3 g ekmek mayası ile 60 mL 40 °C sıcaklıkta su karıştırılıp hamur ağırlığının %0,5'i oranında nanoselüloz tozu eklenmiştir. Yoğurma işlemi sonrası hamur örnekleri 30 °C sıcaklıkta 10 dk. ön fermantasyona bırakılmış ve her bir numune 20'şer g olacak şekilde porsiyonlanmıştır. Dondurma işlemlerini takiben analiz zamanı gelen örnekler 4 °C sıcaklıkta çözündürme sonrası 30 °C sıcaklıkta 50 dk. son fermantasyona bırakılmış ve akabinde analizlerde kullanılmıştır. Fermente ekmek hamurundan üretilen ekmek örnekleri ise 250 °C sıcaklıkta 10 dk. pişirme ve ardından oda sıcaklığına soğutma işlemleri sonrasında analizlere tabi tutulmuştur. Fermente ekmek hamuru hazırlanışı için kullanılan bazı hammaddeler ile numunelere ait örnek görseller Şekil 3.8'de verilmiştir.



**Şekil 3.8.** Fermente ekmek hamuru ve ekmek örneklerine ait örnek görseller

#### 3.2.2. Fermente Ekmek Hamuruna Nanoselüloz Ekleme İşlemleri

Optimum yöntem ve işlem koşullarında üretilen Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselülozu toz kriyoprotektanların fermente ekmek hamuruna aktarım miktarı ön deneme çalışmaları ile belirlenmiştir. Bu doğrultuda, kriyoprotektan ajanlar fermente ekmek hamuru örneklerine hamur ağırlığının %0,5'i oranında ilave edilmiştir.

### 3.2.3. Fermente Ekmek Hamuruna Uygulanan Dondurma İşlemleri

Fermente ekmek hamurunun dondurulması aşamasında statik, hava akımlı ve bireysel hızlı (IQF) dondurma işlemleri ile ürün geometrik merkez sıcaklığının  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye gelmesi için gerekli sürelerde dondurma işlemleri gerçekleştirilmiştir. Örnekler, her bir dondurucu tipi için belirlenen donma süreleri boyunca gerçekleştirilen dondurma işlemlerinin ardından kilitli polietilen poşetlere aktarılmış ve  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta depolama aşamasına geçilmiştir. Dondurucu sistemler tarafından tüketilen enerji değerleri, sistemlere entegre edilen elektrik sayacı (Makel T510, Türkiye) yardımıyla kWh cinsinden ölçülmüştür.

#### 3.2.3.1. Statik Dondurma

Statik dondurma işlemleri  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  sıcaklıktaki dondurucu sistem (Simfer FS7300, Türkiye) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

#### 3.2.3.2. Hava Akımlı Dondurma

Hava akımlı dondurma işlemleri 6 m/s hava akış hızında,  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  sıcaklıktaki hava akımlı dondurucu sistem (Frenox VBL10, Türkiye) içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Tez çalışması kapsamında kullanılan hava akımlı dondurucu sistem

#### 3.2.3.3. Bireysel Hızlı Dondurma (IQF)

Bireysel hızlı dondurma işlemleri IQF sistemi (Rekos, Türkiye) ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.10). Sistemde ön soğutma ünitesi  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , şoklama ünitesi ise  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de çalışmaktadır. Bant hızı, bant çıkışındaki ürün merkez sıcaklığının  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de olması için gerekli süre geçecek şekilde ayarlanmıştır.





**Şekil 3.10.** Tez çalışması kapsamında kullanılan bireysel hızlı dondurucu (IQF) sistem

### **3.3. Uygulanan Analizler**

#### **3.3.1. Toplam Kuru Madde Miktarı**

Örnekler 105 °C sıcaklıktaki etüvde (Lab Companion ON-11E, Güney Kore) sabit tartıma gelinceye dek kurutulmuş ve toplam kuru madde miktarı örnek ağırlığına göre yüzde değer cinsinden hesaplanmıştır.

#### **3.3.2. Su Aktivitesi Değeri**

Örneklerin su aktivitesi değeri su aktivitesi cihazı (Testo AG400, Türkiye) yardımıyla 25 °C’de ölçülmüştür.

#### **3.3.3. Toplam Mineral Madde Miktarı**

Toplam mineral madde miktarı (kül) tayini, AOAC resmi metoduna (2005) göre yapılmıştır. Porselen krezeler ilk olarak sabit tartıma getirmek için etüvde (105 °C) 2 saat bekletilmiş ve ardından desikatörde soğutulmuştur. Uygun sıcaklığa gelen krezelerin içerisine tartılan 1 g toz örnek, kül fırınında (MagmaTherm MT1110-E4, 55 Türkiye) 550 °C sıcaklıkta 5 saat yakılmıştır. Süre sonunda krezelerde kalan ağırlık üzerinden toplam mineral madde miktarı yüzde cinsinden hesaplanmıştır.

#### **3.3.4. pH Değeri**

Örnekler 1:10 (w/v) oranında saf su ile seyreltilmiş ve pH değeri pH metre (WTW 7110, Almanya) yardımı ile oda sıcaklığında ölçülmüştür.

### 3.3.5. Renk Farkı Değeri

Renk analizleri kolorimetre cihazı (Techkon SpectroDens, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Renk özellikleri olarak  $L^*$  (+parlaklık, –koyuluk),  $a^*$  (+kırmızı, –yeşil) ve  $b^*$  (+sarı, –mavi) değerleri ölçülmüş ve ardından renk farkı ( $\Delta E$ ) değeri aşağıdaki eşitlik yardımı ile hesaplanmıştır:

$$\Delta E = \sqrt{(L_c^* - L^*)^2 + (a_c^* - a^*)^2 + (b_c^* - b^*)^2}$$

Bu eşitlikte,  $L_c^*$ ,  $a_c^*$  ve  $b_c^*$  değerleri nanoselüloz ilavesiz ve dondurulmamış kontrol örneğine ait iken  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri numuneye ait renk değerlerini temsil etmektedir.

### 3.3.6. Donma Süresi

Donma süresi, dondurucuya yerleştirilen ürünün geometrik merkezine konumlandırılan ısı çift aracılığıyla, sıcaklığın  $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 'ye ulaştığı süre olarak belirlenmiştir.

### 3.3.7. Termal Özellikler

Toz kriyoprotekran örneklerinde termal özellikler diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) kullanılarak analiz edilmiştir. Toz örneklerinden  $\sim 5\text{ mg}$  DSC kabına alınmış ve ardından cihaza yüklenmiştir. Cihaz çalışma koşulları  $10\text{ }^\circ\text{C/dk.}$  hızla  $-40\text{ }^\circ\text{C}$ 'den  $200\text{ }^\circ\text{C}$ 'ye çıkacak şekilde ayarlanmıştır. Analiz sonunda örneklerin camsı geçiş sıcaklığı ( $T_g$ ), kristalizasyon entalpisi (J/g), erime sıcaklığı ( $^\circ\text{C}$ ) ve ısı kapasitesi (J/g  $^\circ\text{C}$ ) değerleri belirlenmiştir.

### 3.3.8. $\alpha$ -amilaz Aktivitesi

$\alpha$ -amilaz aktivitesi tayini Abedi vd. (2022) tarafından belirtilen yöntemle göre, bazı modifikasyonlarla gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, hamur örnekleri distile su ile 1:10 (w/v) oranında karıştırılmış ve ultraturrax ile 10.000 rpm'de 2 dk. boyunca homojenizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Ardından, 5000g'de 10 dk. boyunca santrifüj (Nüve NF800, Türkiye) işlemi uygulanmış ve üst faz toplanarak analizde kullanılmak üzere ayrılmıştır.  $\alpha$ -amilaz aktivitesi belirlenirken 100 mM sodyum fosfat tamponunda (pH 6,5) hazırlanmış olan %1'lik (w/v) nişasta çözeltisi substrat olarak kullanılmıştır. Kontrol ve örnek grubu olmak üzere iki farklı karışım hazırlanmıştır. Örnek grubu için substrat (1 mL) ve örnek ekstraktı (0,5 mL) karıştırılırken, kontrol grubunda ekstrakt yerine distile su kullanılmıştır. Her iki grup için ilk olarak (0. dk.) örneklerle 1,5 mL seyreltilmiş iyot reaktifi (0,5 M HCl içerisinde %0,25  $\text{I}_2$  ve %2,5 KI içeren) ilave edilerek renk değişimi gözlenmiştir. Bir diğer aşama olarak

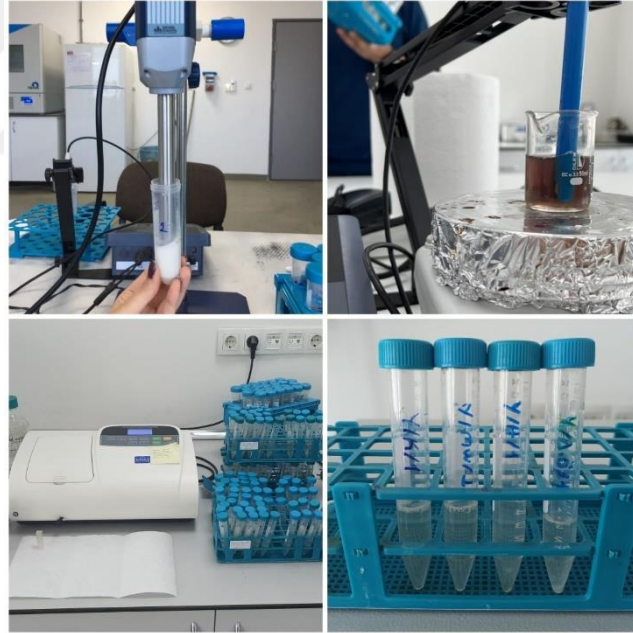
substrat ve ekstrakt/distile su içeren kontrol ve örnek grupları 30 °C’de 10 dk. inkübasyona bırakılmış ve ardından reaksiyon durdurularak seyreltilmiş iyot reaktifi ilave edilmiştir. İyot reaktifi ilavesinin ardından 0. dk. ve inkübasyon sonrasındaki (10. dk.) karışımların absorbans değerleri UV/VIS spektrofotometre cihazı (Soif UV-5100, Çin) kullanılarak 670 nm’de ölçülmüştür (Şekil 3.11).  $\alpha$ -amilaz aktivitesi, ölçülen değerler ile aşağıdaki eşitlik kullanılarak “%” cinsinden belirlenmiştir:

$$\alpha - \text{amilaz aktivitesi (\%)} = \frac{A_{10} - A_0}{A_{10}} \times 100$$

Bu eşitlikte yer alan  $A_{10}$  ve  $A_0$  değerleri ise aşağıdaki eşitlikler yardımı ile hesaplanmıştır:

$$A_0 = \frac{\text{Kontrolün 0. dk.'daki absorbans değeri} - \text{Örneğin 0. dk.'daki absorbans değeri}}{\text{Kontrolün 0. dk.'daki absorbans değeri}} \times 100$$

$$A_{10} = \frac{\text{Kontrolün 10. dk'daki absorbans değeri} - \text{Örneğin 10. dk.'daki absorbans değeri}}{\text{Kontrolün 10. dk.'daki absorbans değeri}} \times 100$$



**Şekil 3.11.**  $\alpha$ -amilaz aktivitesi analiz aşamalarından görseller

### 3.3.9. İyon Sızıntısı Değeri

İyon sızıntısı değeri için hamur örnekleri 1:20 (w/v) oranında 0,2 M izotonik mannitol çözeltisi ile karıştırılmış ve çözeltinin sabit bir elektriksel iletkenlik değerine ulaşması için 120 dk. beklenmiştir. İyon sızıntısı değeri, numune ile işlem görmemiş (kriyoprotektan ilavesiz ve dondurulmamış) örneğin iletkenlik değeri arasındaki farkın, –80 °C sıcaklıkta üç



kez dondurulup çözündürülen örneğin iletkenlik değerine yüzde cinsinden oranlanması ile hesaplanmıştır.

### **3.3.10. Zeta Potansiyeli**

Zeta potansiyeli değeri, %1 oranında deiyonize su ile seyreltilen örneklerde zetasizer cihazı (Anton Paar Litesizer 500, Avusturya) kullanılarak 25 °C’de belirlenmiştir.

### **3.3.11. Damlama Kaybı**

Damlama kaybı değeri, donmuş ve çözünmüş örnekler arasındaki ağırlık farkının donmuş örnek ağırlığına yüzde cinsinden oranlanması ile hesaplanmıştır.

### **3.3.12. Viskozite ve Reolojik Özellikler**

Viskozite ölçümleri %1’lik nanoselüloz dispersiyonlarında Brookfield tipi viskozimetre (Fungilab Expert L, İspanya) kullanılarak, TR11 tipi spindle ile 10 rpm dönüş hızında gerçekleştirilmiştir.

Reolojik ölçümler ise reometre (TA Discovery HR-2, ABD) yardımıyla 40 mm 1.0° koni plaka prob kullanılarak gerçekleştirilmiş; elastik modülüs (G') ve viskoz modülüs (G'') değerleri 0 – 10 Hz frekans aralığındaki doğrusal viskoelastik bölgede frekans tarama testi ile tespit edilmiştir (Zeynali vd., 2019).

### **3.3.13. Tekstür Özellikleri**

Tekstür özellikleri, tekstür cihazı (Stable Micro Systems TA.XTplusC, Birleşik Krallık) kullanılarak değerlendirilmiş ve elde edilen zaman – kuvvet grafiğinden fermente ekmek hamurundan üretilen ekmek örnekleri için sertlik ve esneklik değerleri hesaplanmıştır. Analiz öncesi numuneler eş boyutta hazırlanmış ve 10 farklı noktadan olacak şekilde ölçümler alınarak bu sonuçların ortalama değerleri hesaplanmıştır. Tekstür analizinde 25 mm çapında silindirik prob kullanılarak numunelere sıkıştırma kuvveti uygulanmıştır. Prob, ekmek yüzeyine ulaştıktan sonra 100 mm/dk. hızla ekmek içerisine girmiş, maksimum kuvvet değeri elde edildikten sonra aynı hızla başlangıç pozisyonuna dönüş yapmıştır (Momchilova ve Zsivanovits, 2016).

### 3.3.14. Toz Ürün Analizleri

#### 3.3.14.1. Su Tutma Kapasitesi

Su tutma kapasitesi analizi için darası alınan 50 mL'lik falkon tüpüne 2 g toz örnek tartılmış, 25 mL distile su eklenerek vorteks ile 240 rpm hızında 30 dk. boyunca karıştırılmış ve ardından 5000g'de 10 dk. boyunca santrifüj edilmiştir. Üst faz kısmı uzaklaştırıldıktan sonra falkon tüpü + sediment ağırlığı ölçülmüş ve su tutma kapasitesi aşağıdaki eşitlik yardımı ile hesaplanmıştır:

$$\text{Su tutma kapasitesi (\%)} = \frac{\text{Sediment miktarı (g)}}{\text{Kuru örnek ağırlığı (g)}} \times 100$$

#### 3.3.14.2. Yağ Bağlama Kapasitesi

Yağ bağlama kapasitesi için 1 g örnek ( $W_0$ ), darası alınan 15 mL'lik falkon tüpe aktarıldıktan sonra üzerine 10 mL bitkisel sıvı yağ ( $V_1$ ) eklenmiş ve vortekslenmiştir. Karışım oda sıcaklığında 30 dk. bekletildikten sonra 3000g'de 20 dk. santrifüj edilmiş ve hemen ardından üst faz 10 mL'lik mezüre aktarılarak hacim ( $V_2$ ) ölçümü yapılmıştır. Yağ bağlama kapasitesi değeri aşağıdaki eşitlik yardımı ile hesaplanmıştır:

$$\text{Yağ bağlama kapasitesi (\%)} = \frac{V_1 - V_2}{W_0} \times 100$$

#### 3.3.14.3. Emülsiyon Aktivitesi

Emülsiyon aktivitesi analizinde, %5 (w/v) oranında örnek içeren 25 mL sulu karışım 11.000 rpm'de 2 dk. boyunca homojenizatörde (Ultraturrax IKA, T18) karıştırılmıştır. Sonrasında karışıma 25 mL ayçiçek yağı ilave edilmiş ve aynı karıştırma hızında 2 dk. daha karıştırılmıştır. Elde edilen emülsiyondan 10 mL alınarak 1200g'de 5 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda oluşan emülsiyon hacmi kaydedilmiştir. Toz örneklerin emülsiyon aktivitesi değeri aşağıdaki eşitlik yardımı ile hesaplanmıştır:

$$\text{Emülsiyon aktivitesi (\%)} = \frac{\text{Emülsiyon oluşturan katman hacmi (mL)}}{\text{Toplam hacim (mL)}} \times 100$$

#### 3.3.14.4. Yığın ve Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluğu

Toz örneklerin yığın yoğunluğu değeri, kütle/hacim oranı kullanılarak hesaplanmıştır. Toz örnekten 1 g alınarak 10 mL hacme sahip mezür içerisine hava boşluğu kalmayacak şekilde doldurulmuştur. Ardından örneğin kütlelerinin mezür içerisindeki hacmine oranlanması ile yığın yoğunluğu değeri tespit edilmiştir. Yığın yoğunluğu analizi gerçekleştirildikten sonra

mezürün sabit bir hızla düz bir zemine yaklaşık olarak 100 defa vurulması sonucunda ise yeniden kütle/hacim oranı belirlenerek sıkıştırılmış yığın yoğunluğu hesaplanmıştır. Yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerleri “g/cm<sup>3</sup>” cinsinden verilmiştir (Jinapong vd., 2008).

#### 3.3.14.5. Akabilirlik

Toz örneklerinin akabilirlik değerleri yığın yoğunluğu ( $\rho_b$ ) ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu ( $\rho_t$ ) değerleri yardımıyla belirlenmiştir. Akabilirlik değeri Carr indeks terimine göre aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{Akabilirlik (\%)} = \frac{\rho_t - \rho_b}{\rho_t} \times 100$$

#### 3.3.14.6. Partikül Yoğunluğu

Partikül yoğunluğu analizi sıvı piknometresi kullanılarak yapılmış ve sonuçlar “g/cm<sup>3</sup>” cinsinden ifade edilmiştir (Baysan vd., 2021). Analizde çözen olarak 2-propanol kullanılmış ve toz ürünlerin partikül yoğunluğu aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır:

$$\text{Partikül yoğunluğu (g/cm}^3\text{)} = \frac{(m_s - m_0) \times \rho}{(m_1 - m_0) - (m_{s1} - m_s)}$$

$m_s$ : Toz ürün ile dolu piknometre ağırlığı (g),

$m_0$ : Boş piknometre ağırlığı (g),

$\rho$ : 2-propanol’ün yoğunluğu (0,785 g/mL),

$m_1$ : 2-propanol dolu piknometre ağırlığı (g),

$m_{s1}$ : Toz ürün ve 2-propanol dolu piknometre ağırlığı (g).

#### 3.3.14.7. Islanabilirlik

Islanabilirlik analizi için ilk olarak 250 mL hacimli behere 100 mL deiyonize su eklenmiştir. Beher içerisindeki sıvının üst yüzeyi ile huninin alt kısmı arasında 10 cm mesafe kalacak şekilde beher ve cam huniden oluşan bir düzenek kurulmuştur. Huninin içerisine bir cam tüp yerleştirilerek 1 g örnek tüpün çevresine koyulmuştur. Örneğin tamamen ıslanma süresi ise bir kronometre yardımı ile ölçülerek kaydedilmiştir.

#### 3.3.14.8. Dağılabilirlik

Toz örneklerde dağılabilirlik analizi için ilk olarak 0,5 g örnek üzerine 50 mL distile su ilave edilmiş ve ardından 5 dk. vorteks işlemine tabi tutulmuştur. Sonrasında karışıma 1200g’de 10 dk. santrifüj işlemi uygulanmıştır. Santrifüj sonrasında elde edilen üst faz

kısından 20 mL alınıp etüvde 105 °C’de 3 saat kurutulmuş ve üst fazın kuru ağırlığı not edilmiştir. Dağılılabirlik (%) değeri aşığıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\text{Dağılılabirlik (\%)} = \frac{\text{Üst fazın kuru ağırlığı (g)} \times 2,5}{\text{Toz örnek miktarı (g)}} \times 100$$

#### 3.3.14.9. Çözünürlük

Toz örneklerin çözünürlük değeri için 1 g örnek 25 mL deiyonize su ile karıştırılıp yüksek hızda 5 dk. vortekslenmiştir. Ardından, 3000g’de 5 dk. santrifüj işlemi gerçekleştirilip üst fazdan 10 mL alınarak etüvde 105 °C’de kurutulmuştur. Çözünürlük değeri üst fazın kuru madde miktarı üzerinden hesaplanmıştır.

#### 3.3.15. Spesifik Ekmek Hacmi

Spesifik ekmek hacmi, ekmek hacminin (mL) ekmek ağırlığına (g) oranlanması ile hesaplanmıştır.

#### 3.3.16. Ekmek Değer Sayısı

Ekmek değer sayısı Ertop (2014) tarafından belirtilen yöntemle göre, aşığıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{Ekmek değer sayısı} = \frac{\text{Gözenek faktörü} \times \text{Hacim faktörü}}{100} + \text{Ekmek içi değerleri}$$

Gözenek faktörünün belirlenmesinde ilk olarak ekmek örneklerinden 1 cm kalınlığında ve 5×5 cm boyutlarında kesitler alınmıştır. Ardından bir dijital kamera yardımı ile kesit görüntüsünün fotoğrafı çekilmiş ve görüntü Image-Pro v10.0 görüntü işleme yazılımına (Media Cybernetics, ABD) aktarılmıştır. Yazılımda ilk etapta görüntünün gri tonlamada filtreleme ve kontrast ayarları yapılmıştır. Sonrasında Çizelge 3.2’de verilen beş farklı ekmek içi gözenek boyutu aralığına karşılık gelen gözenek sayıları ayrı ayrı tespit edilmiş ve her grubun yüzde dağılım oranı belirlenmiştir. Son olarak gözenek faktörü, her bir gruba ait yüzde dağılım oranı ile faktör katsayısı çarpılarak elde edilen değerlerin toplamı ile hesaplanmıştır.

**Çizelge 3.2.** Gözenek faktörünün belirlenmesinde kullanılan ekmek içi gözenek boyutu aralıkları ve ilgili faktör katsayıları

| Ekmek içi gözenek boyutu aralığı (mm <sup>2</sup> ) | Faktör katsayısı |
|-----------------------------------------------------|------------------|
| 0,05 – 0,49                                         | 1                |
| 0,50 – 0,99                                         | 0,8              |
| 1,00 – 4,99                                         | 0,6              |
| 5,00 – 49,99                                        | 0,4              |
| >50                                                 | 0,2              |

Hacim faktörünün belirlenmesinde ilk olarak ekmek örneği bütün halinde büyük bir mezür içerisine aktarılmış, ardından mezüre ekmek seviyesini aşacak miktarda kolza tohumu ilave edilmiştir. Ekmek hacmi, son hacim (ekmek + kolza tohumu) ile kolza tohumlarının tek başına kapladığı hacim değeri arasındaki farktan hesaplanmıştır. Ardından, ilgili ekmek örneğinin ağırlığı ve hacmi kullanılarak, doğru orantı ile 100 g un ile üretilen ekmeğe karşılık gelen hacim (hacim verimi) hesaplanmıştır. Son olarak hacim faktörü, elde edilen hacim verimine göre aşağıdaki eşitlikler yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\text{Hacim verimi} < 400 \rightarrow \text{Hacim faktörü} = \text{Hacim verimi} - 300$$

$$\text{Hacim verimi} > 400 \rightarrow \text{Hacim faktörü} = \frac{\text{Hacim verimi} - 400}{2} + 100$$

Ekmek içi değerleri ise kesit alınan ekmek örneklerinin iç kısmında gerçekleştirilen duyuusal değerlendirme sonucu tekstür, homojenlik ve elastikiyet kategorilerinde verilen puanların (Çizelge 3.3) toplanması ile hesaplanmıştır.

**Çizelge 3.3.** Ekmek içi değerleri puanlama çizelgesi

| Tekstür        |    | Homojenlik     |    | Elastikiyet      |      |
|----------------|----|----------------|----|------------------|------|
| Kaba           | 0  | Homojen        | 5  | İyi              | 0    |
| Kısmen kaba    | 10 | Kısmen homojen | 0  | Kısmen iyi       | -5   |
| Kısmen ince    | 15 | Homojen değil  | -5 | Kabul edilebilir | -10  |
| İnce           | 20 |                |    | Kusurlu          | -75  |
| Kısmen yumuşak | 30 |                |    | Yetersiz         | -100 |
| İpeksi yumuşak | 40 |                |    |                  |      |

Sonuç olarak gözenek faktörü, hacim faktörü ve ekmek içi değerleri kullanılarak ekmek değer sayısı hesaplanmıştır.

### 3.3.17. Kristallik Derecesi

Nanoselüloz örneklerinin kristallik derecesi, 45 kV voltaj ve 40 mA akımda Cu K $\alpha$  radyasyonu yapan X-ışını difraktometresi (Malvern Panalytical Empyrean, Birleşik Krallık) yardımıyla 0,154 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Saçılan radyasyon  $2\theta = 5-50^\circ$  aralığında,

3°/dk. tarama hızında tespit edilmiştir. Kristallik derecesi değeri, Origin yazılımı (OriginPro v8.5, ABD) kullanılarak aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır (Lee vd., 2009).

$$\text{Kristallik derecesi (\%)} = \frac{I_{200} - I_{Am}}{I_{200}} \times 100$$

Yukarıdaki denklemde,  $I_{200}$  kristal bölgeye ( $2\theta = 22,5^\circ$ ) ait kırınım yoğunluğunu;  $I_{Am}$  ise amorf bölgeye ( $2\theta = 18^\circ$ ) ait kırınım yoğunluğunu ifade etmektedir.

### 3.3.18. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Toz nanoselüloz örneklerinin FTIR spektrumları FTIR cihazı (PerkinElmer Spectrum Two, ABD) kullanılarak  $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$  dalga sayısı aralığında  $1 \text{ cm}^{-1}$  hassasiyetle belirlenmiştir (Magar vd., 2022).

### 3.3.19. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM)

Nanoselüloz örneklerinin yüzey morfolojileri atomik kuvvet mikroskobu (Nanosurf Flex-Axiom, İsviçre) ile vurma modunda ve oda sıcaklığında incelenmiştir. Sulu süspansiyon (%0,1) şeklindeki örnekler, optik cam substrat yüzey üzerine yayılarak kurutulduktan sonra ölçümler gerçekleştirilmiştir.

### 3.3.20. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)

Nanoselüloz örneklerinin mikroyapıları taramalı elektron mikroskobu (Zeiss Gemini Sigma 300 VP, Almanya) yardımıyla 2 kV voltaj ve yüksek vakum altında, numune yüzeyine ince bir tabaka şeklinde altın kaplama işlemi sonrasında görüntülenmiştir.

## 3.4. İstatistik Analizler

Verilerin  $P < 0,05$  düzeyinde istatistiki değerlendirilmesinde SPSS v15.0 yazılımı (IBM, ABD) kullanılmıştır. Nanoselüloz tozlarına ait karakterizasyon analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi kullanılmıştır. Fermente ekmek hamurunda gerçekleştirilen analiz sonuçlarının değerlendirilmesinde ise faktörler arası etkileşimlerin yorumlanabilmesi açısından çok yönlü varyans analizi (MANOVA) testi kullanılmıştır.

Ekstraksiyon yöntemlerinin optimizasyonu ise yanıt yüzey yöntemi (RSM) ile Design Expert v11.0 yazılımı (Stat-Ease, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Modellerin istatistiki yorumlanmasında regresyon katsayısı ( $R^2$ ), uyum eksikliği ve  $F$ -değeri dikkate alınmıştır. Her bir yöntem sonucu elde edilen deneysel veriler ikinci dereceden polinom modeline

örtüştürülmüş ve regresyon katsayıları çoklu doğrusal regresyon ile aşağıdaki eşitlik yardımıyla elde edilmiştir:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{\substack{j=2 \\ i < j}}^k \beta_{ij} X_i X_j$$

Burada Y tahmin edilen bağımlı değişken;  $X_i$  ve  $X_j$ , Y değerini etkileyen bağımsız değişkenler ( $i \neq j$ );  $\beta_0$ ,  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$ ,  $\beta_{ij}$  sırasıyla kesişim, doğrusal, ikinci dereceden ve etkileşim terimlerinin regresyon katsayılarıdır; k ise değişken sayısını ifade etmektedir.

Ekstraksiyon yöntemlerine ait işlem koşullarının optimizasyonunda aynı zamanda genetik algoritma (GA) kullanılmıştır. RSM ile elde edilen veri kümesi kullanılarak model eğitimi gerçekleştirilmiş, temel aritmetik operatörler ile matematiksel fonksiyonlar (sin, cos, ln, log, vb.) ara düğüm parametreleri olarak, veri setindeki bağımsız değişkenler ise uç düğüm parametreleri olarak öğrenme sürecine dâhil edilmiştir. Genetik programlama kullanılarak veri setine en uygun model öğretildikten sonra modelde yer alan bağımsız değişkenlerin üst ve alt sınır aralığında bir arama uzayındaki en uygun değerlerinin araştırılmasında genetik algoritma kullanılmıştır. İlgili işlemler, Java evrimsel hesaplama araç seti kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

$\alpha$ -amilaz aktivitesi kinetik modelleri SigmaPlot yazılımı (SigmaPlot 14.0, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiş ve modellerin uyumluluğu, yüksek regresyon katsayısı ( $R^2$ ) ve deneysel verinin modele uyumluluğunu gösteren düşük hata kareler ortalamasının karekökü (root mean square error; RMSE) değerleri kullanılarak değerlendirilmiştir.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Kriyoprotektan Ajanlar için Konvansiyonel, Mikrodalga Destekli, Hidrotropik Solvent ve Derin Ötektik Solvent Ekstraksiyon İşlemlerinin Etkilerinin Belirlenmesi ve Optimizasyon İşlemleri

Tez çalışmasının ilk aşamasında, Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğundan nanoselüloz örnekleri üretilmiştir. Bu kapsamda, her bir hammadde yanıt yüzey yöntemi (RSM) ile oluşturulan deneme planları doğrultusunda dört farklı ekstraksiyon işlemine (konvansiyonel, mikrodalga destekli, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent) tabi tutulmuştur. Her bir ekstraksiyon yöntemi için işlem parametrelerinin (solvent oranı, sıcaklık ve süre) etkileri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Ardından, verim değerleri ele alınarak RSM ve genetik algoritma (GA) yardımıyla modelleme ve optimizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

İşlem sıcaklığı ve süresi, ekstraksiyon etkinliğinin değerlendirilmesinde en yaygın kullanılan parametreler arasında yer almaktadır (Bacha, 2022; Lu vd., 2013; Ngwabebhoh vd., 2018; Yahya vd., 2019). Ayrıca, genellikle kuvvetli asitlerin kullanıldığı nanoselüloz ekstraksiyonu işlemlerinde çözücü oranının da literatürde önemli bir proses parametresi olarak değerlendirildiği görülmektedir (Banza ve Rutto, 2022; Hassanat vd., 2019; Khandanlou vd., 2016). Bu kapsamda, mevcut tez çalışmasında iki farklı hammaddeden dört farklı ekstraksiyon işleminin etkinliklerinin değerlendirilmesinde işlem sıcaklığı ve süresi ile çözücü oranı, bağımsız değişkenler olarak ele alınmıştır.

#### 4.1.1. Ekstraksiyon İşlemlerinin Antep Fıstığı Dış Kabuğu Nanoselüloz Verimi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

##### 4.1.1.1. Antep Fıstığı Dış Kabuğu Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlemlerine Ait Deneme Planları

Nanoselüloz ekstraksiyon işlem parametreleri, 18 deneysel noktada RSM ile Merkezi Tümlleşik Tasarım (CCD) kullanılarak incelenmiştir. Dört farklı ekstraksiyon tekniği için sıcaklık (°C), işlem süresi (dk.) ve solvent oranı (mL/g) bağımsız değişkenlerine bağlı olarak, model yanıtları (nanoselüloz verimi) için elde edilen deneysel sonuçlar Çizelge 4.1'de sunulmuştur. Verim değerleri konvansiyonel ekstraksiyon için %25,4 – %51,2; mikrodalga için %26,6 – %44,7; hidrotropik solvent için %58,8 – %74,7; derin ötektik solvent



ekstraksiyonu için ise %69,8 – %86,9 aralığında değişim göstermiştir. Ekstraksiyon yöntemleri arasında en yüksek verim değerleri derin ötektik solvent ekstraksiyonu ile elde edilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Antep fıstığı dış kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait detaylı deneme planı ve verim değerleri

| Sıcaklık<br>(°C) | Süre<br>(dk.) | Çözücü oranı<br>(mL/g) | Verim (%)     |            |             |               |
|------------------|---------------|------------------------|---------------|------------|-------------|---------------|
|                  |               |                        | Konvansiyonel | Mikrodalga | Hidrotropik | Derin ötektik |
| 60               | 35            | 10                     | 33,2          | 30,5       | 70,6        | 75,9          |
| 48               | 20            | 82                     | 32,4          | 27,7       | 61,9        | 72,0          |
| 72               | 20            | 82                     | 37,4          | 35,9       | 72,1        | 77,2          |
| 60               | 10            | 55                     | 40,2          | 31,6       | 64,7        | 75,7          |
| 72               | 50            | 28                     | 43,7          | 40,5       | 73,5        | 81,5          |
| 72               | 50            | 82                     | 47,3          | 42,0       | 73,7        | 84,8          |
| 60               | 35            | 55                     | 39,4          | 35,4       | 68,1        | 78,0          |
| 60               | 35            | 55                     | 36,8          | 34,9       | 69,1        | 76,1          |
| 48               | 50            | 28                     | 39,9          | 31,1       | 67,1        | 75,3          |
| 72               | 20            | 28                     | 32,4          | 33,8       | 71,0        | 81,3          |
| 48               | 20            | 28                     | 31,5          | 26,6       | 60,9        | 69,8          |
| 48               | 50            | 82                     | 41,1          | 32,0       | 67,4        | 81,3          |
| 80               | 35            | 55                     | 38,4          | 40,2       | 70,3        | 86,9          |
| 60               | 35            | 55                     | 37,8          | 35,7       | 68,4        | 77,8          |
| 60               | 60            | 55                     | 51,2          | 44,7       | 74,7        | 81,5          |
| 40               | 35            | 55                     | 25,4          | 32,0       | 58,8        | 70,7          |
| 60               | 35            | 55                     | 41,0          | 37,5       | 68,7        | 79,1          |
| 60               | 35            | 100                    | 40,0          | 30,4       | 70,9        | 75,8          |

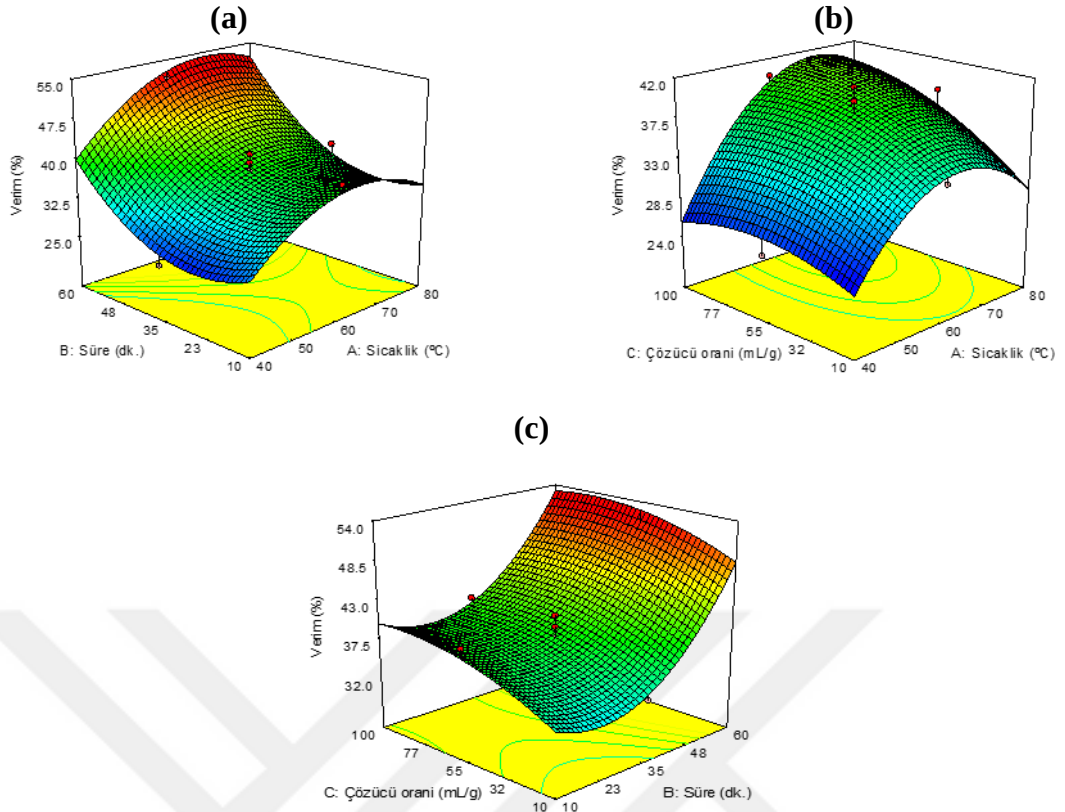
Antep fıstığı dış kabuğundan konvansiyonel ekstraksiyon işlem parametrelerinin nanoselüloz verimi üzerindeki etkilerinin üç boyutlu grafikleri Şekil 4.1’de sunulmuştur. Konvansiyonel ekstraksiyonda nanoselüloz verimi sıcaklık artışı ile belli bir noktaya kadar artmış, yüksek sıcaklıklarda ise azalma eğilimi göstermiştir. Bu durum, yüksek sıcaklıklarda selüloz iç tabakasında bulunan kristal yapıdaki selüloz birimlerinin çözünür şekerlere dönüşmesi ve selüloz yapısının bozulmasına bağlanabilir (Yahya vd., 2019). Ayrıca, sıcaklık artışı lif yapısındaki selüloz birimleri arasındaki etkileşimi artırmakta, böylelikle asit lifli tabakaya daha kolay nüfuz edebilmekte ve yüksek oranda hidroliz gerçekleştirebilmektedir (Bacha, 2022). Benzer şekilde, Wang vd. (2021) nanoselüloz üretimi gerçekleştirdikleri çalışmalarında sülfürik asit içeriği, işlem süresi ve selüloz içeriği parametreleri sabit tutularak reaksiyon sıcaklığı 140 °C’den 160 °C’ye çıkarıldığında selüloz nanokristalleri veriminin arttığını gözlemlemiş; sıcaklığın daha fazla yükseltilmesinin (>160 °C) ise selüloz nanokristallerinin ayrışmasına neden olarak verimin düşmesine sebep olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, işlem süresi ise 35. dk.’dan sonra verim üzerinde önemli bir etkiye sahip olmuştur.

Antep fıstığı dış kabuğundan mikrodalga destekli ekstraksiyon işlem parametrelerinin etkileri Şekil 4.2’de sunulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, artan işlem sıcaklığı ve süresinin nanoselüloz verimini doğrusal olarak artırdığı gözlenmiştir. Proses sıcaklığı artışıyla ekstraksiyon veriminin artması, difüzyon katsayısındaki artış ile birlikte polisakkaritlerin moleküler mobilite ve çözünürlüklerinin artmasına bağlanabilir (Rostami ve Gharibzahed, 2016). Çözücü oranının ise çalışılan parametre aralığındaki orta noktalarda yüksek verim sağladığı belirlenmiştir. Yüksek çözücü oranlarında hammaddenin reolojik özellikleri ve kütle transfer hızı etkilenerek belirli bir noktadan sonra ekstraksiyon verimi düşebilmektedir (Rostami ve Gharibzahed, 2016). Bu durum, artan reaksiyon süresi ve mikrodalgaların etkisi altında kütle transferinin hızlanması ve selüloz hidrolizinin artması ile açıklanabilir.

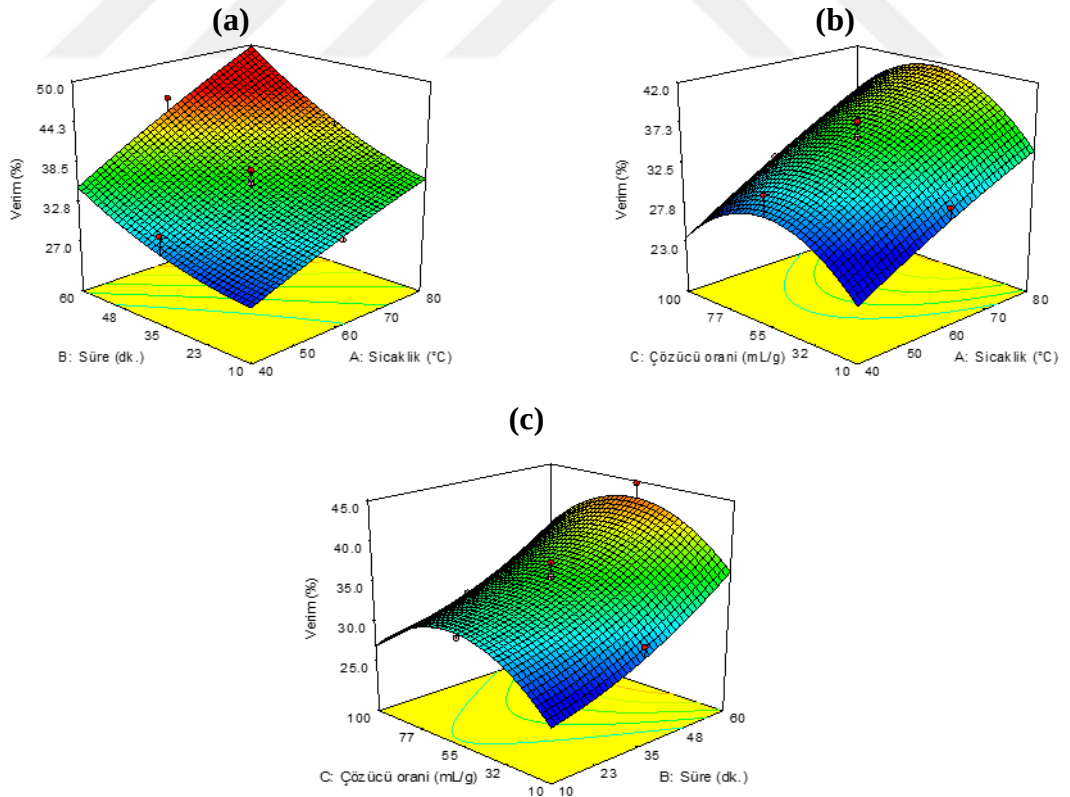
Antep fıstığı dış kabuğundan hidrotropik solvent ekstraksiyon işlem parametrelerinin nanoselüloz verimi üzerindeki ikili etkilerinin üç boyutlu grafikleri Şekil 4.3’te sunulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, hidrotropik solvent ekstraksiyonunda, artan işlem sıcaklığının nanoselüloz verimini belli bir noktaya kadar doğrusal yönde etkilediği, yüksek sıcaklıkların ise verim üzerinde önemli derecede bir etkiye sahip olmadığı görülmektedir. Yüksek işlem sürelerinde nanoselüloz verimi yüksek olurken, çözücü oranı verim üzerinde istatistiki açıdan önemli bir etki göstermemiştir ( $P>0,05$ ). Bu sonuçlar, ANOVA çıktıları ile de tutarlı bulunmuştur (Çizelge 4.2).

Antep fıstığı dış kabuğundan derin ötektik solvent ekstraksiyon işlem parametrelerinin nanoselüloz verimi üzerindeki ikili etkilerinin üç boyutlu grafikleri Şekil 4.4’te sunulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, nanoselüloz veriminin işlem süresi ve sıcaklığı ile doğrusal olarak arttığı görülmektedir. Artan sıcaklık ve reaksiyon süresinin, derin ötektik solventlerin lignoselülozik biyokütle ile daha fazla etkileşime girmesine olanak tanıyarak yüksek ekstraksiyon verimi sağladığı bildirilmektedir (Varilla-Mazaba vd., 2022). Diğer yandan, işlem süresi ve çözücü oranı ikili etkileşimi dikkate alındığında (Şekil 4.4c), sürenin çözücü oranının etkisi altında yalnızca belirli bir noktaya kadar nanoselüloz verimi üzerinde etkisi olduğu görülmektedir.

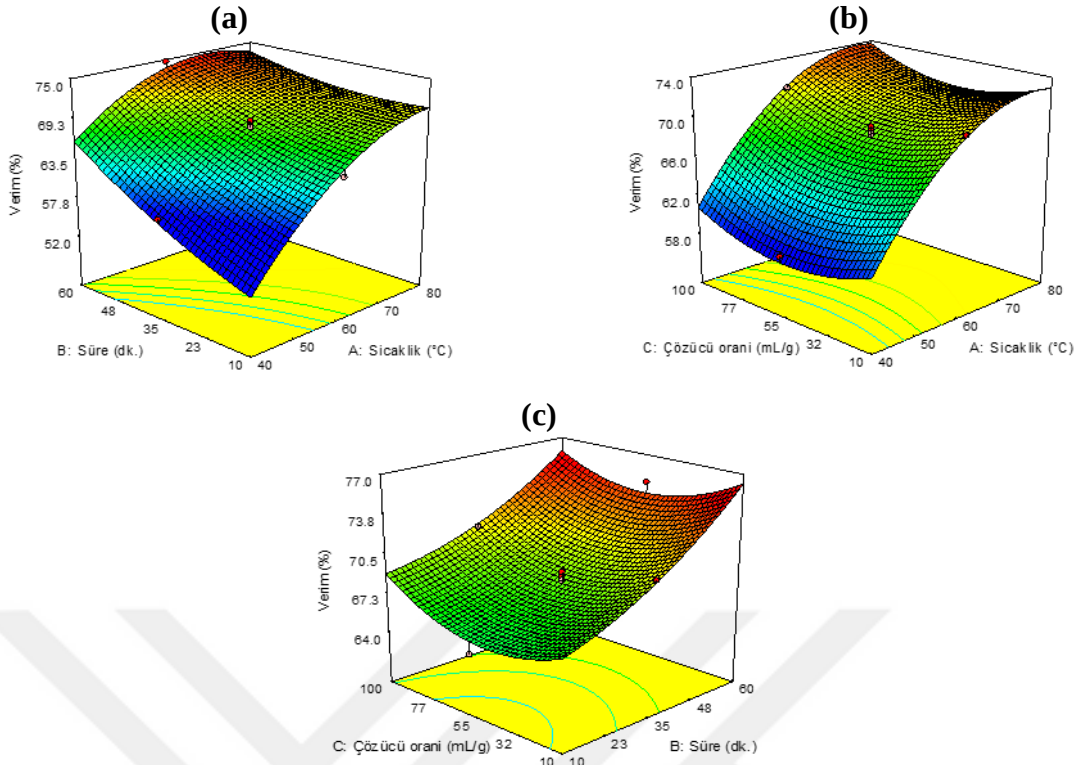
Sıcaklık ve sürenin etkileşimi, tüm ekstraksiyon yöntemleri için nanoselüloz verimi üzerinde etkili olmuştur. İşlem süresi ve çözücü oranlarının etkileşimi de nanoselüloz veriminde dikkate alınması gereken önemli parametrelerdir. Yüksek çözücü oranı ve işlem süresinin kombinasyonu, genel olarak yüksek nanoselüloz verimi elde edilmesine olanak sağlamıştır.



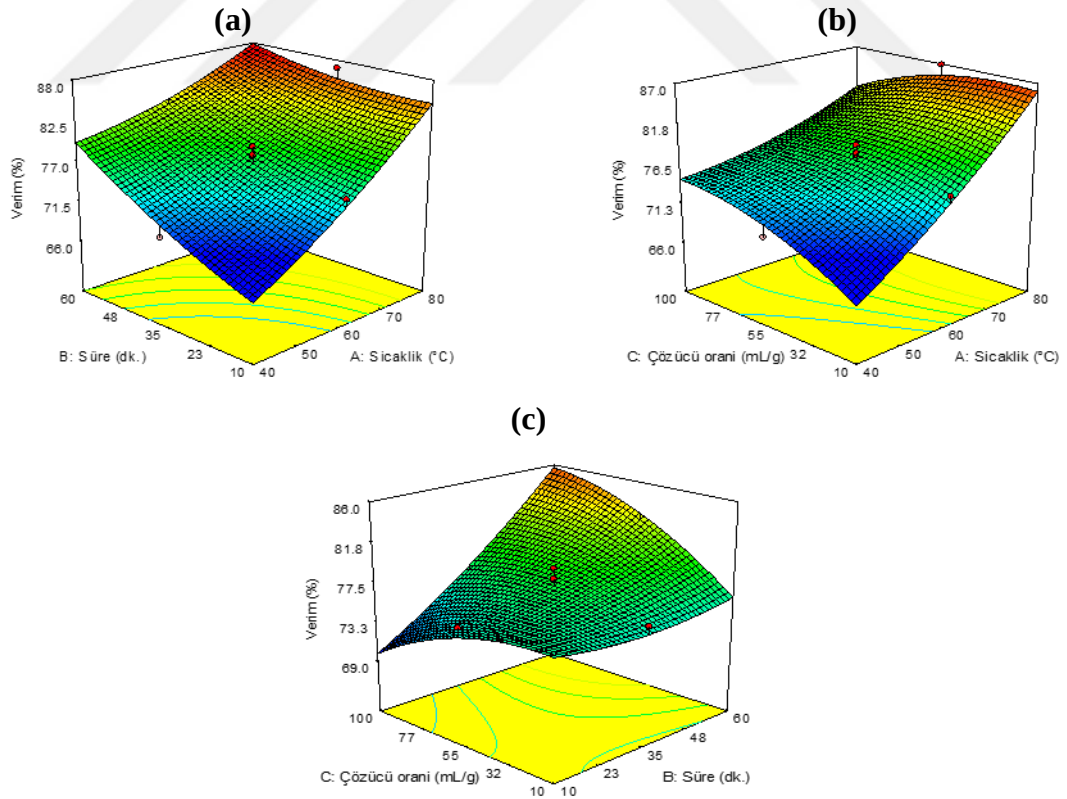
**Şekil 4.1.** Antep fıstığı dış kabuğundan konvansiyonel nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri



**Şekil 4.2.** Antep fıstığı dış kabuğundan mikrodalga destekli nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri



**Şekil 4.3.** Antep fıstığı dış kabuğundan hidrotropik solvent nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri



**Şekil 4.4.** Antep fıstığı dış kabuğundan derin ötektik solvent nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri

#### 4.1.1.2. Antep Fıstığı Dış Kabuğu Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlemlerine Ait Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM) ile Elde Edilen Model Katsayıları

Antep fıstığı dış kabuğundan nanoselüloz üretiminde her bir ekstraksiyon yöntemine ait varyans analizi (ANOVA) sonuçları, regresyon katsayıları ve istatistiki anlamlılık seviyeleri Çizelge 4.2’de sunulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, sıcaklık ve süre tüm ekstraksiyon yöntemleri üzerinde istatistiki açıdan önemli ( $P<0,001$ ) bulunmuştur. Çözücü oranının ise yalnızca konvansiyonel yöntemde istatistiki açıdan etkili olduğu belirlenmiştir. Yüksek regresyon katsayısı ( $R^2>0,93$ ) ve ayarlanmış regresyon katsayısı ( $>0,86$ ) değerleri, oluşturulan modellerin deneysel verilere uygunluğunu göstermektedir. Bir model üzerinden sonuçların yorumlanıp yorumlanamayacağının belirlenmesinde kullanılan uyum eksikliği (lack of fit) değeri ise tüm modellerde istatistiki açıdan önemsiz ( $P>0,05$ ) olarak belirlenmiştir. Bu da kullanılan modellerin deneysel veriler ile uygunluğunu göstermektedir.

Parametrelerin etkileşimli etkileri incelendiğinde (Çizelge 4.2), hidrotropik solvent ekstraksiyonundaki sıcaklık ve süre ( $\beta_1 \times \beta_2$ ) kombinasyonu ile derin ötektik solvent ekstraksiyonundaki süre ve çözücü oranı ( $\beta_2 \times \beta_3$ ) kombinasyonu dışındaki parametrelerin etkisi önemsiz ( $P>0,05$ ) bulunmuştur. Ayrıca, sıcaklık parametresinin ikinci dereceden etkileri konvansiyonel ve hidrotropik solvent yöntemleri için farklı önem düzeylerinde etkili iken, süre yalnızca konvansiyonel ekstraksiyon işlemi üzerinde anlamlı ( $P<0,01$ ) bulunmuştur.

RSM ile oluşturulan ve her bir ekstraksiyon yöntemine ait model denklemleri (yalnızca istatistiki önem düzeyine sahip parametreler dahil edilerek) aşağıda verilmiştir (A: Sıcaklık, B: Süre, C: Çözücü oranı):

**Konvansiyonel:**  $Y \text{ (Nanoselüloz verimi)} = - 24,30 + 2,01 \times (A) - 0,67 \times (B) + 0,03 \times (C) - 0,02 \times (A^2) + 0,01 \times (B^2)$

**Mikrodalga:**  $Y \text{ (Nanoselüloz verimi)} = 6,85 + 0,31 \times (A) - 0,12 \times (B) - 0,003 \times (C^2)$

**Hidrotropik:**  $Y \text{ (Nanoselüloz verimi)} = 1,12 + 1,69 \times (A) + 0,38 \times (B) - 0,0054 \times (A \times B) + 0,00 \times (A \times C) - 0,0099 \times (A^2) + 0,0011 \times (C^2)$

**Derin ötektik:**  $Y \text{ (Nanoselüloz verimi)} = 45,39 + 0,36 \times (A) + 0,16 \times (B) + 0,0035 \times (B \times C)$

**Çizelge 4.2.** Antep fıstığı dış kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait yanıt yüzey yöntemi model katsayıları ve ANOVA çıktıları

| Katsayı/Değer                            | Verim                 |                         |                          |                       |
|------------------------------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------|-----------------------|
|                                          | Konvansiyonel         | Mikrodalga              | Hidrotropik              | Derin ötektik         |
| $\beta_0$                                | -24,30***             | 6,85***                 | 1,12***                  | 45,39***              |
| <i>Doğrusal</i>                          |                       |                         |                          |                       |
| $\beta_1$ (Sıcaklık)                     | 2,01***               | 0,31***                 | 1,69***                  | 0,36***               |
| $\beta_2$ (Süre)                         | -0,67***              | -0,12***                | 0,38***                  | 0,16***               |
| $\beta_3$ (Çözücü oranı)                 | 0,03*                 | 0,32                    | -0,10                    | 0,21                  |
| <i>Etkileşimli</i>                       |                       |                         |                          |                       |
| $\beta_{12}$ (Sıcaklık×Süre)             | $2,9 \times 10^{-3}$  | $2,8 \times 10^{-3}$    | $-5,4 \times 10^{-3*}$   | $-4,9 \times 10^{-3}$ |
| $\beta_{13}$ (Sıcaklık×Çözücü oranı)     | $2,5 \times 10^{-3}$  | $6,3 \times 10^{-4}$    | 0,00                     | $-3,5 \times 10^{-3}$ |
| $\beta_{23}$ (Süre×Çözücü oranı)         | $-3,5 \times 10^{-4}$ | $-2,5 \times 10^{-4}$   | $-5,0 \times 10^{-4}$    | $3,5 \times 10^{-3*}$ |
| <i>İkinci derece</i>                     |                       |                         |                          |                       |
| $\beta_{11}$ (Sıcaklık×Sıcaklık)         | -0,02**               | $-1,2 \times 10^{-3}$   | $-9,9 \times 10^{-3***}$ | $2,9 \times 10^{-3}$  |
| $\beta_{22}$ (Süre×Süre)                 | 0,01**                | $2,5 \times 10^{-3}$    | $1,9 \times 10^{-3}$     | $1,5 \times 10^{-3}$  |
| $\beta_{33}$ (Çözücü oranı×Çözücü oranı) | $-1,0 \times 10^{-3}$ | $-3,0 \times 10^{-3**}$ | $1,1 \times 10^{-3*}$    | $-8,9 \times 10^{-4}$ |
| $R^2$                                    | 0,9486                | 0,9361                  | 0,9829                   | 0,9410                |
| Ayarlanmış $R^2$                         | 0,8908                | 0,8641                  | 0,9637                   | 0,8746                |
| p-değeri                                 | 0,0003                | 0,0007                  | <0,0001                  | 0,0005                |
| F-değeri                                 | 16,41                 | 13,01                   | 51,20                    | 14,17                 |
| Uyum eksikliği                           | 0,4535                | 0,1629                  | 0,0915                   | 0,2838                |

**Model:**  $Y$  (Verim) =  $\beta_0 + \beta_1(\text{Sıcaklık}) + \beta_2(\text{Süre}) + \beta_3(\text{Çözücü oranı}) + \beta_{12}(\text{Sıcaklık} \times \text{Süre}) + \beta_{13}(\text{Sıcaklık} \times \text{Çözücü oranı}) + \beta_{23}(\text{Süre} \times \text{Çözücü oranı}) + \beta_{11}(\text{Sıcaklık} \times \text{Sıcaklık}) + \beta_{22}(\text{Süre} \times \text{Süre}) + \beta_{33}(\text{Çözücü oranı} \times \text{Çözücü oranı})$ . İstatistiki önem dereceleri: \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ .

#### 4.1.1.3. Antep Fıstığı Dış Kabuğu Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlemlerine Ait Genetik Algoritma (GA) ile Elde Edilen Model Katsayıları

GA ile Antep fıstığı dış kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerinin modellenmesinde deneme planlarından elde edilen değerler kullanılmış ve modellemede “cos (kosinüs), sin (sinüs), ceil (bir üst tam sayıya yuvarlama), floor (bir alt tam sayıya yuvarlama) ve abs (mutlak değer)” operatörleri kullanılmıştır.

Antep fıstığı dış kabuğundan konvansiyonel nanoselüloz ekstraksiyon işlemine ait GA modelleri aşağıda sunulmuştur (A: Sıcaklık, B: İşlem süresi, C: Çözücü oranı):

$$\begin{aligned} \text{Verim (\%)} = & \text{Math,ceil}(\text{Math,ceil}(A - ((A - \text{Math,ceil}(B)) + (\text{Math,sin}(B \times B) \times ((C - \\ & \text{Math,ceil}(B)) \times 0,10143372980129484)))) + (((\text{Math,cos}((C - \text{Math,ceil}(B)) \times \\ & (\text{Math,ceil}(B) \times (A - B))) - \text{Math,sin}(\text{Math,ceil}(B) - (A - B))) - \text{Math,sin}(\text{Math,ceil}(B \times B) \times \\ & ((A - 0,587180220904578) - \text{Math,ceil}(B)) \times 0,10143372980129484))) - \\ & (\text{Math,sin}(\text{Math,sin}(B \times (A - B)) \times ((A - 0,587180220904578) - B) \times (0,587180220904578 \\ & - (A - B)))) - (\text{Math,cos}((C - \text{Math,ceil}(B)) \times (B \times (A - B))) - (\text{Math,sin}(\text{Math,sin}(B \times B)) \times \\ & ((A - \text{Math,ceil}(B)) \times 0,10143372980129484)))) - ((\text{Math,sin}(((A - 0,587180220904578) - \\ & B) - \text{Math,cos}(C)) - ((\text{Math,floor}((A - B) - B) \times 0,10143372980129484) - (\text{Math,sin}((A - \\ & 0,587180220904578) \times (A - B)) \times (((A - 0,587180220904578) - B) \times \\ & 0,10143372980129484)))) - (((\text{Math,floor}((A - B) - B) \times 0,10143372980129484) - \end{aligned}$$

$$\text{Math, sin(Math, ceil(B) - (A - B))) - (Math, sin((0,587180220904578 - (A - B)) + B) \times ((A - B) \times 0,10143372980129484)))))$$

Antep fıstığı dış kabuğundan mikrodalga destekli nanoselüloz ekstraksiyon işlemine ait GA modeli aşağıda verilmiştir:

$$\begin{aligned} \text{Verim (\%)} = & (((0,5639075136176038 \times (A - (\text{Math, cos(Math, cos(B) - \\ & ((0,8047971897724816 \times C) + (B \times C))) + (\text{Math, cos}((A \times C) + 0,8047971897724816) + (((B \\ & + 0,5639075136176038) + 0,5639075136176038) + \text{Math, cos(B))))) + ((\text{Math, sin}((A - \\ & ((0,8047971897724816 \times C) + 0,8047971897724816)) \times (0,5639075136176038 + ((B + \\ & 0,5639075136176038) + 0,8047971897724816))) + (\text{Math, sin}(((B + 0,5639075136176038) + \\ & 0,8047971897724816) \times C) + (\text{Math, sin}(A \times C) + (\text{Math, sin}(A \times C) + ((B + \\ & 0,8047971897724816) + 0,8047971897724816)))) \times 0,8047971897724816)) \times \\ & 0,8047971897724816 \end{aligned}$$

Antep fıstığı dış kabuğundan hidrotropik solvent nanoselüloz ekstraksiyon işlemine ait GA modeli aşağıda verilmiştir:

$$\begin{aligned} \text{Verim (\%)} = & (((\text{Math, ceil(Math, ceil(Math, ceil(Math, ceil(A)))) - ((C \times \\ & 0,06795943193005838) \times \text{Math, cos(A))) - ((C \times 0,06795943193005838) \times \\ & \text{Math, cos}((\text{Math, ceil(A) + (C \times 0,06795943193005838)) \times 0,06795943193005838))) - (((B \times \\ & 0,06795943193005838) \times (A + (C \times 0,06795943193005838))) \times 0,06795943193005838) \times \\ & \text{Math, cos}((\text{Math, ceil(Math, ceil(A)) + \text{Math, sin}(C + A)) \times 0,06795943193005838))) + \\ & \text{Math, cos}(C + (((A + ((C \times 0,06795943193005838) \times \text{Math, cos(A))) + \text{Math, floor}(A + A)) \times \\ & 0,06795943193005838))) + \text{Math, cos}((\text{Math, sin}(C \times 0,06795943193005838) + ((A + ((C \times \\ & 0,06795943193005838) \times \text{Math, cos(A))) - ((C \times (B \times 0,06795943193005838)) \times \\ & \text{Math, cos(C))) \times 0,06795943193005838)) \times \text{Math, sin}(0,06795943193005838 \times \\ & \text{Math, ceil(Math, ceil(C))) \end{aligned}$$

Antep fıstığı dış kabuğundan derin ötektik solvent nanoselüloz ekstraksiyon işlemine ait GA modeli aşağıda verilmiştir:

$$\begin{aligned} \text{Verim (\%)} = & \text{Math, abs(Math, cos((((C + \text{Math, ceil}(0,9872796331029253)) + B) + \\ & (((0,9872796331029253 + 0,9876282295301153) + (0,9872796331029253 + \\ & 0,9876282295301153)) + ((0,7282547781524824 + 0,7282547781524824) + \\ & (0,9876282295301153 + 0,9790722790096793)))) + \text{Math, sin}(0,7041752686887225 - \\ & \text{Math, abs(Math, abs(A)))) + \text{Math, sin}((\text{Math, floor}(C + 0,7829290262556429) \times ((C + C) + \\ & (0,7282547781524824 + 0,7282547781524824))) \times (\text{Math, cos}(A) \times ((C + \\ & 0,7282547781524824) + (0,7282547781524824 + 0,7282547781524824)))) + \\ & (\text{Math, cos}(((\text{Math, sin}(\text{Math, cos}(A)) \times (\text{Math, ceil}(0,7829290262556429) + \\ & 0,7829290262556429)) \times ((0,7829290262556429 + 0,9790722790096793) + \\ & (0,7829290262556429 + 0,7282547781524824))) \times ((\text{Math, sin}(A \times A) + \\ & 0,7829290262556429) + 0,7829290262556429)) + (((\text{Math, sin}(\text{Math, cos}(A)) \times \\ & (\text{Math, ceil}(0,9872796331029253) + \text{Math, ceil}(0,9872796331029253))) \times \\ & ((\text{Math, ceil}(0,7829290262556429) + 0,7829290262556429) + \\ & \text{Math, ceil}(0,7282547781524824))) \times ((\text{Math, ceil}(0,9872796331029253) + \\ & \text{Math, ceil}(\text{Math, ceil}(0,9872796331029253))) + 0,7829290262556429)) + (((\text{Math, sin}(A \times A) \\ & \times (0,9876282295301153 + \text{Math, ceil}(0,7829290262556429))) \times (((0,9872796331029253 + \\ & 0,9872796331029253) + (0,9872796331029253 + 0,9876282295301153)) + \\ & ((0,7829290262556429 + 0,7282547781524824) + (0,9872796331029253 + \end{aligned}$$

$$0,9876282295301153)))) + \text{Math,floor}((\text{Math,cos}(A) \times (0,7829290262556429 + 0,7282547781524824)) - A))))$$

#### 4.1.1.4. Antep Fıstığı Dış Kabuğundan Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlem Koşullarının Optimizasyonu

Çözücülerin aşırı kullanımının çevresel ve ekonomik açıdan dezavantaj oluşturması, yüksek sıcaklık ve işlem süresinin hedef bileşenin yapısını bozması ve enerji gereksinimlerini artırması gibi nedenler, ekstraksiyon işlem parametrelerinin optimize edilmesinde kritik öneme sahiptir. Bu bağlamda, modelleme işlemlerini takiben nanoselüloz verimi maksimize edilerek konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ekstraksiyon yöntemlerine ait optimum işlem koşulları belirlenmiştir. Yanıt yüzey yöntemi ile elde edilen optimum işlem koşulları, program çıktıları ve deneysel doğrulama sonuçları Çizelge 4.3'te sunulmuştur. Program çıktıları ile deneysel sonuçların birbiriyle uyumlu olduğu ve sapmaların istatistiki açıdan anlamsız olduğu görülmüştür ( $P>0,05$ ). RSM ile optimum işlem koşulları konvansiyonel yöntem için 70 °C işlem sıcaklığı, 59 dk. işlem süresi ve 97 mL/g çözücü oranı; mikrodalga destekli ekstraksiyon için 79 °C, 59 dk. ve 69 mL/g; hidrotropik solvent için 61 °C, 57 dk. ve 98 mL/g; derin ötektik solvent ekstraksiyonu için ise 78 °C, 59 dk. ve 63 mL/g olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon teknikleri arasında en yüksek nanoselüloz verimi derin ötektik solvent ekstraksiyonu (%87,4) ile elde edilirken, bunu hidrotropik solvent (%75,2), konvansiyonel (%55,0) ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (%48,6) yöntemleri izlemiştir.

Konvansiyonel ve mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemlerinden elde edilen düşük nanoselüloz verimi değerleri, sülfürik asit hidrolizi gibi güçlü asit işlemlerinin bir sonucu olarak selüloz yapısının bozunması ile ilişkilendirilebilir (Song vd., 2018). Benzer şekilde, Li vd. (2016) odundan sülfürik asit hidrolizi sonucu elde edilen selüloz nanokristallerinin düşük verim (%19,2 – %41,1) gösterdiğini rapor etmiştir. Bir başka çalışmada, mevcut tez çalışmasındakine benzer şekilde kolin klorür ve okzalik asit karışımı kullanılan derin ötektik solvent ekstraksiyon işleminin, sülfürik asitin kullanıldığı konvansiyonel ekstraksiyona (%58) kıyasla daha yüksek nanoselüloz verimi (%73,7 – %75,2) sağladığı ortaya koyulmuştur (Wu vd., 2022). Yazarlar, derin ötektik solventlerin sülfürik asit gibi kuvvetli asitlere kıyasla daha zayıf olduğunu ve bu nedenle lif yapısına aşırı zarar vermediğini belirtmişlerdir. Sonuç olarak, nanoselüloz üretimi için derin ötektik solventlerin kullanılması, farklı lignoselülozik malzeme türleri için yenilikçi, çevre dostu ve sürdürülebilir yöntemlerin geliştirilmesine yol açabilme potansiyeline sahiptir.



**Çizelge 4.3.** Antep fıstığı dış kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait yanıt yüzey yöntemi optimizasyon sonuçları

| Yöntem        | İşlem parametreleri |            |                     | Güvenilirlik | Program Çıktısı | Deneysel Sonuç |
|---------------|---------------------|------------|---------------------|--------------|-----------------|----------------|
|               | Sıcaklık (°C)       | Süre (dk.) | Çözücü oranı (mL/g) |              |                 |                |
| Konvansiyonel | 70                  | 59         | 97                  | 1,000        | 55,0            | 55,7±1,24      |
| Mikrodalga    | 79                  | 59         | 69                  | 1,000        | 48,6            | 48,1±1,66      |
| Hidrotropik   | 61                  | 57         | 98                  | 1,000        | 75,2            | 74,8±2,60      |
| Derin ötektik | 78                  | 59         | 63                  | 1,000        | 87,4            | 87,7±4,18      |

Proses optimizasyonu için aynı zamanda GA kullanılmış ve her bir ekstraksiyon yöntemine ait optimum işlem koşulları ayrı ayrı belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Sonuçlar doğrultusunda, en yüksek nanoselüloz verimi derin ötektik solvent ekstraksiyonu (%91,0) ile elde edilmiş, bunu takiben verim açısından sırasıyla hidrotropik solvent (%81,5), konvansiyonel (%60,7) ve mikrodalga destekli (%52,1) ekstraksiyon yöntemleri gelmiştir. Optimum işlem koşullarında gerçekleştirilen doğrulama denemeleri ile program çıktıları arasında istatistiki açıdan farklılık oluşmamıştır ( $P>0,05$ ). RSM yerine GA kullanıldığında nanoselüloz verimindeki artışların en yüksekten en düşüğe doğru %6,6 (hidrotropik), %5,3 (konvansiyonel), %5,2 (derin ötektik) ve %2,3 (mikrodalga destekli) oranında olduğu görülmüştür. Dolayısıyla, sistem parametrelerini optimize etmek için model öğrenimi ve eğitime dayalı evrimsel tabanlı algoritmaları kullanmanın uygulanabilir olduğu ve kimi durumda RSM gibi kullanımı yaygınlaşan metodolojilere kıyasla uygulamada daha faydalı olabileceği görülmektedir.

**Çizelge 4.4.** Antep fıstığı dış kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait genetik algoritma optimizasyon sonuçları

| Yöntem        | İşlem Parametreleri |            |                     | Verim (%)       |                |
|---------------|---------------------|------------|---------------------|-----------------|----------------|
|               | Sıcaklık (°C)       | Süre (dk.) | Çözücü oranı (mL/g) | Program Çıktısı | Deneysel Sonuç |
| Konvansiyonel | 77                  | 60         | 98                  | 60,7            | 59,9±2,1       |
| Mikrodalga    | 80                  | 60         | 55                  | 52,1            | 52,5±2,4       |
| Hidrotropik   | 60                  | 58         | 95                  | 81,5            | 79,9±1,3       |
| Derin ötektik | 80                  | 52         | 24                  | 91,0            | 90,6±4,6       |

#### 4.1.2. Ekstraksiyon İşlemlerinin Kestane Kabuğu Nanoselüloz Verimi Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

##### 4.1.2.1. Kestane Kabuğu Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlemlerine Ait Deneme Planları

Kestane kabuğundan nanoselüloz üretimi, Antep fıstığı dış kabuğuna benzer şekilde RSM kullanılarak elde edilen deneme planları doğrultusunda konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ekstraksiyon işlemleri ile gerçekleştirilmiştir.

Ardından, deneysel sonuçlar doğrultusunda RSM ve GA teknikleri kullanılarak işlem koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Kestane kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyonu işlemlerinde sıcaklık, işlem süresi ve çözücü oranının nanoselüloz verimi üzerine etkileri, RSM kullanılarak CCD ile incelenmiştir. Dördü merkez nokta olmak üzere toplam 18 noktadan oluşan deneme planı ve bu noktalarda elde edilen deneysel sonuçlar Çizelge 4.5'te verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, nanoselüloz verimi değerlerinin konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ekstraksiyon işlemleri için sırasıyla %19,3 – %58,4; %9,0 – %30,4; %73,6 – %88,0 ve %85,6 – %99,0 aralığında değişim gösterdiği görülmektedir.

**Çizelge 4.5.** Kestane kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait deneme planı ve deneysel sonuçlar

| Sıcaklık<br>(°C) | Süre<br>(dk.) | Çözücü oranı<br>(mL/g) | Verim (%)     |            |             |               |
|------------------|---------------|------------------------|---------------|------------|-------------|---------------|
|                  |               |                        | Konvansiyonel | Mikrodalga | Hidrotropik | Derin ötektik |
| 60               | 35            | 10                     | 20,8          | 24,4       | 79,3        | 94,9          |
| 48               | 20            | 82                     | 26,8          | 18,5       | 77,9        | 90,8          |
| 72               | 20            | 82                     | 33,3          | 20,6       | 82,7        | 94,3          |
| 60               | 10            | 55                     | 19,3          | 9,3        | 75,7        | 93,2          |
| 72               | 50            | 28                     | 38,8          | 29,2       | 85,3        | 96,8          |
| 72               | 50            | 82                     | 49,0          | 30,4       | 86,3        | 99,0          |
| 60               | 35            | 55                     | 23,3          | 19,2       | 78,9        | 95,9          |
| 60               | 35            | 55                     | 26,9          | 15,7       | 79,7        | 94,7          |
| 48               | 50            | 28                     | 27,5          | 21,7       | 83,2        | 93,3          |
| 72               | 20            | 28                     | 26,9          | 14,2       | 78,5        | 92,0          |
| 48               | 20            | 28                     | 19,8          | 9,0        | 73,6        | 88,0          |
| 48               | 50            | 82                     | 33,0          | 27,2       | 82,2        | 93,8          |
| 80               | 35            | 55                     | 58,4          | 23,3       | 88,0        | 93,9          |
| 60               | 35            | 55                     | 22,9          | 18,1       | 80,5        | 95,2          |
| 60               | 60            | 55                     | 27,4          | 29,7       | 83,9        | 98,2          |
| 40               | 35            | 55                     | 33,1          | 10,6       | 76,7        | 85,6          |
| 60               | 35            | 55                     | 22,1          | 18,3       | 79,8        | 95,6          |
| 60               | 35            | 100                    | 26,6          | 26,6       | 82,3        | 95,8          |

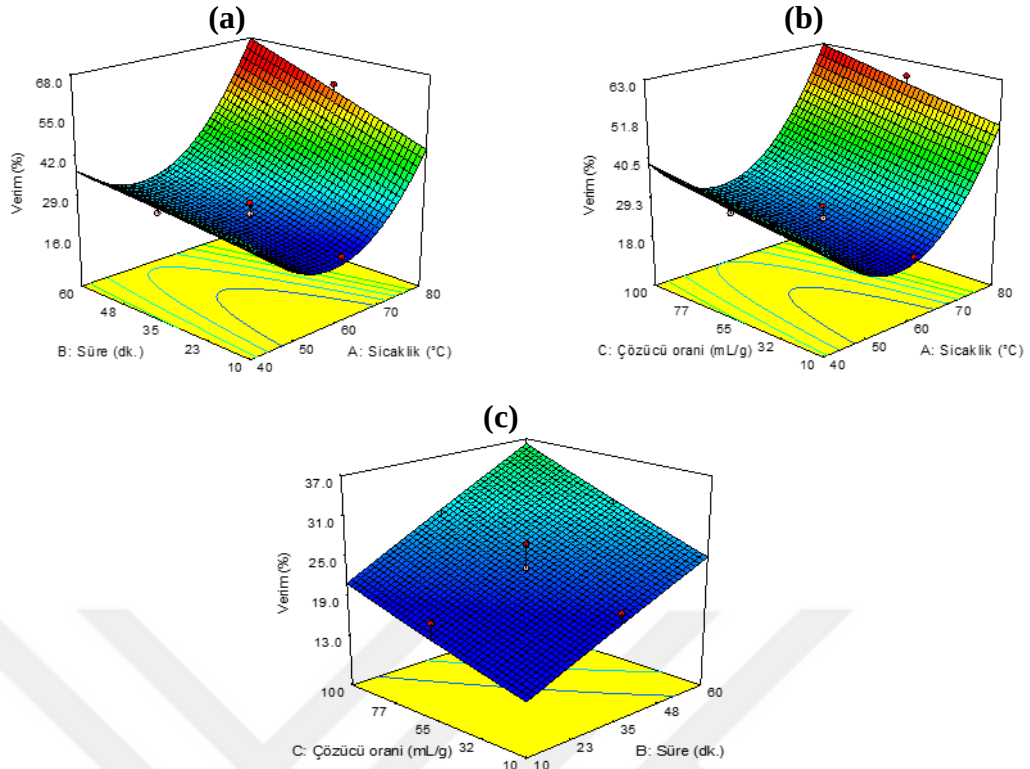
Bağımsız değişkenlerin nanoselüloz verimi üzerindeki etkilerini gösteren üç boyutlu grafikler konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ekstraksiyon yöntemleri için sırasıyla Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de sunulmuştur. Konvansiyonel ekstraksiyonda, işlem süresinin artışı ile nanoselüloz veriminde de artış meydana geldiği görülmüştür (Şekil 4.5). Çözücü oranı ile sıcaklığın etkileşimi incelendiğinde, 60 – 65 °C işlem sıcaklığı sonrasında artan çözücü oranı ile verimde de artış gözlenmiştir. Yüksek sıcaklıklarda hidroliz derecesinin artışı ve selülozdaki amorf bölgelerin kolaylıkla ortaya çıkabilmesi nedeniyle verimde artış gözlenebilmektedir (Chen vd., 2017).

Çözücü oranı ve işlem süresinin artışı ise verim üzerinde doğrusal bir artış sağlamıştır (Şekil 4.5c).

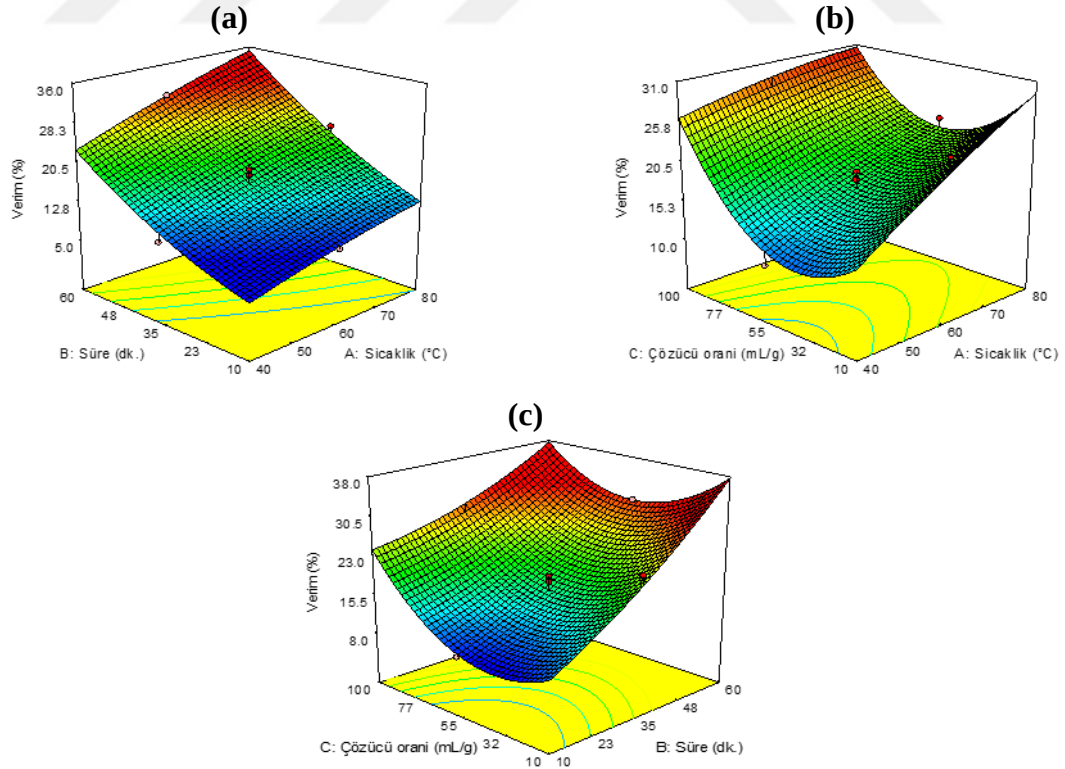
Mikrodalga ekstraksiyon işleminde işlem sıcaklığı ve sürenin etkileşimi incelendiğinde, özellikle yüksek sıcaklıklarda işlem süresinin artması ile nanoselüloz veriminde artış meydana geldiği görülmektedir (Şekil 4.6a). Sıcaklık artışı ile çözücü oranının yaklaşık 55 mL/g üzerine çıktığı noktalarda ise nanoselüloz veriminde belirgin bir doğrusal artış sağlanmıştır (Şekil 4.6b). Çözücü oranının sıcaklık ve süre ile ayrı ayrı etkileşimlerinin, verim üzerinde benzer trendler oluşturduğu görülmüştür.

Hidrotropik solvent ekstraksiyon işleminde işlem sıcaklığı ve süresinin artması ile nanoselüloz veriminde de artış sağlanmıştır (Şekil 4.7a). Benzer durum çözücü oranı ile sıcaklığın etkileşiminde de gerçekleşmiş (Şekil 4.7b), parametrelerin en yüksek değere sahip olduğu noktalarda yüksek nanoselüloz verimi elde edilmiştir.

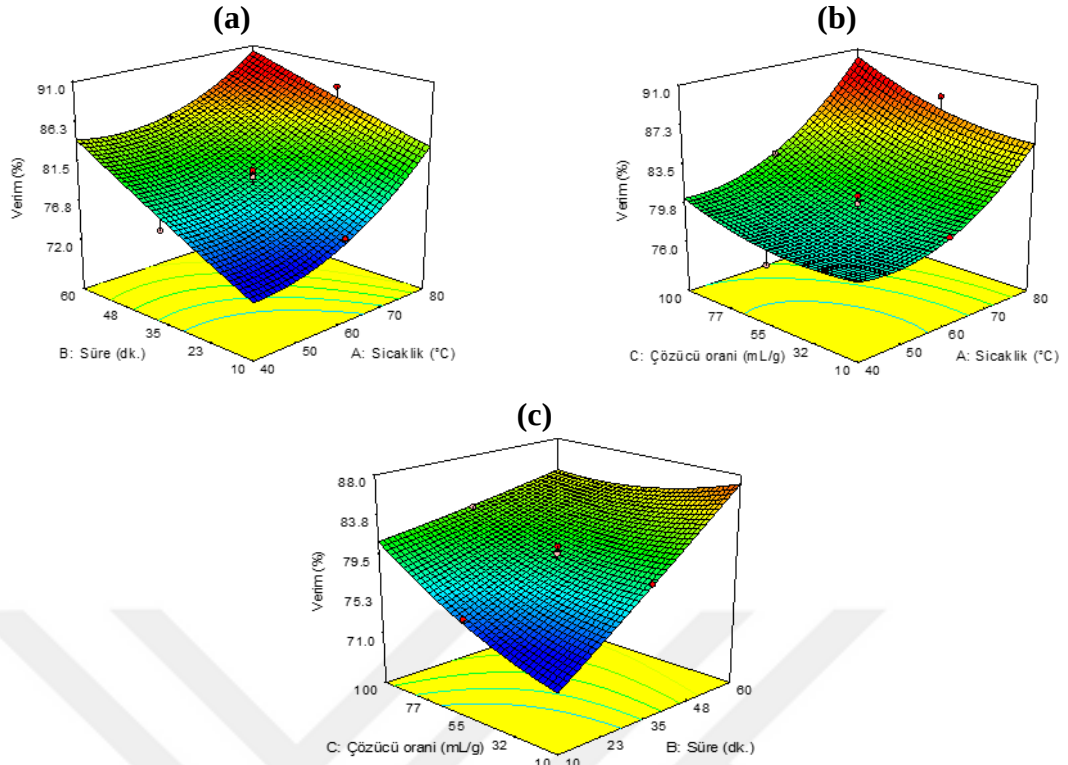
Derin ötektik solvent ekstraksiyon işlemi için sıcaklık ve işlem süresinin verim üzerine etkileri incelendiğinde, 60 – 70 °C aralığında yüksek nanoselüloz verimine ulaşıldığı ve bu noktadan sonra artan işlem süresi ile nanoselüloz veriminde düşüş olduğu görülmektedir (Şekil 4.8a). Benzer şekilde, çözücü oranı ile işlem sıcaklığı etkileşimi sonucunda verimin optimum sıcaklık seviyelerinde en yüksek değere ulaştığı ve bu noktadan sonra artan çözücü oranının verimi azalttığı görülmektedir (Şekil 4.8b). Ekstraksiyon işlemleri esnasında selüloz birimlerinin yüksek oranda hidrolize uğratılması sonucu yapıda bozunmalar meydana gelebilmekte, sonuç olarak verimde düşüşler gözlenebilmektedir (Wang vd., 2021). Ekstraksiyon işleminin etkinliği açısından çözücünün hammadde ile temas süresi bir diğer önemli parametre olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu bağlamda, derin ötektik solvent ekstraksiyonunda işlem süresinin artması ile verimde de doğrusal yönde bir artış görülmektedir (Şekil 4.8c).



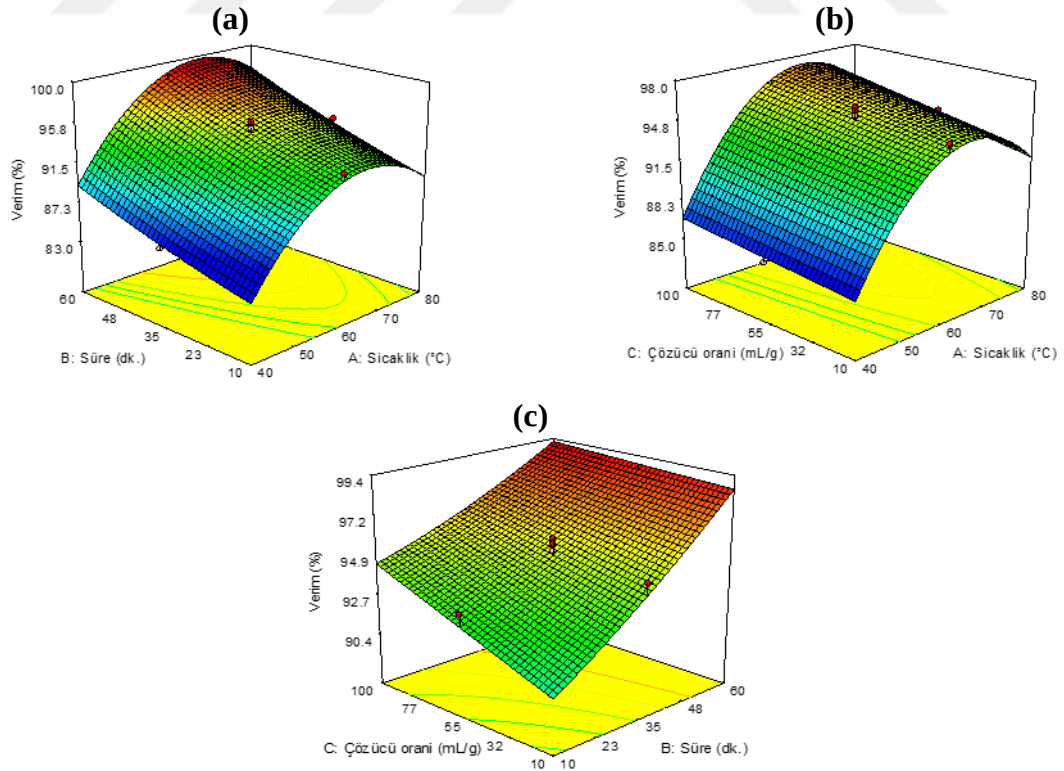
**Şekil 4.5.** Kestane kabuğundan konvansiyonel nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri



**Şekil 4.6.** Kestane kabuğundan mikrodalga destekli nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri



**Şekil 4.7.** Kestane kabuğundan hidrotropik solvent nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri



**Şekil 4.8.** Kestane kabuğundan derin ötektik solvent nanoselüloz ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenlerin verim üzerine ikili etkileri

#### 4.1.2.2. Kestane Kabuğu Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlemlerine Ait Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM) ile Elde Edilen Model Katsayıları

Kestane kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait model regresyon katsayıları ve ANOVA çıktıları Çizelge 4.6'da verilmiştir. Bir modelin matematiksel açıdan tutarlılığını gösteren bir değer olan regresyon katsayısı değeri, 0 ile 1 arasında bir sayıdır ve bu değer birine yakın olması modelin tutarlılığının yüksek olduğunu göstermektedir (Yahya vd., 2019). Konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ekstraksiyon yöntemlerine ait  $R^2$  değerleri sırasıyla 0,9581; 0,9607; 0,9610; 0,9701 olarak belirlenmiştir. Bu değerlerin 0,95'ten büyük olması deneysel verilerin model ile yüksek oranda uyumlu olduğunu göstermektedir. Sonuçların model ile uyumluluğunu gösteren bir diğer parametre olan uyum eksikliği (lack of fit) değerine (Wijaya vd., 2019) göre ise tüm bağımlı değişkenlere ait uyum eksikliği değerleri, arzu edilir nitelikte istatistiki açıdan önemsiz ( $P>0,05$ ) bulunmuştur.

Çizelge 4.6 incelendiğinde, her bir bağımsız değişkenin (sıcaklık, süre ve çözücü oranı) nanoselüloz verimi üzerinde farklı anlam düzeylerinde etkili oldukları görülmektedir. Konvansiyonel ve hidrotropik solvent ekstraksiyon yöntemlerinde sıcaklık parametresinin nanoselüloz verimi üzerine negatif yönde etkisi ( $P<0,001$ ) gözlenirken, mikrodalga ve derin ötektik solvent ekstraksiyon yöntemlerinde pozitif etkisi ( $P<0,001$ ) istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. Konvansiyonel ekstraksiyon yönteminde işlem süresinin nanoselüloz verimi üzerine negatif yönde etkisi ( $P<0,001$ ) gözlenirken, diğer tüm yöntemler için sürenin verim üzerindeki pozitif yöndeki etkisi, istatistiki açıdan anlamlı ( $P<0,001$ ) bulunmuştur. Çözücü oranı ise yeşil teknoloji uygulamaları olan hidrotropik ve derin ötektik solvent ekstraksiyon işlemlerinde nanoselüloz verimi üzerinde pozitif yönde etki göstermiştir.

İşlem parametrelerinin etkileşimli etkileri incelendiğinde, yalnızca hidrotropik solvent ekstraksiyon yönteminde "*süre × çözücü oranı*"nın negatif yönlü etkileşimi, nanoselüloz verimi üzerine istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Bağımsız değişkenlerin ikinci dereceden etkileri incelendiğinde, sıcaklık konvansiyonel ve hidrotropik solvent ekstraksiyon yöntemlerinde; çözücü oranı ise mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde farklı istatistiki önem düzeylerinde etkili olmuştur ( $P<0,01$ ).

RSM ile oluşturulan ve her bir ekstraksiyon yöntemine ait model denklemleri (yalnızca istatistiki önem düzeyine sahip parametreler dahil edilerek) aşağıda verilmiştir (A: Sıcaklık, B: Süre, C: Çözücü oranı):

**Konvansiyonel:**  $Y$  (Nanoselüloz verimi) =  $205,14 - 6,59 \times (A) - 0,33 \times (B) - 0,03 \times (C) + 0,06 \times (A^2)$

**Mikrodalga:**  $Y$  (Nanoselüloz verimi) =  $-13,78 + 0,48 \times (A) + 0,19 \times (B) - 0,09 \times (C) + 0,00011 \times (C^2)$

**Hidrotrópik:**  $Y$  (Nanoselüloz verimi) =  $76,88 - 0,56 \times (A) + 0,46 \times (B) + 0,02 \times (C) - 0,0027 \times (B \times C) + 0,0068 \times (A^2)$

**Derin ötektik:**  $Y$  (Nanoselüloz verimi) =  $30,51 + 1,81 \times (A) + 0,08 \times (B) + 0,02 \times (C) - 0,01 \times (A^2)$

**Çizelge 4.6.** Kestane kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait yanıt yüzey yöntemi model katsayıları ve ANOVA çıktıları

| Katsayı/Değer                            | Verim                 |                       |                       |                       |
|------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
|                                          | Konvansiyonel         | Mikrodalga            | Hidrotrópik           | Derin ötektik         |
| $\beta_0$                                | 205,14***             | -13,78***             | 76,88***              | 30,51***              |
| <i>Doğrusal</i>                          |                       |                       |                       |                       |
| $\beta_1$ (Sıcaklık)                     | -6,59***              | 0,48***               | -0,56***              | 1,81***               |
| $\beta_2$ (Süre)                         | -0,33**               | 0,19***               | 0,46***               | 0,08***               |
| $\beta_3$ (Çözücü oranı)                 | -0,03**               | -0,09**               | 0,02**                | 0,02*                 |
| <i>Etkileşimli</i>                       |                       |                       |                       |                       |
| $\beta_{12}$ (Sıcaklık×Süre)             | $9,7 \times 10^{-3}$  | $2,4 \times 10^{-3}$  | $-2,5 \times 10^{-3}$ | $8,5 \times 10^{-4}$  |
| $\beta_{13}$ (Sıcaklık×Çözücü oranı)     | $1,6 \times 10^{-3}$  | $-2,9 \times 10^{-3}$ | $7,5 \times 10^{-4}$  | $4,7 \times 10^{-4}$  |
| $\beta_{23}$ (Süre×Çözücü oranı)         | $7,2 \times 10^{-4}$  | $-2,9 \times 10^{-3}$ | $-2,7 \times 10^{-3}$ | $-7,5 \times 10^{-4}$ |
| <i>İkinci derece</i>                     |                       |                       |                       |                       |
| $\beta_{11}$ (Sıcaklık×Sıcaklık)         | 0,06***               | $-1,4 \times 10^{-3}$ | $6,8 \times 10^{-3}$  | -0,01***              |
| $\beta_{22}$ (Süre×Süre)                 | $-2,1 \times 10^{-4}$ | $3,2 \times 10^{-3}$  | $2,7 \times 10^{-4}$  | $5,7 \times 10^{-4}$  |
| $\beta_{33}$ (Çözücü oranı×Çözücü oranı) | $1,1 \times 10^{-4}$  | $4,0 \times 10^{-3}$  | $5,8 \times 10^{-4}$  | $1,9 \times 10^{-6}$  |
| $R^2$                                    | 0,9581                | 0,9607                | 0,9610                | 0,9701                |
| Ayarlanmış $R^2$                         | 0,9110                | 0,9165                | 0,9171                | 0,9364                |
| $p$ -değeri                              | 0,0001                | 0,0001                | 0,0001                | <0,0001               |
| $F$ -değeri                              | 20,34                 | 21,74                 | 21,91                 | 28,79                 |
| Uyum eksikliği                           | 0,2203                | 0,2734                | 0,1506                | 0,1659                |

**Model:**  $Y$  (yanıt) =  $\beta_0 + \beta_1(\text{Sıcaklık}) + \beta_2(\text{Süre}) + \beta_3(\text{Çözücü oranı}) + \beta_{12}(\text{Sıcaklık} \times \text{Süre}) + \beta_{13}(\text{Sıcaklık} \times \text{Çözücü oranı}) + \beta_{23}(\text{Süre} \times \text{Çözücü oranı}) + \beta_{11}(\text{Sıcaklık} \times \text{Sıcaklık}) + \beta_{22}(\text{Süre} \times \text{Süre}) + \beta_{33}(\text{Çözücü oranı} \times \text{Çözücü oranı})$ .  
İstatistiki önem dereceleri: \* $P < 0,05$ ; \*\* $P < 0,01$ ; \*\*\* $P < 0,001$ .

#### 4.1.2.3. Kestane Kabuğu Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlemlerine Ait Genetik Algoritma (GA) ile Elde Edilen Model Katsayıları

Genetik Algoritma (GA) ile kestane kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerinin modellenmesinde deneme planlarından elde edilen değerler kullanılmış, modellemede Başlık 4.1.1.3'tekine benzer şekilde “cos (kosinüs), sin (sinüs), ceil (bir üst tam sayıya yuvarlama), floor (bir alt tam sayıya yuvarlama) ve abs (mutlak değer)” operatörleri kullanılmıştır.

Kestane kabuğundan konvansiyonel nanoselüloz ekstraksiyon işlemine ait GA modeli aşağıda verilmiştir (A: Sıcaklık, B: İşlem süresi, C: Çözücü oranı):

$$\begin{aligned} \text{Verim (\%)} = & \text{Math.ceil((((Math.ceil(B) - \text{Math.sin}(0,13348655230447115 \times A)) - \\ & \text{Math.sin}(0,8115909769514104 \times B)) - \text{Math.sin}(\text{Math.ceil}(A) - \text{Math.sin}(\text{Math.sin}(C)))) - \\ & (((\text{Math.ceil}(B) - (A - (0,8115909769514104 \times B))) - ((A - (0,8115909769514104 \times B)) - \\ & (0,8115909769514104 \times (0,8115909769514104 \times B)))) \times 0,13348655230447115)) - \\ & ((\text{Math.sin}(0,13348655230447115 \times A) \times A \times 0,14493478574195984)) - \\ & ((0,8115909769514104 \times 0,14493478574195984) \times \\ & ((\text{Math.abs}(\text{Math.abs}(\text{Math.abs}(0,8115909769514104 \times B)) - ((C - B) - B)) - \\ & (\text{Math.sin}(0,13348655230447115 \times B) \times (B - (C - (0,8115909769514104 \times B)))) - \\ & (((\text{Math.sin}(0,13348655230447115 \times C) \times (B - (C - B))) - (((A - B) - \\ & (0,8115909769514104 \times B)) - B)) - C) \times \text{Math.sin}(0,5022758746271401 \times \\ & (0,13348655230447115 \times C)))) \end{aligned}$$

Kestane kabuğundan mikrodalga destekli nanoselüloz ekstraksiyon işlemine ait GA modeli aşağıda verilmiştir:

$$\begin{aligned} \text{Verim (\%)} = & (((0,5551829464137572 \times B) + \text{Math.sin}(\text{Math.sin}((0,5551829464137572 \times B) \\ & \times 0,11947539475770397) + (\text{Math.sin}(\text{Math.sin}(0,8223824248020891)) \times \text{Math.ceil}(A \times \\ & 0,11947539475770397)))) + (\text{Math.sin}(\text{Math.sin}((0,5551829464137572 \times B) \times \\ & 0,11947539475770397) + (\text{Math.abs}(\text{Math.sin}(0,8223824248020891)) \times \\ & \text{Math.ceil}(0,11947539475770397 \times C))) + \text{Math.sin}(\text{Math.sin}((0,5551829464137572 \times B) \times \\ & 0,11947539475770397) + (\text{Math.sin}(\text{Math.sin}(0,8223824248020891)) \times \text{Math.ceil}(A \times \\ & 0,11947539475770397)))) + \text{Math.sin}(((\text{Math.abs}(\text{Math.sin}(0,11947539475770397 \times C)) + \\ & \text{Math.sin}(\text{Math.floor}(B) \times 0,11947539475770397)) + \\ & \text{Math.sin}(\text{Math.sin}(\text{Math.sin}(0,8223824248020891)) \times \text{Math.ceil}(0,11947539475770397 \times \\ & C))) + \text{Math.sin}((\text{Math.sin}(0,8223824248020891) \times B) \times 0,11947539475770397))) + \\ & (((\text{Math.sin}((A \times 0,11947539475770397) + \text{Math.sin}(B \times 0,11947539475770397)) + \\ & (\text{Math.abs}(\text{Math.sin}(0,5551829464137572 \times B)) + \text{Math.sin}(\text{Math.floor}(B) \times \\ & 0,11947539475770397))) + \text{Math.sin}(\text{Math.sin}((0,5551829464137572 \times B) \times \\ & 0,11947539475770397) + \text{Math.ceil}(\text{Math.ceil}(0,11947539475770397 \times C)))) + \\ & ((\text{Math.sin}(\text{Math.abs}(\text{Math.sin}(0,8223824248020891)) \times \text{Math.ceil}(0,11947539475770397 \times \\ & C)) + \text{Math.sin}(\text{Math.ceil}(0,11947539475770397 \times C))) + \\ & \text{Math.sin}(\text{Math.sin}((0,5551829464137572 \times B) \times 0,11947539475770397) + \\ & (\text{Math.sin}(\text{Math.sin}(0,8223824248020891)) \times \text{Math.ceil}(0,11947539475770397 \times C)))) + \\ & (((\text{Math.sin}((A \times 0,11947539475770397) + \text{Math.sin}(B \times 0,11947539475770397)) + \\ & \text{Math.sin}(\text{Math.ceil}(A \times 0,11947539475770397) + \text{Math.sin}(B \times 0,11947539475770397))) + \\ & \text{Math.sin}(\text{Math.sin}((0,5551829464137572 \times B) \times 0,11947539475770397) + \\ & (\text{Math.abs}(\text{Math.sin}(0,8223824248020891)) \times \text{Math.ceil}(0,11947539475770397 \times C)))) + \\ & (((\text{Math.abs}(\text{Math.sin}(0,11947539475770397 \times C)) + \text{Math.sin}(0,5551829464137572 \times B)) + \\ & \text{Math.sin}((0,5551829464137572 \times \text{Math.floor}(B)) \times \\ & \text{Math.sin}(\text{Math.sin}(0,8223824248020891)))) + \text{Math.sin}(\text{Math.sin}((0,5551829464137572 \times B) \\ & \times 0,11947539475770397) + (\text{Math.abs}(\text{Math.sin}(0,8223824248020891)) \times \\ & \text{Math.ceil}(0,11947539475770397 \times C)))) \end{aligned}$$

Kestane kabuğundan hidrotropik solvent nanoselüloz ekstraksiyon işlemine ait GA modeli aşağıda verilmiştir:

$$\begin{aligned} \text{Verim (\%)} = & (((\text{Math.sin}(((C - (B + B)) + (A \times \text{Math.abs}(0,32616260838463895)))) \times \\ & 0,04975724128926151) + \text{Math.sin}(((\text{Math.abs}(A) - (B + B)) + (A \times 0,1883251101536928)) \\ & \times \text{Math.abs}(0,04975724128926151))) + (((\text{Math.sin}((A + 0,4475995642901358) \times \\ & 0,04975724128926151) + \text{Math.sin}(A \times 0,04975724128926151)) + (\text{Math.sin}((A + \end{aligned}$$



$$\begin{aligned}
& 0,4475995642901358) \times 0,04975724128926151) + \text{Math.sin}((A + 0,4475995642901358) \times \\
& 0,04975724128926151))) + (\text{Math.sin}((C - (B + B)) \times \text{Math.sin}(0,04975724128926151)) + \\
& (\text{Math.sin}(A \times 0,04975724128926151) + \text{Math.sin}((A + 0,04975724128926151) \times \\
& 0,04975724128926151)))) + (((\text{Math.sin}(\text{Math.sin}((C + C) \times 0,04975724128926151)) + \\
& \text{Math.sin}(0,04975724128926151)) + \text{Math.sin}(((C - (B + B)) + (A \times \\
& \text{Math.abs}(0,32616260838463895))) \times 0,04975724128926151)) + (((\text{Math.sin}((A + \\
& 0,04975724128926151) \times 0,49059784461507827) + (\text{Math.sin}(A \times 0,04975724128926151) + \\
& \text{Math.sin}(A \times 0,04975724128926151))) + ((\text{Math.sin}(A \times 0,04975724128926151) + \\
& \text{Math.sin}(A \times 0,04975724128926151)) + \text{Math.sin}(A \times 0,04975724128926151))) + \\
& (\text{Math.sin}(C \times 0,04975724128926151) + (\text{Math.sin}((A + 0,4475995642901358) \times \\
& 0,1883251101536928) + \text{Math.sin}((C + C) \times 0,04975724128926151)))) + \\
& (\text{Math.ceil}((\text{Math.ceil}(A + (\text{Math.cos}(0,1883251101536928) + (B \times 0,4475995642901358))) \\
& + \text{Math.sin}((A + (C \times 0,04975724128926151)) \times 0,04975724128926151)) + (\text{Math.sin}((B - \\
& (C + C)) \times 0,04975724128926151) + (\text{Math.sin}((B + B) \times 0,04975724128926151) + \\
& \text{Math.sin}((A + 0,4475995642901358) \times 0,04975724128926151)))) + ((\text{Math.sin}(((C - (B + \\
& B)) + (A \times \text{Math.abs}(0,32616260838463895))) \times 0,04975724128926151) + \\
& \text{Math.abs}(\text{Math.sin}((C - (B + B)) \times 0,04975724128926151))) + ((\text{Math.sin}((C - (B + B)) \times \\
& \text{Math.sin}(0,04975724128926151)) + (\text{Math.sin}(A \times 0,04975724128926151) + (\text{Math.sin}(A \times \\
& 0,04975724128926151) + \text{Math.sin}(A \times 0,04975724128926151)))) + (((\text{Math.sin}(A \times \\
& 0,04975724128926151) + \text{Math.sin}(A \times 0,04975724128926151)) + \text{Math.abs}(\text{Math.sin}(A \times \\
& 0,04975724128926151))) + \text{Math.sin}((C - (B + B)) \times \text{Math.abs}(0,04975724128926151))))))
\end{aligned}$$

Kestane kabuğundan derin ötektik solvent nanoselüloz ekstraksiyon işlemine ait GA modeli aşağıda verilmiştir:

$$\begin{aligned}
\text{Verim (\%)} = & (((((A - (((0,7415689538810532 - 0,8458262452828403) - \\
& 0,8458262452828403) - \text{Math.cos}(0,8413092119210493 - 0,7415689538810532))) - \\
& (\text{Math.sin}(A \times (0,8413092119210493 - 0,7415689538810532)) - \\
& \text{Math.cos}(0,8413092119210493 - 0,7415689538810532))) - ((\text{Math.sin}(A \times \\
& (0,8413092119210493 - 0,7415689538810532)) - \text{Math.cos}((B \times 0,7415689538810532) \times \\
& 0,06949974367088041)) - \text{Math.cos}((B \times 0,7415689538810532) \times \\
& (\text{Math.sin}(0,7415689538810532) - 0,7415689538810532)))) - (((A \times \\
& (\text{Math.cos}(0,8458262452828403) - 0,7415689538810532)) - \text{Math.abs}(\text{Math.sin}(A \times \\
& 0,11075864372426192))) - \text{Math.cos}((B \times 0,7415689538810532) \times \\
& (\text{Math.sin}(0,7415689538810532) - 0,7415689538810532))) - \text{Math.cos}((B \times \text{Math.cos}(A \times \\
& 0,11075864372426192)) \times (\text{Math.sin}(0,7415689538810532) - 0,7415689538810532)))) - \\
& (((((\text{Math.cos}((C - B) \times 0,06949974367088041) - \text{Math.abs}((0,7415689538810532 - \\
& 0,8458262452828403) - 0,8458262452828403)) - \text{Math.cos}((B \times 0,7415689538810532) \times \\
& (\text{Math.sin}(0,7415689538810532) - 0,7415689538810532))) - \text{Math.cos}((B \times \\
& \text{Math.sin}(0,7415689538810532)) \times (\text{Math.sin}(0,7415689538810532) - \\
& 0,7415689538810532))) - ((A \times \text{Math.sin}(A \times (0,8413092119210493 - \\
& 0,7415689538810532))) \times (0,6042134486124128 - 0,7415689538810532)))) - \\
& (((((\text{Math.sin}(A \times (0,8413092119210493 - 0,7415689538810532)) - \text{Math.cos}((B \times \\
& 0,7415689538810532) \times 0,06949974367088041)) - \text{Math.cos}((B \times 0,7415689538810532) \times \\
& 0,06949974367088041)) - \text{Math.cos}((B \times \text{Math.cos}(A \times 0,11075864372426192)) \times \\
& (\text{Math.sin}(0,7415689538810532) - 0,7415689538810532))) - \\
& \text{Math.cos}((0,7415689538810532 \times ((B \times 0,7415689538810532) \times 0,06949974367088041)) \times \\
& ((\text{Math.cos}(0,7415689538810532) \times ((B \times 0,7415689538810532) \times 0,06949974367088041)) \\
& \times \text{Math.sin}(B \times (0,7415689538810532 - 0,8458262452828403)))) - \text{Math.abs}(((\text{Math.cos}((C \\
& - B) \times 0,06949974367088041) - \text{Math.abs}(\text{Math.sin}(A \times 0,11075864372426192))) -
\end{aligned}$$

$$\text{Math.cos}((B \times 0,7415689538810532) \times (\text{Math.sin}(0,7415689538810532) - 0,7415689538810532))) - \text{Math.abs}(\text{Math.sin}(A \times (0,8413092119210493 - 0,7415689538810532)) - (B \times \text{Math.cos}(0,8458262452828403))))))$$

#### 4.1.2.4. Kestane Kabuğundan Nanoselüloz Ekstraksiyon İşlem Koşullarının Optimizasyonu

RSM yardımıyla konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ekstraksiyon işlemlerine ait optimum işlem koşulları sırasıyla 79 °C, 50 dk., 85 mL/g; 66 °C, 59 dk., 84 mL/g; 79 °C, 59 dk., 91 mL/g ve 68 °C, 58 dk., 81 mL/g olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Optimum işlem koşullarında nanoselüloz verimi üzerine programın tahmini değerleri; konvansiyonel ekstraksiyon için %65,0; mikrodalga destekli ekstraksiyon için %33,8; hidrotropik solvent ekstraksiyonu için %90,0 ve derin ötektik solvent ekstraksiyonu için %99,6 olarak bulunmuştur. Hidrotropik ve derin ötektik solvent ekstraksiyon işlemleri sonucunda benzer işlem koşullarında daha yüksek verim değerleri elde edilmiştir. Optimizasyon güvenilirlik değeri ise tüm yöntemler için 1,000 olarak belirlenmiştir. Optimum işlem koşullarındaki deneysel sonuçlar ise konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ekstraksiyon yöntemleri için sırasıyla %64,5; %34,1; %89,6 ve %99,2 olarak bulunmuştur. Program sonucunda elde edilen tahmini değerler ile deneysel sonuçlar her bir ekstraksiyon yöntemi için ayrı ayrı kıyaslanarak doğrulama çalışması yapılmıştır. Karşılaştırmalar sonucunda veriler arasında istatistiki açıdan farklılık bulunmadığı görülmüştür ( $P>0,05$ ).

**Çizelge 4.7.** Kestane kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait yanıt yüzey yöntemi optimizasyon sonuçları

| Yöntem        | İşlem Parametreleri |            |                     | Güvenilirlik | Verim (%)       |                |
|---------------|---------------------|------------|---------------------|--------------|-----------------|----------------|
|               | Sıcaklık (°C)       | Süre (dk.) | Çözücü oranı (mL/g) |              | Program Çıktısı | Deneysel Sonuç |
| Konvansiyonel | 79                  | 50         | 85                  | 1,000        | 65,0            | 64,5±2,4       |
| Mikrodalga    | 66                  | 59         | 84                  | 1,000        | 33,8            | 34,1±1,8       |
| Hidrotropik   | 79                  | 59         | 91                  | 1,000        | 90,0            | 89,6±3,6       |
| Derin ötektik | 68                  | 58         | 81                  | 1,000        | 99,6            | 99,2±0,2       |

Ekstraksiyon işlemlerine ait GA optimizasyon sonuçları konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ekstraksiyon yöntemleri için sırasıyla 72 °C, 50 dk., 47 mL/g; 48 °C, 50 dk., 28 mL/g; 69 °C, 50 dk., 28 mL/g ve 71 °C, 49 dk., 29 mL/g işlem koşulları olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.8). Optimum işlem koşullarında nanoselüloz verimi üzerine programın tahmini değerleri; konvansiyonel ekstraksiyon ile %40,8; mikrodalga ekstraksiyon ile %28,5; hidrotropik solvent ekstraksiyonu ile %89,6 ve derin

ötektik solvent ekstraksiyonu ile %100,0 olarak bulunmuştur. Optimum koşullardaki deneysel sonuçlar ise, konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ekstraksiyon işlemleri için sırasıyla %26,3; %19,5; %76,1 ve %88,4 olarak bulunmuştur. Dolayısıyla, tüm ekstraksiyon yöntemleri için GA ile elde edilen optimum işlem koşullarındaki deneysel sonuçların, program verileri ile örtüşmediği ( $P<0,05$ ) görülmektedir (Çizelge 4.8). Bu nedenle, tez çalışmasının ileriki aşamalarında kullanılan kestane kabuğu nanoselüloz örneklerinin üretiminde, RSM yöntemi ile elde edilen deneysel koşullar ele alınmıştır.

**Çizelge 4.8.** Kestane kabuğundan nanoselüloz ekstraksiyon işlemlerine ait genetik algoritma optimizasyon sonuçları

| Yöntem        | İşlem Parametreleri |            |                     | Verim (%)       |                |
|---------------|---------------------|------------|---------------------|-----------------|----------------|
|               | Sıcaklık (°C)       | Süre (dk.) | Çözücü oranı (mL/g) | Program Çıktısı | Deneysel Sonuç |
| Konvansiyonel | 72                  | 50         | 47                  | 40,8            | 26,3±0,35      |
| Mikrodalga    | 48                  | 50         | 28                  | 28,5            | 19,5±0,71      |
| Hidrotropik   | 69                  | 50         | 28                  | 89,6            | 76,1±2,97      |
| Derin ötektik | 71                  | 49         | 29                  | 100,0           | 88,4±2,55      |

#### 4.2. Nanoselülozlara ait Ürün Karakterizasyonu

Nanoselüloz kriyoprotektan tozlarının üretiminde Antep fıstığı dış kabuğu için GA, kestane kabuğu için ise RSM ile elde edilen, her bir ekstraksiyon yöntemine ait optimum işlem koşullarında üretilen nanoselüloz tozlarında verim, çözünürlük ve viskozite değerleri belirlenmiş ve sonuçlar karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.9’da sunulmuştur.

**Çizelge 4.9.** Optimum işlem koşullarında üretilen kriyoprotektan tozlarına ait verim, çözünürlük ve viskozite değerleri

| Hammadde                 | Yöntem        | Verim (%)             | Çözünürlük (%)         | Viskozite (mPa.s)       |
|--------------------------|---------------|-----------------------|------------------------|-------------------------|
| Antep fıstığı dış kabuğu | Konvansiyonel | 59,9±2,1 <sup>b</sup> | 3,53±0,12 <sup>c</sup> | 60,5±6,5 <sup>a</sup>   |
|                          | Mikrodalga    | 52,5±2,4 <sup>a</sup> | 1,78±0,08 <sup>b</sup> | 76,2±6,5 <sup>b</sup>   |
|                          | Hidrotropik   | 79,9±1,3 <sup>c</sup> | 1,10±0,00 <sup>a</sup> | 118,7±3,7 <sup>c</sup>  |
|                          | Derin ötektik | 90,6±4,6 <sup>d</sup> | 5,17±0,18 <sup>d</sup> | 474,5±16,3 <sup>d</sup> |
| Kestane kabuğu           | Konvansiyonel | 64,5±2,4 <sup>b</sup> | 5,41±0,05 <sup>c</sup> | 65,2±6,1 <sup>a</sup>   |
|                          | Mikrodalga    | 34,1±1,8 <sup>a</sup> | 4,17±0,14 <sup>a</sup> | 68,4±3,7 <sup>b</sup>   |
|                          | Hidrotropik   | 89,6±3,6 <sup>c</sup> | 6,38±0,07 <sup>d</sup> | 228,2±33,6 <sup>c</sup> |
|                          | Derin ötektik | 99,2±0,2 <sup>d</sup> | 5,31±0,12 <sup>b</sup> | 843,6±91,7 <sup>d</sup> |

\* Her bir hammadde için aynı sütunda yer alan, farklı harflendirmeye sahip değerler arasında istatistiki açıdan önemli farklılık vardır ( $P<0,05$ ).

Nanoselüloz örnekleri için kestane kabuğuna ait çözünürlük değeri haricinde en yüksek çözünürlük ve viskozite değerlerinin derin ötektik solvent ekstraksiyon işlemi sonrası üretilen

toz ürünlerde elde edildiği görülmüştür. Kuvvetli asit kullanımının söz konusu olduğu konvansiyonel ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri sonucu elde edilen nanoselüloz örneklerinde ise kuvvetli hidrolize bağlı olarak süspansiyonların düşük viskoziteye sahip olduğu belirlenmiştir (Hong vd., 2020).

Nanoselüloz tozlarının üretiminde nanoselüloz verimi en önemli kriterlerden birisidir. Her bir ekstraksiyon yöntemi için optimum işlem koşullarında üretilen Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz örneklerine ait verim değerleri Çizelge 4.9'da verilmiştir. Buna göre, ekstraksiyon teknikleri arasında derin ötektik solvent ekstraksiyonu en yüksek nanoselüloz verimini (%90,6) gösterirken, bunu hidrotropik solvent (%79,9), konvansiyonel (%59,9) ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (%52,5) işlemleri izlemiştir. Kuvvetli asit kullanımı içeren konvansiyonel ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri sonucu elde edilen nanoselüloz verimi değerlerinin, diğer yöntemlere kıyasla düşük olduğu görülmektedir. Derin ötektik solvent kullanımının yüksek nanoselüloz verimi sağladığı, farklı literatür çalışmaları ile de ortaya konmuştur. Örneğin Liu vd. (2021b), derin ötektik solvent ile ön işleme tabi tutulmuş örneklerde %84,2'lik bir nanoselüloz verimi elde etmişlerdir. Benzer şekilde, derin ötektik solvent ile muamele edilmiş numune, sülfürik asit hidroliz yöntemi kullanılarak elde edilen nanoselüloz veriminden daha yüksek verim değeri elde edilmesini sağlamıştır (Hong vd., 2020). Guo vd. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada ise, konvansiyonel ekstraksiyon tekniğiyle ve optimum işlem koşulları altında (%62,2 sülfürik asit konsantrasyonu, 123 dk. reaksiyon süresi ve 45 °C hidroliz sıcaklığı) ekstrakte edilen örneklerin maksimum nanoselüloz verimi %49,9 olarak bulunmuştur. Literatür verilerinden de anlaşılabacağı üzere, kuvvetli asit kullanımı sonucu elde edilen nanoselüloz verimi, yeşil solvent kullanımını ele alan yöntemlere kıyasla genellikle daha düşük olmasına neden olmaktadır. Bu durum ise genel olarak hidrotropik ve derin ötektik solventlerin işlem esnasında selülozun aşırı hidrolizini önlemesiyle açıklanmaktadır (Liu vd., 2021b).

Kestane kabuğu nanoselüloz verimi üzerine ekstraksiyon işlemlerinin etkisi incelendiğinde, konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent işlemleri için verim değerleri sırasıyla %64,5; %34,1; %89,6 ve %99,2 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.9). Ekstraksiyon yöntemleri arasında derin ötektik solvent işlemi ile en yüksek nanoselüloz verimi elde edilmiştir. Konvansiyonel ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri, hidrotropik ve derin ötektik solvent ekstraksiyonuna kıyasla daha düşük nanoselüloz verimine yol açmıştır. Bir çalışmada, sülfürik asit hidrolizi sonrası kestane kabuğu nanoselüloz verimi %36,6 olarak bildirilmiştir (Çiçek Özkan ve Güner, 2022). Asit

hidrolizine kıyasla yeşil solvent tekniklerinin kullanımının nanoselüloz verimi üzerinde artırıcı etkisi ise literatür çalışmaları ile de desteklenmektedir. Bu kapsamda Ling vd. (2019), farklı konsantrasyonlarda derin ötektik solvent çözeltileri kullanarak pamuk linterinden %80,0 – %90,8 aralığında; Wu vd. (2023) ise %89 oranında nanoselüloz verimi değerlerine ulaşmıştır. Bu durum, derin ötektik solventlerin özellikle amorf bölgelerdeki selüloz zinciri boyunca yapıyı bozmadan hidrojen bağlarının parçalanmasında etkili olması ile açıklanabilir (Lim vd., 2021). Ek olarak, yeşil solvent kullanımı güçlü asitlerin çevresel açıdan zararlı etkilerini de önemli ölçüde azaltma potansiyeline sahiptir (Liu vd., 2019).

Nanoselüloz örneklerinin çözünürlük değerleri Çizelge 4.9’da sunulmuştur. Selüloz, saf halde sulu ortamlarda çok düşük oranda çözünürlüğe sahiptir. Diğer yandan, poliglikoz zincirleri arasındaki hidrojen bağının bir sonucu olarak selülozun supramoleküler yapısı, uygulanan işlemler sonucu onu kısmen çözünür hale getirebilmektedir. Genel olarak selülozun çözünmesi, hidrojen bağlarının kırılması yoluyla elde edilebilir. Dolayısıyla çözücü moleküller, selüloz moleküllerinin hidroksil gruplarıyla yeni hidrojen bağları oluşturabilir (Scelsi vd., 2021). Dolayısıyla, derin ötektik solvent ekstraksiyonu ile elde edilen Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz örnekleri düşük bir kristallik derecesine sahip olduğundan, nanoselüloz fibrillerinin doğrusal konfigürasyonu, en yüksek çözünürlüğün (%5,17) derin ötektik solvent örneğinde gözlemlenmesinin nedeni olarak gösterilebilir. Bu doğrusal konfigürasyonun, çok sayıda yan zincir kutup bölgelerine sahip olmasından dolayı sudaki çözünürlüğü artırabilme kabiliyetine sahip olduğu belirtilmektedir (Martelli-Tosi vd., 2018).

Konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent yöntemleri ile muamele edilen kestane kabuğu nanoselüloz tozlarının çözünürlük değerleri sırasıyla %5,41; %4,17; %6,38 ve %5,31 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.9). Kestane kabuğu nanoselüloz örneklerinde en yüksek çözünürlük, hidrotropik solvent ekstraksiyonu sonucu elde edilmiştir. Nanoselülozun çözünürlük özellikleri amfifilik ve hidrofobik moleküler etkileşimlerden etkilenmektedir (Xiong vd., 2014). Kestane kabuğu nanoselülozunda en yüksek çözünürlük değerinin hidrotropik çözücü kullanılan örnekte elde edilmesi, hidrotropiklerin van der Waals kuvveti aracılığıyla hidrofobik bölgelerin yakınında birikerek nanoselülozun çözelti içindeki çözünürlüğünü iyileştirmesi ve böylece nanoselüloz moleküllerinin yeniden kümelenmesini önlemesiyle açıklanabilir (Devendra vd., 2016; Golor vd., 2020). Ayrıca, derin ötektik solvent kullanımının hidrojen bağlarını etkileyerek selüloz çözünürlüğünü artırdığı bildirilmektedir (Xiong Chang vd., 2021; Wang vd., 2020). Selüloz gibi düşük polariteye sahip bileşiklerin çözünürlüğü, hidrotropik çözücüler kullanılarak iyileştirilebilmektedir. Bu nedenle, suda

çözünürlüğü düşük olan selüloz fraksiyonlarının geri kazanımı hidrotropik çözücüler kullanılarak artırılabilir (Devendra vd., 2016; Gençdağ vd., 2021).

Nanoselüloz dispersiyonlarının viskozite değerleri Çizelge 4.9'da verilmiştir. Düşük viskozite değerlerinin özellikle selüloz partiküllerinin morfolojisi ile ilişkili olduğu, daha ince ve daha uzun özellikteki nanofibrillerin, nanokristal selüloza göre daha yüksek viskozite değerlerine sahip olduğu belirtilmektedir. Bu doğrultuda, kristallik derecesi düşük örneklerde daha yüksek çözünürlük değerleri elde edilmiştir. Benzer durum, Suopajärvi vd. (2020) tarafından da bildirilmiş, derin ötektik solvent işlemi ile üretilen ve düşük kristallik derecesine sahip nanoselüloz örneklerinin yüksek viskozite değerine sahip olduğu bulgulanmıştır. Derin ötektik solventler ile muamele sonrası selülozun kompakt yapısı gevşemeye başlamakta; böylece fibriller selüloz yüzeyinden ayrılarak çözelti viskozitesini artırıcı etki gösterebilmektedir (Ji vd., 2021). Nanoselüloz süspansiyonlarının viskozite değerlerindeki artış, dağılan partiküllerin yüzey alanını artıran ve böylece ortama daha fazla hidroksil grubu açığa çıkaran nanoselüloz delaminasyonu ile de açıklanabilmektedir (Molnes vd., 2017). Öte yandan, asit hidrolizi, daha düşük en-boy oranına ve mekanik olarak agregre olmaya eğilimli nanoselüloz birimlerinin eldesine neden olmaktadır (Abbasi Moud, 2022). Ayrıca, sülfürik asidin neden olduğu kuvvetli hidrolizin, nanoselüloz süspansiyonlarının düşük viskoziteye sahip olmasına sebep olabildiği bildirilmektedir (Hong vd., 2020). Bu açıklamalar ışığında, konvansiyonel ve mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemleri ile üretilen nanoselüloz örneklerinde daha düşük süspansiyon viskozitesi gözlenmiştir.

#### **4.2.1. Farklı Ekstraksiyon Tekniklerinin Nanoselüloz Toz Ürün Özellikleri Üzerine Etkileri**

Tüm ekstraksiyon yöntemleri için belirlenen optimum işlem koşullarında üretilen Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselüloz ürün özellikleri incelenmiş ve ekstraksiyon yöntemlerinin etkileri her bir nanoselüloz örneği özelinde karşılaştırılmıştır. Bu kapsamda, nanoselüloz örneklerinde zeta potansiyeli, reolojik özellikler, kristallik derecesi, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizleri gerçekleştirilmiştir.

##### **4.2.1.1. Zeta Potansiyeli**

Zeta potansiyeli değeri, süspansiyon stabilitesi, partikül yüzey morfolojisi ve yüzey yükü gibi faktörler ile ilgili olması nedeniyle nanopartiküller için oldukça önemli bir parametredir (Xu, 2008). Farklı işlem koşullarında üretilen nanoselüloz tozlarına ait zeta

potansiyeli değerleri Çizelge 4.10'da sunulmuştur. Buna göre, konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ekstraksiyon teknikleri ile hazırlanan Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz örneklerinin zeta potansiyel değerleri sırasıyla  $-12,6$ ;  $-12,4$ ;  $-19,6$  ve  $-15,2$  mV olarak belirlenmiştir. Yüksek bir mutlak zeta potansiyel değeri, nanoselüloz partikülleri arasındaki güçlü elektrostatik itme kuvvetleri sayesinde örneğin süspansiyon içerisinde kararlı bir dağılım sergileyebileceğine işaret etmektedir (Xu vd., 2020). Bu durum, nanoparçacıklardaki karboksil gruplarının meydana getirdiği elektrostatik itme kuvvetleri arasındaki denge neticesinde meydana gelmektedir (Alves vd., 2020). Öte yandan, zeta potansiyeli değeri azaldıkça agregasyon eğilimi artmaktadır (Qu vd., 2021a).

Sonuçlar incelendiğinde, konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ile ekstrakte edilen kestane kabuğu nanoselüloz tozlarının zeta potansiyel değerleri ise sırasıyla  $-12,6$ ;  $-15,7$ ;  $-22,8$  ve  $-23,7$  olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10). Mevcut çalışmada her iki hammadde için de yeşil solvent teknikleri ile daha yüksek mutlak zeta potansiyel değerlerine ulaşılmış; aynı zamanda kestane kabuğu nanoselüloz örnekleri daha yüksek mutlak değerler sunmuştur. Buradan hareketle, hidrotropik ve derin ötektik solvent ekstraksiyon yöntemleri ile üretilen nanoselüloz tozlarının sulu ortamlarda daha etkin bir süspansiyon stabilitesi sağlayabileceği yorumu yapılabilir. Konvansiyonel ve mikrodalga yöntemle ekstrakte edilen nanoselüloz tozlarındaki düşük mutlak zeta potansiyeli değerleri, esas olarak selüloz moleküllerindeki hidroksil gruplarının sülfürik asit hidrolizi uygulaması nedeniyle sülfat gruplarıyla yer değiştirmesinden kaynaklanabilmektedir (Rashid ve Dutta, 2020). Son olarak, nanoselüloz süspansiyonlarında elde edilen yüksek negatif zeta potansiyeli değerlerinin, selüloza ait hidroksil gruplarının karboksil gruplarına dönüşümü ile ilişkili olabileceği bildirilmektedir (Qu vd., 2021a).

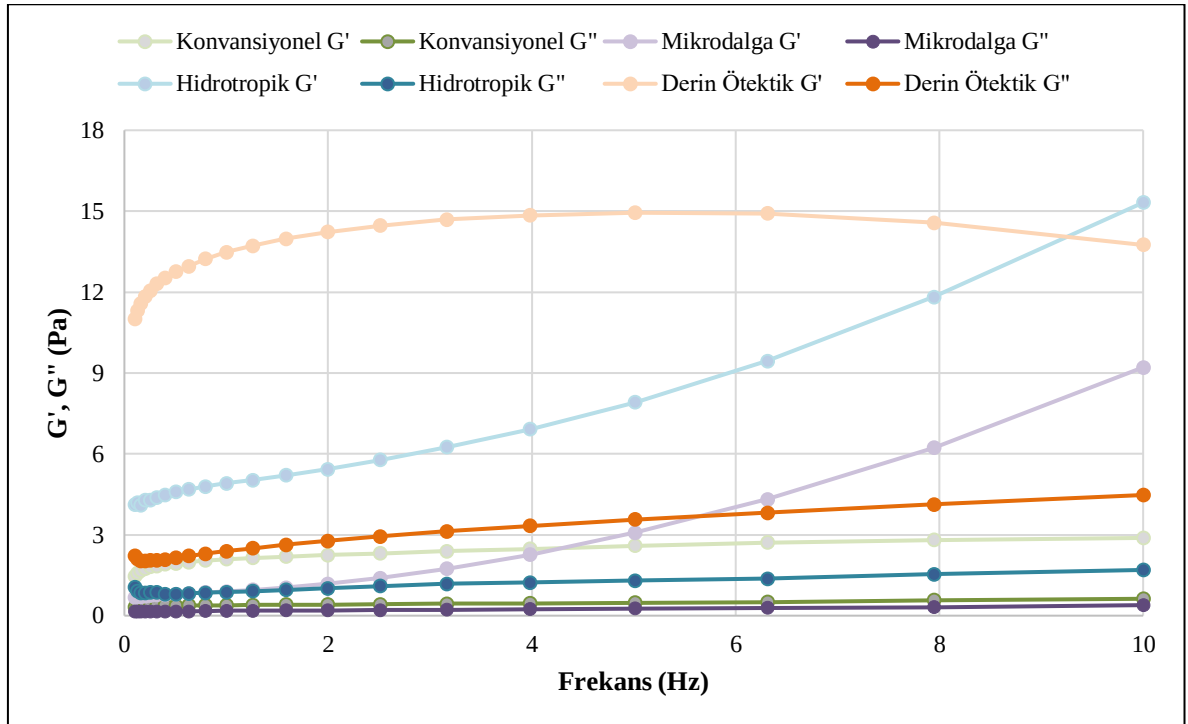
**Çizelge 4.10.** Farklı işlem koşullarında üretilen kriyoprotektan tozlarına ait zeta potansiyeli değerleri

| Hammadde                 | Yöntem        | Zeta potansiyeli (mV) |
|--------------------------|---------------|-----------------------|
| Antep fıstığı dış kabuğu | Konvansiyonel | $-12,6 \pm 2,3^c$     |
|                          | Mikrodalga    | $-12,4 \pm 0,4^c$     |
|                          | Hidrotropik   | $-19,6 \pm 2,3^a$     |
|                          | Derin ötektik | $-15,2 \pm 0,5^b$     |
| Kestane kabuğu           | Konvansiyonel | $-12,6 \pm 1,9^c$     |
|                          | Mikrodalga    | $-15,7 \pm 0,4^b$     |
|                          | Hidrotropik   | $-22,8 \pm 1,7^a$     |
|                          | Derin ötektik | $-23,7 \pm 2,8^a$     |

\*Her bir hammadde için farklı harflendirmeye sahip değerler arasında istatistiki açıdan önemli farklılık vardır ( $P < 0,05$ ).

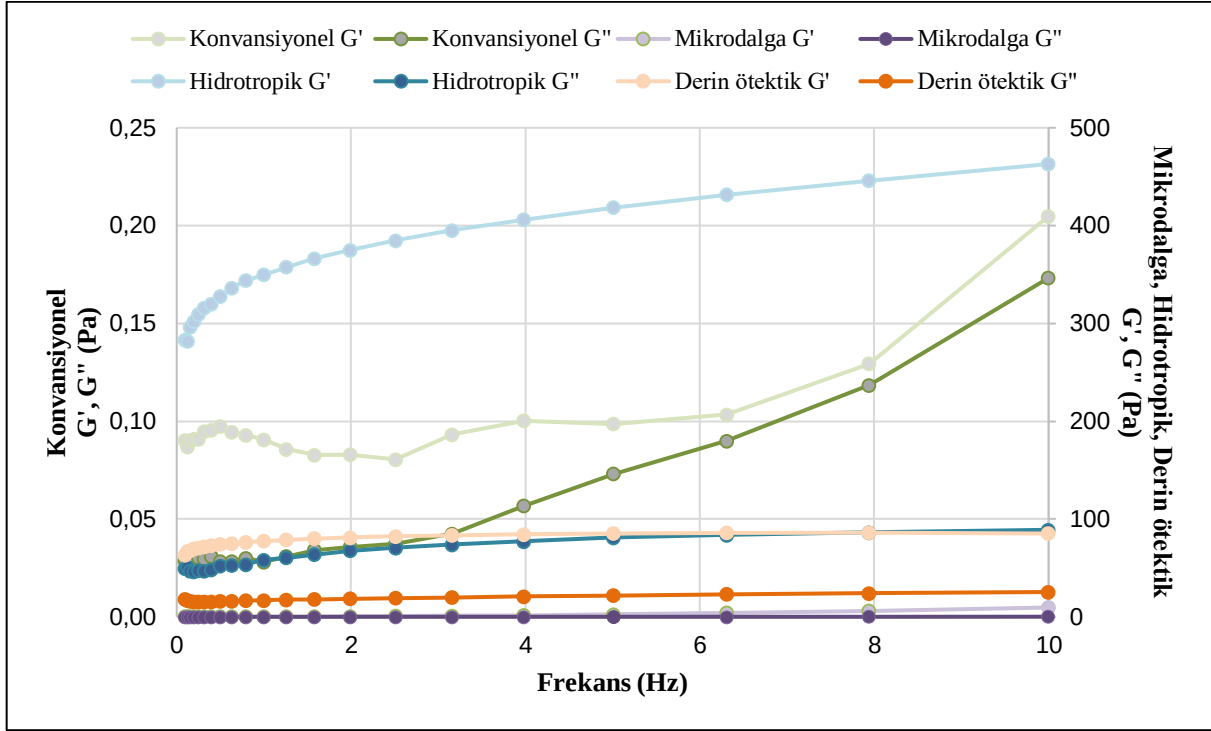
#### 4.2.1.2. Reolojik Özellikler

Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz dispersiyonlarının reolojik karakterizasyonu için farklı frekanslardaki depolama ( $G'$ ) ve kayıp ( $G''$ ) modülü değerlerinden oluşturulan eğriler Şekil 4.9'da; kestane kabuğu için ise Şekil 4.10'da sunulmuştur. Depolama ( $G'$ ) ve kayıp ( $G''$ ) modülü sırasıyla elastik ve viskoz davranışı temsil etmektedir. Süspansiyonlar  $G'$  değeri  $G''$  değerinden yüksek olduğunda jel benzeri (katı benzeri) davranış gösterirken,  $G'$  değeri  $G''$  değerinden düşük olduğu durumlarda sıvı benzeri davranış sergilemektedir (Browne vd., 2022). Dolayısıyla  $G'$  değerleri,  $G''$  üzerinde baskın olduğundan, tüm numuneler elastik ve jel benzeri özellikler sergilemiştir. Mevcut bulgular, farklı nanoselüloz dispersiyonlarını ele alan çalışma sonuçlarıyla uyumludur (Qu vd., 2021a,b). Nanoselüloz süspansiyonlarının reolojik davranışları, parçacıkların dağılım özellikleri ve parçacıkların çözücü ile olan etkileşimlerine göre de değişim gösterebilmektedir. Elastik bir karakter, nanofibriller arası kohezif etkileşimlerin oluşumuna işaret etmektedir (Qu vd., 2021a). Tüm numunelerde artan frekansla birlikte hem  $G'$  hem de  $G''$  değerlerindeki artış ise, dağılım ağının esas olarak kovalent olmayan zayıf etkileşimlerden oluştuğunu ve nanoselüloz süspansiyonlarının fiziksel olarak dolaşık ağ yapıları oluşturabildiğini göstermektedir (Qu vd., 2021b; Shu vd., 2022). En yüksek modül değerlerine sahip hidrotropik ve derin ötektik solvent ile üretilen nanoselüloz örneklerine ait süspansiyonların, yüksek  $G'$  ve  $G''$  değerleri ile etkin bir nanofibrilasyon gösterdiği ifade edilebilir (Ma vd., 2019).





**Şekil 4.9.** Ekstraksiyon işlemlerinin Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz süspansiyonlarının reolojik özellikleri üzerindeki etkileri



**Şekil 4.10.** Optimum işlem koşullarında üretilen kestane kabuğu nanoselüloz tozlarına ait reolojik özellikler

#### 4.2.1.3. Kristallik Derecesi

Selüloz, temel olarak kristal ve amorf bölgelerden oluşmaktadır (Madhushani vd., 2021). Ekstraksiyon aşamasında uygulanan farklı hidroliz işlemleri, nanoselüloz numunelerinin kristallik derecesini büyük ölçüde etkilemektedir (Gond vd., 2021). Nanoselüloz örneklerinin mekanik ve termal özelliklerinin belirlenmesinde kristallik derecesi önemli bir parametredir. Kristallik derecesi değerlerine ait sonuçlar Çizelge 4.11’de sunulmuştur. Konvansiyonel ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri ile üretilen Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz örneklerinin kristallik indeksi değerleri yaklaşık %60 iken, bu değer hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ile ekstrakte edilmiş numunelerde sırasıyla %24,5 ve %19,9 olmuştur. Analiz sonuçlarına göre, konvansiyonel ve mikrodalga destekli nanoselüloz örneklerinin daha yüksek kristallığe sahip olduğu görülmektedir. Bu durum, konvansiyonel ve mikrodalga ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan güçlü asidin kalıntı lignin ve hemiselüloz fraksiyonlarını daha etkili bir şekilde uzaklaştırması ve kristal yapının amorf faza hâkim olması ile açıklanabilir (Madhushani vd., 2021). Ek olarak, kristallik derecesindeki artış, selülozun amorf kısmının asit çözeltisine transferiyle bağlantılı olabilir. Bununla birlikte, hidrotropik ve derin ötektik çözücüler ile ekstrakte edilmiş

nanoparçacıklardaki düşük kristallik değeri, lifli selülozik yapının işlemlerden sonra daha iyi oranda korunabildiğine işaret etmektedir (Wu vd., 2021).

Kestane kabuğundan konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik çözücü ve derin ötektik çözücü ile ekstrakte edilen nanoselüloz örneklerinin kristallik indeksi değerleri sırasıyla %80,7; %72,8; %45,1 ve %23,0 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.11). Konvansiyonel ve mikrodalga tekniği ile ekstrakte edilen nanoselüloz tozları daha yüksek kristallik derecesi göstermiştir. Kristallik derecesindeki artışın, selüloz zincirleri içindeki  $\beta$ -1,4-glikozidik bağları kırarak selüloz bileşenlerinin amorf bölgelerine nüfuz eden hidronyum iyonları ile ilişkili olduğu da rapor edilmiştir (Sai Prasanna ve Mitra, 2020). Sülfürik asit ile hidroliz işlemlerine kıyasla hidrotropik ve derin ötektik çözücü işlemleri nanoselüloz örneklerinin kristallik derecesinde düşüşe neden olmuştur. Bu durum, ilgili çözücülerin selülozun molekül içi hidrojen bağlarını bozarak kristallikliğini azaltması ile ilişkilendirilmiştir (Jančíková ve Jablonský, 2022).

**Çizelge 4.11.** Farklı ekstraksiyon işlemleri ile üretilen nanoselüloz tozlarına ait kristallik derecesi değerleri

| Hammadde                 | Yöntem        | Kristallik derecesi (%) |
|--------------------------|---------------|-------------------------|
| Antep fıstığı dış kabuğu | Konvansiyonel | 61,1 <sup>c</sup>       |
|                          | Mikrodalga    | 62,2 <sup>d</sup>       |
|                          | Hidrotropik   | 24,5 <sup>b</sup>       |
|                          | Derin ötektik | 19,9 <sup>a</sup>       |
| Kestane kabuğu           | Konvansiyonel | 80,7 <sup>d</sup>       |
|                          | Mikrodalga    | 72,8 <sup>c</sup>       |
|                          | Hidrotropik   | 45,1 <sup>b</sup>       |
|                          | Derin ötektik | 23,0 <sup>a</sup>       |

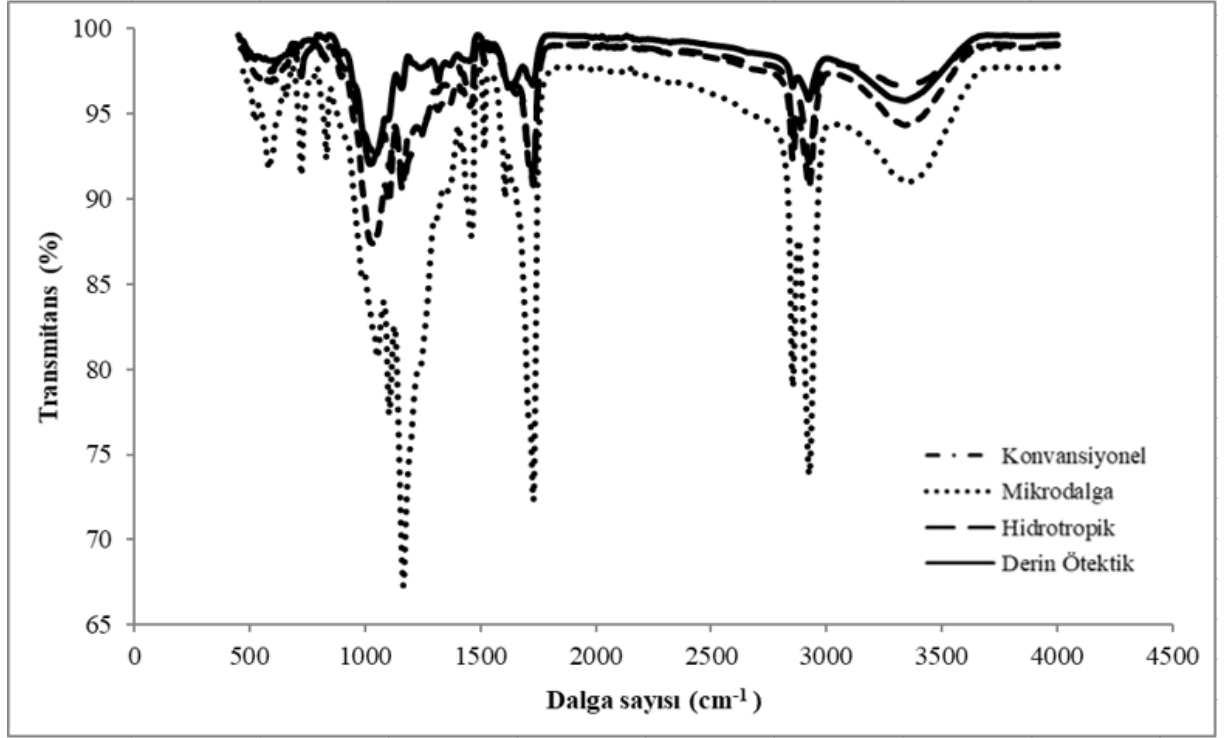
\* Her bir hammadde için farklı harflendirmeye sahip değerler arasında istatistiki açıdan önemli farklılık vardır ( $P<0,05$ ).

#### 4.2.1.4. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi

Fourier dönüşümü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi genellikle materyaldeki farklı fonksiyonel grupların varlığını ve bu gruplar arasındaki kimyasal etkileşimleri doğrulamak için kullanılmaktadır (Sajjad vd., 2020). FTIR spektroskopisi, kimyasal reaksiyonların nanoselüloz gibi materyaller üzerindeki etkilerini belirlemek için özellikle son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu kapsamda, FTIR spektrumları karşılaştırılarak, nanoselüloz tozlarında yer alan fonksiyonel gruplardaki değişiklikler belirlenebilmekte ve meydana gelen kimyasal reaksiyonlar hakkında fikir edinilebilmektedir (Kumar vd., 2014).

Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz örneklerinin FTIR spektrumları karşılaştırmalı olarak Şekil 4.11'de sunulmuştur. I-O bağının gerilme modunu ifade eden  $530\text{ cm}^{-1}$ 'deki tepe

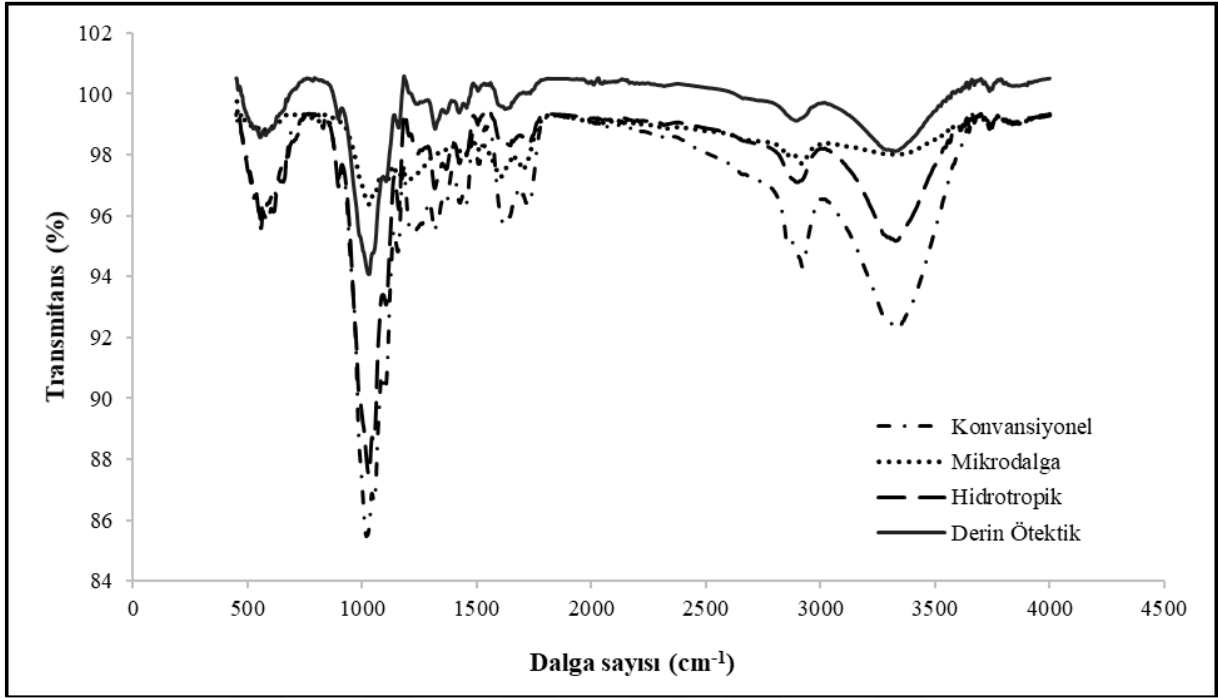
noktası, yalnızca mikrodalga destekli ekstraksiyon ile üretilen örnekte gözlenmiştir. Epoksi halkasının simetrik titreşimini gösteren  $830\text{ cm}^{-1}$ 'deki karakteristik tepe noktaları, güçlü asidik çözelti kullanımını içeren, konvansiyonel ve mikrodalga destekli ekstraksiyon ile üretilen nanoselüloz tozlarında gözlenmiştir (Soheilmoghaddam vd., 2013). Alkol grubunu (C–OH) ifade eden pikler, konvansiyonel ve mikrodalga yöntemlerinde  $1060\text{ cm}^{-1}$  civarında iken, yeşil solventlerin kullanıldığı yöntemlerde daha düşük dalga sayılarında ( $1030\text{ cm}^{-1}$ ) ortaya çıkmıştır. Bu değişiklik, çözücü tipindeki farklılıklar ile açıklanabilir (Jaruwat vd., 2018). Pikin  $1516\text{ cm}^{-1}$ 'de bulunduğu nokta ise, ligninde bulunan aromatik halkanın C=C gerilme titreşimine atfedilmektedir. Selülozdaki tipik titreşimlere ait absorpsiyon tepe noktaları  $1460\text{ cm}^{-1}$  ve  $1161\text{ cm}^{-1}$ 'de ortaya çıkmıştır (Schwanninger vd., 2004). Tepe noktasının  $1730\text{ cm}^{-1}$  civarında gözlenmesi, selüloz ve lignin karboksilik gruplarının gerilme titreşimine atfedilmektedir ve tüm numuneler, değişen transmitans değerlerine sahip bantlar göstermiştir (Hong vd, 2020). Bu tepe noktası, muhtemel lignin mevcudiyetinden dolayı mikrodalga destekli numunede yoğun şekilde açığa çıkmış olabilir. Tepe noktalarının  $3340$  ile  $3380\text{ cm}^{-1}$  aralığında bulunması, liflerin hidrofilik eğilimini gösteren O–H titreşimlerine karşılık gelmektedir. Nanoselüloz örneklerinin kristallik derecesinin,  $1431$  ve  $897\text{ cm}^{-1}$ 'deki piklerin yoğunluğu ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir (Dai ve Fan, 2010). Mikrodalga örneği için  $1431\text{ cm}^{-1}$ 'de dikkate değer bir pik fark edilirken, bunu konvansiyonel, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent işlemleri takip etmiş; diğer taraftan  $897\text{ cm}^{-1}$ 'lik bantlar sadece konvansiyonel ve mikrodalga örneklerinde görülmüştür. Dolayısıyla FTIR spektroskopisi sonuçları, elde edilen kristallik derecesi değerlerini desteklemektedir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile üretilen nanoselüloz numuneleri, tüm piklerde diğer yöntemlere kıyasla geniş ve yoğun tepe noktaları sergilemiştir. Bu durum, termo-kimyasal işleminden sonra üretilen nano boyutlu selüloz molekülleri arasındaki güçlü hidrojen bağı etkileşimleri ile açıklanabilir (Asrofi vd., 2017).



**Şekil 4.11.** Farklı ekstraksiyon işlemlerinin Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz tozlarının FTIR spektrumları üzerindeki etkileri

Konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent teknikleri kullanılarak elde edilmiş kestane kabuğu nanoselüloz örneklerine ait FTIR spektrumları Şekil 4.12’de sunulmuştur. FTIR spektrumları incelendiğinde, tüm ekstraksiyon yöntemleri arasında mikrodalga destekli ekstraksiyon ile üretilen örneğin farklı spektrumlar sergilemesi, ekstraksiyon işlemi sırasında yeni bağların oluştuğuna işaret etmektedir (Wulandari vd., 2016). Konvansiyonel, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ile işlenmiş numunelerin FTIR spektrumları,  $3500 - 3200 \text{ cm}^{-1}$  bölgesinde genellikle selülozdaki hidroksil grubunun serbest O-H gerilme titreşimini ifade eden geniş bir absorpsiyon bandı sergilemiştir (Gond vd., 2021). Ayrıca,  $2894 \text{ cm}^{-1}$  civarındaki karakteristik dalga sayıları, tüm ekstraksiyon tekniklerinde gözlenen simetrik C-H titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Sajjad vd., 2020; Sampath vd., 2021). Konvansiyonel ve mikrodalga ekstraksiyon ile üretilen nanoselüloz örneklerinde sırasıyla  $1083 \text{ cm}^{-1}$  ve  $1075 \text{ cm}^{-1}$  civarında pikler gözlenmiştir. Bu pikler, çoğunlukla selülozdaki glikoz birimleri arasındaki  $\beta$ -glikozidik bağlarla ilişkilidir ve asit hidrolizi ile sürekli olarak artan bir eğilim göstermektedir (Mandal ve Chakrabarty, 2011). Ek olarak, karakteristik bir pik olan  $1059 \text{ cm}^{-1}$ , selüloz yapısında yer alan C-O-C piranoz halkası ile ilişkilendirilmektedir (Theivasanthi vd., 2018). Nanoselüloz örnekleri için FTIR spektrumunda gözlenen  $1603 \text{ cm}^{-1}$  civarındaki spektrum, selülozdaki lignin yapısındaki aromatik bileşiklerde yer alan C=C gruplarının göstergesidir ve genellikle asit hidrolizi ile

elimine edilmektedir (Hemmati vd., 2018). Bu karakteristik pikin konvansiyonel ve mikrodalga ile işlenmiş örneklerde tespit edilmemesi, asit hidroliz işleminin etkinliği ile ilişkilendirilmektedir.



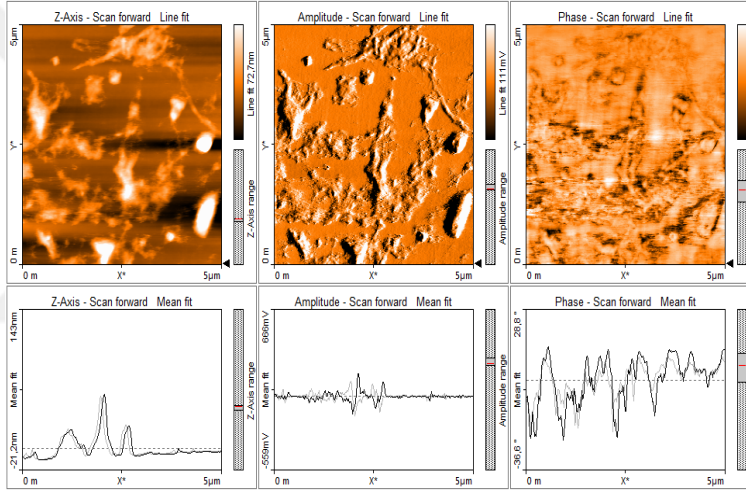
**Şekil 4.12.** Optimum işlem koşullarında üretilen kestane kabuğu nanoselüloz tozlarına ait FTIR spektrumları

#### 4.2.1.5. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM)

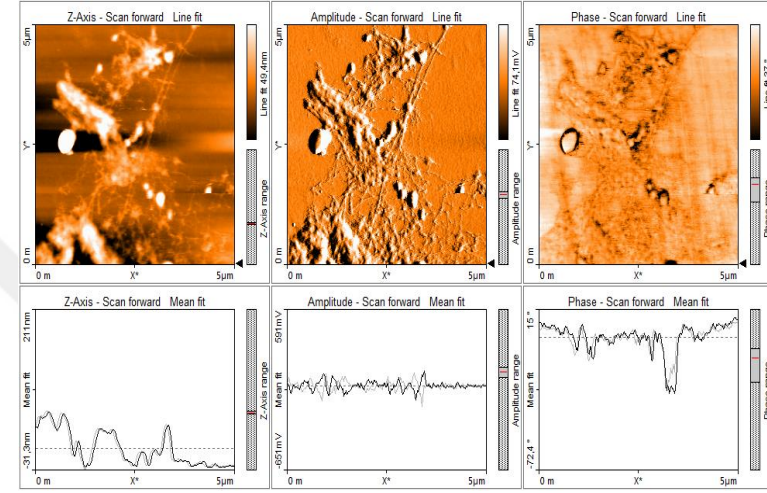
Hidroliz tekniği, nanoselülozun boyutunu ve özelliklerini etkilediğinden nanoselüloz morfolojisini incelemek önem arz etmektedir (Deepa vd., 2015). Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM), yüzey morfolojisi ve materyal yapısını karakterize etmenin yanı sıra mikroskobik görüntülemeye de katkıda bulunan bir tekniktir (Yusra vd., 2018). AFM analizi, yükseklik profili analizi ile aglomere yapıdaki bireysel nanoselüloz parçacıklarının gözlenebilmesine olanak sağlamaktadır (Ilyas vd., 2018). AFM, nanoselüloz yüzey alanını özel bir prob aracılığı ile tarayarak topografik detaylar vermekte ve nanoselülozdaki kristal bölgeleri temsil eden parlak bölgeler ile amorf kısımları ifade eden karanlık bölgeler arasındaki farkları göstermektedir (Naduparambath vd., 2018; Ravindran vd., 2019). Dört farklı hidroliz yönteminden elde edilen Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz örneklerinin AFM görüntüleri Şekil 4.13'te verilmiştir. Konvansiyonel, mikrodalga destekli, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent nanoselüloz örneklerinin uzunlukları sırasıyla 21,2 – 143 nm, 31,3–211 nm, 74,9–158 nm ve 65,6–202 nm aralığında değişim göstermiş; ortalama çaplar ise sırasıyla 72,7 nm, 49,4 nm, 235 nm ve 279 nm olarak belirlenmiştir. Dolayısıyla, uygulanan

işlemler sonucu nano boyuta sahip nanoselüloz örneklerinin başarıyla üretilbildiği ifade edilebilir. Sülfürik asit hidrolizinin, mikroselülozun amorf bölgesini uzunlamasına güçlü bir şekilde parçalayabildiği ve mikrondan nanometre ölçeğine kadar bir çap azalmasına neden olduğu bildirilmektedir (Mandal ve Chakrabarty, 2011). Bu durum, güçlü asit hidroliz etkisinden dolayı, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ile işlenmiş örneklerle kıyasla konvansiyonel ve mikrodalga destekli yöntemler ile hidrolize edilen nanoselüloz örneklerinin daha küçük ortalama çapa sahip olmasının nedenleri arasında gösterilebilir. Ayrıca, daha fazla kristal bölgenin varlığı daha yüksek bir kristallik derecesi sağladığından, AFM gözlemlerinin kristallik derecesi değerleriyle de uyumlu olduğu görülmüştür.

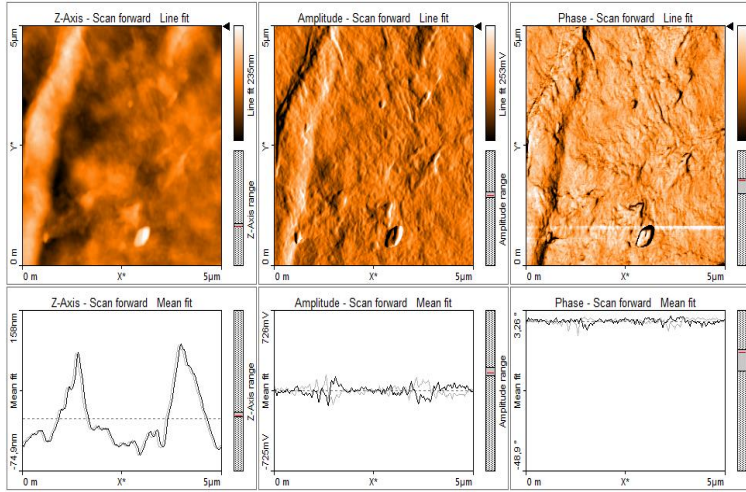
Konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent işlemleri ile elde edilen kestane kabuğu nanoselüloz örneklerine ait AFM görüntüleri ise Şekil 4.14'te sunulmuştur. Konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ile muamele edilen nanoselüloz örneklerinin uzunlukları sırasıyla 397 – 712 nm; 6,22 – 28,7 nm; 37,4 – 96,4 nm ve 8,93 – 49 nm aralığında; ortalama çapları ise sırasıyla 1,26 nm; 3,43 nm; 100 nm ve 20,2 nm olarak belirlenmiştir. Nanoselülozun yapısal ve boyutsal özellikleri, ekstraksiyon yöntemi, solvent tipi, reaksiyon süresi ve sıcaklığı ve hammadde gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Farooq vd., 2020). Ekstraksiyon yöntemleri arasında, solvent olarak sülfürik asit kullanılan mikrodalga ekstraksiyonu, Antep fıstığı dış kabuğunda olduğu gibi kestane kabuğu nanoselülozu için de en küçük boyuta sahip örneklerin oluşumuna neden olmuştur.



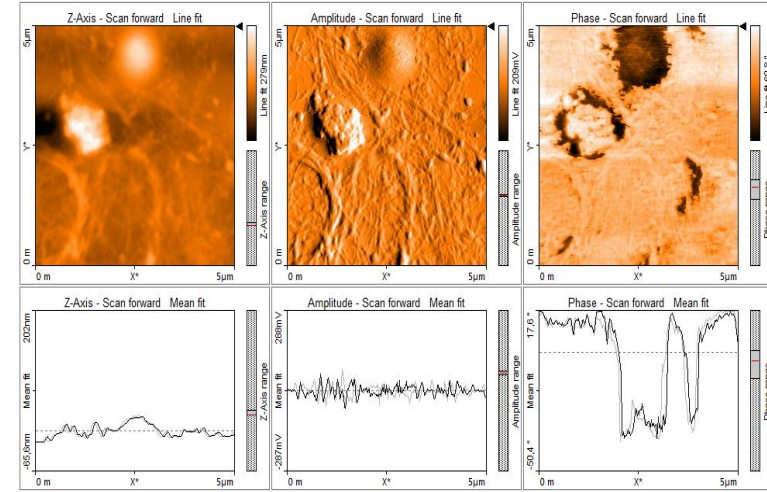
(a) Konvansiyonel



(b) Mikrodalga



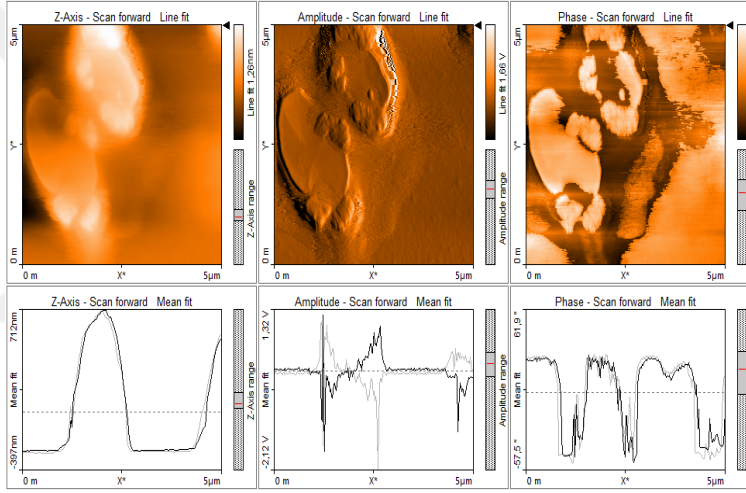
(c) Hidrotropik solvent



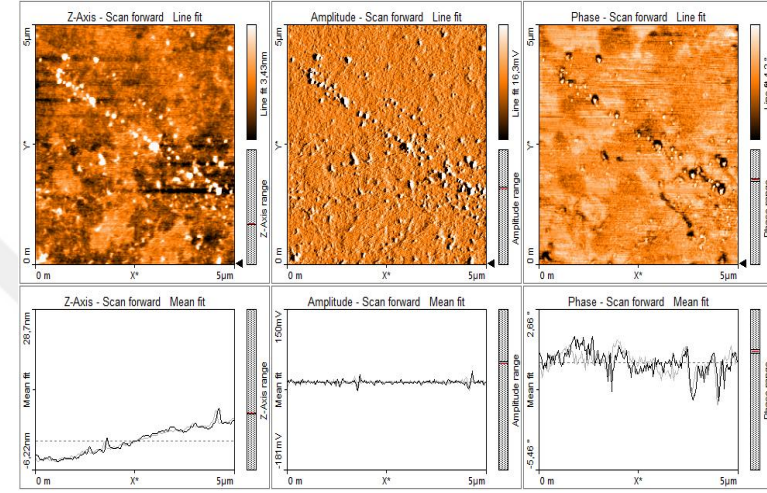
(d) Derin ötektik solvent

Şekil 4.13. Optimum işlem koşullarında üretilen Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz tozlarına ait AFM görüntüleri

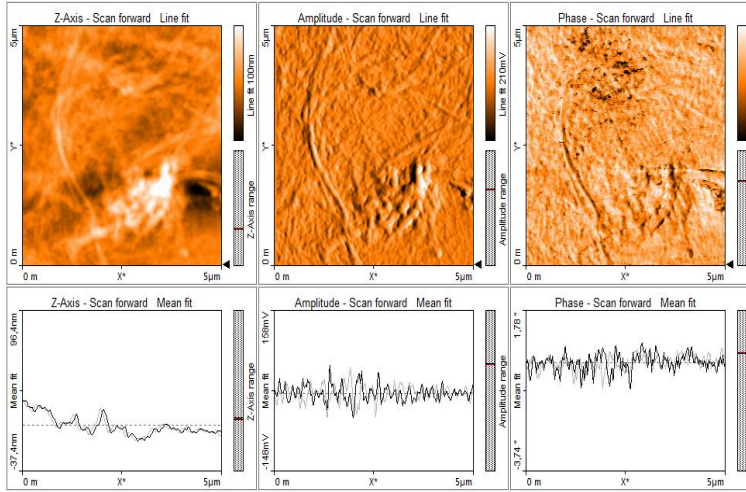




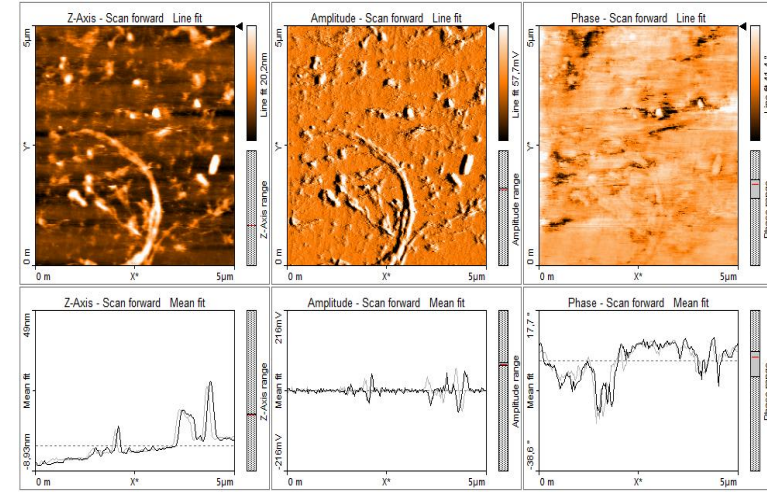
(a) Konvansiyonel



(b) Mikrodalga



(c) Hidrotropik solvent



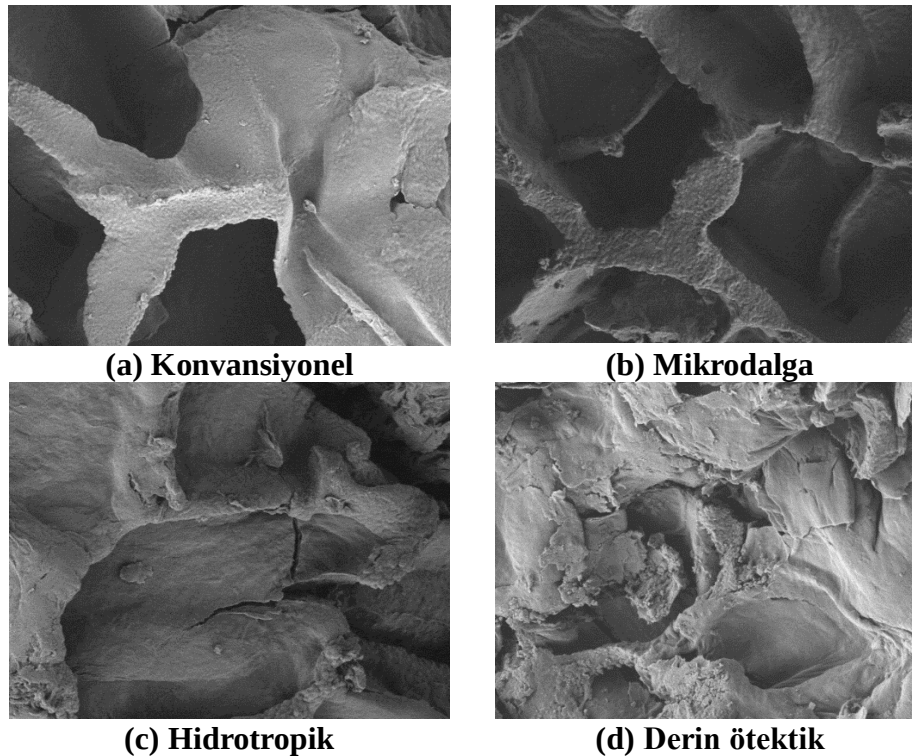
(d) Derin ötektik solvent

Şekil 4.14. Optimum işlem koşullarında üretilen kestane kabuğu nanoselüloz tozlarına ait AFM görüntüleri



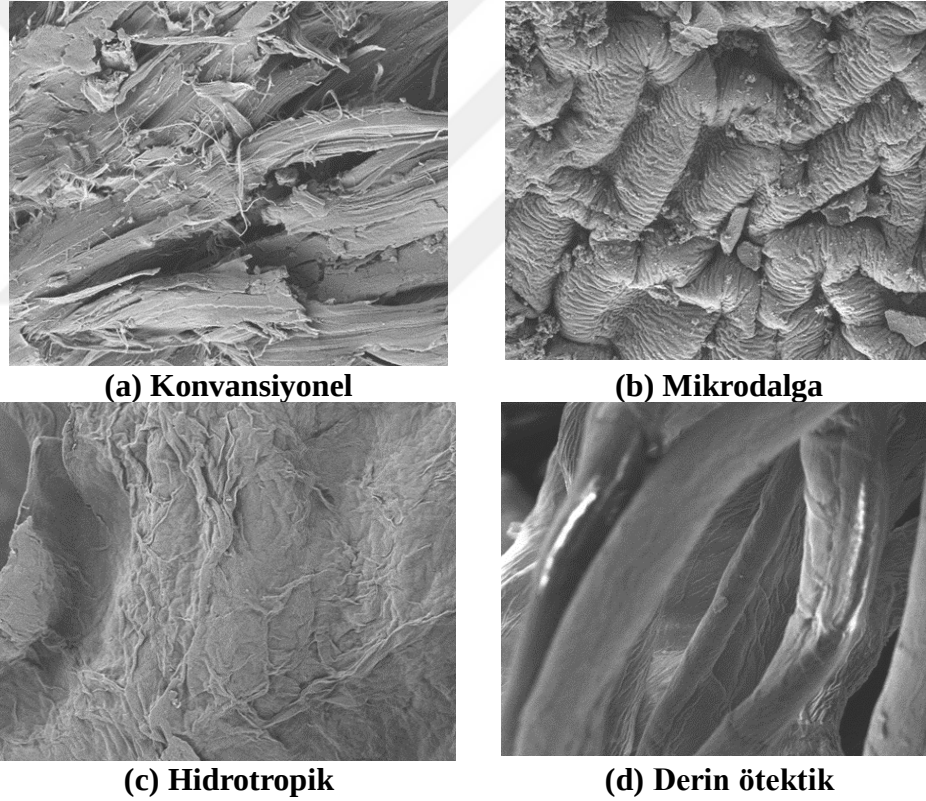
#### 4.2.1.6. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), nanoselüloz malzemelerin görüntülenmesi ve karakterizasyonu için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Ayrıca SEM, malzemenin yüzey morfolojisinin yüksek çözünürlüklü görüntülenmesine izin vererek boyut, şekil ve dağılım gibi faktörler hakkında bilgi sağlayabilmektedir (Beyan vd., 2021). Her bir ekstraksiyon yöntemi için optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz numunelerinin SEM görüntüleri Şekil 4.15'te verilmiştir. Konvansiyonel ve mikrodalga destekli ekstraksiyon ile üretilen nanoselüloz örnekleri, bal peteği benzeri kompakt blok bir yapı göstermiştir. Hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent işlemlerinden sonra nanoselülozun morfolojik yapısının diğerlerinden oldukça farklı olduğu gözlemlenmektedir. Bu durum, çözücü etkileşimlerinden kaynaklanan kısmi bozulma nedeniyle düzensiz bir yüzey yapısının meydana gelmesi ile açıklanabilir. Selüloz yapısı, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent ile muamele esnasında kuvvetli hidroliz olmaksızın, lignin ve diğer bileşenlerin serbest bırakılması ile kısmen bozulmaktadır (Scelsi vd., 2021). Kuvvetli asit hidrolizi uygulanan işlemler ise biyokütlenin supramoleküler yapısını daha yüksek oranda bozabilmektedir (Ji vd., 2021). SEM görüntüleri ile kristallik derecesi değerleri arasında da bir ilişki vardır. Morfolojik yapıdaki bozulma derecesinin nanoselüloz örneklerinin kristallik derecesi ile paralel olduğu gözlenmiştir.



**Şekil 4.15.** Optimum işlem koşullarında üretilen Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz tozlarına ait SEM görüntüleri

Konvansiyonel, mikrodalga, hidrotropik solvent ve derin ötektik solvent tekniği ile ekstrakte edilen kestane kabuğu nanoselüloz örneklerine ait SEM görüntüleri Şekil 4.16'da sunulmuştur. Şekil 4.16a ve Şekil 4.16b'de, asit hidrolizi ile amorf fazın etkin bir şekilde ayrılması nedeniyle yüzeyde düzensizlikler olarak görülebilen yüzey kusurlarının veya pürüzlerin olduğu görülmektedir (Ling vd., 2021). Ayrıca, asit hidrolizi ile nanoselüloz partikül boyutunun küçüldüğü ve nanoselülozların agregre olduğu yorumu da yapılabilir (Sai Prasanna ve Mitra, 2020). Bu durum, selülozdaki  $\beta$ -1,4-glikopiranoz bağının kırılması ve selülozun amorf bölgelerinin tahrip olması ile açıklanmaktadır (Melikoğlu vd., 2019). Derin ötektik solvent işlemine tabi tutulmuş nanoselüloz örneğine ait SEM görüntüsü (Şekil 4.16d) incelendiğinde, örneğin daha düz bir yüzeye sahip olduğu ve çok sayıda fibrillerin bulunduğu görülmektedir. Bu durum ise, hemiselüloz ve ligninin uzaklaştırılması sonucu selüloz liflerinin sıkı bir şekilde bağlanması ile açıklanabilir (Liu vd., 2019).



**Şekil 4.16.** Optimum işlem koşullarında üretilen kestane kabuğu nanoselüloz tozlarına ait SEM görüntüleri

#### **4.2.2. Optimum Yöntem ve İşlem Koşullarında Üretilen Nanoselülozların Karakterizasyonu**

En yüksek verim ele alındığında (Çizelge 4.9), Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselüloz tozu üretimi için derin ötektik solvent ekstraksiyon yöntemi en uygun teknik olarak belirlenmiştir. İlgili toz örneklerde toplam kuru madde, su aktivitesi, toplam

mineral madde, pH değeri gibi fiziksel özellikler,  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  ve  $h^\circ$  değerlerinin incelendiği renk özellikleri, camsı geçiş sıcaklığı, kristalizasyon entalpisi, erime sıcaklığı, ısı kapasitesi gibi termal özellikler ve su tutma kapasitesi, yağ bağlama kapasitesi, emülsiyon kapasitesi, yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, akabilirlik, partikül yoğunluğu, ıslanabilirlik, dağılabilirlik gibi toz ürün karakterizasyon analizleri gerçekleştirilmiş ve sonuçlar karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.12’de sunulmuştur.

**Çizelge 4.12.** Optimum yöntem ve işlem koşullarında üretilen nanoselüloz örneklerine ait toz ürün karakterizasyonu

| Özellik                     |                                                    | Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu | Kestane kabuğu nanoselülozu | İstatistiksel farklılık* |
|-----------------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| <b>Fiziksel özellikler</b>  | Toplam kuru madde miktarı (%)                      | 95,7±0,0                              | 95,0±0,2                    | –                        |
|                             | Su aktivitesi                                      | 0,54±0,00                             | 0,49±0,01                   | –                        |
|                             | Toplam mineral madde miktarı (%)                   | 2,80±0,03                             | 0,96±0,06                   | +                        |
|                             | pH değeri                                          | 3,55±0,07                             | 4,55±0,21                   | +                        |
| <b>Renk özellikleri</b>     | $L^*$ değeri                                       | 50,3±0,6                              | 51,8±0,5                    | +                        |
|                             | $a^*$ değeri                                       | 3,41±0,07                             | 3,57±0,27                   | +                        |
|                             | $b^*$ değeri                                       | 7,18±0,34                             | 7,13±0,55                   | –                        |
|                             | $C^*$ değeri                                       | 7,96±0,28                             | 7,98±0,58                   | –                        |
|                             | $h^\circ$ değeri                                   | 64,5±1,5                              | 63,4±1,5                    | –                        |
| <b>Termal özellikler</b>    | Camsı geçiş sıcaklığı (°C)                         | –31,5±1,3                             | –31,2±0,2                   | –                        |
|                             | Kristalizasyon entalpisi (J/g)                     | –0,08±0,0                             | –0,06±0,01                  | –                        |
|                             | Erime sıcaklığı (°C)                               | 91,2±6,7                              | 74,1±0,9                    | +                        |
|                             | Isı kapasitesi (J/g°C)                             | 0,13±0,00                             | 0,30±0,03                   | +                        |
| <b>Toz ürün özellikleri</b> | Su tutma kapasitesi (%)                            | 5,70±0,19                             | 6,00±0,21                   | +                        |
|                             | Yağ bağlama kapasitesi (%)                         | 4,87±0,14                             | 7,52±0,19                   | +                        |
|                             | Emülsiyon aktivitesi (%)                           | 24,5±1,5                              | 19,0±1,4                    | +                        |
|                             | Yığın yoğunluğu (g/cm <sup>3</sup> )               | 0,20±0,01                             | 0,04±0,00                   | +                        |
|                             | Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu (g/cm <sup>3</sup> ) | 0,26±0,01                             | 0,10±0,01                   | +                        |
|                             | Partikül yoğunluğu (g/cm <sup>3</sup> )            | 1,19±0,01                             | 1,27±0,04                   | –                        |
|                             | Akabilirlik (%)                                    | 21,6±2,4                              | 57,8±3,1                    | +                        |
|                             | Islanabilirlik (sn.)                               | 25,4±2,7                              | 7,29±0,23                   | +                        |
|                             | Dağılabilirlik (%)                                 | 1,26±0,03                             | 1,43±0,04                   | +                        |

\* Artı işareti (+), ilgili satırdaki analiz için nanoselüloz örneklerinin  $P<0,05$  düzeyinde istatistiksel açıdan farklı değerlere sahip olduğunu ifade etmektedir.

#### 4.2.2.1. Toplam Kuru Madde Miktarı

Kuru madde miktarı, bir ürünün raf ömrünü belirlemede önemli rol oynayan parametreler arasındadır (Sabara vd., 2022). Ayrıca, selüloz bazlı ürünlerde nem içeriğinin kristallik derecesini etkileyebildiği, nem içeriği arttıkça toz ürünün kristallik derecesinin azaldığı bildirilmektedir (Mihriyan vd., 2004). Mevcut tez çalışmasında optimum yöntem ve işlem koşullarında üretilen nanoselüloz tozlarının toplam kuru madde miktarı değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $P>0,05$ ). İlgili değerler Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu için %95,7 ve kestane kabuğu nanoselülozu için %95,0 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Çoğu çalışmada, nanoselüloz üretiminin son aşamasında

uygulanan kurutma işlemi nedeniyle nihai üründe yüksek kuru madde içeriği gözlenmektedir. Farklı literatür bulguları, elde edilen sonuçları destekler niteliktedir. Örneğin, Sabara vd. (2022) tarafından yapılan bir çalışmada farklı selüloz nanokristal örneklerinde toplam kuru madde miktarının %90,5 ile %93,9 arasında değiştiği rapor edilmiştir. Başka bir çalışmada ise, farklı hammaddelerden elde edilen nanoselülozların %91,3 – %96,0 aralığında kuru madde içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir (Ludueña vd., 2013).

#### **4.2.2.2. Su Aktivitesi**

Su aktivitesi değeri, bir gıda sistemindeki buhar basıncının, ilgili sıcaklıktaki doymuş su buharı basıncına oranı olarak tanımlanmaktadır. Su aktivitesi, gıdalardaki mikroorganizma gelişiminin kontrolü açısından kritik bir parametredir ve özellikle patojen bakterilerin gelişiminin engellenebilmesi için bu değerin 0,83'ün altında olması gerekmektedir. Genellikle 0,6 altındaki değerlere sahip gıdalar ise mikrobiyal açıdan güvenilir kabul edilmektedir (Jin vd., 2019). Su aktivitesi değerinin azalması, mikroorganizmaların gelişme eğrisindeki lag fazını uzatarak metabolik aktiviteyi ve dolayısıyla büyüme hızını sınırlandırmaktadır (Jafari vd., 2018). Optimum yöntem ve işlem koşullarında üretilen nanoselüloz kriyoprotektanların su aktivitesi değeri incelendiğinde, istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık meydana gelmemiş ( $P>0,05$ ); ilgili değerler Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselüloz örnekleri için sırasıyla 0,54 ve 0,49 olarak belirlenmiştir. Literatürde, nanoselüloz içeren filmlerde su aktivitesi değerinin 0,4 ile 0,6 arasında değiştiğine dair raporlar mevcuttur (Da Silva vd., 2015).

#### **4.2.2.3. Toplam Mineral Madde Miktarı**

Nanoselüloz kriyoprotektanların toplam mineral madde miktarı incelendiğinde, Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozunun %2,80; kestane kabuğunun ise %0,96 kül içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.12). İlgili değerler arasında istatistiki açıdan önemli bir farklılık bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Literatürde farklı lignoselülozik materyallerden üretilen nanoselüloz örneklerinde %2,3 (Sihag vd., 2022), %2,5 (Sabara vd., 2022) ve %0,1 (Budaeva vd., 2019) gibi farklı değerler rapor edilmiştir. Dolayısıyla, mineral içeriğindeki farklılıkların temel olarak hammadde türüne bağlı olduğu ifade edilebilir. Aynı zamanda, nanoselüloz üretimindeki alkali ön işlemi esnasında hammaddede yer alan minerallerin büyük kısmının uzaklaştırılmasından dolayı, nanoselüloz tozlarının genel olarak düşük mineral madde içeriğine sahip olduğu bildirilmektedir (Barbash vd., 2021).

#### 4.2.2.4. pH Değeri

Nanoselülozlarda pH değeri, ürün kalitesini belirlemek ve hammadde olarak kullanım potansiyelinin tayini için değerlendirilmesinde gereken bir faktördür (Sabara vd., 2022). Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselüloz örneklerinde pH değeri sırası ile 3,55 ve 4,55 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Yapılan bir çalışmada, farklı selülozik materyallerde pH değeri 3,97 ve 4,11 olarak bulunmuştur (Prakongpan vd., 2002). Öte yandan, Sabara vd. (2022) farklı selüloz nanokristal örneklerinde pH değerinin 7,25 ile 7,85 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Elde edilen pH değerlerindeki bu değişkenlik, ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan solventlerin selülozik materyaller ile etkileşimine bağlı farklılıkların bir sonucu olarak meydana gelebilmektedir (Heggset vd., 2017).

#### 4.2.2.5. Renk Özellikleri

Nanoselüloz tozlarının renk özellikleri incelendiğinde, örnekler arasında parlaklığı temsil eden  $L^*$  değeri ile kırmızılık ve yeşillik temsil eden  $a^*$  değeri için istatistiki açıdan anlamlı farklılıklar belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Bununla birlikte, nanoselülozlarda sarılık ve maviliği temsil eden  $b^*$  değerinin yanı sıra Chroma ( $C^*$ ) ve Hue açısı ( $h^\circ$ ) değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmadığı belirlenmiştir. Kestane kabuğu nanoselüloz tozu (51,8), Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozuna (50,3) kıyasla nispeten yüksek  $L^*$  değerine, dolayısıyla daha açık bir renge sahip olmuştur. Tez çalışmasının ön işlem aşamalarında ağartıcı ajan olarak tanımlanan hidrojen peroksit kullanımının örneklerde ağarmaya ve dolayısıyla açık renkli nanoselüloz tozlarının elde edilmesine olanak sağladığı yorumu yapılabilir. Nanoselüloz üretimi esnasında, hammaddenin hazırlık ve ekstraksiyon aşamalarında meydana gelen doku hasarları neticesinde renk pigmentleri degradasyona uğrayabilmektedir. Özellikle oksidasyon ve hidroliz reaksiyonları sonucu, aldehit ve karboksil gruplarındaki değişimler nedeniyle nihai üründe renk değişimleri gözlenebilmektedir. Selülozun parçalanması sırasında, selüloz zincirlerinde yer alan karbonil grupları da renk değişiminden sorumlu olabilmektedir. Ayrıca, glikoz gibi basit şekerlerin termal bozunması, furan gibi bileşikler oluşturulabilmekte ve bu bileşikler, genellikle yüksek sıcaklıklarda işlem gören selüloz örneklerinde renk değişimine neden olabilmektedir (Heggset vd., 2017). Sıklıkla kullanılan renk parametrelerinden birisi olan Hue açısı ( $h^\circ$ ) 0 ile 360 °C arasında değer almakta;  $h^\circ$  skalasında 0° kırmızı, 90° sarı, 180° yeşil ve 270° mavi rengi temsil etmektedir (Yingngam vd., 2018). Buna göre, Antep fıstığı dış kabuğu (64,5) ve kestane kabuğu (63,4) nanoselüloz tozlarının görsel değerlendirmelerle de uyumlu şekilde, sarı renge yakın olduğunu söylemek mümkündür.

#### 4.2.2.6. Termal Özellikler

Termogravimetrik analiz, bir numunenin ısıtılırken veya soğutulurken ağırlık kaybını ölçerek malzemelerin termal stabilitesini ve bileşimini analiz etmek için kullanılan bir tekniktir. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ise, toz ürünlerin yapısal ve termal stabilitesinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılan bir termogravimetrik analiz cihazıdır (Asyraf vd., 2023). DSC taraması altında, zaman ve sıcaklığın bir fonksiyonu olarak enerjilerin (entalpi) absorbe edildiği (endotermik) veya salındığı (ekzotermik) noktalar belirlenerek toz ürünlerin fiziksel özelliklerinde meydana gelen değişiklikler belirlenebilmektedir. Bu değişiklikler, tozların yapısına ve termal tarama koşullarına bağlı olarak ürünün camsı geçiş, buharlaşma, kristalleşme, protein denatürasyonu, jelleşme, erime veya oksidasyon gibi özellikleri ile ilgili olabilmektedir (Nurazzi vd., 2021). Tez çalışması kapsamında, nanoselüloz tozlarının termal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla camsı geçiş sıcaklığı, kristalizasyon entalpisi, erime sıcaklığı ve ısı kapasitesi değerleri tespit edilmiştir.

##### 4.2.2.6.1. Camsı Geçiş Sıcaklığı

Camsı geçiş, amorf veya polimerik bir malzemenin camsı halden lastiksi (kauçuğumsu) hale dönüştüğü sıcaklık ( $T_g$ ) olarak tanımlanmaktadır. Ürün stabilitesi açısından, yüksek viskozite ve düşük moleküler hareketlilik sağlayan, fizikokimyasal ve biyolojik değişikliklerin daha sınırlı ölçüde meydana geldiği camsı durum arzu edilmektedir (Roos, 2010). Bitkisel materyallerin  $T_g$  değerleri, ürünlerdeki su içeriği, kimyasal bileşim ve bu bileşenlerin molekül ağırlığı gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Düşük  $T_g$  değerleri, özellikle toz formdaki gıda maddelerinin işleme ve depolama aşamalarında topaklanma ve yapışkanlık gibi istenmeyen değişikliklere neden olabilmektedir. Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselülozlarına ait  $T_g$  değerleri sırasıyla  $-31,5\text{ }^{\circ}\text{C}$  ve  $-31,2\text{ }^{\circ}\text{C}$  olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

Selüloz, lignoselülozik materyaller içerisinde yer alan en yüksek termal stabiliteye sahip bileşen olarak tanımlanmaktadır (Gardner vd., 2008). Geleneksel selüloz lifleriyle karşılaştırıldığında nanoselülozun termal kararlılığı ise, işlem koşulları ve materyalin yüzey/hacim oranı gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilmektedir (Peng vd., 2013). Selüloz ve türevleri için  $T_g$  ile kristallik derecesi arasında önemli bir ilişki olduğu belirtilmektedir (Szcześniak vd., 2008). Son yıllarda yapılan çalışmalarda farklı kristallik derecesine sahip selüloz numunelerinin termal stabilitesi araştırılmış ve termal stabilitenin kristallik derecesi ile doğru orantılı olarak arttığı bildirilmiştir (Zhang vd., 2019). Bununla paralel olarak, tez

çalışması kapsamında kullanılan her iki nanoselüloz tozunun düşük kristallik derecesine sahip olmasından dolayı düşük  $T_g$  değerlerine sahip olduğu ifade edilebilir.

#### **4.2.2.6.2. Kristalizasyon Entalpisi**

Kristalizasyon, gıda polimerlerinin fiziksel özelliklerinde önemli değişikliklere neden olduğundan ürün stabilitesini etkileyebilmektedir (Furlán vd., 2013). Kristalizasyon ile ilişkili önemli bir parametre olan kristalizasyon entalpisi değeri ise, DSC termogramında termal bozunma eğrisinin altında kalan alandan hesaplanmaktadır (Desnos vd., 2019). Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselülozlarına ait kristalizasyon entalpisi değerleri sırasıyla  $-0,08$  ve  $-0,06$  J/g olarak bulunmuştur (Çizelge 4.12). Elde edilen düşük kristalleşme entalpisi değerleri, nanoselüloz örneklerinin düşük kristallik derecesine sahip olması ile de tutarlı görülmektedir (Khodaei vd., 2023).

#### **4.2.2.6.3. Erime Sıcaklığı**

Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselülozlarına ait erime sıcaklıkları sırasıyla  $91,2$  °C ve  $74,1$  °C olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.12). Nanoselüloz üretimi esnasında selüloz polimer zincirlerinin uzunluğunun azalması, uç noktalardaki glikozidik grupların sayısını artırarak erime sıcaklığını azaltmaktadır (Barclay vd., 2010). Selülozun  $260 - 270$  °C aralığında bir erime sıcaklığına sahip olduğu düşünüldüğünde, düşük moleküler boyuta sahip nanoselüloz örneklerinde daha düşük erime sıcaklıkları gözlenmiştir (Mahmoud ve Abdelwahab, 2020).

#### **4.2.2.6.4. Isı Kapasitesi**

Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselüloz tozlarına ait ısı kapasitesi değerleri sırasıyla  $0,13$  ve  $0,30$  J/g °C olarak belirlenmiş (Çizelge 4.12); örnekler arasında istatistiki açıdan anlamlı farklılık ( $P<0,05$ ) görülmüştür.

#### **4.2.2.7. Toz Ürün Özellikleri**

##### **4.2.2.7.1. Su Tutma Kapasitesi**

Su tutma kapasitesi, toz ürün ile su molekülleri arasındaki etkileşimler sayesinde ürünün su absorplama yeteneğini temsil etmektedir. Özellikle gözenekli yapının varlığı, toz ürünlerde yoğunluk ve su tutma kapasitesini etkilemektedir (Gao vd., 2020). Su tutma kapasitesi, gıdalarda tekstür özellikleri açısından önemli bir rol oynamaktadır. Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselüloz tozlarına ait su tutma kapasite değerleri sırasıyla %5,70 ve %6,00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Bir çalışmada, pamuk linterinden elde edilen

nanoselüloz örneklerinin su tutma kapasitesi değerlerinin ham selüloza (%0,80) kıyasla yükseldiği ve %1,15 – 2,03 aralığında değişim gösterdiği rapor edilmiştir. Su tutma kapasitesindeki artışlar, nanoselüloz örneklerinin yüksek yüzey alanına sahip olması ile ilişkilendirilmiştir (Hemmati vd., 2019). Ayrıca, nanofibrilasyon işleminin etkin bir şekilde uygulanması ile stabil ve homojen nanofibril yapıları oluşmakta ve böylelikle su tutma kapasitesi artış gösterebilmektedir. Nanoselüloz üretimi esnasında selüloz zincir yapısı kırılarak su tutma kabiliyetinin artmasına katkıda bulunmaktadır (Lin vd., 2022). Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselüloz toz örneklerinde gözlemlenen iyileştirilmiş hidrasyon özellikleri, lignin ve hemiselülozun uzaklaştırılmasından sonra partikül boyutunun azalması ve dolayısıyla yüzey alanının artarak su molekülleri için daha fazla bağlanma noktası sağlanması ile ilişkilendirilebilir.

#### **4.2.2.7.2. Yağ Bağlama Kapasitesi**

Yağ bağlama kapasitesi, toz ürünlerde önemli bir tekno-fonksiyonel parametre olup nanoselüloz tipine (nanokristal veya nanolif), boyutlarına ve bağlanan yağın kompozisyonuna bağlı olarak değişim gösterebilmektedir. Selüloz da dahil olmak üzere besinsel lifler, yağ bağlamak için güçlü bir afiniteye sahip olan karboksilik asit, aldehit, keton veya eter gibi bazı fonksiyonel grupları içermektedir. Nanoselüloz eldesinde kullanılan kimyasal ve mekanik işlemler, bu fonksiyonel grupları veya bağlanma bölgelerini etkileyerek yağ bağlama kapasitesi artırıcı etki göstermektedir (Xiao vd., 2019). Tez çalışması kapsamında, Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselüloz tozlarına ait yağ bağlama kapasite değerleri sırasıyla %4,87 ve %7,52 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Nanoselüloz örnekleri, morfolojik gözlemler sonucu tespit edilen gözenekli ve lifli yapıları nedeniyle de yüksek yağ bağlama özelliği sergileme potansiyeline sahiptir.

#### **4.2.2.7.3. Emülsiyon Aktivitesi**

Emülsiyonlar yüzey aktif bileşiklerle stabilize edilen, yağ ve su fazını bir arada içeren ve genellikle küresel damlacıklardan oluşan sistemlerdir (Goodarzi ve Zendejboudi, 2019). Emülsiyon oluşumu, gıda ve ilaç sanayi gibi birçok farklı alanda arzu edilen bir özellik olup bu konuda emülsiyon ajanı olarak inorganik parçacıklar (karbon nanotüpler ve manyetik parçacıklar), proteinler ve polisakkaritler gibi birçok bileşenin etkinliği test edilmektedir (Dai vd., 2020). Bu alternatifler arasında, nanoselülozun yüksek alana sahip yüzey kısmının hidrofilik ve hidrofobik kısımları birlikte içermesi ile göstermiş olduğu amfifilik özellik, emülsiyon stabilizasyonu için oldukça önemlidir. Amfifilik doğasının yanı sıra,



nanoselülozların emülsiyon stabilizatörleri olarak son zamanlardaki popüleritesi, sahip olduğu nano ölçekli boyutu, yüksek en-boy oranı, modifikasyon kolaylığı, sürdürülebilirlik, düşük toksisite ve biyolojik olarak parçalanabilirlik gibi özelliklerine atfedilmektedir (Tang vd., 2019). Bu kapsamda, Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselüloz tozlarına ait emülsiyon aktivitesi değerleri sırasıyla %24,5 ve %19,0 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Emülsifikasyon özelliklerini daha da iyileştirmek için, hammadde seçimi ve işlem koşullarının modifikasyonu ile nanoselüloz morfolojisi, kristallik derecesi ve yüzey yükü gibi özelliklerin araştırılmasında ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır (Gao vd., 2023).

#### **4.2.2.7.5. Yığın ve Sıkıştırılmış Yığın Yoğunluğu**

Bir tozun yığın yoğunluğu değeri, toz kütesinin toz tarafından kaplanan hacme oranlanması ile ifade edilmektedir. Yığın yoğunluğu, toz akış karakterizasyonunda önemli bir parametredir (Vasilenko vd., 2013). Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu ise, sıkıştırma kuvveti ile partiküller arasında yer alan havanın uzaklaştırılması sonucu elde edilen hacim başına kütle miktarını ifade etmektedir. Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselüloz örneklerine ait yığın yoğunluğu değerleri sırasıyla 0,20 ve 0,04 g/cm<sup>3</sup> olarak bulunurken, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerleri sırasıyla 0,26 ve 0,10 g/cm<sup>3</sup> olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Nanoselüloz tozlarına ait yığın yoğunluğu değerindeki farklılıklar, başlangıç materyali ve saflaştırma derecesi gibi faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir. Kestane kabuğu nanoselüloz tozuna ait değerler, Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz tozuna kıyasla önemli derecede düşük bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Toz yığın özellikleri daha çok partikül boyutu ve dağılımı ile ilgilidir. Düşük yığın yoğunluğu değeri, aynı kütle için daha büyük bir paketleme hacmine ihtiyaç duyulduğu için tercih edilen bir özellik değildir. Bu durum, endüstriyel uygulamalarda nakliye ve pazarlama açısından önemli bir ekonomik kriter olarak değerlendirilmektedir (de Barros Fernandes vd., 2016; Fernandes vd., 2014). Ek olarak, düşük yığın yoğunluğuna sahip ürünlerde partiküller arasındaki boşluklarda yer alan hava nedeniyle oksidasyon riski ortaya çıkmakta ve depolama stabilitesi azalabilmektedir (İzli vd., 2022). Tüm bu durumlar göz önünde bulundurulduğunda, örnekler arasında Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz tozunun oksidasyon riskinin yanı sıra paketleme ve nakliye maliyetleri açısından avantajlara sahip olduğu ifade edilebilir.

#### **4.2.2.7.6. Akabilirlik**

Akabilirlik, toz parçacıklarının bir bütün halinde akmaya karşı direnci hakkında fikir veren, serbest akış özelliğinin bir ölçüsüdür. Toz ürünün akabilirlik değeri, toz bileşimi,

parçacık boyutu ve morfolojisi ile bazı fizikokimyasal özelliklerden etkilenmektedir (Sharma vd., 2012). Akabilirlik değerlerinin ifadesinde kullanılan CI teriminde düşük CI değerleri, tozun iyi akışkanlık derecesine sahip olduğunu göstermektedir. CI değerine göre toz akışkanlık durumu çok iyi (<15), iyi (15–20), orta (20–35), kötü (35–45) ve çok kötü (>45) olarak sınıflandırılmaktadır (Yılmaz ve Zungur Bastıoğlu, 2020). Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu toz örneklerine ait akabilirlik değerleri sırasıyla %21,6 ve %57,8 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Bu sonuçlar doğrultusunda, yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerleri ile de paralel olarak Antep fıstığı dış kabuğu nanoselüloz tozunun daha üstün akış özelliğine sahip olduğu ifade edilebilir.

#### **4.2.2.7.7. Partikül Yoğunluğu**

Partikül yoğunluğu, bir parçacığın birim hacmi başına düşen kütlesini ifade etmektedir. Toz ürünü oluşturan bireysel partiküllerin yüksek yoğunluk farklılıklarına sahip olması, daha yoğun partiküllerin aşağı ve daha az yoğun olanların yukarı yönde hareket ettiği, karışımın stabilitesini azaltan bir ayrışma mekanizmasına neden olabilmektedir (Sharma vd., 2012). Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu toz örneklerine ait ortalama partikül yoğunluğu değerleri sırasıyla 1,19 ve 1,27 g/cm<sup>3</sup> olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.12). Farklı toz örneklerin yığın yoğunluğu değerleri arasındaki farklılığın, genellikle partikül yoğunluğuna kıyasla daha yüksek olduğu ve bu nedenle toz ürün karakterizasyonunda daha önemli bir etkiye sahip olduğu ifade edilmektedir (Shenoy vd., 2015). Benzer şekilde, her iki nanoselüloz toz örneğinin karşılaştırılmasında yığın ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğunun aksine partikül yoğunluğu değerleri arasında istatistiki açıdan bir farklılık görülmemiştir ( $P>0,05$ ).

#### **4.2.2.7.8. Islanabilirlik**

Islanabilirlik, bir sıvının katı bir yüzeye temasını sürdürebilme derecesinin bir ölçüsü veya sudaki rehidrasyon kapasitesi olarak tanımlanmaktadır (Fernandes vd., 2014). Bir sıvının bir yüzeyi ıslatma yeteneği, sıvının yüzey gerilimine, katının yüzey enerjisine ve sıvı ile katı yüzeyi arasındaki etkileşimlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Lazghab vd., 2005). Tozların ıslanabilirlik derecesini ölçmek için genellikle daldırma işlemi ile ıslatma prosedürü uygulanarak tüm toz ürünün ıslanması için gerekli süre belirlenmektedir. Böylelikle iyi veya zayıf ıslanabilirlik özelliğine sahip tozlar arasında ayırım yapılabilmektedir (Ji vd., 2016). Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu toz örneklerine ait ıslanabilirlik değerleri sırasıyla 25,4 ve 7,29 sn. olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Islanabilirlik süresindeki artış,

ıslanabilirlik derecesinin azalması anlamına gelmektedir (Chegini ve Ghobadian, 2005). Bu doğrultuda, kestane kabuğu nanoselüloz tozlarının daha iyi ıslanabilirlik özelliğine sahip olduğu ifade edilebilir. Elde edilen sonuçlar, kestane kabuğu nanoselülozunun daha düşük partikül boyutuna sahip olması ile de tutarlı görülmektedir.

#### **4.2.2.7.9. Dağılılabirlik**

Bir tozun dağılılabirliği, sıvı ortamda homojen bir karışım oluşturma yeteneği ile ifade edilmektedir (Laokuldilok ve Kanha, 2015). Dağılılabirlik özelliği iyi olan toz ürünler, kümeler oluşturmada veya dibe çökmeden sıvı içerisinde hızlı ve homojen bir şekilde çözülme veya süspanse olmaktadır (Laokuldilok ve Kanha, 2015). Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu toz örneklerine ait ıslanabilirlik değerleri sırasıyla %1,26 ve %1,43 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Toz ürünlerde ıslanabilirlik ve dağılılabirlik özelliklerinin birbiriyle ilişkili olduğu ele alındığında, ıslanabilirlik sonuçları ile paralel olarak kestane nanoselüloz toz örnekleri daha iyi dağılılabirlik özelliği sergilemiştir (Sharma vd., 2012).

### **4.3. Fermente Ekmek Hamuruna ait Donma Süreleri ve Dondurucu Sistem Enerji Tüketimi Değerleri**

Tez çalışması kapsamında model gıda olarak ele alınan fermente ekmek hamurunda gerçekleştirilen dondurma işlemleri, her bir dondurucu sistem için ayrı ayrı ürün geometrik merkez sıcaklığının  $-18^{\circ}\text{C}$ 'ye düşmesi için gerekli süre olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.13). Dondurma işlemleri sonucu en kısa donma süresi bireysel hızlı dondurma (IQF) işlemi ile elde edilmiş; en uzun işlem süresine sahip yöntem ise statik dondurma olmuştur. Hava akımlı dondurucu sistemler, statik dondurucuya kıyasla sisteme entegre pervane (fan) sistemi sayesinde daha etkin bir dondurma işlemi yapabilmektedir. Burada, fan yardımıyla dondurucu ortam içerisinde yer alan havaya hareket (hız) kazandırılarak ısı transfer katsayısı artırılmakta ve daha kısa işlem sürelerinde donma işlemi gerçekleştirilmektedir (Sian vd., 2023). IQF sistemi ise ön soğutma ve şoklama ünitesi olmak üzere iki temel kısımdan meydana gelmektedir. Her iki ünite içerisinden geçen bir bandın üzerinde yer alan ürünler tünel boyunca hareket etmekte ve sistemden çıkışta donmuş durumda olmaktadır. Ön soğutma ünitesinden geçen üründe hızlı bir sıcaklık düşüşü gerçekleşmekte, şoklama ünitesinde ise hızlı ve etkin bir dondurma işlemi gerçekleştirilmektedir. Aynı zamanda, IQF sisteminde ürünün üzerinde hareket ettiği bantın alt kısmında kuvvetli fanlar yer almaktadır (Dempsey ve Bansal, 2012). Böylelikle, IQF sistemi ile daha kısa işlem sürelerinde dondurma işlemlerini gerçekleştirmek mümkün olmaktadır.

Dondurucu sistemlere ait enerji tüketim değerleri Çizelge 4.13'te sunulmuştur. Ürünün donması için sistem tarafından harcanan elektrik enerjisi değerleri incelendiğinde, enerji sarfiyatı açısından en düşük değerlerin statik dondurucu ile elde edildiği görülmektedir. En fazla enerji tüketimi ise IQF dondurucu sistemde gerçekleşmiştir. Hava akımlı ve IQF dondurucu sistemlerde enerji sarfiyatından sorumlu bileşenlerin nitelik ve sayıca üstünlüğü, daha yüksek elektrik tüketimini de beraberinde getirmektedir. Diğer yandan, hızlı dondurma sonucu oluşan küçük buz kristallerinin daha düşük düzeyde hücresel tahribat yaratması nedeniyle genellikle dondurma işleminin olabildiğince kısa sürelerde gerçekleşmesi istenmektedir (Voda vd., 2012). Bu nedenle, endüstriyel uygulamalarda ürün kalitesinden ödün verilmeksizin yüklü miktarlarda ürünün dondurulmasında IQF gibi sistemler kullanılmakta ve birim ürün başına dondurma maliyeti de düşürülebilmektedir (Chowdhury, 2012).

**Çizelge 4.13.** Fermente ekmek hamuruna ait donma süreleri ile dondurucu sistem enerji tüketimi değerleri

| Dondurma yöntemi              | Donma süresi (dk.) | Dondurucu sistem enerji tüketim değeri (kWh) |
|-------------------------------|--------------------|----------------------------------------------|
| Statik dondurma               | 87                 | <0,01                                        |
| Hava akımlı dondurma          | 47                 | 0,73                                         |
| Bireysel hızlı dondurma (IQF) | 18                 | 5,83                                         |

#### 4.4. Kriyoprotektan Türü, Dondurma Yöntemi ve Depolama Süresinin Fermente Ekmek Hamurunun Kalite Özelliklerine Etkileri

Tez çalışması kapsamında model gıda olarak belirlenen fermente ekmek hamuru örneklerinin her biri eklenen kriyoprotektan türü (kontrol, Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselülozu), dondurma yöntemi (statik, hava akımlı, IQF) ve depolama süresinin (altı aya kadar) etkilerinin incelenmesi amacıyla aylık rutin analizlere tabi tutulmuştur. Bu kapsamda, toplam kuru madde miktarı, su aktivitesi, pH değeri, renk farkı değeri, sertlik değeri, esneklik değeri, damlama kaybı, iyon sızıntısı,  $\alpha$ -amilaz aktivitesi, spesifik ekmek hacmi ve ekmek değer sayısı analizleri gerçekleştirilmiştir. Kriyoprotektan ajan ilaveli fermente ekmek hamuru örneklerinde, en yüksek verim değerlerinin elde edildiği derin ötektik solvent ekstraksiyon yöntemine ait optimum işlem koşullarında üretilen toz ürünler kullanılmıştır.

#### 4.4.1. Toplam Kuru Madde Miktarı

Farklı kriyoprotektan ilavesi, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun toplam kuru madde miktarı üzerine etkileri Çizelge 4.14'te sunulmuştur. Aynı zamanda, deneysel verilere çok değişkenli varyans analizi (MANOVA) uygulanmış ve sonuçlar Çizelge 4.26'da verilmiştir. Çizelge 4.26 incelendiğinde, MANOVA modelinin ve tüm işlem parametrelerinin istatistiki olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ( $P<0,01$ ). Kriyoprotektan türü ve dondurma yönteminin kombine etkisi haricinde, faktörlerin ikili ve üçlü etkilerinin de istatistiki olarak anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, modelin veriler ile uyumluluğunu gösteren yüksek regresyon katsayısı (0,919) ve ayarlanmış regresyon katsayısı (0,880) değerleri elde edilmiştir.

Hamur numunelerine ait kuru madde değerleri incelendiğinde, depolama süresince örnek gruplarında farklı oranlarda artışlar söz konusu olmuştur. Dondurulmuş ürünlerde depolama süresince genel olarak dehidrasyon kaynaklı hücre içi konsantrasyon artmakta ve dolayısıyla kuru madde miktarında yüzdesel artış meydana gelmektedir (Giannou vd., 2003). Ayrıca, çözündürme işlemi esnasında meydana gelen damlama kaybı ile de üründe bir miktar su kaybı olabilmektedir. Elde edilen veriler dondurma yöntemleri açısından ele alındığında, hava akımlı dondurucu ile dondurulan numunelerde diğer yöntemlere kıyasla daha yüksek oranda kuru madde artışı bulgulanmıştır. Söz konusu durum, IQF dondurmaya kıyasla daha yavaş dondurma hızına bağlı olarak buz kristallerinin oluşumuna atfedilebilir (Giannou vd., 2003). Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselülozu ilaveli hamur örneklerinde ise kontrol grubuna kıyasla daha az oranda kuru madde miktarı artışının meydana geldiği görülmektedir. Nanoselülozlar, su bağlama kabiliyeti sayesinde dehidrasyonu engelleyici etki gösterebilmektedir (Solhi vd., 2023). Bu açıdan, nanoselüloz ilavesinin hamur örneklerinde kriyoprotektan etkinliği sağlayabildiği ifade edilebilir.

**Çizelge 4.14.** Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun toplam kuru madde miktarı üzerine etkileri

| Toplam kuru madde miktarı (%)         |                  | Depolama süresi (ay) |          |          |          |          |          |          |
|---------------------------------------|------------------|----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Kriyoprotektan türü                   | Dondurma yöntemi | 0                    | 1        | 2        | 3        | 4        | 5        | 6        |
| Kontrol                               | Statik           | 59,2±0,2             | 59,6±0,1 | 59,6±0,1 | 61,3±1,4 | 61,3±2,1 | 62,0±1,1 | 64,9±1,7 |
|                                       | Hava akımlı      | 58,3±0,1             | 59,8±0,1 | 59,5±0,3 | 60,6±0,2 | 60,5±0,4 | 61,0±1,6 | 65,2±0,1 |
|                                       | IQF              | 58,9±0,5             | 59,6±0,0 | 60,8±1,6 | 61,3±0,3 | 62,0±0,2 | 63,4±2,6 | 64,5±0,0 |
| Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu | Statik           | 60,0±0,3             | 59,9±0,2 | 60,3±0,9 | 61,2±0,7 | 61,9±1,5 | 62,7±0,6 | 63,0±0,0 |
|                                       | Hava akımlı      | 58,7±0,6             | 59,5±1,0 | 59,3±0,0 | 60,5±0,8 | 60,1±0,1 | 62,2±1,0 | 67,1±4,1 |
|                                       | IQF              | 59,9±0,3             | 60,8±1,2 | 61,4±0,0 | 61,8±0,7 | 62,4±0,3 | 62,9±0,0 | 65,7±0,5 |
| Kestane kabuğu nanoselülozu           | Statik           | 58,8±0,6             | 60,4±0,0 | 60,1±0,4 | 60,6±0,5 | 61,0±0,6 | 61,2±0,5 | 64,2±0,9 |
|                                       | Hava akımlı      | 58,7±0,3             | 59,9±0,3 | 59,2±0,5 | 60,8±0,1 | 61,8±0,5 | 61,4±1,0 | 65,5±0,5 |
|                                       | IQF              | 59,3±0,3             | 60,9±0,3 | 61,7±0,8 | 61,5±1,5 | 62,2±0,0 | 62,0±0,0 | 63,8±1,3 |

#### 4.4.2. Su Aktivitesi Değeri

Farklı kriyoprotektan ilavesi ve dondurma yöntemlerinin hamur örneklerinin su aktivitesi değeri üzerine etkileri Çizelge 4.15'te sunulmuştur. İşlem parametrelerinin etkileri ise MANOVA ile incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.26'da sunulmuştur. Çizelge 4.26 incelendiğinde, MANOVA modelinin istatistiki açıdan anlamlı olduğu ( $P<0,001$ ); işlem parametrelerinin ise farklı istatistiki anlam seviyelerinde etkili oldukları görülmektedir. Faktörlerin üçlü çarpan etkisinde ise istatistiki açıdan anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $P>0,05$ ). MANOVA'ya ait yüksek regresyon ve ayarlanmış regresyon katsayısı değerleri ( $>0,98$ ), modelin veriler ile uyumluluğunu göstermektedir. Ayrıca, gözlenen güç değerlerinin kriyoprotektan türü ile dondurma yöntemi ikili çarpan etkisi haricindeki tüm etkilerde 1,0'e yakın olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.15 incelendiğinde, genel olarak tüm numune gruplarında dondurma yönteminden bağımsız şekilde depolama süresince, özellikle depolamanın ikinci ayından itibaren su aktivitesi değerlerinde azalmalar meydana gelmiştir. Hamur oluşum mekanizması oldukça kompleks bir işlemdir ve un ile suyun karıştırılıp yoğurulmaya başlanmasıyla su, undaki nişasta ve glüten ile etkileşime girmektedir. Fermantasyon esnasında maya hücreleri tarafından glüten ve nişasta yapısında meydana getirilen değişimler, fermantasyon sonucu üretilen metabolik ürünler ve diğer un bileşenlerinin su bağlama kabiliyeti gibi birçok faktör neticesinde hamur formu oluşmaktadır (Rouille vd., 2000). Nişasta granüllerinin kısmi jelatinizasyonu dolayısıyla nişasta, hamurda bulunun serbest formdaki suyu bağlayabilmektedir. Dondurma işleminin doğal nişasta granüllerinin jelatinleşme derecesini geciktirdiği bildirilmektedir; ancak, dondurma sonrası depolama sırasında hamurda yer alan gözeneklerin içindeki buz kristallerinin büyümesi, gözeneklerin genişlemesine sebep olabilmektedir. Bu durum ise, glüten ve nişasta yapısında hasarlara neden olabilmektedir. Glüten dehidrasyona uğramakta ve dondurulmuş hamurun çözünmesi sırasında su, glüten matriksindeki orijinal durumuna geri dönememektedir (Molina vd., 2016; Esselink vd., 2003). Bu olay sonucunda, temel olarak gıdadaki serbest su miktarı hakkında fikir veren su aktivitesi değerinde bir düşüş gözlenebilmektedir.

Nanoselüloz ilaveli örnek gruplarında, su aktivitesi değişim oranının kontrole kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir. Hidrokolloidler gibi kriyoprotektan ajanlar, su bağlama özellikleri, donma-çözünme döngüleri sırasında hamur stabilitesinin sağlanması ve dondurulmuş formda depolamanın nişasta bazlı ürünler üzerindeki olumsuz etkilerinin en aza indirilmesi gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Dolayısıyla kriyoprotektanlar, hamur örneklerinde

glüten ve su molekülleri ile birleşip hidrofilik bir kompleks oluşturarak nişasta retrogradasyonunu azaltıcı bir etki gösterebilmektedir. Böylelikle, hamurun su tutma kapasitesi artarken nem içeriğinin de daha iyi derecede korunabileceği yorumu yapılabilir (Selomulyo ve Zhou, 2007; Luo vd., 2018).

**Çizelge 4.15.** Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun su aktivitesi değeri üzerine etkileri

| Su aktivitesi değeri                  |                  | Depolama süresi (ay) |             |             |             |             |             |             |
|---------------------------------------|------------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Kriyoprotektan türü                   | Dondurma yöntemi | 0                    | 1           | 2           | 3           | 4           | 5           | 6           |
| Kontrol                               | Statik           | 0,983±0,002          | 0,983±0,001 | 0,973±0,001 | 0,957±0,002 | 0,927±0,003 | 0,906±0,001 | 0,900±0,001 |
|                                       | Hava akımlı      | 0,982±0,001          | 0,982±0,001 | 0,973±0,001 | 0,955±0,003 | 0,927±0,002 | 0,906±0,003 | 0,900±0,001 |
|                                       | IQF              | 0,983±0,002          | 0,982±0,001 | 0,972±0,001 | 0,956±0,003 | 0,925±0,002 | 0,903±0,003 | 0,901±0,002 |
| Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu | Statik           | 0,984±0,002          | 0,986±0,001 | 0,982±0,001 | 0,964±0,002 | 0,950±0,008 | 0,931±0,005 | 0,923±0,005 |
|                                       | Hava akımlı      | 0,983±0,002          | 0,987±0,001 | 0,982±0,002 | 0,964±0,002 | 0,953±0,008 | 0,931±0,008 | 0,920±0,002 |
|                                       | IQF              | 0,984±0,001          | 0,985±0,001 | 0,982±0,000 | 0,964±0,004 | 0,948±0,008 | 0,927±0,005 | 0,913±0,004 |
| Kestane kabuğu nanoselülozu           | Statik           | 0,982±0,001          | 0,986±0,001 | 0,983±0,001 | 0,965±0,003 | 0,956±0,003 | 0,930±0,009 | 0,917±0,005 |
|                                       | Hava akımlı      | 0,984±0,002          | 0,987±0,001 | 0,983±0,001 | 0,966±0,002 | 0,952±0,007 | 0,935±0,002 | 0,924±0,002 |
|                                       | IQF              | 0,983±0,002          | 0,987±0,002 | 0,983±0,001 | 0,965±0,004 | 0,945±0,004 | 0,931±0,008 | 0,914±0,003 |

#### 4.4.3. pH Değeri

Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun pH değeri üzerine etkileri Çizelge 4.16’da sunulmuştur. Her bir faktörün tekli ve kombine etkilerinin, pH değeri üzerinde istatistiki açıdan anlamlı farklılıklara ( $P<0,001$ ) neden olduğu görülmektedir (Çizelge 4.26).

Dondurma işlemi ve dondurarak muhafaza esnasında hamur gaz tutma oranı ve maya aktivitesinin azalması gibi birçok faktör hamur özelliklerini etkilemektedir. Veriler incelendiğinde, depolama süresince pH değerinde düşüşlerin gerçekleştiği gözlenmektedir. Benzer şekilde, Meng vd. (2021) de  $-9^{\circ}\text{C}$ ,  $-12^{\circ}\text{C}$  ve  $-18^{\circ}\text{C}$  sıcaklıklarda dondurulan hamurların 30 günlük depolama süresince pH değerlerinde doğrusal azalışlar rapor etmişlerdir. Dondurulmuş hamurlarda depolama süresince damlama kaybına da bağlı olarak hücre içerisinde çözünen madde konsantrasyonunun arttığı ve pH değerinin azaldığı bildirilmektedir (Giannou vd., 2003). Ayrıca, hamurda fermentasyon sırasında oluşan  $\text{CO}_2$ , sulu faz içerisinde kısmen çözünerek düşük iyonlaşma derecesine sahip karbonik asite dönüşmekte ve hamur pH değerini düşürmektedir (Giannou vd., 2003). Ekşi hamur gibi farklı tip ürünlerin fermentasyonu esnasında laktik asit bakterileri tarafından üretilen laktik asitin de pH değerini azaltmada etkili olduğu rapor edilmiştir (Stefanello vd., 2018).

Kriyoprotektan ilaveli örneklerin kontrol grubuna kıyasla daha düşük pH değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Dondurulmuş hamurda benzer sonuçlar Minervini vd. (2011) tarafından da rapor edilmiştir. Bir başka çalışmada, kriyoprotektan ajan olarak %4 oranında trehaloz kullanılan örneğin en düşük pH ve en yüksek asitlik değerine sahip olduğu

bildirilmiştir (Darıkvand vd., 2022). Yüksek pH değerlerinde hamur içerisinde moleküller arası kuvvetlerin (özellikle hidrofobik kuvvetler) azalmasından dolayı gluten ağı oluşumu daha zor gerçekleştiğinden, kriyoprotektan kullanımının bu kapsamda düşük pH değeri sağlayarak gluten ağı oluşumu üzerinde olumlu bir etki meydana getirdiği ifade edilebilir (Yue vd., 2023). Dondurma yönteminin fermente ekmek hamurunun pH değeri üzerine etkileri incelendiğinde, IQF ile dondurulan ürünlerde diğer yöntemlere kıyasla özellikle üçüncü aydan itibaren daha yüksek bir pH azalma trendi görülmektedir. Bu durum ise dondurulmuş ürünlerde yavaş hızda da olsa devam eden maya aktivitesi sonucu oluşan organik asitler gibi metabolizma ürünlerinin varlığı ile ilişkilendirilebilir (Ribotta vd., 2003a; Lu ve Zhu, 2023). Bireysel hızlı dondurma ile daha kısa sürede dondurma işlemi gerçekleştirilerek mayalar gibi mikroorganizmaların gelişim hızı çok daha etkin bir şekilde, önemli ölçüde sınırlandırılmaktadır (Omedi vd., 2019).

**Çizelge 4.16.** Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun pH değeri üzerine etkileri

| pH değeri                             |                  | Depolama süresi (ay) |           |           |           |           |           |           |
|---------------------------------------|------------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Kriyoprotektan türü                   | Dondurma yöntemi | 0                    | 1         | 2         | 3         | 4         | 5         | 6         |
| Kontrol                               | Statik           | 5,19±0,06            | 5,10±0,02 | 4,88±0,03 | 4,87±0,05 | 4,84±0,03 | 4,64±0,07 | 4,54±0,05 |
|                                       | Hava akımlı      | 5,19±0,01            | 5,08±0,04 | 4,84±0,03 | 4,74±0,04 | 4,69±0,02 | 4,52±0,05 | 4,47±0,01 |
|                                       | IQF              | 5,26±0,02            | 5,09±0,03 | 4,91±0,01 | 4,87±0,05 | 4,79±0,02 | 4,57±0,01 | 4,57±0,04 |
| Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu | Statik           | 5,04±0,01            | 4,95±0,03 | 4,74±0,03 | 4,72±0,07 | 4,72±0,04 | 4,59±0,03 | 4,57±0,07 |
|                                       | Hava akımlı      | 5,04±0,01            | 4,96±0,02 | 4,76±0,02 | 4,70±0,03 | 4,64±0,06 | 4,58±0,03 | 4,49±0,01 |
|                                       | IQF              | 5,13±0,01            | 4,84±0,05 | 4,86±0,01 | 4,71±0,05 | 4,66±0,06 | 4,49±0,05 | 4,51±0,05 |
| Kestane kabuğu nanoselülozu           | Statik           | 5,02±0,01            | 4,94±0,06 | 4,85±0,01 | 4,69±0,01 | 4,60±0,00 | 4,63±0,06 | 4,61±0,03 |
|                                       | Hava akımlı      | 5,05±0,02            | 4,93±0,04 | 4,85±0,01 | 4,68±0,04 | 4,52±0,04 | 4,53±0,04 | 4,51±0,05 |
|                                       | IQF              | 5,04±0,05            | 4,93±0,04 | 4,83±0,04 | 4,62±0,04 | 4,50±0,02 | 4,52±0,08 | 4,50±0,03 |

#### 4.4.4. Renk Farkı Değeri

Farklı kriyoprotektan türü ilaveli ve farklı dondurma yöntemleri uygulanan hamur örneklerine ait renk farkı ( $\Delta E$ ) değerleri Çizelge 4.17’de sunulmuştur. Renk farkı değerleri, örnekler için renk parametrelerinin kriyoprotektan ilavesiz ve dondurulmayan taze hamurun renk değerleriyle kıyaslanması yoluyla hesaplanmıştır (Başlık 3.3.5). Dolayısıyla artan renk farkı değeri, taze örneğe kıyasla artan renk değişimi şiddetini ifade etmektedir. Renk farkı değeri için MANOVA analizine ait sonuçlar ise Çizelge 4.26’da verilmiştir. Çizelge 4.26 incelendiğinde, MANOVA modelinin istatistiki açıdan anlamlı olduğu bulunmuştur ( $P<0,001$ ). İşlem parametrelerinin etkisi incelendiğinde yalnızca depolama süresinin istatistiki açıdan anlamlı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Faktörlerin ikili ve üçlü çarpan etkileri için ise istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $P>0,05$ ). MANOVA’ya ait regresyon katsayısı ve ayarlanmış regresyon katsayısı değerleri sırasıyla 0,985 ve 0,980 olarak bulgulanmıştır.



Çizelge 4.17 incelendiğinde, genel olarak tüm numunelerin renk farkı değerlerinde depolama süresince kademeli bir artış, diğer bir ifadeyle taze örnek renginden uzaklaşma söz konusudur. Renk farkı, renk parametrelerindeki ( $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$ ) artış ve azalışlardan hesaplanan bir değerdir. Renk parametrelerinde depolama süresince metabolik aktivite ve biyokimyasal reaksiyonlara bağlı olarak değişimler söz konusu olabilmektedir (Majzoobi vd., 2019). Renk değişimini ele alan literatür çalışmalarında genellikle depolama süresiyle birlikte  $L^*$  değerinde (parlaklık) değişimler olduğu bildirilmektedir (Majzoobi vd., 2019; Khoshakhlagh vd., 2014; Popov-Raljić vd., 2009). Bu durum, kuru madde miktarı sonuçlarıyla paralel şekilde depolama sırasında meydana gelen dehidrasyon ve çözündürme esnasında damlama kaybı ile gerçekleşen nem kaybı ile ilişkilendirilebilir. Ayrıca, dondurulmuş depolama esnasında ürün yüzeyindeki nemin uzaklaşması sonucu donma yanığı da görülebilmektedir. Tüm bu faktörler, renk değişimi konusunda etkili olabilecek unsurlar olarak ön plana çıkmaktadır (Xing vd., 2022). Uygulanan dondurma yöntemi ve kriyoprotektan kullanımının ise fermente ekmek hamuru örneklerinde renk farkı değeri üzerine istatistiki açıdan bir farklılık oluşturmadığı görülmektedir ( $P>0,05$ ). Buradan hareketle, nanoselüloz kullanımının alışlageldik hamur rengi üzerinde herhangi olumsuz bir etkiye neden olmadığı yorumu yapılabilir.

**Çizelge 4.17.** Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun renk farkı değeri üzerine etkileri

| Renk farkı değeri ( $\Delta E$ )      |                  | Depolama süresi (ay) |           |           |           |           |            |            |
|---------------------------------------|------------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
| Kriyoprotektan türü                   | Dondurma yöntemi | 0                    | 1         | 2         | 3         | 4         | 5          | 6          |
| Kontrol                               | Statik           | 2,44±0,03            | 2,50±0,06 | 2,50±0,09 | 4,63±0,02 | 8,89±0,11 | 13,13±0,13 | 14,22±0,34 |
|                                       | Hava akımlı      | 1,43±0,08            | 2,37±0,03 | 3,25±0,06 | 4,35±0,00 | 9,56±0,09 | 12,68±0,16 | 14,86±0,41 |
|                                       | IQF              | 1,46±0,04            | 2,30±0,03 | 2,82±0,01 | 3,86±0,05 | 9,78±0,09 | 12,61±0,15 | 15,20±0,34 |
| Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu | Statik           | 1,60±0,09            | 2,75±0,07 | 3,35±0,07 | 4,41±0,06 | 9,56±0,10 | 12,67±0,20 | 14,40±0,28 |
|                                       | Hava akımlı      | 1,33±0,08            | 2,44±0,05 | 2,69±0,05 | 3,74±0,02 | 9,05±0,04 | 12,80±0,17 | 14,63±0,39 |
|                                       | IQF              | 1,35±0,05            | 2,51±0,02 | 2,85±0,02 | 4,08±0,07 | 8,75±0,00 | 13,03±0,19 | 14,81±0,39 |
| Kestane kabuğu nanoselülozu           | Statik           | 1,40±0,04            | 2,37±0,09 | 2,76±0,00 | 4,45±1,02 | 9,81±0,13 | 12,88±0,22 | 14,33±0,37 |
|                                       | Hava akımlı      | 1,29±0,07            | 2,77±0,05 | 3,06±0,05 | 4,55±0,00 | 9,02±0,04 | 13,03±0,15 | 14,59±0,28 |
|                                       | IQF              | 1,16±0,05            | 1,85±0,07 | 2,97±0,09 | 5,19±0,01 | 8,98±0,07 | 13,17±0,24 | 15,14±0,43 |

#### 4.4.5. Ekmek Sertlik Değeri

Fermente ekmek hamurundan üretilen ekmek numunelerinin sertlik değeri için Çizelge 4.26 incelendiğinde, MANOVA modelinin istatistiki olarak anlamlı olduğu görülmektedir ( $P<0,001$ ). Kriyoprotektan türü ve depolama süresinin model üzerinde etkili olduğu görülürken ( $P<0,001$ ), dondurma yöntemi istatistiki açıdan anlamlı bulunmamıştır. Parametrelerin ikili ve üçlü çarpan etkilerinin ise ekmek numunelerinin sertlik değerleri üzerinde istatistiki olarak anlamlı olduğu görülmektedir ( $P<0,001$ ). Modelin regresyon katsayısı 0,994 ve ayarlanmış regresyon katsayısı 0,992 olarak bulgulanmış; gözlenen güç

değerlerinin ise dondurma yöntemi haricinde  $>0,98$  olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar, modelin iyi tahminlendirildiğini ve sıfır hipotezinin reddedildiğini göstermektedir.

Depolama sırasında ekmek sertliğindeki artış, tüketiciler tarafından arzu edilmeyen ve ekmek tazeliği kaybına neden olan en önemli etkenler arasındadır. Nişasta retrogradasyonu, ekmeğin iç kısmından kabuğa doğru su migrasyonu ve nişasta molekülleri ile proteinler arasındaki bazı etkileşimler, ekmek sertliğini etkileyen başlıca faktörlerdir (Majzoobi vd., 2011). Tez çalışması kapsamında nanoselüloz ilavesi, dondurma yöntemi ve depolama süresinin, donmuş hamurdan üretilen ekmeklerin sertlik değeri üzerindeki etkileri Çizelge 4.18’de sunulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, kontrol grubu da dahil olmak üzere Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselülozu ilaveli tüm ekmek numunelerinin sertlik değerinin depolama sırasında arttığı görülmektedir. Literatürde dondurulmuş depolama süresince çoğunlukla ekmek sertliğinde önemli miktarda bir artış meydana geldiği bildirilmektedir (Bárcenas vd., 2003). Diğer yandan, depolama süresinin ekmek sertliği üzerinde istatistiki açıdan etkili olmadığına dair bulgular da mevcuttur (Fik ve Surowka, 2002). Burada, ekmek formülasyonu, depolama koşulları ve özellikle depolama süresi büyük önem arz etmektedir. Uzun depolama sürelerinde kalite karakteristiklerinde arzu edilmeyen değişimlerin meydana gelmesi neredeyse kaçınılmazdır.

Çizelge 4.18 detaylı olarak incelendiğinde, özellikle beşinci aydan sonra ekmek sertliği değerinde keskin bir artış görülmektedir. Bu doğrultuda, MANOVA sonuçları ile de paralel şekilde, depolama süresinin sertleşme oranı üzerinde dondurma yönteminden daha etkili olduğu ifade edilebilir. Dondurulmuş hamurdan üretilen ekmeklerin kabuk sertliğindeki artış, temelde nişasta ve proteinlerdeki yapısal değişimlerinden ve nem kaybından kaynaklanmaktadır. Nişasta granüllerinin, dondurucu içerisinde depolama sırasında özellikle rekristalizasyon sonucu oluşan buz kristallerinden zarar görebileceği bildirilmektedir. Buz kristalleri, amilozun granüllerden süzülmesine ve ekmek sertliğinde artışa neden olan bir amiloz ağının oluşmasına neden olabilmektedir. Ekmek sertliğinin başka bir nedeni de dondurarak depolama sırasında oluşan buz kristallerinin protein ağına zarar vermesidir (Majzoobi vd., 2011). Üç boyutlu gluten protein ağ yapısının denatürasyonu, hamur sertliğini etkileyebilmektedir (Wei vd., 2023). Ayrıca, depolama sırasında ekmeklerde meydana gelen nem kaybı ve iç kısımdan kabuğa su göçü ekmek sertliğini etkileyen diğer önemli faktörlerdir (Vasafi vd, 2019). Ek olarak, Çizelge 4.20 incelendiğinde hamur numunelerinde depolama süresinin sonunda başlangıça kıyasla damlama kaybının arttığı görülmektedir. Buna bağlı

olarak, ekmek sertliğinde depolama süresince artışın meydana gelmesi damlama kaybı ile de ilişkilendirilebilir.

Tüm ekmek gruplarında statik, hava akımlı ve IQF dondurma yöntemlerinin benzer oranlarda ekmek sertliğinde artışa neden olduğu bulgulanmıştır. Çizelge 4.26 incelendiğinde, dondurma yöntemindeki farklılığın ekmek sertliği üzerinde istatistiki olarak anlamlı olmadığı; buna karşın Antep fıstığı dış kabuğu ile kestane kabuğu nanoselülozu ilavesinin etkili olduğu görülmektedir. Depolama sonunda, depolama başlangıcına kıyasla ekmek sertliğinde en fazla yüzdesel artış kontrol grubunda gözlenmiştir. Nanoselüloz ilaveli ekmek numunelerinin sertlik değeri ise depolama süresince kontrol grubuna kıyasla daha az oranda artmıştır. Kriyoprotektan ajan olarak da kullanılabilen hidrokolloidlerin, ekmek sertliğini engellemede koruyucu rol üstlendiğini bildiren çalışmalar mevcuttur (Gambuś vd., 2007; Culetu vd., 2021; Guarda vd., 2004). Hidrokolloidlerin ekmek sertliği üzerindeki bu etkisi, su tutma kapasitelerine ve amilopektin retrogradasyonunun engellenmesine atfedilmektedir; çünkü hidrokolloidler, nişastaya bağlanarak nişasta ve glüten arasında hidrojen bağı oluşmasını engelleyebilmektedir (Maleki ve Milani, 2014; Bárcenas vd., 2004). Ekmekte nanoselüloz kullanımını ele alan iki farklı çalışmada ise nanoselüloz ilavesinin ekmek kabuğunda nem miktarı artışına neden olarak dolaylı yönden sertliği engelleyebildiği rapor edilmiştir (Lu vd., 2021; Corral vd., 2017). Dolayısıyla, farklı fizikokimyasal özellikteki nanoselüloz örneklerinin ekmekte kalite kriterlerini iyileştirme potansiyeli ileri çalışmalarla açığa çıkarılabilir.

**Çizelge 4.18.** Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin ekmek sertlik değeri üzerine etkileri

| Ekmek sertlik değeri (N)              |                  | Depolama süresi (ay) |          |          |          |          |          |          |
|---------------------------------------|------------------|----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Kriyoprotektan türü                   | Dondurma yöntemi | 0                    | 1        | 2        | 3        | 4        | 5        | 6        |
| Kontrol                               | Statik           | 27,1±0,5             | 36,4±0,1 | 37,5±0,1 | 38,9±1,4 | 41,1±0,2 | 42,1±0,1 | 47,2±1,0 |
|                                       | Hava akımlı      | 27,2±0,2             | 36,3±0,3 | 36,3±0,6 | 38,9±0,4 | 40,4±0,4 | 42,3±0,4 | 48,4±0,5 |
|                                       | IQF              | 27,0±0,7             | 36,8±0,6 | 37,0±0,8 | 38,8±1,3 | 40,7±1,3 | 41,9±1,1 | 45,1±1,6 |
| Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu | Statik           | 25,8±0,2             | 25,7±0,2 | 28,2±0,1 | 30,6±1,3 | 31,0±0,3 | 31,8±0,0 | 36,8±0,3 |
|                                       | Hava akımlı      | 26,2±0,6             | 26,8±0,5 | 28,6±0,5 | 30,5±1,0 | 31,4±0,8 | 31,5±0,7 | 37,6±0,6 |
|                                       | IQF              | 26,0±0,4             | 26,8±0,4 | 28,5±0,9 | 31,0±0,5 | 31,6±1,2 | 32,3±0,1 | 37,8±0,4 |
| Kestane kabuğu nanoselülozu           | Statik           | 26,3±0,1             | 27,2±0,4 | 29,1±0,3 | 30,5±0,2 | 31,5±0,9 | 32,4±0,1 | 37,6±0,3 |
|                                       | Hava akımlı      | 26,0±0,1             | 26,4±0,9 | 28,7±0,1 | 30,6±1,3 | 31,5±0,4 | 31,4±0,7 | 37,9±0,3 |
|                                       | IQF              | 26,8±0,1             | 27,4±0,2 | 28,2±0,4 | 30,6±0,8 | 31,1±0,4 | 31,9±0,2 | 37,5±0,1 |

#### 4.4.6. Ekmek Esneklik Değeri

Ekmek esneklik değerinde MANOVA için kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresi parametrelerinin tekli, ikili ve üçlü çarpan etkileri ile istatistiki anlam dereceleri, regresyon katsayıları ve gözlenen güç değerleri Çizelge 4.26’da sunulmuştur.

Çizelge 4.26 incelendiğinde, modelin istatistiki açıdan anlamlı olduğu görülmektedir ( $P<0,001$ ). Tüm parametrelerin bireysel etkilerinin yanı sıra ikili ve üçlü çarpan etkilerinin de model üzerinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Ekmekte esneklik parametresi, sıkıştırma kuvvetinin sona ermesini takiben toparlanmanın derecesini ve hızını ifade etmektedir (Silvas-García vd., 2014). Ekmek esneklik değerinin yüksek olması ve depolama boyunca stabilitenin korunması, teknolojik açıdan önemli bir kriterdir. Tez çalışmasında kontrol grubu da dahil olmak üzere Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu nanoselülozu eklenmiş ekmek numunelerinin, depolama sonunda başlangıça kıyasla esneklik değerlerinin kademeli olarak bir miktar azaldığı bulgulanmıştır. Benzer şekilde, kriyoprotektan ajan olarak soya unu ve soya sütü karışımı ilave edilen ve  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta iki hafta depolanan ekmek numunelerinin esneklik değerinde düşüş meydana geldiği rapor edilmiştir (Simmons vd., 2012). Bu reolojik değişimler, temel olarak buz kristallerinin donmuş hamurların glüten ağında mekanik hasar meydana getirmesine ve üründeki nem kaybına dayandırılmaktadır (Meziani vd., 2012; Andrzej vd., 2020). Ayrıca, tez çalışması kapsamında ekmek örneklerinde esneklik ve sertlik değerleri arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır. Depolama sırasında nem kaybına paralel olarak ekmek sertlik değerleri artarken, esneklik değerlerinde azalmalar meydana gelmiştir.

Kriyoprotektan ajanların ekmek esneklik değeri üzerine etkileri incelendiğinde, özellikle Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu ilaveli örneklerin depolama süresince ekmek esneklik değerini daha iyi koruduğu görülmektedir (Çizelge 4.19). Literatürde kriyoprotektan özellikli hidrokolloid ilavesinin ekmekte glüten ağı oluşumuna yardımcı olmanın yanı sıra suya olan güçlü afiniteleri nedeniyle nişasta retrogradasyonunu geciktirebildiği ve böylelikle depolama süresince ekmekte esneklik değerinin azalmasını geciktirdiği bildirilmektedir (Kang vd., 2018). Gam arabik ve karragenan gibi ajanların kullanımı ile buharda pişirilmiş patates ekmeklerinin esneklik değerinin depolama süresi boyunca önemli bir farklılık göstermediği de rapor edilmiştir (Ma vd., 2022). Statik dondurma yönteminin hava akımlı ve IQF dondurmaya kıyasla depolama süresince ekmek esneklik değerini daha iyi oranda koruyabildiği görülmektedir (Çizelge 4.19). Benzer şekilde, Silvas-García vd. (2014) hızlı dondurma işleminin yavaş dondurmaya kıyasla depolama süresince hamur esnekliğinde önemli ölçüde azalmaya neden olduğunu bildirmiştir. Dondurma yöntemleri sonucu ekmek örneklerinde meydana gelen tekstürel değişimler, dondurma işlemi sırasında meydana gelen buz kristali morfolojisi ve maruz kalınan dondurma süresi ile ilişkilendirilebilir.

**Çizelge 4.19.** Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin ekmek esneklik değeri üzerine etkileri

| Ekmek esneklik değeri                 |                  | Depolama süresi (ay) |           |           |           |           |           |           |
|---------------------------------------|------------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Kriyoprotektan türü                   | Dondurma yöntemi | 0                    | 1         | 2         | 3         | 4         | 5         | 6         |
| Kontrol                               | Statik           | 1,68±0,08            | 1,60±0,08 | 1,60±0,06 | 1,53±0,04 | 1,34±0,04 | 1,29±0,09 | 1,22±0,06 |
|                                       | Hava akımlı      | 1,64±0,03            | 1,62±0,08 | 1,63±0,04 | 1,53±0,06 | 1,45±0,03 | 1,42±0,09 | 1,12±0,04 |
|                                       | IQF              | 1,70±0,08            | 1,71±0,01 | 1,68±0,07 | 1,41±0,08 | 1,31±0,05 | 1,22±0,04 | 1,17±0,03 |
| Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu | Statik           | 1,62±0,02            | 1,58±0,01 | 1,59±0,03 | 1,55±0,02 | 1,50±0,07 | 1,44±0,02 | 1,36±0,11 |
|                                       | Hava akımlı      | 1,77±0,07            | 1,63±0,07 | 1,63±0,02 | 1,41±0,04 | 1,42±0,03 | 1,14±0,05 | 1,07±0,04 |
|                                       | IQF              | 1,83±0,11            | 1,70±0,08 | 1,65±0,04 | 1,66±0,09 | 1,61±0,01 | 1,59±0,03 | 1,41±0,04 |
| Kestane kabuğu nanoselülozu           | Statik           | 1,74±0,10            | 1,62±0,02 | 1,52±0,04 | 1,40±0,09 | 1,35±0,05 | 1,32±0,04 | 1,27±0,03 |
|                                       | Hava akımlı      | 1,49±0,06            | 1,42±0,02 | 1,32±0,07 | 1,26±0,09 | 1,28±0,02 | 1,24±0,10 | 1,11±0,05 |
|                                       | IQF              | 1,51±0,04            | 1,50±0,07 | 1,29±0,11 | 1,26±0,02 | 1,27±0,06 | 1,21±0,04 | 1,16±0,03 |

#### 4.4.7. Damlama Kaybı

Tez çalışması kapsamında, fermente ekmek hamuru örneklerinde farklı kriyoprotektan ilavesi ve dondurma yöntemlerinin damlama kaybı üzerine etkileri Çizelge 4.20’de sunulmuştur. Ayrıca, işlem parametrelerinin etkilerinin incelenmesi için işlemler sonucunda elde edilen verilere MANOVA uygulanmıştır (Çizelge 4.27). Tüm işlem parametrelerinin bireysel ve çarpan etkileri istatistiki açıdan anlamlı bulunmuş ( $P<0,001$ ); hata değeri, regresyon katsayısı ve ayarlanmış regresyon katsayısı değerleri ise sırasıyla 0,080; 0,984 ve 0,976 olarak belirlenmiştir. MANOVA’da verilerin dağılımı ve doğru bir şekilde tahmin edilmesinde etkili bir parametre olan gözlenen güç değerlerinin (observed power) 1,0 olması, verilerin iyi derecede tahminlendiğini göstermektedir.

Depolama süresince kontrol grubu ve kriyoprotektan ajan ilaveli tüm hamur örneklerinin damlama kaybında artış gözlenmiştir. Donmuş ürünlerde çözündürme işlemi esnasında su sızıntısı gerçekleştiği ve uzun depolama sürelerinin damlama kaybı olarak nitelendirilen bu sıvı kaybını artırdığı bildirilmektedir (Seguchi vd., 2003). Damlama kaybı, çözünme esnasında hacimce büyük buz kristallerinin erimesi sonucu hücresel yapıdaki bozulmalara bağlı olarak, bileşenlerin su bağlama kabiliyetinin azalması ile de ilişkilendirilmektedir. Buradan hareketle, buz kristallerinin mümkün olan en düşük boyutlara indirgenmesi ile damlama kaybı önemli ölçüde azaltılabilir. Nitekim, dondurma yöntemleri arasında en hızlı işlem olan ve dolayısıyla küçük kristal oluşumu sağlayan IQF ile dondurulan örneklerde, depolama başlangıcında tüm örnek grupları için diğer yöntemlere kıyasla önemli ölçüde düşük damlama kaybı değerleri elde edilmiştir (Çizelge 4.20). Dondurulmuş hamurda bir hücre duvarı polisakkariti olan arabinoksilanın endojen ksilanazlar tarafından parçalanması, damlama kaybının artışına neden olabilmektedir (Gys vd., 2004). Ayrıca, donmuş depolama sırasında hamurdaki suyun rekristalizasyonu, nişastadaki amiloz ve amilopektin moleküllerinin yapısında değişikliklere neden olabilmekte ve nişasta

jelatinizasyonu ile retrogradasyonuna sebebiyet verebilmektedir (Selomulyo ve Zhou, 2007). Hamur donmuş formda ne kadar uzun süre depolanırsa, retrogradasyon derecesi o kadar belirgin olmakta ve bu da damlama kaybı ve sertlik değeriinde artışa neden olmaktadır (Ribotta vd., 2003a).

Dondurma yöntemlerinin hamurun damlama kaybı üzerindeki etkisi incelendiğinde, IQF ile dondurulmuş hamur örneklerinde damlama kaybı en düşük düzeyde görülürken, bunu sırasıyla hava akımlı ve statik dondurma işlemleri takip etmiştir (Çizelge 4.20). Ekmek hamurunun dondurulması ve akabinde depolanması sırasında oluşan buz kristalleri, suyun glüten ağından ayrılmasına ve dolayısıyla hamur yüzeyine taşınan su vasıtasıyla damlama kaybında artışa neden olabilmektedir (Yi ve Kerr, 2009). Bu aşamada, buz kristallerinin oluşumunda etkili olan donma hızı önem kazanmaktadır. Hamurun glüten yapısındaki değişiklikler genellikle rekristalizasyona bağlıdır. Düşük dondurma hızı veya uzun dondurma süresi, hamurda buz kristallerinin büyümesine ve dolayısıyla rekristalizasyona neden olabilmektedir (Ban vd., 2016). Hızlı dondurma ise hamurun mikro yapısında dondurma kaynaklı hasarları azaltmanın yanı sıra hamurun uzayabilirliğini artırma gibi ek avantajlara sahiptir (Luo vd., 2018). Dolayısıyla, hamur örneklerinde IQF yönteminin küçük ve homojen buz kristalleri oluşumunu sağlaması ile daha düşük oranda damlama kaybı gözlenmiş olabilir. Yavaş donma hızına sahip statik dondurmada ise, hücreler içerisinde yer alan su moleküllerinin hücre dışına çıkarak ve hücreler arasındaki boşluklardaki buz kristallerin boyutunda aşırı büyümeye neden olarak yapıda hasarlara neden olduğundan damlama kaybını artırdığı yorumu yapılabilir.

Donmuş hamur ürünlerinde, dondurma ve dondurarak depolama sırasında buz kristali oluşumu ve rekristalizasyonu kontrol etmek için farklı kriyoprotektan ajanların kullanımı, özellikle son yıllarda ilgi çeken bir yaklaşım olmuştur (Omedi vd., 2019). Mevcut tez çalışmasında, kriyoprotektan ajan olarak farklı iki tür nanoselüloz ilave edilmiş hamur örneklerinde kontrol grubuna kıyasla daha düşük damlama kaybı değerleri gözlenmiştir. Kriyoprotektan kullanımının hamurdaki glüten yapısındaki disülfür bağları ve hidrojen bağlarındaki hasarları minimize edebileceği bildirilmektedir (Yang vd., 2023). Ayrıca, nanoselüloz ve su molekülleri arasında oluşan hidrojen bağı sayesinde dondurulabilir suyun miktarının ve hücre dışına transferinin azaltıldığı, böylece rekristalizasyon oranının da düşürülerek damlama kaybının önemli oranda engellenebildiği yorumu yapılabilir. Sonuç olarak, dondurulmuş ürünlerde sıklıkla gözlenen teknolojik bir problem olan damlama kaybının minimize edilmesinde, nanoselülozun özellikle IQF gibi hızlı dondurma teknikleri

ile bir arada kullanımının önemli avantajlar sağlama potansiyeline sahip olabileceği görülmektedir.

**Çizelge 4.20.** Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun damlama kaybı üzerine etkileri

| Damlama kaybı (%)                     |                  | Depolama süresi (ay) |           |           |           |           |           |           |
|---------------------------------------|------------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Kriyoprotektan türü                   | Dondurma yöntemi | 0                    | 1         | 2         | 3         | 4         | 5         | 6         |
| Kontrol                               | Statik           | 8,04±0,00            | 8,58±0,03 | 8,63±0,08 | 8,81±0,02 | 9,63±0,09 | 9,77±0,09 | 10,1±0,08 |
|                                       | Hava akımlı      | 6,56±0,07            | 6,68±0,01 | 6,95±0,02 | 7,12±0,06 | 7,45±0,03 | 8,11±0,00 | 9,82±0,05 |
|                                       | IQF              | 5,58±0,01            | 5,61±0,08 | 5,63±0,00 | 6,79±0,07 | 6,98±0,06 | 7,91±0,00 | 9,11±0,01 |
| Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu | Statik           | 6,25±0,09            | 6,38±0,04 | 6,48±0,04 | 6,71±0,07 | 6,98±0,09 | 9,19±0,00 | 9,65±0,01 |
|                                       | Hava akımlı      | 5,63±0,07            | 5,63±0,06 | 5,72±0,09 | 6,77±0,08 | 6,90±0,07 | 8,21±0,03 | 9,44±0,06 |
|                                       | IQF              | 3,02±0,02            | 3,18±0,06 | 4,40±0,01 | 5,84±0,00 | 6,48±0,00 | 8,73±0,01 | 9,60±0,02 |
| Kestane kabuğu nanoselülozu           | Statik           | 6,83±0,08            | 6,82±0,02 | 6,94±0,00 | 7,20±0,02 | 7,51±0,00 | 7,93±0,08 | 9,20±0,08 |
|                                       | Hava akımlı      | 6,29±0,03            | 6,36±0,00 | 6,41±0,02 | 6,82±0,00 | 7,18±0,08 | 7,46±0,01 | 9,71±0,08 |
|                                       | IQF              | 2,29±0,04            | 2,79±0,07 | 3,69±0,04 | 4,51±0,07 | 6,39±0,07 | 6,57±0,07 | 9,23±0,01 |

#### 4.4.8. İyon Sızıntısı

Fermente ekmek hamuruna ait iyon sızıntısı değerleri Çizelge 4.21’de verilmiştir. Ayrıca, Çizelge 4.58’de görüleceği üzere kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresi  $P<0,001$  düzeyinde istatistiki açıdan anlamlı farklılıklara sebep olmuştur (Çizelge 4.27). Kriyoprotektan türü ve dondurma yönteminin kombine etkisi haricinde tüm faktör etkileşimleri ise farklı istatistiki önem düzeyi seviyelerinde anlamlı sonuçlar vermiştir.

İyon sızıntısı, dokulardaki hasar oranını tahminlemede etkili bir gösterge olarak görülmektedir (Yılmaz ve Ersus, 2018). Artan deformasyon neticesinde iyon sızıntısı değerinde de artış meydana gelmektedir. Kriyoprotektan ilaveli örneklerde kontrole kıyasla depolama boyunca daha düşük iyon sızıntısı değerleri gözlenmiştir. Antifriz proteinleri gibi kriyoprotektan ajanlar, hidroksil ve karbonil grupları ile buz kristali oluşumlarına bağlanıp iyon sızıntısını en aza indirgeyebilmektedir (Karaşör vd., 2022). Kriyoprotektanlar, aynı zamanda düşük sıcaklıklarda hücre membranları boyunca iyon sızıntısını önleyerek veya iyon kanallarını bloke ederek plazma zarıyla etkileşerek de hareket edebilmektedir (Ghalamara vd., 2022). Bu tür etkiler sayesinde dondurulmuş fermente ekmek hamurunda nanoselüloz kullanımının hücresel yapıyı daha iyi oranda koruyabildiği ifade edilebilir.

Altı aylık depolama sonunda en yüksek iyon sızıntısı artış oranları statik dondurma ile dondurulan örneklerde gözlenmiştir. Hava akımlı ve IQF gibi hızlı dondurma işlemleri sonucu küçük buz kristalleri oluşumu sayesinde daha düşük oranda hasarın gerçekleşmesi, iyon sızıntısının da daha az oranda gerçekleşmesi ile ilişkilendirilebilir (Ersus vd., 2019). Depolama süresince ise iyon sızıntısı değerleri tüm örneklerde doğrusal bir artış göstermiştir. Benzer şekilde, dondurarak depolama süresince yapıdaki değişimler nedeniyle, farklı gıda

gruplarında iyon sızıntısının artış gösterdiğini rapor eden çalışmalar mevcuttur (Zhao vd., 2009; Zhang vd., 2016).

**Çizelge 4.21.** Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun iyon sızıntısı üzerine etkileri

| Kriyoprotektan türü                   | İyon sızıntısı (%) | Depolama süresi (ay) |          |          |          |          |          |          |
|---------------------------------------|--------------------|----------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|                                       |                    | 0                    | 1        | 2        | 3        | 4        | 5        | 6        |
| Kontrol                               | Statik             | 39,7±1,9             | 52,9±2,6 | 61,0±1,3 | 67,1±3,0 | 72,3±3,3 | 69,7±0,2 | 86,4±2,1 |
|                                       | Hava akımlı        | 43,4±2,5             | 42,6±0,8 | 50,9±2,8 | 54,3±1,0 | 56,7±2,2 | 58,4±3,0 | 76,1±2,3 |
|                                       | IQF                | 47,4±0,6             | 47,7±2,4 | 48,3±1,3 | 53,0±2,3 | 52,5±2,9 | 73,2±2,5 | 76,7±1,8 |
| Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu | Statik             | 39,9±2,1             | 46,7±0,9 | 46,3±2,2 | 48,2±1,8 | 55,0±1,7 | 62,1±1,1 | 72,1±2,0 |
|                                       | Hava akımlı        | 33,7±2,0             | 36,5±0,9 | 39,8±2,5 | 45,6±3,0 | 50,2±2,6 | 56,5±2,1 | 65,2±2,7 |
|                                       | IQF                | 37,9±2,3             | 38,9±1,3 | 46,8±1,7 | 46,2±1,1 | 46,4±0,6 | 56,2±1,9 | 72,0±1,3 |
| Kestane kabuğu nanoselülozu           | Statik             | 40,3±1,5             | 41,0±1,5 | 49,2±1,6 | 53,4±1,5 | 59,6±2,2 | 63,8±2,0 | 66,6±2,3 |
|                                       | Hava akımlı        | 36,5±1,7             | 38,1±2,1 | 43,2±1,0 | 47,1±2,4 | 51,4±2,5 | 50,8±2,0 | 58,2±1,2 |
|                                       | IQF                | 34,0±2,2             | 37,7±0,9 | 42,4±2,1 | 50,2±2,7 | 54,4±2,2 | 60,4±1,1 | 63,8±1,0 |

#### 4.4.9. $\alpha$ -amilaz Aktivitesi

Enzimler, hamur özelliklerini kontrol etmek ve son ürün kalitesini iyileştirmek amacıyla ekmek yapımında oldukça önemlidir. Örneğin enzimler arasında  $\alpha$ -amilaz, nişastadaki  $\alpha$ -1,4 bağlarını hidrolize ederek ekmek için önemli düşük molekül ağırlıklı  $\alpha$ -dekstrinlerin oluşumunda rol oynamaktadır. Amilazlar, ürünün fermente edilebilirliğini artırma ve şeker içeriğini azaltma gibi etkileri nedeniyle fırıncılık uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Eugenia Steffolani vd., 2012). Ayrıca bu enzim grubu, hamur işleme özellikleri ve ürün hacmini/rengini iyileştirmek veya kontrol etmek amacıyla kullanılabilir. Amilaz, nişastanın su ile interaksyonunu etkileyip hamur mobilitesini artırarak hamurun daha iyi işlenmesini de sağlamaktadır (Asghar vd., 2011). Dolayısıyla,  $\alpha$ -amilaz aktivitesi, fermente ekmek hamuru ve diğer fırıncılık ürünlerinde kalite açısından önem arz eden bir parametredir. Ekmek hamurunun dondurulması, endüstriyel fırınlarda ekmek üretimini artırmak ve perakende satış noktalarında pişirme kolaylığına sahip ve tüketime hazır ürünlerin temini açısından son yıllarda önem kazanmıştır. Bu işlem, tüketicilerin günün her saatinde taze ekmek bulabilmelerine olanak tanımaktadır. Dondurulmuş hamurdan yapılan ekmeğin kalitesi, hamur formülasyonunun yanı sıra hamur karıştırma süresi, donma hızı, depolama süresi ve çözünme hızı gibi işlem parametrelerinden etkilenmektedir (Rouillé vd., 2000). Bu bağlamda, mevcut tez çalışması kapsamında farklı kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama sürelerinin  $\alpha$ -amilaz aktivitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Tez çalışması kapsamında, fermente ekmek hamuru örneklerinde farklı kriyoprotektan ilavesi ve dondurma yöntemlerinin  $\alpha$ -amilaz aktivitesi üzerine etkileri Çizelge 4.22’de sunulmuştur. İşlem parametrelerinin etkilerinin incelenmesi için işlemler sonucunda elde



edilen verilere MANOVA uygulanmıştır (Çizelge 4.27). Çizelge 4.27 incelendiğinde, model ile kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin tekli ve ikili/üçlü çarpan etkileri,  $P < 0,001$  düzeyinde istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur. MANOVA'ya ait hata değeri, regresyon katsayısı ve ayarlanmış regresyon katsayısı değerleri ise sırasıyla 3,340; 0,956 ve 0,934 olarak belirlenmiştir. Gözlenen güç değeri ise tüm değişkenlerde 1,0 olarak tespit edilmiştir. Düşük hata değeri ile yüksek  $R^2$ , ayarlanmış  $R^2$  ve gözlenen güç değerleri, verilerin model içinde iyi derecede tahminlendiğini göstermektedir.

Hamur örneklerinde tüm gruplar için  $\alpha$ -amilaz aktivitesi depolama süresince genel olarak bir artış trendi göstermiştir. Dondurulmuş hamurlarda uzun süreli depolama ve dondurma-çözündürme döngüleri sırasında buz kristali yapısında ve su dağılımında değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişiklikler, donmuş hamurdan üretilen ekmeklerde mayalanma süresinin uzamasına ve somun hacminin azalmasına neden olabilmektedir. Ayrıca, donma esnasında oluşan buz kristalleri, hamur sisteminde fermantasyon aşamasında açığa çıkan  $\text{CO}_2$  gazının tutulmasından sorumlu olan protein ağının zayıflamasında etkili olabilmektedir (Curic vd., 2008; Wang vd., 2018). Depolama esnasında rekristalizasyon da meydana gelebilmekte ve bu durum, daha büyük boyutta ve daha az sayıda kristal oluşumuna yol açabilmektedir. Sonuç olarak tüm bu durumlar, amiloz ve amilopektinin yapısında ve düzeninde değişikliklere neden olabilmekte ve enzim ile substrat buluşmasını etkileyerek  $\alpha$ -amilaz gibi enzim aktivitesi değerlerinde farklılıklara yol açabilmektedir (Ribotta vd., 2003a).

Dondurma yöntemleri açısından kıyaslandığında, statik ve hava akımlı dondurma yöntemleri ile IQF tekniğine kıyasla depolama başlangıcından sonuna daha yüksek  $\alpha$ -amilaz aktivitesi artış oranları elde edilmiştir. Araştırmalar, klasik dondurma yöntemlerinde gözlemlendiği gibi donma süresi ne kadar uzun olursa, büyük buz kristallerinin oluşması sonucunda o kadar fazla oranda glüten ağı hasarı ve nişasta retrogradasyonu gerçekleştiğini göstermektedir (Zhu, 2021). Bununla birlikte, donma hızı maya canlılığı üzerinde de etkili olabilmektedir. Dondurulmuş hamurda, fermantasyonun başlamasını önlemek için tüm bu etkiler göz önünde bulundurularak maya ve enzim aktivitesini minimum seviyede tutmak oldukça önemlidir (Zounis vd., 2002). Dolayısıyla, hamur örneklerinde IQF işlemi ile depolama başlangıcında diğer yöntemlere kıyasla nispeten yüksek enzim aktivitesi değerleri gözlenmesine karşın, depolama süresince artış oranının daha düşük olması IQF dondurmanın fermantasyon işlemini ve  $\alpha$ -amilaz aktivitesini sınırlandırmada etkili olduğunun bir göstergesidir.

Hamur formülasyonuna nanoselüloz kriyoprotektan ilavesinin kontrol örneğine kıyasla  $\alpha$ -amilaz aktivitesinde azalma sağladığı, kestane kabuğu nanoselülozunun ise bu konuda Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozundan daha etkili olduğu görülmektedir (Çizelge 4.22). Son yıllarda, hamur özelliklerini geliştirmek amacıyla fruktooligosakkaritler hidrokolloidler veya emülgatörler gibi katkı maddelerinin kullanımı yaygınlaşmıştır (Hejrani vd., 2017; Selomulyo ve Zhou, 2007). Donmuş hamur sistemlerinde dehidrasyon ve gaz salınımını en az düzeye indirdiği bildirilen bu tür bileşiklerin, kriyoprotektan ajan etkinlikleri de test edilmektedir (Le-Bail vd., 2010). Literatürde nanoselüloz kullanımının  $\alpha$ -amilaz aktivitesi üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışma bulunmasa da hidrokolloid gibi bileşenlerin kullanımını incelemek, etki mekanizmalarını anlamak açısından faydalı olabilir. Örneğin, güncel bir çalışmada, buğday kepeğinden izole edilen antifriz polisakkaritlerinin donmuş hamur üzerindeki kriyoprotektif etkileri, maya aktivitesi ve glüten yapısı üzerinde durularak incelenmiştir (Zhao vd., 2022). Yazarlar, ilgili kriyoprotektan ajanın donmuş hamurda buz kristali gelişimi ve şeklini etkileyerek maya canlılığını ve buna paralel olarak enzim aktivitesini azalttığını bildirmişlerdir. Ek olarak, hamur formülasyonuna kriyoprotektan eklenmesinin, donmuş hamurdan üretilen ekmeklerde düşük ekmek hacmi ve uzun pişirme süresi gibi  $\alpha$ -amilaz aktivitesi ile ilişkili olabilecek olumsuz etkileri de azaltabildiği rapor edilmektedir (Xu vd., 2021; Park vd., 2016; Frutos vd., 2008).

Tez çalışması kapsamında, hamur örneklerinde işlem parametreleri (kriyoprotektan türü ve dondurma yöntemi) için  $\alpha$ -amilaz aktivitesinin depolama süresine bağlı kinetik modellemesi de gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.23'te sunulmuştur. Kinetik modeller, deneysel verilerin önerilen modele uyumluluğunu gösteren regresyon katsayısı ( $R^2$ ) ve hata kareler ortalamasının karekökü (RMSE) değerleri dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Tüm ürün grupları için  $\alpha$ -amilaz aktivitesi değerleri, ikinci dereceden polinom modeline uygunluk göstermiştir. Elde edilen ikinci dereceden kinetik modeller, yüksek  $R^2$  (0,8897 – 0,9719) ve düşük RMSE (0,0177 – 0,0845) değerleri ile  $\alpha$ -amilaz enzim kinetiğinin etkin bir şekilde tanımlanabildiğini göstermektedir.

**Çizelge 4.22.** Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin fermente ekmek hamurunun  $\alpha$ -amilaz aktivitesi üzerine etkileri

| $\alpha$ -amilaz aktivitesi (%)       |                  | Depolama süresi (ay) |                |                |                |                |                |                |
|---------------------------------------|------------------|----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Kriyoprotektan türü                   | Dondurma yöntemi | 0                    | 1              | 2              | 3              | 4              | 5              | 6              |
| Kontrol                               | Statik           | 64,1 $\pm$ 2,4       | 79,6 $\pm$ 1,3 | 82,9 $\pm$ 2,7 | 83,6 $\pm$ 1,4 | 85,9 $\pm$ 8,6 | 85,5 $\pm$ 0,5 | 86,8 $\pm$ 1,2 |
|                                       | Hava akımlı      | 62,4 $\pm$ 3,7       | 69,2 $\pm$ 2,5 | 70,2 $\pm$ 7,3 | 81,5 $\pm$ 1,4 | 83,4 $\pm$ 2,5 | 83,0 $\pm$ 0,5 | 87,3 $\pm$ 0,2 |
|                                       | IQF              | 71,7 $\pm$ 2,9       | 80,9 $\pm$ 1,4 | 80,7 $\pm$ 1,9 | 86,1 $\pm$ 3,6 | 86,8 $\pm$ 0,5 | 87,2 $\pm$ 2,2 | 90,7 $\pm$ 3,2 |
| Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu | Statik           | 59,5 $\pm$ 7,3       | 76,7 $\pm$ 2,1 | 77,2 $\pm$ 4,5 | 80,1 $\pm$ 5,5 | 84,0 $\pm$ 3,3 | 85,4 $\pm$ 5,4 | 89,6 $\pm$ 2,2 |
|                                       | Hava akımlı      | 70,8 $\pm$ 2,4       | 76,6 $\pm$ 2,7 | 75,4 $\pm$ 4,4 | 80,1 $\pm$ 1,9 | 83,6 $\pm$ 2,2 | 83,4 $\pm$ 2,9 | 85,4 $\pm$ 4,0 |
|                                       | IQF              | 67,1 $\pm$ 2,6       | 70,2 $\pm$ 1,2 | 78,9 $\pm$ 0,1 | 79,2 $\pm$ 4,6 | 84,6 $\pm$ 3,4 | 86,4 $\pm$ 1,6 | 88,3 $\pm$ 0,9 |
| Kestane kabuğu nanoselülozu           | Statik           | 48,9 $\pm$ 2,4       | 48,5 $\pm$ 4,6 | 71,7 $\pm$ 5,6 | 73,4 $\pm$ 9,1 | 81,5 $\pm$ 2,8 | 82,5 $\pm$ 2,0 | 90,3 $\pm$ 0,8 |
|                                       | Hava akımlı      | 53,8 $\pm$ 2,2       | 70,4 $\pm$ 1,4 | 74,8 $\pm$ 9,7 | 74,6 $\pm$ 3,7 | 80,0 $\pm$ 2,4 | 84,0 $\pm$ 6,0 | 85,9 $\pm$ 0,7 |
|                                       | IQF              | 67,3 $\pm$ 4,3       | 66,7 $\pm$ 4,7 | 80,1 $\pm$ 6,8 | 81,1 $\pm$ 2,8 | 82,3 $\pm$ 0,2 | 84,5 $\pm$ 1,3 | 86,6 $\pm$ 4,7 |

**Çizelge 4.23.** Fermente ekmek hamuruna ait  $\alpha$ -amilaz aktivitesi kinetik modelleri

| Kriyoprotektan türü                   | Dondurma yöntemi | Regresyon eşitliği                  | R <sup>2</sup> | RMSE   |
|---------------------------------------|------------------|-------------------------------------|----------------|--------|
| Kontrol                               | Statik           | $y = -0,0160x^2 + 0,1424x + 1,0481$ | 0,8897         | 0,0380 |
|                                       | Hava akımlı      | $y = -0,0073x^2 + 0,1099x + 0,9946$ | 0,9444         | 0,0327 |
|                                       | IQF              | $y = -0,0058x^2 + 0,0725x + 1,0217$ | 0,9248         | 0,0223 |
| Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu | Statik           | $y = -0,0117x^2 + 0,1390x + 1,0618$ | 0,8956         | 0,0489 |
|                                       | Hava akımlı      | $y = -0,0028x^2 + 0,0497x + 1,0074$ | 0,9346         | 0,0177 |
|                                       | IQF              | $y = -0,0054x^2 + 0,0864x + 0,9917$ | 0,9719         | 0,0187 |
| Kestane kabuğu nanoselülozu           | Statik           | $y = -0,0139x^2 + 0,2311x + 0,9391$ | 0,9259         | 0,0845 |
|                                       | Hava akımlı      | $y = -0,0142x^2 + 0,1708x + 1,0626$ | 0,9216         | 0,0519 |
|                                       | IQF              | $y = -0,0074x^2 + 0,0955x + 0,9749$ | 0,8930         | 0,0363 |

#### 4.4.10. Spesifik Ekmek Hacmi

Spesifik ekmek hacmi, birim kütle başına ekmek hacmini ifade eden ve hamurun kabarma kabiliyetini gösteren önemli bir parametredir. Unlu mamullerde arzu edilen dokunun sağlanması için hamur hacmi ve ağırlığı arasında ideal bir ilişki olmalıdır. Çok düşük spesifik hacim değerleri kompakt bir ekmek içi yapısı oluştururken, çok yüksek değerler geniş gözeneklere sahip ekmek içi oluşumuna neden olmaktadır (Yi ve Kerr, 2009). Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin spesifik ekmek hacmi üzerine etkileri Çizelge 4.24'te; MANOVA sonuçlarına ait değerler ise Çizelge 4.27'de sunulmuştur. Çizelge 4.27 incelendiğinde, MANOVA modelinin yanı sıra tüm faktörlerin bireysel ve ikili/üçlü çarpan etkilerinin, spesifik ekmek hacmi değeri üzerinde istatistiki açıdan anlamlı olduğu ( $P < 0,001$ ) görülmektedir. Ayrıca, MANOVA'da regresyon katsayısı 0,953 ve ayarlanmış regresyon katsayısı 0,930 olarak saptanmış; gözlenen güç değerleri ise 0,998 olarak belirlenen kriyoprotektan türü ile dondurma yöntemi çarpan etkisi haricinde tüm faktörlerde 1,000 olarak tespit edilmiştir.

Kontrol grubu da dahil olmak üzere nanoselüloz ilaveli ekmek numunelerinde depolama süresince dalgalanmalar olmakla birlikte, spesifik hacim değerlerinde azalmaların gerçekleştiği görülmektedir (Çizelge 4.24). Ekmeğin pişirilmesi sırasında kabuğa yakın konumda bulunan gözeneklerden gaz çıkışının meydana gelmesi, ekmek spesifik hacmini azaltan en önemli faktörlerdendir. İlgili gazlar, hamurda yer alan mayalar tarafından

fermantasyon esnasında üretilmektedir. Dondurulmuş hamurlarda depolama süresince minimum düzeyde seyreden maya aktivitesi neticesinde CO<sub>2</sub> üretimi azalmakta, mevcut gaz miktarında kayıplar meydana gelebilmekte ve buna bağlı olarak ilgili hamurdan üretilen ekmeklerin hacimlerinde azalma gözlenebilmektedir (Phimolsiripol vd., 2008). Dondurma işleminin ardından depolamanın maya aktivitesini ve dolayısıyla gaz oluşturma derecesini etkilediği, birçok çalışma ile ortaya konmuştur. Örneğin Phimolsiripol vd. (2008), dondurucu ortamda 112 günlük depolama sonucunda, ekmeklerde başlangıça kıyasla CO<sub>2</sub> salınımında azalma gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Yazarlar bu durumun, hamurdaki gluten ağının CO<sub>2</sub> tutma derecesi ve maya canlılığının azalması ile birlikte spesifik ekmek hacminde azalma meydana getirdiği sonucuna ulaşmıştır. Benzer sonuçlar, farklı çalışmalar ile de ortaya konmuştur (Inoue ve Bushuk, 1992; Ribotta vd., 2001). Kriyoprotektan ajan kullanımı sonucu, maya canlılığının daha iyi düzeyde korunması ve dolayısıyla daha fazla CO<sub>2</sub> üretimi sayesinde spesifik hacim değerinde iyileştirmeler mümkün olabilir. Nitekim, nanoselüloz ilavesi neticesinde spesifik ekmek hacmi değerinde daha düşük oranda azalmalar gerçekleşmiştir.

Dondurma işlemi sırasında nişasta moleküllerinin yapısında hasarlar meydana gelebilmektedir. Bu nişasta molekülleri, daha fazla su absorbe edip ekmek ağırlığını artırarak ekmeğin spesifik hacmini azaltabilmektedir (Sharadanant ve Khan, 2003). Önceki kısımlarda da bahsedildiği gibi, yapısal bileşenlerde meydana gelen bu hasarlardaki en büyük etken, yavaş dondurma esnasında oluşan büyük buz kristal boyutudur. Diğer yandan, hızlı dondurma işlemi uygulanan hamurlarda hamur yüzeyinin hızlı bir şekilde donması sayesinde ön fermentasyon aşamasında oluşan gaz, gözenekli matrikste daha iyi oranda tutulabilmektedir (Le-Bail vd., 2010). Statik dondurmanın diğer dondurma yöntemlerine kıyasla depolama sonunda başlangıça göre ekmek spesifik hacminde daha fazla oranda azalmaya neden olduğu görülmektedir. Bu durum, hava akımlı ve IQF dondurma işlemlerindeki yüksek dondurma hızlarının üç boyutlu gluten ağı bütünlüğünü koruyabilmesi ve mikrokristallerin oluşumunu kolaylaştırmasına atfedilebilir (Akbarian vd., 2016).

Antep fıstığı kabuğu nanoselülozu ve kestane kabuğu nanoselülozu ilaveli ekmeklerin kontrol grubuna göre spesifik ekmek hacminde önemli ölçüde bir iyileştirme meydana getirmediği görülmektedir. Literatürde de bu konuyla ilgili farklı sonuçlar bildirilmiştir. Hidrokolloidler gibi kriyoprotektanların kabarma ve pişirme sırasında gaz tutulmasını artırarak ekmeğin spesifik hacmini artırdığını bildiren çalışmaların yanı sıra (Ribotta vd., 2004; Sharadanant ve Khan, 2003; Hager ve Arendt, 2013), hidrokolloid ilavesinin donmuş

hamurdan üretilen ekmeklerin spesifik hacminde azalmaya neden olduğunu rapor eden çalışmalar da mevcuttur (Mandala vd., 2009; Škara vd., 2013; Rubel vd., 2015). Dolayısıyla, kriyoprotektanların donmuş hamurun fonksiyonel özellikleri ve ekmek kalitesi üzerindeki etkilerinin, hamura dahil edilen kriyoprotektan ajanların kaynağına ve kullanım miktarına bağlı olmakla birlikte formülasyon, işlem koşulları ve diğer bileşenlerle interaksyonları gibi faktörler ile de ilişkili olduğu görülmektedir (Selomulyo ve Zhou, 2007). Örnek olarak, tez çalışması kapsamında aynı işlem basamakları uygulanan nanoselüloz örnekleri için, kestane kabuğuna kıyasla Antep fıstığı dış kabuğundan üretilen nanoselüloz ilaveli numuneler daha iyi spesifik hacim değerleri sergilemişlerdir. Ek olarak, ekmeklerde sertlik değeri ile spesifik hacmin ters orantılı olarak yakından ilişkili olduğu bilinmektedir (Mancebo vd., 2017). Ekmek numuneleri için Çizelge 4.24 ve Çizelge 4.18 karşılaştırmalı olarak incelendiğinde, depolama boyunca ekmek sertlik değeri artarken spesifik ekmek hacminin azalması, bu bulguyu doğrulamaktadır. İki parametre arasındaki korelasyonun en fazla kontrol grubu numunelerinde olduğu görülmektedir. Bu bağlamda, nanoselüloz kullanımının farklı kalite parametreleri açısından arzu edilir özellikleri sağlamada etkili olabileceği yorumu yapılabilir.

**Çizelge 4.24.** Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin spesifik ekmek hacmi üzerine etkileri

| Spesifik ekmek hacmi (mL/g)           |                  | Depolama süresi (ay) |           |           |           |           |           |           |
|---------------------------------------|------------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Kriyoprotektan türü                   | Dondurma yöntemi | 0                    | 1         | 2         | 3         | 4         | 5         | 6         |
| Kontrol                               | Statik           | 3,43±0,08            | 3,16±0,13 | 2,77±0,07 | 2,38±0,10 | 2,23±0,08 | 2,12±0,20 | 1,16±0,00 |
|                                       | Hava akımlı      | 3,48±0,20            | 3,32±0,09 | 2,84±0,19 | 2,52±0,14 | 2,26±0,13 | 1,91±0,16 | 1,92±0,15 |
|                                       | IQF              | 3,22±0,13            | 3,15±0,04 | 2,75±0,08 | 2,39±0,19 | 2,15±0,05 | 1,97±0,06 | 1,63±0,03 |
| Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu | Statik           | 3,53±0,17            | 3,30±0,13 | 3,03±0,07 | 2,58±0,09 | 2,24±0,08 | 2,04±0,05 | 1,56±0,04 |
|                                       | Hava akımlı      | 3,23±0,18            | 3,16±0,19 | 2,97±0,16 | 2,73±0,10 | 2,58±0,07 | 2,13±0,15 | 2,02±0,11 |
|                                       | IQF              | 3,02±0,22            | 2,58±0,26 | 2,50±0,19 | 2,52±0,02 | 2,19±0,04 | 1,66±0,17 | 1,48±0,12 |
| Kestane kabuğu nanoselülozu           | Statik           | 3,22±0,14            | 2,97±0,16 | 2,45±0,09 | 1,79±0,13 | 1,80±0,01 | 1,69±0,16 | 1,66±0,09 |
|                                       | Hava akımlı      | 3,24±0,19            | 2,98±0,14 | 2,75±0,06 | 1,93±0,05 | 1,60±0,01 | 1,52±0,10 | 0,98±0,01 |
|                                       | IQF              | 3,22±0,13            | 2,78±0,13 | 1,82±0,01 | 1,72±0,04 | 1,73±0,05 | 1,72±0,16 | 1,50±0,14 |

#### 4.4.11. Ekmek Değer Sayısı

İşlem parametrelerinin ekmek değer sayısı üzerine etkileri Çizelge 4.25'te; MANOVA'ya ait sonuçlar ise Çizelge 4.27'de sunulmuştur. Ekmek değer sayısı için MANOVA modelinin istatistiki açıdan anlamlı olduğu görülmektedir ( $P<0,001$ ). Kriyoprotektan türü ve depolama süresi parametrelerinin ekmek değer sayısı üzerindeki etkilerinin anlamlı olduğu ( $P<0,001$ ) belirlenirken, dondurma yönteminin etkisi istatistiki açıdan anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca, parametrelerin ikili ve üçlü çarpan etkilerinin de farklı anlam düzeylerinde etkili olduğu saptanmıştır. Model regresyon katsayısı ve ayarlanmış regresyon katsayısı değerleri sırası ile 0,903 ve 0,855 olarak tespit edilmiştir. Gözlenen güç

değerleri, istatiki açıdan önemsiz olarak belirlenen dondurma yöntemi haricinde 0,85'ten büyük değerlere sahip olmuştur.

Depolama süresince tüm gruplarda ekmek değer sayısının dalgalanmalar olmakla birlikte azalma trendinde olduğu görülmektedir (Çizelge 4.25). Dondurulmuş hamurlarda gözlenebilen hamur zayıflaması, CO<sub>2</sub> tutma kapasitesinde azalma, yüksek fermantasyon süresi, somun hacminde azalma ve ekmek dokusunda bozulma gibi olumsuz etkiler, ekmek değer sayısında değişimlere neden olabilen faktörler arasındadır (Ribotta vd., 2003b). Ekmek değer sayısının belirlenmesinde ekmek hacim faktörü oldukça önemli bir göstergedir. Maya direncinin donmuş hamurun depolama süresinden güçlü bir şekilde etkilendiği bilinmektedir. Depolama sırasında maya canlılığının azalması ile birlikte ekmeklerin gaz tutma kapasitesinde düşüşün gerçekleşmesi, ekmek değer sayısını da olumsuz yönde etkilemektedir (Meziani vd., 2012). Ayrıca, gluten protein matriksinin yapısı uzun süreli depolama koşulları altında bozularak hamur mukavemet özelliklerinin zayıflamasına ve gaz tutma özelliklerinin kaybolmasına neden olmaktadır (Nemeth vd., 1996; Phimolsiripol vd., 2008). Ekmek değer sayısının belirlenmesinde diğer bir önemli faktör ise ekmek gözenek sayısıdır. Bu durumda, ekmek değer sayısının depolama boyunca azalması genel olarak gözenek faktörünün de azaldığına işaret etmektedir. Gözenek faktöründe meydana gelen azalma, ekmek gözenek alanlarının artması anlamına gelmektedir. Ekmekte küçük ve homojen gözenek dağılımı tüketiciler tarafından daha fazla tercih edilen bir kriterdir; ancak, dondurarak depolama sırasında gluten hasarı ve nişasta granüllerinin jelatinizasyonu gibi teknolojik sorunlar meydana gelebilmektedir. Ekmek içi gözenek duvarlarının iskeletini oluşturan gluten ağı, düşük sıcaklıklarda daha sert hale geldiğinden kırılgan bir forma sahip olabilmektedir. Ayrıca, gözeneklerde meydana gelen rekristalizasyon, pişirme sonrası ekmekte homojen olmayan bir gözenek boyutu dağılımına neden olabilmektedir. Sonuç olarak dondurulmuş hamurdan elde edilen ekmekte kabuğa yakın alandaki küçük gözenekler, pişirme sırasında genişleyen büyük gözeneklerin kuvvetiyle sıkışabilmektedir (Polaki vd., 2010). Belirtilen tüm bu faktörlerin ekmekteki gözenek sayısına ve buna bağlı olarak ekmek değer sayısının azalmasına sebebiyet verebileceği düşünülmektedir.

Kontrol grubu depolama başlangıcında daha yüksek ekmek değer sayısına sahipken depolama süresince özellikle Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu ilave edilmiş hamur numunelerinde ekmek değer sayısında depolama süresince düşük oranlarda azalmalar gözlenmiştir. Kriyoprotektan ajanların hamurun ana bileşenleri ile etkileşime girerek glutenin hidrasyon özelliklerini, nişasta jelatinizasyonu ve retrogradasyonunu etkileyebildiği

bildirilmektedir (Bárcenas vd., 2009). Kriyoprotektan ajan etkinliği üzerinde en fazla sayıda çalışma bulunan hidrokolloidlerin ekmek hacmini iyileştirdiği, yumuşak doku oluşumunu sağladığı ve ekmeklerin bayatlama hızını sınırladığı rapor edilmiştir. Ayrıca, hidrokolloidlerin donmuş hamurlardan elde edilen ekmeklerde buz kristallerinin neden olduğu fiziksel hasarları azaltma potansiyeline sahip olduğu ve hidrokolloid içeren ekmeklerin düşük gözenek alanına sahip olduğu bildirilmektedir (Bárcenas vd., 2004; Polaki vd., 2010). Tüm sebepler göz önüne alındığında, nanoselüloz ilaveli örneklerin kontrol grubuna kıyasla ekmek bayatlamasını geciktirme potansiyeline sahip olduğu ifade edilebilir.

**Çizelge 4.25.** Kriyoprotektan türü, dondurma yöntemi ve depolama süresinin ekmek değer sayısı üzerine etkileri

| Ekmek değer sayısı                    |                  | Depolama süresi (ay) |           |           |           |           |          |          |
|---------------------------------------|------------------|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Kriyoprotektan türü                   | Dondurma yöntemi | 0                    | 1         | 2         | 3         | 4         | 5        | 6        |
| Kontrol                               | Statik           | 209,4±5,3            | 173,2±1,4 | 168,3±6,8 | 127,3±5,2 | 112,8±3,5 | 83,7±2,1 | 34,2±0,1 |
|                                       | Hava akımlı      | 193,2±7,1            | 183,4±2,2 | 134,7±4,4 | 118,9±5,4 | 97,2±2,9  | 73,2±4,8 | 54,9±2,5 |
|                                       | IQF              | 202,2±0,6            | 183,3±4,5 | 160,7±4,2 | 129,4±3,0 | 74,7±4,7  | 69,9±2,3 | 60,1±1,6 |
| Antep fıstığı dış kabuğu nanoselülozu | Statik           | 178,0±5,9            | 153,8±6,2 | 157,0±3,2 | 112,9±5,0 | 61,7±4,5  | 56,6±2,3 | 37,9±0,8 |
|                                       | Hava akımlı      | 163,9±2,4            | 155,3±3,5 | 138,7±5,9 | 142,8±6,0 | 113,7±0,4 | 93,9±3,8 | 76,7±3,6 |
|                                       | IQF              | 168,1±5,4            | 110,3±3,7 | 107,5±4,9 | 105,6±3,5 | 105,8±4,8 | 93,7±2,0 | 30,4±0,3 |
| Kestane kabuğu nanoselülozu           | Statik           | 191,5±6,7            | 177,7±4,2 | 122,5±3,0 | 98,3±3,2  | 70,4±3,2  | 41,8±2,4 | 33,7±0,3 |
|                                       | Hava akımlı      | 189,1±4,4            | 147,1±2,1 | 122,6±3,3 | 71,9±3,1  | 76,5±4,4  | 58,0±2,2 | 18,3±0,0 |
|                                       | IQF              | 190,6±7,0            | 119,0±5,4 | 130,0±6,8 | 74,9±1,8  | 63,9±2,3  | 54,1±3,8 | 16,9±0,4 |

**Çizelge 4.26.** Fermente ekmek hamuru analizleri için çok değişkenli varyans analizine (MANOVA) ait istatistiki çıktılar (I)

|                           | Toplam kuru madde miktarı |              | Su aktivitesi değeri |                       | pH değeri |              | Renk farkı değeri |              | Ekmek sertlik değeri |              | Ekmek esneklik değeri |              |
|---------------------------|---------------------------|--------------|----------------------|-----------------------|-----------|--------------|-------------------|--------------|----------------------|--------------|-----------------------|--------------|
|                           | F değeri                  | Gözlenen güç | F değeri             | Gözlenen güç          | F değeri  | Gözlenen güç | F değeri          | Gözlenen güç | F değeri             | Gözlenen güç | F değeri              | Gözlenen güç |
| Model                     | 23,16***                  | 1,000        | 273,04***            | 1,000                 | 71,75***  | 1,000        | 207,15***         | 1,000        | 364,15***            | 1,000        | 4,43***               | 1,000        |
| Kriyoprotektan türü (A)   | 5,31**                    | 0,830        | 387,10***            | 1,000                 | 115,80*** | 1,000        | 0,39              | 0,112        | 4800,08***           | 1,000        | 19,45***              | 1,000        |
| Dondurma yöntemi (B)      | 24,91***                  | 1,000        | 7,71**               | 0,946                 | 16,57***  | 1,000        | 0,02              | 0,053        | 0,01                 | 0,051        | 3,84*                 | 0,687        |
| Depolama süresi (C)       | 171,46***                 | 1,000        | 2615,66***           | 1,000                 | 635,29*** | 1,000        | 2132,14***        | 1,000        | 1752,48***           | 1,000        | 3,23**                | 0,918        |
| A × B                     | 1,39                      | 0,424        | 1,22                 | 0,377                 | 7,30***   | 0,996        | 0,95              | 0,299        | 6,13***              | 0,985        | 5,73***               | 0,978        |
| A × C                     | 4,19***                   | 0,999        | 32,27***             | 1,000                 | 17,19***  | 1,000        | 0,94              | 0,539        | 193,04***            | 1,000        | 4,42***               | 1,000        |
| B × C                     | 10,48***                  | 1,000        | 1,84*                | 0,884                 | 6,21***   | 1,000        | 1,12              | 0,634        | 3,56***              | 0,997        | 2,82**                | 0,982        |
| A × B × C                 | 6,87***                   | 1,000        | 1,27                 | 0,896                 | 2,58***   | 0,999        | 0,87              | 0,708        | 3,28***              | 1,000        | 4,11***               | 1,000        |
| Hata değeri               |                           | 0,468        |                      | 1,23×10 <sup>-5</sup> |           | 0,003        |                   | 0,192        |                      | 0,282        |                       | 0,025        |
| R <sup>2</sup>            |                           | 0,919        |                      | 0,989                 |           | 0,959        |                   | 0,985        |                      | 0,994        |                       | 0,885        |
| Ayarlanmış R <sup>2</sup> |                           | 0,880        |                      | 0,985                 |           | 0,946        |                   | 0,981        |                      | 0,992        |                       | 0,730        |

İstatistiki önem düzeyleri: \*P&lt;0,05; \*\*P&lt;0,01; \*\*\*P&lt;0,001

**Çizelge 4.27.** Fermente ekmek hamuru analizleri için çok değişkenli varyans analizine (MANOVA) ait istatistiki çıktılar (II)

|                           | Damlama kaybı |              | İyon sızıntısı |              | α-amilaz aktivitesi |              | Spesifik ekmek hacmi |              | Ekmek değer sayısı |              |
|---------------------------|---------------|--------------|----------------|--------------|---------------------|--------------|----------------------|--------------|--------------------|--------------|
|                           | F değeri      | Gözlenen güç | F değeri       | Gözlenen güç | F değeri            | Gözlenen güç | F değeri             | Gözlenen güç | F değeri           | Gözlenen güç |
| Model                     | 124,35***     | 1,000        | 15,22***       | 1,000        | 43,82***            | 1,000        | 40,98***             | 1,000        | 18,84***           | 1,000        |
| Kriyoprotektan türü (A)   | 351,62***     | 1,000        | 59,34***       | 1,000        | 144,22***           | 1,000        | 93,52***             | 1,000        | 27,45***           | 1,000        |
| Dondurma yöntemi (B)      | 849,57***     | 1,000        | 32,77***       | 1,000        | 57,85***            | 1,000        | 23,79***             | 1,000        | 2,94               | 0,564        |
| Depolama süresi (C)       | 596,76***     | 1,000        | 91,95***       | 1,000        | 234,22***           | 1,000        | 246,67***            | 1,000        | 135,56***          | 1,000        |
| A × B                     | 54,37***      | 1,000        | 0,81           | 0,255        | 49,86***            | 1,000        | 8,23***              | 0,998        | 3,49*              | 0,851        |
| A × C                     | 28,01***      | 1,000        | 9,52***        | 1,000        | 18,30***            | 1,000        | 30,26***             | 1,000        | 10,33***           | 1,000        |
| B × C                     | 78,87***      | 1,000        | 3,14***        | 0,993        | 14,08***            | 1,000        | 7,22***              | 1,000        | 2,76**             | 0,979        |
| A × B × C                 | 9,43***       | 1,000        | 2,18**         | 0,996        | 13,30***            | 1,000        | 14,32***             | 1,000        | 5,12***            | 1,000        |
| Hata değeri               |               | 0,080        |                | 2,924        |                     | 3,340        |                      | 0,031        |                    | 5,362        |
| R <sup>2</sup>            |               | 0,984        |                | 0,833        |                     | 0,956        |                      | 0,953        |                    | 0,903        |
| Ayarlanmış R <sup>2</sup> |               | 0,976        |                | 0,778        |                     | 0,934        |                      | 0,930        |                    | 0,855        |

İstatistiki önem düzeyleri: \*P&lt;0,05; \*\*P&lt;0,01; \*\*\*P&lt;0,001



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında nanoselüloz tozlarının üretimi başarıyla gerçekleştirilmiş ve fermente ekmek hamurunda kriyoprotektan etkinlikleri test edilmiştir. Tez çalışmasının ilk aşamasında tarımsal atıklardan (Antep fıstığı dış kabuğu ve kestane kabuğu) nanoselüloz üretimi dört farklı ekstraksiyon yöntemi (konvansiyonel, mikrodalga destekli, hidrotropik ve derin ötektik solvent) kullanılarak ve işlem koşullarının (sıcaklık, süre ve çözücü oranı) etkileri incelenerek gerçekleştirilmiştir. İkinci aşamada, yanıt yüzey yöntemi ve genetik algoritma ile optimum yöntem ve işlem koşulları belirlenmiş, ardından nanoselüloz tozlarında ürün karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Son aşamada, model gıda olan fermente ekmek hamurunda nanoselüloz ilavesi ve dondurma yönteminin (statik, hava akımlı ve IQF) altı aylık depolama süresince kalite parametreleri üzerindeki etkileri detaylı şekilde incelenmiştir.

Elde edilen bulgular ışığında, konsantre asit kullanımının söz konusu olduğu konvansiyonel ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri sonucu kristal yapının; yeşil ekstraksiyon teknikleri olan hidrotropik ve derin ötektik solvent ekstraksiyonu sonucu ise fibril yapının hâkim olduğu nanoselüloz örnekleri elde edilmiştir. Genetik algoritma, nanoselüloz ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda yanıt yüzey yöntemine kıyasla daha ılımlı işlem koşullarında daha yüksek verim elde edilmesine olanak sağlamıştır. IQF ve hava akımlı dondurma işlemleri ile statik dondurmaya kıyasla hücre yapısına düşük oranda zarar veren küçük buz kristali oluşumu sağlandığı gözlenmiştir. Nanoselüloz kullanımının, hamur iyon sızıntısı ve  $\alpha$ -amilaz aktivitesinin sınırlandırılmasında etkili olduğu, damlama kaybı gibi dondurma/çözündürme kaynaklı kalite sorunlarını engellemede ise olumlu etkiler sağladığı belirlenmiştir. Nanoselüloz ilaveli hamurdan üretilen ekmekler, kontrol grubuna kıyasla düşük sertlik değerlerine sahip olarak geç bayatlama özelliği göstermiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında, nanoselülozun özellikle IQF gibi hızlı dondurma teknikleri ile bir arada kullanımının, dondurulmuş gıda üretiminde önemli avantajlar sağlayabileceği yorumu yapılabilir.

Sonuç olarak, tez çalışmasından elde edilen çıktılar ışığında tarımsal atıklardan nanoselüloz gibi katma değeri yüksek ürünlerin üretiminin gerek ülke ekonomisi gerekse çevresel ve teknolojik açılardan faydalar sağlayabileceği ifade edilebilir. İleri çalışmalarda farklı tür tarımsal atıklardan nanoselüloz üretimi ve bu nanoselüloz örneklerinin farklı morfolojik yapıya sahip dondurulmuş gıda ürünlerinde etkinliklerinin incelenmesi ile

hammadde erişimi kolay, ekonomik ve sentetik muadillerine iyi bir alternatif olabilecek doğal kriyoprotektan ajanların üretim ve kullanım olanaklarının araştırılmasında fayda görölmektedir.



## KAYNAKLAR

- Abbasi Moud, A. (2022). Advanced cellulose nanocrystals (CNC) and cellulose nanofibrils (CNF) aerogels: Bottom-up assembly perspective for production of adsorbents. *International Journal of Biological Macromolecules*, 222(A), 1–29.
- Abedi, E., Pourmohammadi, K., Sayadi, M. (2022). Synergic effect of phytase, amylase, galactosidase, and asparaginase activity on the mitigation of acrylamide and hydroxymethylfurfural in roll bread by co-culture fermentation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 106(December 2021), 104355. doi: 10.1016/j.jfca.2021.104355.
- Akbarian, M., Koocheki, A., Mohebbi, M., Milani, E. (2016). Rheological properties and bread quality of frozen sweet dough with added xanthan and different freezing rate. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 3761–3769.
- Akça, E.E. ve Beylikçi, S.C. (2022). Bireysel hızlı dondurma (IQF) işleminin kırmızı eriklerde fiziksel kalite parametrelerine etkisi. *Meyve Bilimi*, 9(2), 23–28.
- Alhammadity, A. (2022). *Dilimlenmiş cennet hurmasının (Diospyros kaki) dondurarak kurutma kinetiğinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Karabük Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Karabük.
- Alsailawi, H.A., Mustafa Mudhafar, M.M. Abdulrasool. (2020). Effect of frozen storage on the quality of frozen foods—A review. *Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 14(3), 86–96. doi: 10.17265/1934-7375/2020.03.002.
- Alves, L., Ferraz, E., Lourenço, A.F., Ferreira, P.J., Rasteiro, M.G., Gamelas, J.A.F. (2020). Tuning rheology and aggregation behaviour of TEMPO-oxidised cellulose nanofibrils aqueous suspensions by addition of different acids. *Carbohydrate Polymers*, 237(February), 116109.
- Ameer, K., Shahbaz, H.M., Kwon, J.H. (2017). Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their byproducts: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(2), 295–315. doi: 10.1111/1541-4337.12253.
- Amit, S.K., Uddin, M., Rahman, R., Islam, S.M., Khan, M.S. (2017). A review on mechanisms and commercial aspects of food preservation and processing. *Agriculture*

and Food Security, 6(1), 1–22.

- An, S., Li, W., Xue, F., Li, X., Xia, Y., Liu, Q., Chen, L., Jameel, H., Chang, H. (2020). Effect of removing hemicellulose and lignin synchronously under mild conditions on enzymatic hydrolysis of corn stover. *Fuel Processing Technology*, 204(December 2019). doi: 10.1016/j.fuproc.2020.106407.
- Andrzej, K.M., Małgorzata, M., Sabina, K., Horbańczuk, O.K., Rodak, E. (2020). Application of rich in  $\beta$ -glucan flours and preparations in bread baked from frozen dough. *Food Science and Technology International*, 26(1), 53–64.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Method 923.03. (2005). Ash of flour. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists.
- Asghar, A., Anjum, F.M., Allen, J.C. (2011). Utilization of dairy byproduct proteins, surfactants, and enzymes in frozen dough. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 374–382.
- Asrofi, M., Abrial, H., Kasim, A., Pratoto, A. (2017). XRD and FTIR studies of nanocrystalline cellulose from water hyacinth (*Eichornia crassipes*) fiber. *Journal of Metastable and Nanocrystalline Materials*, 29(August), 9–16.
- Asyraf, M.R.M., Nurazzi, N.M., Norrrahim, M.N.F., Hazrati, K.Z., Ghani, A., Sabaruddin, F.A., Lee, S.H., Shazleen, S.S., Razman, M.R. (2023). Thermal properties of oil palm lignocellulosic fibre reinforced polymer composites: A comprehensive review on thermogravimetry analysis. *Cellulose*, 30, 2753–2790. doi:10.1007/s10570-023-05080-4.
- Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014.
- Bacha, E.G. (2022). Response surface methodology modeling, experimental validation, and optimization of acid hydrolysis process parameters for nanocellulose extraction. *South African Journal of Chemical Engineering*, 40, 176–185.
- Ban, C., Yoon, S., Han, J., Kim, S.O., Han, J.S., Lim, S., Choi, Y.J. (2016). Effects of freezing rate and terminal freezing temperature on frozen croissant dough quality. *LWT*, 73, 219–225.
- Banerjee, R. ve Maheswarappa, N.B. (2019). Superchilling of muscle foods: Potential

- alternative for chilling and freezing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(8), 1256–1263.
- Banza, M. ve Rutto, H. (2022). Extraction of cellulose nanocrystals from millet (*Eleusine coracana*) husk waste: Optimization using Box Behnken design in response surface methodology (RSM). *International Nano Letters*, 12(3), 257–272. doi: 10.1007/s40089-022-00369-x.
- Barbash, V.A., Yashchenko, O.V., Yakymenko, O.S., Zakharko, R.M. (2021). Extraction of organosolv pulp and production of nanocellulose from hemp fibres. *KPI Science News*, 3, 83–90.
- Barbieri, J.B., Goltz, C., Batistão Cavaleiro, F., Theodoro Toci, A., Igarashi-Mafra, L., Mafra, M.R. (2020). Deep eutectic solvents applied in the extraction and stabilization of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) phenolic compounds. *Industrial Crops and Products*, 144(December 2018), 112049. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.112049.
- Bárcenas, M.E., Benedito, C., Rosell, C.M. (2004). Use of hydrocolloids as bread improvers in interrupted baking process with frozen storage. *Food Hydrocolloids*, 18(5), 769–774.
- Bárcenas, M.E., De la O-Keller, J., Rosell, C.M. (2009). Influence of different hydrocolloids on major wheat dough components (gluten and starch). *Journal of Food Engineering*, 94(3-4), 241–247.
- Bárcenas, M.E., Haros, M., Benedito, C., Rosell, C.M. (2003). Effect of freezing and frozen storage on the staling of part-baked bread. *Food Research International*, 36(8), 863–869. doi: 10.1016/S0963-9969(03)00093-0.
- Barclay, T., Ginic-Markovic, M., Cooper, P., Petrovsky, N. (2010). Inulin – A versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses. *Journal of Excipients and Food Chemicals*, 1(3), 27–50.
- Baysan, U., Zungur Bastioğlu, A., Coşkun, N.Ö., Konuk Takma, D., Ülkeryıldız Balçık, E., Şahin-Nadeem, H., Koç, M. (2021). The effect of coating material combination and encapsulation method on propolis powder properties. *Powder Technology*, 384, 332–341. doi: 10.1016/j.powtec.2021.02.018.
- Behgar, M., Ghasemi, S., Naserian, A., Borzoie, A., Fatollahi, H. (2011). Gamma radiation effects on phenolics, antioxidants activity and *in vitro* digestion of pistachio (*Pistachia vera*) hull. *Radiation Physics and Chemistry*, 80(9), 963–967.

- Bektaş, Z.K., Miran, B., Uysal, Ö.K., Günden, C. (2010). Dondurulmuş gıda ürünlerine yönelik tüketici tercihleri: İzmir ili örneği. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 47(3), 211–221.
- Beyan, S.M., Amibo, T.A., Ayalew, A.G. (2021). Production of nanocellulose crystal derived from enset fiber using acid hydrolysis coupled with ultrasonication, isolation, statistical modeling, optimization, and characterizations. *Journal of Nanomaterials*, 2021, 7492532.
- Bezerra, M.A., Santelli, R.E., Oliveira, E.P., Villar, L.S., Escaleira, L.A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965–977. doi: 10.1016/j.talanta.2008.05.019.
- Bhagya Raj, G.V.S., Dash, K.K. (2020). Ultrasound-assisted extraction of phytochemicals from dragon fruit peel: Optimization, kinetics and thermodynamic studies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 68(March), 105180. doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.105180.
- Bi, W., Tian, M., Row, K.H. (2013). Evaluation of alcohol-based deep eutectic solvent in extraction and determination of flavonoids with response surface methodology optimization. *Journal of Chromatography A*, 1285, 22–30.
- Bingöl, D., Hercan, M., Elevli, S., Kılıç, E. (2012). Comparison of the results of response surface methodology and artificial neural network for the biosorption of lead using black cumin. *Bioresource Technology*, 112, 111–115.
- Box, G.E.P. ve Wilson, K.B. (1951). On the experimental attainment of optimum conditions. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B*, 13(1), 1–45.
- Brown, M.H. (1991). Microbiological aspects of frozen foods. In W.B. Bald (Ed.), *Food freezing: Today and tomorrow* (pp 15–25). Oxford: Springer London.
- Browne, C., Raghuwanshi, V.S., Lin, M., Garnier, M.G., Batchelor W. (2022). Characterisation of cellulose nanocrystals by rheology and small angle X-ray scattering (SAXS). *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 651, 129532. doi:10.1016/j.colsurfa.2022.129532.
- Budaeva, V.V., Gismatulina, Y.A., Mironova, G.F., Skiba, E.A., Gladysheva, E.K., Kashcheyeva, E.I., Baibakova, O.V., Korchagina, A.A., Shavyrkina, N.A., Golubev, D.S., Bychin, N.V., Pavlov, I.N., Sakovich, G.V. (2019). Bacterial nanocellulose nitrates. *Nanomaterials*, 9(12), 1–12. doi: 10.3390/nano9121694.

- Camani, P.H., Anholon, B.F., Toder, R.R., Rosa, D.S. (2020). Microwave-assisted pretreatment of eucalyptus waste to obtain cellulose fibers. *Cellulose*, 27(7), 3591–3609. doi: 10.1007/s10570-020-03019-7.
- Cao, E., Chen, Y., Cui, Z., Foster, P.R. (2003). Effect of freezing and thawing rates on denaturation of proteins in aqueous solutions. *Biotechnology and Bioengineering*, 82(6), 684–690.
- Cemeroğlu, B. (2018). Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi (7. Basım). Ankara: Bizim Grup Basımevi.
- Chaves, J.O., de Souza, M.C., da Silva, L.C., Lachos-Perez, D., Torres-Mayanga, P.C., Machado, A.P.D., Forster-Carneiro, T., Vázquez-Espinosa, M., González-de-Peredo, A.V., Barbero, G.F., Rostagno, M.A. (2020). Extraction of flavonoids from natural sources using modern techniques. *Frontiers in Chemistry*, 8(September). doi: 10.3389/fchem.2020.507887.
- Chegini, G.R. ve Ghobadian, B. (2005). Effect of spray-drying conditions on physical properties of orange juice powder. *Drying Technology*, 23, 657–668. doi: 10.1081/DRT-200054161.
- Chen, X., Shi, X., Cai, X., Yang, F., Li, L., Wu, J., Wang, S. (2021). Ice-binding proteins: A remarkable ice crystal regulator for frozen foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(20), 3436–3449. doi: 10.1080/10408398.2020.1798354.
- Chen, Y.W., Lee, H.V., Abd Hamid, S.B. (2017). Investigation of optimal conditions for production of highly crystalline nanocellulose with increased yield via novel Cr(III)-catalyzed hydrolysis: Response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 178(September), 57–68. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.09.029.
- Chevalier, D., Sequeira-Munoz, A., Le Bail, A., Simpson, B.K., Ghoul, M. (2000). Effect of freezing conditions and storage on ice crystal and drip volume in turbot (*Scophthalmus maximus*): Evaluation of pressure shift freezing vs. air-blast freezing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1(3), 193–201.
- Chirayil, C.J., Mathew, L., Hassan, P.A., Mozetic, M., Thomas, S. (2014). Rheological behaviour of nanocellulose reinforced unsaturated polyester nanocomposites. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, 274–281.
- Chowdhury, H.M. (2012). Cold chain business in bangladesh to enhance the economic growth

- of the country. *International Journal of Supply Chain Management*, 1(3), 54–62.
- Chutani, D., Huppertz, T., Murphy, E. (2023). Application of electric field technologies in the manufacture of food powders and the retention of bioactive compounds. *Powders*, 2(1), 135–150. doi: 10.3390/powders2010010.
- Çiçek Özkan, B. ve Güner, M. (2002). Isolation, characterization, and comparison of nanocrystalline cellulose from solid wastes of horse chestnut and chestnut seed shell. *Cellulose*, 29, 6629–6644. doi:10.1007/s10570-022-04682-8.
- Ciric, A., Krajnc, B., Heath, D., Ogrinc, N. (2020). Response surface methodology and artificial neural network approach for the optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from garlic. *Food and Chemical Toxicology*, 135, 110976.
- Cleland, D.J. (2020). The history of food freezing. *ASHRAE Transactions*, 126(1), 616–621.
- Corral, M.L., Cerrutti, P., Vázquez, A., Califano, A. (2017). Bacterial nanocellulose as a potential additive for wheat bread. *Food Hydrocolloids*, 67, 189–196. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.11.037.
- Culetu, A., Duta, D.E., Papageorgiou, M., Varzakas, T. (2021). The role of hydrocolloids in gluten-free bread and pasta; rheology, characteristics, staling and glycemic index. *Foods*, 10(12), 3121.
- Cunha, S.C. ve Fernandes, J.O. (2018). Extraction techniques with deep eutectic solvents. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 105, 225–239.
- Curic, D., Novotni, D., Skevin, D., Rosell, C.M., Collar, C., Le Bail, A., Colic-Baric, I., Gabric, D. (2008). Design of a quality index for the objective evaluation of bread quality: Application to wheat breads using selected bake off technology for bread making. *Food Research International*, 41, 714–719.
- Cvjetko Bubalo, M., Ćurko, N., Tomašević, M., Kovačević Ganić, K., Radojčić Redovniković, I. (2016). Green extraction of grape skin phenolics by using deep eutectic solvents. *Food Chemistry*, 200, 159–166. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.01.040.
- Da Silva, J.B., Nascimento, T., Costa, L.A., Pereira, F.V., Machado, B.A., Gomes, G.V., Assis, D.J., Druzian, J.I. (2015). Effect of source and interaction with nanocellulose cassava starch, glycerol and the properties of films bionanocomposites. *Materials Today: Proceedings*, 2(1), 200–207.



- Dai, D. ve Fan, M. (2010). Characteristic and performance of elementary hemp fibre. *Materials Sciences and Applications*, 1(6), 336–342.
- Dai, H., Wu, J., Zhang, H., Chen, Y., Ma, L., Huang, H., Huang, Y. (2020). Recent advances on cellulose nanocrystals for pickering emulsions: Development and challenge. *Trends in Food Science & Technology*, 102(2), 16–29. doi: 10.1016/j.tifs.2020.05.016.
- Dalvi-Isfahan, M., Kumar, P., Tavakoli, J., Daraei-Garmakhany, A. (2019). Review on identification, underlying mechanisms and evaluation of freezing damage. *Journal of Food Engineering*, 255, 50–60.
- Darikvand, F., Ghavami, M., Honarvar, M. (2022). An extensive study on the cake containing trehalose: Physiochemical, textural, sensory, microbial, and morphological properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, in press.
- de Barros Fernandes, R.V., Botrel, D.A., Silva, E.K., Borges, S.V., de Oliveira, C.R., Yoshida, M.I., de Andrade Feitosa, J.P., de Paula, R.C.M. (2016). Cashew gum and inulin: New alternative for ginger essential oil microencapsulation. *Carbohydrate Polymers*, 153, 133–142.
- Deepa, B., Abraham, E., Cordeiro, N., Mozetic, M., Mathew, A.P., Oksman, K., Marisa, F., Thomas, S., Pothan, L.A. (2015). Utilization of various lignocellulosic biomass for the production of nanocellulose: A comparative study. *Cellulose*, 22(2), 1075–1090.
- Demiray, E. ve Tülek, Y. (2010). Donmuş muhafaza sırasında meyve ve sebzelerde oluşan kalite değişimleri. *Akademik Gıda*, 8(2), 36–44.
- Dempsey, P. ve Bansal, P. (2012). The art of air blast freezing: Design and efficiency considerations. *Applied Thermal Engineering*, 41, 71–83.
- Desnos, H., Bruyère, P., Teixeira, M., Commin, L., Louis, G., Trombotto, S., Moussa, A., David, L., Buf, S., Baudot, A. (2019). The use of chitooligosaccharides in cryopreservation: Discussion of concept and first answers from dsc thermal analysis. In M.D. Quain (Ed.), *Cryopreservation-Current Advances and Evaluations* (pp. 1–26). IntechOpen.
- Devendra, L.P., Kiran Kumar, M., Pandey, A. (2016). Evaluation of hydrotropic pretreatment on lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 213, 350–358. doi:10.1016/j.biortech.2016.03.059.
- Devseren, E., Yılmaz, T., Petmez, B., Okut, D., Koç, M., Kaymak-Ertekin, F. (2018). Farklı

- dondurma ve çözündürme yöntemleri ile ön işlem uygulamalarının mandalina ve çilekte kalite özellikleri üzerine etkileri. *Gıda*, 43(3), 370–383.
- Dey, A., Rasane, P., Singhal, S., Kumar, V., Kaur, S., Singh, J., Garba, U., Kaur, N., Arora, M. (2020). Cactus cladode polysaccharide as cryoprotectant in frozen paneer (Indian cottage cheese). *International Journal of Dairy Technology*, 73(1), 215–225.
- Dhali, K., Ghasemlou, M., Daver, F., Cass, P., Adhikari, B. (2021). A review of nanocellulose as a new material towards environmental sustainability. *Science of the Total Environment*, 775, 145871.
- Dhapte, V. ve Mehta, P. (2015). Advances in hydrotropic solutions: An updated review. *St. Petersburg Polytechnical University Journal: Physics and Mathematics*, 1(4), 424–435. doi: 10.1016/j.spjpm.2015.12.006.
- Dönmez, İ.E., Selçuka, S., Sargına, S., Özdevecia, H. (2016). Kestane, fındık ve antepfıstığı meyve kabuklarının kimyasal yapısı. *Turkish Journal of Forestry*, 17(2), 174–177.
- El Achkar, T., Greige-Gerges, H., Fourmentin, S. (2021). Basics and properties of deep eutectic solvents: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(4), 3397–3408. doi: 10.1007/s10311-021-01225-8.
- Elliott, G.D., Wang, S., Fuller, B.J. (2017). Cryoprotectants: A review of the actions and applications of cryoprotective solutes that modulate cell recovery from ultra-low temperatures. *Cryobiology*, 76, 74–91.
- Elsherbiny, N.M., Sobhy, S.A., Fiala, L., Abbas, M.A. (2019). Knowledge, attitude and practices of food safety among food handlers in Ismailia city hospitals, Egypt. *International Journal of Advanced Community Medicine*, 2(2), 96–102. doi: 10.33545/comed.2019.v2.i2b.13.
- Ersus, S., Değirmenci, A., Tekin, İ., Yılmaz, F.M. (2019). Combined effect of vacuum and different freezing methods on the quality parameters of cherry tomato (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme*). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(3), 2218–2229.
- Ertop, M.H. (2014). Ekşi hamur formül optimizasyonunun ekmeğin aromatik profili, biyoaktif nitelikleri ve raf ömrü üzerine etkileri. Erciyes Üniversitesi.
- Esselink, E.F., van Aalst, H., Maliepaard, M., van Duynhoven, J.P. (2003). Long-term storage effect in frozen dough by spectroscopy and microscopy. *Cereal Chemistry*, 80(4), 396–

- Eugenia Steffolani, M., Ribotta, P.D., Pérez, G.T., León, A.E. (2012). Combinations of glucose oxidase,  $\alpha$ -amylase and xylanase affect dough properties and bread quality. *International Journal of Food Science & Technology*, 47, 525–534.
- FAO (2021). *Production quantities of pistachio and chesnut by country*. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [Erişim tarihi: 20/02/2023].
- Farooq, A., Patoary, M.K., Zhang, M., Mussana, H., Li, M., Naeem, M.A., Mushtaq, M., Farooq, A., Liu, L. (2020). Cellulose from sources to nanocellulose and an overview of synthesis and properties of nanocellulose/zinc oxide nanocomposite materials. *International Journal of Biological Macromolecules*, 154, 1050–1073. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.03.163.
- Fernandes, O. ve Cunha, S.C. (2018). Extraction techniques with deep eutectic solvents. *Trends in Analytical Chemistry*, 105, 225–239. doi: 10.1016/j.trac.2018.05.001.
- Fernandes, R.V.D.B., Borges, S.V., Botrel, D.A., Oliveira, C.R.D. (2014). Physical and chemical properties of encapsulated rosemary essential oil by spray drying using whey protein–inulin blends as carriers. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(6), 1522–1529.
- Fik, M. ve Surwka, K. (2002). Effect of prebaking and frozen storage on the sensory quality and instrumental texture of bread. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(11), 1268–1275. doi: 10.1002/jsfa.1176.
- Frutos, M.J., Guilabert-Antón, L., Tomás-Bellido, A., Hernández-Herrero, J.A. (2008). Effect of artichoke (*Cynara scolymus* L.) fiber on textural and sensory qualities of wheat bread. *Food Science and Technology International*, 14, 49–55.
- Furlán, L.T.R., Lecot, J., Padilla, A.P., Campderrós, M.E., Zaritzky, N.E. (2013). Applications of calorimetry in a wide context-differential scanning calorimetry. *Isothermal Titration Calorimetry and Microcalorimetry*. IntechOpen.
- Gambuś, H., Sikora, M., Ziobro, R. (2007). The effect of composition of hydrocolloids on properties of gluten-free bread. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6(3), 61–74.
- Gao, J., Qiu, Y., Chen, F., Zhang, L., Wei, W., An, X., Zhu, Q. (2023). Pomelo peel derived nanocellulose as pickering stabilizers: Fabrication of pickering emulsions and their

- potential as sustained-release delivery systems for lycopene. *Food Chemistry*, 415(February), 135742. doi: 10.1016/j.foodchem.2023.135742.
- Gao, W., Chen, F., Wang, X., Meng, Q. (2020). Recent advances in processing food powders by using superfine grinding techniques: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), 2222–2255. doi: 10.1111/1541-4337.12580.
- García, A., Gandini, A., Labidi, J., Belgacem, N., Bras, J. (2016). Industrial and crop wastes: A new source for nanocellulose biorefinery. *Industrial Crops and Products*, 93, 26–38.
- García, A., Labidi, J., Belgacem, M.N., Bras, J. (2017). The nanocellulose biorefinery: Woody versus herbaceous agricultural wastes for NCC production. *Cellulose*, 24(2), 693–704.
- Gardner, D.J., Oporto, G.S., Mills, R., Samir, M.A.S.A. (2008). Adhesion and surface issues in cellulose and nanocellulose. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 22(5–6), 545–567. doi: 10.1163/156856108X295509.
- Gençdağ, E., Görgüç, A., Yılmaz, F.M. (2021). Recent advances in the recovery techniques of plant-based proteins from agro-industrial by-products. *Food Reviews International*, 37(4), 447–468.
- George, R.M. (1993). Freezing processes used in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 4(5), 134–138. doi: 10.1016/0924-2244(93)90032-6.
- Ghalamara, S., Silva, S., Brazinha, C., Pintado, M. (2022). Structural diversity of marine anti-freezing proteins, properties and potential applications: A review. *Bioresources and Bioprocessing*, 9(1).
- Giannou, V., Kessoglou, V., Tzia, C. (2003). Quality and safety characteristics of bread made from frozen dough. *Trends in Food Science & Technology*, 14(3), 99–108.
- Golor, M.M., Rosma, D., Santoso, S.P., Soetaredjo, F., Yuliana, M., Ismadji, S., Ayucitra, A. (2020). Citric acid-crosslinked cellulosic hydrogel from sugarcane bagasse: Preparation, characterization, and adsorption study. *Indonesian Journal of Chemical Studies*, 3, 59. doi:10.34311/jics.2020.03.1.68.
- Gond, R.K., Gupta, M.K., Jawaid, M. (2021). Extraction of nanocellulose from sugarcane bagasse and its characterization for potential applications. *Polymer Composites*, 42(10), 5400–5412.

- Goodarzi, F. ve Zendejboudi, S. (2019). A comprehensive review on emulsions and emulsion stability in chemical and energy industries. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 97, 281–309. doi: 10.1002/cjce.23336.
- Guarda, A., Rosell, C.M., Benedito, C., Galotto, M.J. (2004). Different hydrocolloids as bread improvers and antistaling agents. *Food Hydrocolloids*, 18(2), 241–247.
- Guo, Y., Zhang, Y., Zheng, D., Li, M., Yue, J. (2020). Isolation and characterization of nanocellulose crystals via acid hydrolysis from agricultural waste-tea stalk. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 927–933.
- Gupta, K., Kaushik, A., Tikoo, K.B., Kumar, V., Singhal, S. (2020). Enhanced catalytic activity of composites of  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$  and nano cellulose derived from waste biomass for the mitigation of organic pollutants. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(1), 783–798.
- Gys, W., Courtin, C.M., Delcour, J.A. (2004). Reduction of xylanase activity in flour by debranning retards syringing in refrigerated doughs. *Journal of Cereal Science*, 39, 371–377.
- Hager, A.S. ve Arendt, E.K. (2013). Influence of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), xanthan gum and their combination on loaf specific volume, crumb hardness and crumb grain characteristics of gluten-free breads based on rice, maize, teff and buckwheat. *Food Hydrocolloids*, 32(1), 195–203.
- Hasdemir, S., Yilmaz, S., Sen, S. (2019). A novel multi-featured metric for adaptive routing in mobile ad hoc networks. *Applied Intelligence*, 49(8), 2823–2841.
- Hassanat, A., Almohammadi, K., Alkafaween, E., Abunawas, E., Hammouri, A., Prasath, V.B.S. (2019). Choosing mutation and crossover ratios for genetic algorithms—A review with a new dynamic approach. *Information (Switzerland)*, 10(12). doi: 10.3390/info10120390.
- Heggset, E.B., Chinga-Carrasco, G., Syverud, K. (2017). Temperature stability of nanocellulose dispersions. *Carbohydrate Polymers*, 157, 114–121.
- Hejrani, T., Sheikholeslami, Z., Mortazavi, A., Davoodi, M.G. (2017). The properties of part baked frozen bread with guar and xanthan gums. *Food Hydrocolloids*, 71, 252–257.
- Hekimoğlu, B. ve Altındağ, M. (2016). *Gıda/Dondurulmuş gıda sektör potansiyeli*. T.C. Samsun Valiliği, İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Strateji Geliştirme Birimi.

- Hekimoğlu, B. ve Altındağ, M. (2019). *Dondurulmuş gıda sektör potansiyeli*. T.C. Samsun Valiliği, Tarım İl Müdürlüğü, Strateji Geliştirme Birimi.
- Hemmati, F., Jafari, S.M., Kashaninejad, M., Barani Motlagh, M. (2018). Synthesis and characterization of cellulose nanocrystals derived from walnut shell agricultural residues. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 1216–1224. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.09.012.
- Hemmati, F., Mahdi, S., Ali, R. (2019). Optimization of homogenization-sonication technique for the production of cellulose nanocrystals from cotton linter. *International Journal of Biological Macromolecules*, 137, 374–381. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.06.241.
- Hobbs, J.E. (2020). Food supply chains during the COVID-19 pandemic. *Canadian Journal of Agricultural Economics*, 68(2), 171–176.
- Hong, S., Song, Y., Yuan, Y., Lian, H., Liimatainen, H. (2020). Production and characterization of lignin containing nanocellulose from luffa through an acidic deep eutectic solvent treatment and systematic fractionation. *Industrial Crops and Products*, 143, 111913.
- Hu, R., Zhang, M., Liu, W., Mujumdar, A.S., Bai, B. (2022). Novel synergistic freezing methods and technologies for enhanced food product quality: A critical review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(2), 1979–2001.
- Ilyas, R.A., Sapuan, S.M., Ishak, M.R. (2018). Isolation and characterization of nanocrystalline cellulose from sugar palm fibres (*Arenga pinnata*). *Carbohydrate Polymers*, 181, 1038–1051. doi:10.1016/j.carbpol.2017.11.045.
- Inoue, Y. ve Bushuk, W. (1992). Studies on frozen doughs. II: Flour quality requirements for bread production from frozen dough. *Cereal Chemistry*, 69(4), 423–428.
- İzli, G., Yildiz, G., Berk, S.E. (2022). Quality retention in pumpkin powder dried by combined microwave-convective drying. *Journal of Food Science and Technology*, 59(4), 1558–1569. doi: 10.1007/s13197-021-05167-5.
- Jafari, S.M., Bahrami, I., Dehnad, D., Shahidi, S.A. (2018). The influence of nanocellulose coating on saffron quality during storage. *Carbohydrate Polymers*, 181, 536–542.
- James, C., Purnell, G., James, S.J. (2015). A review of novel and innovative food freezing technologies. *Food and Bioprocess Technology*, 8, 1616–1634.

- James, S.J. ve James, C. (2014). Chilling and freezing of foods. Clark, S., Jung, S., Lamsal, B. Chichester (Eds.), *Food Processing: Principles and Applications* (pp. 79–105). New Jersey: Blackwell.
- Jančíková, V. ve Jablonský, M. (2022). The role of deep eutectic solvents in the production of cellulose nanomaterials from biomass. *Acta Chimica Slovaca*, 15, 61–71. doi:10.2478/acs-2022-0008.
- Jaruwat, D., Udomsap, P., Chollacoop, N., Fuji, M., Eiad-Ua, A. (2018). Effects of hydrothermal temperature and time of hydrochar from cattail leaves. *AIP Conference Proceedings*, 020016.
- Jha, A.K. ve Sit, N. (2021). Comparison of response surface methodology (RSM) and artificial neural network (ANN) modelling for supercritical fluid extraction of phytochemicals from *Terminalia chebula* pulp and optimization using RSM coupled with desirability function (DF) and genetic. *Industrial Crops and Products*, 170(February), 113769. doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113769.
- Jha, A.K. ve Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 119(July 2021), 579–591. doi: 10.1016/j.tifs.2021.11.019.
- Ji, J., Fitzpatrick, J., Cronin, K., Maguire, P., Zhang, H. (2016). Rehydration behaviours of high protein dairy powders: The influence of agglomeration on wettability, dispersibility and solubility. *Food Hydrocolloids*, 58, 194–203. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.02.030.
- Ji, Q., Yu, X., Wu, P., Yagoub, A.E.G.A., Chen, L., Abdullateef Taiye, M., Zhou, C. (2021a). Pretreatment of sugarcane bagasse with deep eutectic solvents affect the structure and morphology of lignin. *Industrial Crops and Products*, 173(September), 114108.
- Ji, Q., Yu, X., Yagoub, A.E.G.A., Chen, L., Zhou, C. (2021b). Efficient cleavage of strong hydrogen bonds in sugarcane bagasse by ternary acidic deep eutectic solvent and ultrasonication to facile fabrication of cellulose nanofibers. *Cellulose*, 28(10), 6159–6182.
- Jia, G., Chen, Y., Sun, A., Orlie, V. (2022). Control of ice crystal nucleation and growth during the food freezing process. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(3), 2433–2454.
- Jiang, J., Carrillo-Enríquez, N.C., Oguzlu, H., Han, X., Bi, R., Song, M., Saddler, J.N., Sun,

- R., Jiang, F. (2020). High production yield and more thermally stable lignin-containing cellulose nanocrystals isolated using a ternary acidic deep eutectic solvent. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 8(18), 7182–7191. doi: 10.1021/acssuschemeng.0c01724.
- Jiang, Q., Zhang, M., Mujumdar, A. S. (2023). Application of physical field-assisted freezing and thawing to mitigate damage to frozen food. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(5), 2223 – 2238.
- Jin, Y., Tang, J., Sablani, S.S. (2019). Food component influence on water activity of low-moisture powders at elevated temperatures in connection with pathogen control. *LWT*, 112, 108257.
- Jinapong, N., Supphantharika, M., Jamnong, P. (2008). Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 84(2), 194–205.
- Joshi, A.J. (2016). A review and application of cryoprotectant: The science of cryonics. *PharmaTutor*, 4(1), 12–18.
- Jouki, M., Mortazavi, S.A., Yazdi, F.T., Koocheki, A. (2014). Optimization of extraction, antioxidant activity and functional properties of quince seed mucilage by RSM. *International Journal of Biological Macromolecules*, 66, 113–124. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.02.026.
- Kaale, L.D., Eikevik, T.M., Bardal, T., Kjorsvik, E., Nordtvedt, T.S. (2013). The effect of cooling rates on the ice crystal growth in air-packed salmon fillets during superchilling and superchilled storage. *International Journal of Refrigeration*, 36(1), 110–119.
- Kamel, R., El-Wakil, N.A., Dufresne, A., Elkasabgy, N.A. (2020). Nanocellulose: From an agricultural waste to a valuable pharmaceutical ingredient. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1579–1590.
- Kamiloğlu, S. (2019a). Bireysel hızlı dondurma işlemi basamaklarının Granny Smith elmaların polifenol içeriği ve antioksidan kapasitesine etkileri. *Akademik Gıda*, 17(1), 38–46.
- Kamiloğlu, S. (2019b). Effect of different freezing methods on the bioaccessibility of strawberry polyphenols. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(8), 2652–2660.



- Kang, N., Reddy, C.K., Park, E.Y., Choi, H.D., Lim, S.T. (2018). Antistaling effects of hydrocolloids and modified starch on bread during cold storage. *LWT*, 96, 13–18.
- Karaşör, Ö.F., Bucak, M.N., Cenariu, M., Bodu, M., Taşpınar, M., Taşpınar, F. (2022). The Effects of different doses of ROCK inhibitor, antifreeze protein III, and boron added to semen extender on semen freezeability of Ankara bucks. *Molecules*, 27(22), 8070.
- Karatekin, S. (2020). Tüketicilerin hazır gıdalara karşı tutum ve niyetini etkileyen faktörlerin belirlenmesi: Y kuşağına yönelik bir araştırma. *Ufuk Üniversitesi*.
- Kaur, M. ve Kumar, M. (2019). An innovation in magnetic field assisted freezing of perishable fruits and vegetables: A review. *Food Reviews International*, 36(8), 761–780.
- Kavuncuoğlu, H., Kavuncuoğlu, E., Karataş, S.M., Benli, B., Sağdıç, O., Yalçın, H. (2018). Prediction of the antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) kernel aqueous extracts using artificial neural network and multiple linear regression. *Journal of Microbiological Methods*, 148, 78–86.
- Kayataş Ongun, G. (2022). *Kanlıca mantarının sıcak havalı kurutma ve dondurarak kurutulmasının deneysel karşılaştırılması*. Doktora tezi, Karabük Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Karabük.
- Khandanlou, R., Ngoh, G.C., Chong, W.T. (2016). Feasibility study and structural analysis of cellulose isolated from rice husk: Microwave irradiation, optimization, and treatment process scheme. *BioResources*, 11(3), 5751–5766. doi: 10.15376/biores.11.3.5751-5766.
- Khodaei, T., Nourmohammadi, J., Ghaee, A., Khodaii, Z. (2023). An antibacterial and self-healing hydrogel from aldehyde-carrageenan for wound healing applications. *Carbohydrate Polymers*, 302, 120371.
- Khoshakhlagh, K., Hamdami, N., Shahedi, M., Le-Bail, A. (2014). Quality and microbial characteristics of part-baked Sangak bread packaged in modified atmosphere during storage. *Journal of Cereal Science*, 60(1), 42–47.
- Kölzer, B.S., Geppert, J., Klingshirn, A., Weber, H., Brugger, L., Engstler, A., Stamminger, R. (2019). Consumers impact on food quality under frozen conditions in Germany. *British Food Journal*, 122(1), 36–47.
- Kumar, A., Negi, Y.S., Choudhary, V., Bhardwaj, N.K. (2014). Characterization of cellulose nanocrystals produced by acid-hydrolysis from sugarcane bagasse as agro-waste. *Journal of Materials Physics and Chemistry*, 2(1), 1–8. doi:10.12691/jmpc-2-1-1.

- Kumar, P.K., Rasco, B.A., Tang, J., Sablani, S.S. (2020). State/phase transitions, ice recrystallization, and quality changes in frozen foods subjected to temperature fluctuations. *Food Engineering Reviews*, 12, 421–451.
- Kutlu, N., Yeşilören, G., İşci, A., Şakıyan, Ö. (2017). Konvansiyonel ekstraksiyona alternatif: Yeşil teknolojiler. *Gıda*, 42(5), 514–526.
- Laokuldilok, T. ve Kanha, N. (2015). Effects of processing conditions on powder properties of black glutinous rice (*Oryza sativa* L.) bran anthocyanins produced by spray drying and freeze drying. *LWT*, 64(1), 405–411. doi: 10.1016/j.lwt.2015.05.015.
- Lazghab, M., Saleh, K., Pezron, I., Guigon, P., Komunjer, L. (2005). Wettability assessment of finely divided solids. *Powder Technology*, 157, 79–91. doi: 10.1016/j.powtec.2005.05.014.
- Le-Bail, A., Nicolitch, C., Vuillod, C. (2010). Fermented frozen dough: Impact of pre-fermentation time and of freezing rate for a pre-fermented frozen dough on final volume of the bread. *Food and Bioprocess Technology*, 3, 197–203.
- Lee, S.Y., Mohan, D.J., Kang, I.A., Doh, G.H., Lee, S., Han, S.O. (2009). Nanocellulose reinforced PVA composite films: Effects of acid treatment and filler loading. *Fibers and Polymers*, 10, 77–82. doi: 10.1007/s12221-009-0077-x.
- Li, D., Zhu, Z., Da-Wen S. (2018). Effects of freezing on cell structure of fresh cellular food materials: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 46–55.
- Li, Y., Liu, Y., Chen, W., Wang, Q., Liu, Y., Li, J., Yu, H. (2016). Facile extraction of cellulose nanocrystals from wood using ethanol and peroxide solvothermal pretreatment followed by ultrasonic nanofibrillation. *Green Chemistry*, 18(4), 1010–1018.
- Lim, W.L., Gunny, A.A.N., Kasim, F.H., Gopinath, S.C.B., Kamaludin, N.H.I., Arbain, D. (2021). Cellulose nanocrystals from bleached rice straw pulp: Acidic deep eutectic solvent versus sulphuric acid hydrolyses. *Cellulose*, 28, 6183–6199. doi:10.1007/s10570-021-03914-7.
- Lin, T., Wang, Q., Zheng, X., Chang, Y., Cao, H., Zheng, Y. (2022). Investigation of the structural, thermal, and physicochemical properties of nanocelluloses extracted from bamboo shoot processing byproducts. *Frontiers in Chemistry*, 10, 1–9. doi: 10.3389/fchem.2022.922437.
- Ling, J.K.U. ve Hadinoto, K. (2022). Deep eutectic solvent as green solvent in extraction of

- biological macromolecules: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(6). doi: 10.3390/ijms23063381.
- Ling, Z., Edwards, J.V., Guo, Z., Prevost, N.T., Nam, S., Wu, Q., Xu, F. (2019). Structural variations of cotton cellulose nanocrystals from deep eutectic solvent treatment: Micro and nano scale. *Cellulose*, 26(2), 861–876.
- Ling, Z., Tang, W., Su, Y., Shao, L., Wang, P., Ren, Y., Huang, C., Lai, C., Yong, Q. (2021). Promoting enzymatic hydrolysis of aggregated bamboo crystalline cellulose by fast microwave-assisted dicarboxylic acid deep eutectic solvents pretreatments. *Bioresource Technology*, 333, 125122. doi:10.1016/j.biortech.2021.125122.
- Liu, W., Du, H., Liu, K., Liu, H., Xie, H., Si, C., Pang, B., Zhang, X. (2021b). Sustainable preparation of cellulose nanofibrils via choline chloride-citric acid deep eutectic solvent pretreatment combined with high-pressure homogenization. *Carbohydrate Polymers*, 267, 118220.
- Liu, X., Pan, Y., Liu, F., He, Y., Zhu, Q., Liu, Z., Zhan, X., Tan, S. (2021a). A review of the material characteristics, antifreeze mechanisms, and applications of cryoprotectants (CPAs). *Journal of Nanomaterials*, 2021, 9990709.
- Liu, Y., Zhang, H., Yu, H., Guo, S., Chen, D. (2019). Deep eutectic solvent as a green solvent for enhanced extraction of narirutin, naringin, hesperidin and neohesperidin from *Aurantii Fructus*. *Phytochemical Analysis*, 30(2), 156–163.
- Lu, L. ve Zhu, K.X. (2023). Physicochemical and fermentation properties of pre-fermented frozen dough: Comparative study of frozen storage and freeze–thaw cycles. *Food Hydrocolloids*, 136(October 2022).
- Lu, Q., Yu, X., Yagoub, A.E.G.A., Wahia, H., Zhou, C. (2021). Application and challenge of nanocellulose in the food industry. *Food Bioscience*, 43(June), 101285. doi: 10.1016/j.fbio.2021.101285.
- Lu, Z., Fan, L., Zheng, H., Lu, Q., Liao, Y., Huang, B. (2013). Preparation, characterization and optimization of nanocellulose whiskers by simultaneously ultrasonic wave and microwave assisted. *Bioresource Technology*, 146, 82–88. doi: 10.1016/j.biortech.2013.07.047.
- Ludueña, L.N., Vecchio, A., Stefani, P.M., Alvarez, V.A. (2013). Extraction of cellulose nanowhiskers from natural fibers and agricultural byproducts. *Fibers and Polymers*, 14,

1118–1127.

- Luo, W., Sun, D.W., Zhu, Z., Wang, Q.J. (2018). Improving freeze tolerance of yeast and dough properties for enhancing frozen dough quality - A review of effective methods. *Trends in Food Science & Technology*, 72, 25–33.
- Ma, M., Mu, T., Sun, H., Zhou, L. (2022). Evaluation of texture, retrogradation enthalpy, water mobility, and anti-staling effects of enzymes and hydrocolloids in potato steamed bread. *Food Chemistry*, 368, 130686.
- Ma, Y., Xia, Q., Liu, Y., Chen, W., Liu, S., Wang, Q., Liu, Y., Li, J., Yu, H. (2019). Production of nanocellulose using hydrated deep eutectic solvent combined with ultrasonic treatment. *ACS Omega*, 4(5), 8539–8547.
- Madhushani, W.H., Priyadarshana, R.W.I.B., Ranawana, S.R.W.M.C.J.K., Senarathna, K.G.C., Kaliyadasa, P.E. (2021). Determining the crystallinity index of cellulose in chemically and mechanically extracted banana fiber for the synthesis of nanocellulose. *Journal of Natural Fibers*, 19(14), 7973–7981.
- Magar, H.S., El Magd, E.E.A., Hassan, R.Y.A., Fahim, A.M. (2022). Rapid impedimetric detection of cadmium ions using nanocellulose/ligand/nanocomposite (CNT/Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>). *Microchemical Journal*, 182, 107885. doi: 10.1016/j.microc.2022.107885.
- Mahmoud, M.E. ve Abdelwahab, M.S. (2020). Rapid and efficient removal of lead from water by  $\alpha$ -FeOOH/Cellulose/TiO<sub>2</sub> nanocomposite. *Materials Science and Engineering B: Solid-State Materials for Advanced Technology*, 262(May), 114689. doi: 10.1016/j.mseb.2020.114689.
- Maity, T., Saxena, A., Raju, P.S. (2018). Use of hydrocolloids as cryoprotectant for frozen foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(3), 420–435.
- Majzoobi, M., Aghdam, M.B.K., Eskandari, M.H., Farahnaky, A. (2019). Quality and microbial properties of symbiotic bread produced by straight dough and frozen part-baking methods. *Journal of Texture Studies*, 50(2), 165–171.
- Majzoobi, M., Farahnaky, A., Agah, S. (2011). Properties and shelf-life of part-and full-baked flat bread (Barbari) at ambient and frozen storage. *Journal of Agricultural Science*, 13, 1077–1090.
- Maleki, G. ve Milani, J.M. (2014). Effect of different hydrocolloids on barbari bread texture and microstructure. *Acta Alimentaria*, 43(4), 584–591.

- Mancebo, C.M., Martínez, M.M., Merino, C., de la Hera, E., Gómez, M. (2017). Effect of oil and shortening in rice bread quality: Relationship between dough rheology and quality characteristics. *Journal of Texture Studies*, 48(6), 597–606.
- Mandal, A. ve Chakrabarty, D. (2011). Isolation of nanocellulose from waste sugarcane bagasse (SCB) and its characterization. *Carbohydrate Polymers*, 86(3), 1291–1299.
- Mandala, I., Polaki, A., Yanniotis, S. (2009). Influence of frozen storage on bread enriched with different ingredients. *Journal of Food Engineering*, 92(2), 137–145.
- Mansur, A.R., Song, N.E., Jang, H.W., Lim, T.G., Yoo, M., Nam, T.G. (2019). Optimizing the ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction of flavonoids in common buckwheat sprouts. *Food Chemistry*, 293(May), 438–445. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.05.003.
- Marazani, T., Madyira, D.M., Akinlabi, E.T. (2017). Investigation of the parameters governing the performance of jet impingement quick food freezing and cooling systems—A review. *Procedia Manufacturing*, 8, 754–760.
- Martelli-Tosi, M., Masson, M.M., Silva, N.C., Esposto, B.S., Barros, T.T., Assis, O.B.G., Tapia-Blácido, D.R. (2018). Soybean straw nanocellulose produced by enzymatic or acid treatment as a reinforcing filler in soy protein isolate films. *Carbohydrate Polymers*, 198(March), 61–68.
- Mateo, S., Peinado, S., Morillas-Gutiérrez, F., La Rubia, M.D., Moya, A.J. (2021). Nanocellulose from Agricultural Wastes: Products and Applications — A Review. *Processes*, 9(1594), 1–22.
- Melikoğlu, A.Y., Ersus, S., Cesur, S. (2019). Optimum alkaline treatment parameters for the extraction of cellulose and production of cellulose nanocrystals from apple pomace. *Carbohydrate Polymers*, 215, 330–337. doi:10.1016/j.carbpol.2019.03.103.
- Mena-García, A., Ruiz-Matute, A.I., Soria, A.C., Sanz, M.L. (2019). Green techniques for extraction of bioactive carbohydrates. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 119, 115612.
- Meng, K., Gao, H., Zeng, J., Li, G., Su, T. (2021). Effect of subfreezing storage on the quality and shelf life of frozen fermented dough. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3), 1–12.
- Meziani, S., Jasniowski, J., Ribotta, P., Arab-Tehrany, E., Muller, J.M., Ghoul, M., Desobry,

- S. (2012). Influence of yeast and frozen storage on rheological, structural and microbial quality of frozen sweet dough. *Journal of Food Engineering*, 109(3), 538–544.
- Mihrianyan, A., Llagostera, A.P., Karmhag, R., Strømme, M., Ek, R. (2004). Moisture sorption by cellulose powders of varying crystallinity. *International Journal of Pharmaceutics*, 269(2), 433–442.
- Minervini, F., Pinto, D., Di Cagno, R., De Angelis, M., Gobbetti, M. (2011). Scouting the application of sourdough to frozen dough bread technology. *Journal of Cereal Science*, 54(3), 296–304.
- Mohammadzadeh, A., Ramezani, M., Ghaedi, A.M. (2016). Synthesis and characterization of  $\text{Fe}_2\text{O}_3\text{--ZnO--ZnFe}_2\text{O}_4$ /carbon nanocomposite and its application to removal of bromophenol blue dye using ultrasonic assisted method: Optimization by response surface methodology and genetic algorithm. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 59, 275–284.
- Molina, M.T., Leiva, A., Bouchon, P. (2016). Examining the effect of freezing on starch gelatinization during heating at high rates using online *in situ* hot-stage video-microscopy and differential scanning calorimetry. *Food and Bioproducts Processing*, 100, 488–495.
- Molnes, S.N., Paso, K.G., Strand, S., Syverud, K. (2017). The effects of pH, time and temperature on the stability and viscosity of cellulose nanocrystal (CNC) dispersions: Implications for use in enhanced oil recovery. *Cellulose*, 24, 4479–4491. doi:10.1007/s10570-017-1437-0.
- Momchilova, M. ve Zsivanovits, G. (2016). Instrumental texture characterization of bread. *Bulgarian Chemical Communications*, 48, 435–441.
- Morales-De La Peña, M., Welte-Chanes, J., Martín-Belloso, O. (2019). Novel technologies to improve food safety and quality. *Current Opinion in Food Science*, 30, 1–7.
- More, P.R., Jambrak, A.R., Arya, S.S. (2022). Green, environment-friendly and sustainable techniques for extraction of food bioactive compounds and waste valorization. *Trends in Food Science & Technology*, 128(May), 296–315. doi: 10.1016/j.tifs.2022.08.016.
- Mukherjee, R., Chakraborty, R., Dutta, A. (2019). Comparison of optimization approaches (response surface methodology and artificial neural network-genetic algorithm) for a novel mixed culture approach in soybean meal fermentation. *Journal of Food Process*

- Engineering*, 42(5), 1–10. doi: 10.1111/jfpe.13124.
- Mulot, V., Benkhelifa, H., Pathier, D., Ndoeye, F.T., Flick, D. (2019). Measurement of food dehydration during freezing in mechanical and cryogenic freezing conditions. *International Journal of Refrigeration*, 103, 329–338.
- Muthusamy, S., Manickam, L.P., Murugesan, V., Muthukumaran, C., Pugazhendhi, A. (2019). Pectin extraction from *Helianthus annuus* (sunflower) heads using RSM and ANN modelling by a genetic algorithm approach. *International Journal of Biological Macromolecules*, 124, 750–758. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.036.
- Naduparambath, S., Jinitha, T.V., Shaniba, V., Sreejith, M.P., Balan, A.K., Purushothaman, E. (2018). Isolation and characterisation of cellulose nanocrystals from sago seed shells. *Carbohydrate Polymers*, 180, 13–20. doi:10.1016/j.carbpol.2017.09.088.
- Nagano, T., Arai, Y., Yano, H., Aoki, T., Kurihara, S., Hirano, R., Nishinari, K. (2020). Improved physicochemical and functional properties of okara, a soybean residue, by nanocellulose technologies for food development – A review. *Food Hydrocolloids*, 109, 105964.
- Nagarajan, J., Wah Heng, W., Galanakis, C.M., Nagasundara Ramanan, R., Raghunandan, M.E., Sun, J., Ismail, A., Beng-Ti, T., Prasad, K.N. (2016). Extraction of phytochemicals using hydrotropic solvents. *Separation Science and Technology*, 51(7), 1151–1165.
- Narayanan, M., Baskaran, D., Sampath, V. (2022). Experimental design of hydrotropic extraction for recovery of bioactive limonin from lemon (*Citrus limon* L.) seeds. *Separation Science and Technology*, 57(5), 707–718.
- Narsaiah, K., Bedi, V., Ghodki, B.M., Goswami, T.K. (2021). Heat transfer modeling of shrimp in tunnel type individual quick freezing system. *Journal of Food Process Engineering*, 44(11), 1–13.
- Nemeth, L.J., Paulley, F.G., Preston, K.R. (1996). Effects of ingredients and processing conditions on the frozen dough bread quality of a Canada Western Red Spring wheat flour during prolonged storage. *Food Research International*, 29(7), 609–616.
- Neri, L., Faieta, M., Di Mattia, C., Sacchetti, G., Mastrocola, D., Pittia, P. (2020). Antioxidant activity in frozen plant foods: Effect of cryoprotectants, freezing process and frozen storage. *Foods*, 9(12), 1–35.
- Neto, W.P.F., Silvério, H.A., Dantas, N.O., Pasquini, D. (2013). Extraction and

- characterization of cellulose nanocrystals from agro-industrial residue - Soy hulls. *Industrial Crops and Products*, 42(1), 480–488. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.06.041.
- Ngwabebhoh, F.A., Erdem, A., Yildiz, U. (2018). A design optimization study on synthesized nanocrystalline cellulose, evaluation and surface modification as a potential biomaterial for prospective biomedical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 536–546. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.03.155.
- Noremylia, M.B., Hassan, M.Z., Ismail, Z. (2022). Recent advancement in isolation, processing, characterization and applications of emerging nanocellulose: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 206(January), 954–976.
- Nurazzi, N.M., Asyraf, M.R.M., Rayung, M., Norraahim, M.N.F., Shazleen, S.S., Rani, M.S.A., Shafi, A.R., Aisyah, H.A., Radzi, M.H.M., Sabaruddin, F.A., Ilyas, R.A., Zainudin, E.S., Abdan, K. (2021). Thermogravimetric analysis properties of cellulosic natural fiber polymer composites: A review on influence of chemical treatments. *Polymers*, 13(16). doi: 10.3390/polym13162710.
- Omar, K.A. ve Sadeghi, R. (2022). Physicochemical properties of deep eutectic solvents: A review. *Journal of Molecular Liquids*, 360, 119524. doi: 10.1016/j.molliq.2022.119524.
- Omedi, J.O., Huang, W., Zhang, B., Li, Z., Zheng, J. (2019). Advances in present-day frozen dough technology and its improver and novel biotech ingredients development trends—A review. *Cereal Chemistry*, 96(1), 34–56.
- Oomen, W.W., Begines, P., Mustafa, N.R., Wilson, E.G., Verpoorte, R., Choi, Y.H. (2020). Natural deep eutectic solvent extraction of flavonoids of *Scutellaria baicalensis* as a replacement for conventional organic solvents. *Molecules*, 25(3), 1–11. doi: 10.3390/molecules25030617.
- Osorio-Tobón, J.F. (2020). Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. *Journal of Food Science and Technology*, 57(12), 4299–4315. doi: 10.1007/s13197-020-04433-2.
- Özbek, H.N., Halahlih, F., Göğüş, F., Yanık, D.K., Azalzeh, H. (2020). Pistachio (*Pistacia vera* L.) hull as a potential source of phenolic compounds: Evaluation of ethanol-water binary solvent extraction on antioxidant activity and phenolic content of pistachio hull extracts. *Waste and Biomass Valorization*, 11, 2101–2110.
- Panda, D. ve Manickam, S. (2019). Cavitation technology-the future of greener extraction



- method: A review on the extraction of natural products and process intensification mechanism and perspectives. *Applied Sciences (Switzerland)*, 9(4). doi: 10.3390/app9040766.
- Park, E.Y., Jang, S.B., Lim, S.T. (2016). Effect of fructo-oligosaccharide and isomaltoligosaccharide addition on baking quality of frozen dough. *Food Chemistry*, 213, 157–162.
- Patel, K.C., Lakhera, V.J., Sarda, D. (2013). Thermal optimization of an ice cream hardening process. *Procedia Engineering*, 51, 650–654.
- Patra, A., Abdullah, S., Pradhan, R.C. (2021). Application of artificial neural network-genetic algorithm and response surface methodology for optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from cashew apple bagasse. *Journal of Food Process Engineering*, 44(10), 1–15. doi: 10.1111/jfpe.13828.
- Patra, A., Abdullah, S., Pradhan, R.C. (2022). Optimization of ultrasound-assisted extraction of ascorbic acid, protein and total antioxidants from cashew apple bagasse using artificial neural network-genetic algorithm and response surface methodology. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(3), 1–17. doi: 10.1111/jfpp.16317.
- Peng, Y., Gardner, D.J., Han, Y., Kiziltas, A., Cai, Z., Tshabalala, M.A. (2013). Influence of drying method on the material properties of nanocellulose I: Thermostability and crystallinity. *Cellulose*, 20(5), 2379–2392. doi: 10.1007/s10570-013-0019-z.
- Pérez-Calderón, J., Califano, A., Santos, M.V., Zaritzky, N. (2017). Kinetic parameters for the thermal inactivation of peroxidase and lipoxygenase in precooked frozen brassica species. *Journal of Food Science*, 82(6), 1378–1386. doi: 10.1111/1750-3841.13717.
- Phimolsiripol, Y., Siripatrawan, U., Tulyathan, V., Cleland, D.J. (2008). Effects of freezing and temperature fluctuations during frozen storage on frozen dough and bread quality. *Journal of Food Engineering*, 84(1), 48–56.
- Picot-Allain, C., Mahomoodally, M.F., Ak, G., Zengin, G. (2021). Conventional versus green extraction techniques — A comparative perspective. *Current Opinion in Food Science*, 40, 144–156. doi: 10.1016/j.cofs.2021.02.009.
- Polaki, A., Xasapis, P., Fasseas, C., Yanniotis, S., Mandala, I. (2010). Fiber and hydrocolloid content affect the microstructural and sensory characteristics of fresh and frozen stored bread. *Journal of Food Engineering*, 97(1), 1–7.

- Popov-Raljić, J.V., Mastilović, J.S., Laličić-Petronijević, J.G., Popov, V.S. (2009). Investigations of bread production with postponed staling applying instrumental measurements of bread crumb color. *Sensors*, 9(11), 8613–8623.
- Pradhan, D., Jaiswal, A.K., Jaiswal, S. (2022). Emerging technologies for the production of nanocellulose from lignocellulosic biomass. *Carbohydrate Polymers*, 285(November 2021), 119258. doi: 10.1016/j.carbpol.2022.119258.
- Prakongpan, T., Nitithamyong, A., Luangpituksa, P. (2002). Extraction and application of dietary fiber and cellulose from pineapple cores. *Journal of Food Science*, 67(4), 1308–1313.
- Qian, M., Lei, H., Villota, E., Zhao, Y., Wang, C., Huo, E., Zhang, Q., Mateo, W., Lin, X. (2021). High yield production of nanocrystalline cellulose by microwave-assisted dilute-acid pretreatment combined with enzymatic hydrolysis. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 160, 108292. doi:10.1016/j.cep.2020.108292.
- Qian, S., Hu, F., Mehmood, W., Li, X., Zhang, C., Blecker, C. (2022). The rise of thawing drip: Freezing rate effects on ice crystallization and myowater dynamics changes. *Food Chemistry*, 373, 1–9.
- Qu, R., Wang, Y., Li, D., Wang, L. (2021a). Rheological behavior of nanocellulose gels at various calcium chloride concentrations. *Carbohydrate Polymers*, 274, 118660.
- Qu, R., Wang, Y., Li, D., Wang, L. (2021b). The study of rheological properties and microstructure of carboxylated nanocellulose as influenced by level of carboxylation. *Food Hydrocolloids*, 121, 106985.
- Rajinipriya, M., Nagalakshmaiah, M., Robert, M., Elkoun, S. (2018). Importance of agricultural and industrial waste in the field of nanocellulose and recent industrial developments of wood based nanocellulose: A review. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6(3), 2807–2828.
- Raju, R., Bryant, S.J., Wilkinson, B.L., Bryant, G. (2021). The need for novel cryoprotectants and cryopreservation protocols: Insights into the importance of biophysical investigation and cell permeability. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1865(1), 129749.
- Rashid, R., Mohd Wani, S., Manzoor, S., Masoodi, F.A., Masarat Dar, M. (2022). Green extraction of bioactive compounds from apple pomace by ultrasound assisted natural

- deep eutectic solvent extraction: Optimisation, comparison and bioactivity. *Food Chemistry*, 398(July 2022), 133871. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.133871.
- Rashid, S. ve Dutta, H. (2020). Characterization of nanocellulose extracted from short, medium and long grain rice husks. *Industrial Crops and Products*, 154, 112627. doi:10.1016/j.indcrop.2020.112627.
- Ravindran, L., Sreekala, M.S., Thomas, S. (2019). Novel processing parameters for the extraction of cellulose nanofibres (CNF) from environmentally benign pineapple leaf fibres (PALF): Structure-property relationships. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131, 858–870.
- Raza, A., Li, F., Xu, X., Tang, J. (2017). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of antioxidant polysaccharides from the stem of *Trapa quadrispinosa* using response surface methodology. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94, 335–344. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.10.033.
- Ribotta, P.D., León, A.E., Añón, M.C. (2001). Effect of freezing and frozen storage of doughs on bread quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 913–918.
- Ribotta, P.D., León, A.E., Añón, M.C. (2003a). Effects of yeast freezing in frozen dough. *Cereal Chemistry*, 80(4), 454–458.
- Ribotta, P.D., León, A.E., Añón, M.C. (2003b). Effect of freezing and frozen storage on the gelatinization and retrogradation of amylopectin in dough baked in a differential scanning calorimeter. *Food Research International*, 36(4), 357–363.
- Ribotta, P.D., Perez, G.T., Leon, A.E., Anon, M.C. (2004). Effect of emulsifier and guar gum on micro structural, rheological and baking performance of frozen bread dough. *Food Hydrocolloids*, 18(2), 305–313.
- Rivera, K.K., Madiyar, F., Larsen, A. (2019). Review of the statistical analytical techniques for the optimization of ultrahigh pressure for extracting biologically active compounds. *Embry-Riddle Aeronautical University, The Office of Undergraduate Research*.
- Roos, Y.H. (2010). Glass transition temperature and its relevance in food processing. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1(1), 469–496. doi: 10.1146/annurev.food.102308.124139.
- Rostami, H. ve Gharibzahedi, S.M.T. (2016). Microwave-assisted extraction of jujube polysaccharide: Optimization, purification and functional characterization. *Carbohydrate*

*Polymers*, 143, 100–107.

- Rouille, J., Le Bail, A., Courcoux, P. (2000). Influence of formulation and mixing conditions on breadmaking qualities of French frozen dough. *Journal of Food Engineering*, 43(4), 197–203.
- Rubel, I.A., Pérez, E.E., Manrique, G.D., Genovese, D.B. (2015). Fibre enrichment of wheat bread with Jerusalem artichoke inulin: Effect on dough rheology and bread quality. *Food Structure*, 3, 21–29.
- Sabara, Z., Mutmainnah, A., Kalsum, U., Afiah, I.N., Husna, I., Saregar, A., Umam, R. (2022). Sugarcane bagasse as the source of nanocrystalline cellulose for gelatin-free capsule shell. *International Journal of Biomaterials*, 2022, 1–8.
- Saha, J., Chakraborty, S., Deka, S.C. (2016). A comparative study between response surface methodology and genetic algorithm in optimization and extraction of leaf protein concentrate from *Diplazium esculentum* of Assam. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*, 5(3), 111–120.
- Sai Prasanna, N., Mitra, J. (2020). Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from *Cucumis sativus* peels. *Carbohydrate Polymers*, 247, 116706. doi:10.1016/j.carbpol.2020.116706.
- Saini, R.K. ve Keum, Y.S. (2018). Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. *Food Chemistry*, 240, 90–103. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.07.099.
- Sajjad, W., He, F., Ullah, M.W., Ikram, M. (2020). Fabrication of bacterial cellulose-curcumin nanocomposite as a novel dressing for partial thickness skin burn. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 1–12. doi:10.3389/fbioe.2020.553037.
- Salari, M., Dehghani, M.H., Azari, A., Motevalli, M.D., Shabanloo, A., Ali, I. (2019). High performance removal of phenol from aqueous solution by magnetic chitosan based on response surface methodology and genetic algorithm. *Journal of Molecular Liquids*, 285, 146–157. doi: 10.1016/j.molliq.2019.04.065.
- Sampath, T.M., Gunathilake, U., Chee, Y., Uyama, H. (2021). Investigations on the interactions of proteins with nanocellulose produced via sulphuric acid hydrolysis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 193, 1522–1531. doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.10.215.
- Scelsi, E., Angelini, A., Pastore, C. (2021). Deep eutectic solvents for the valorisation of

- lignocellulosic biomasses towards fine chemicals. *Biomass*, 1(1), 29–59.
- Schwanninger, M., Rodrigues, J.C., Pereira, H., Hinterstoesser, B. (2004). Effects of short-time vibratory ball milling on the shape of FT-IR spectra of wood and cellulose. *Vibrational Spectroscopy*, 36(1), 23–40.
- Seguchi, M., Nikaidoo, S., Morimoto, N. (2003). Centrifuged liquid and breadmaking properties of frozen-and-thawed bread dough. *Cereal Chemistry*, 80, 264–268.
- Selomulyo, V.O. ve Zhou, W. (2007). Frozen bread dough: Effects of freezing storage and dough improvers. *Journal of Cereal Science*, 45(1), 1–17.
- Sharadanant, R. ve Khan, K. (2003). Effect of hydrophilic gums on the quality of frozen dough: II. Bread characteristics. *Cereal Chemistry*, 80(6), 773–780.
- Sharif, Z.I.M., Mustapha, F.A., Jai, J., Yusof, N.M., Zaki, N.A.M. (2017). Review on methods for preservation and natural preservatives for extending the food longevity. *Chemical Engineering Research Bulletin*, 19(2017), 145–153.
- Sharma, A., Jana, A.H., Chavan, R.S. (2012). Functionality of milk powders and milk-based powders for end use applications—A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(5), 518–528.
- Sharma, A., Thakur, M., Bhattacharya, M., Mandal, T., Goswami, S. (2019). Commercial application of cellulose nano-composites—A review. *Biotechnology Reports*, 21, 00316.
- Sharma, S., Gupta, S., Kumar, M., Maurya, P.K., Kumar, R., Majumdar, R.K. (2018). Potential of carrot concentrated protein as a natural cryoprotectant in fish surimi during frozen storage. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(3), 917–923.
- Shenoy, P., Viau, M., Tammel, K., Innings, F., Fitzpatrick, J., Ahrné, L. (2015). Effect of powder densities, particle size and shape on mixture quality of binary food powder mixtures. *Powder Technology*, 272, 165–172. doi: 10.1016/j.powtec.2014.11.023.
- Shu, F., Guo, Y., Huang, L., Zhou, M., Zhang, G., Yu, H., Zhang, J., Yang, F. (2022). Production of lignin-containing nanocellulose from poplar using ternary deep eutectic solvents pretreatment. *Industrial Crops and Products*, 177, 114404.
- Sian, L.T., Lee, Y.Y., Hing, C.K., Voon, C.S.C. (2023). A CFD analysis of core temperature for different durian paste packages layouts during air-blast freezing. *CFD Letters*, 15(1), 1–16.

- Sihag, S., Yadav, M., Pal, J. (2022). Structural and morphological characterization of nanocellulose extracted from cotton straw residue. *Journal of Water and Environmental Nanotechnology*, 7(1), 1–13.
- Silvas-García, M.I., Ramírez-Wong, B., Torres-Chávez, P.I., Carvajal-Millan, E., Barrón-Hoyos, J.M., Bello-Pérez, L.A., Quintero-Ramos, A. (2014). Effect of freezing rate and storage time on gluten protein solubility, and dough and bread properties. *Journal of Food Process Engineering*, 37(3), 237–247.
- Simmons, A.L., Serventi, L., Vodovotz, Y. (2012). Water dynamics in microwavable par-baked soy dough evaluated during frozen storage. *Food Research International*, 47(1), 58–63.
- Škara, N., Novotni, D., Čukelj, N., Smerdel, B., Ćurić, D. (2013). Combined effects of inulin, pectin and guar gum on the quality and stability of partially baked frozen bread. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 428–436.
- Soheilmoghaddam, M., Wahit, M.U., Ibrahim Akos, N. (2013). Regenerated cellulose/epoxidized natural rubber blend film. *Materials Letters*, 111, 221–224.
- Solhi, L., Guccini, V., Heise, K., Solala, I., Niinivaara, E., Xu, W., Mihhels, K., Kröger, M., Meng, Z., Wohlert, J., Tao, H., Cranston, E.D., Kontturi, E. (2023). Understanding nanocellulose-water interactions: Turning a detriment into an asset. *Chemical Reviews*, 123(5), 1925–2015. doi: 10.1021/acs.chemrev.2c00611.
- Song, K., Ji, Y., Wang, L., Wei, Y., Yu, Z. (2018). A green and environmental benign method to extract cellulose nanocrystal by ball mill assisted solid acid hydrolysis. *Journal of Cleaner Production*, 196, 1169–1175.
- Stefanello, R.F., Machado, A.A.R., Pasqualin Cavalheiro, C., Bartholomei Santos, M.L., Nabeshima, E.H., Copetti, M.V., Fries, L.L.M. (2018). Trehalose as a cryoprotectant in freeze-dried wheat sourdough production. *LWT*, 89(November 2017), 510–517.
- Stevanović, S.M., Petrović, T.S., Marković, D.D., Milovančević, U.M., Stevanović, S.V., Urošević, T.M., Kozarski, M.S. (2022). Changes of quality and free radical scavenging activity of strawberry and raspberry frozen under different conditions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(10), 1–12.
- Subbarao, C.V., Chakravarthy, I.P.K., Sai Bharadwaj, A.V.S.L., Prasad, K.M.M. (2012). Functions of hydrotropes in solutions. *Chemical Engineering and Technology*, 35(2),

225–237. doi: 10.1002/ceat.201100484.

- Sun, X., Zhang, C.Y., Wu, M.Y., Fan, Z.H., Liu, S.N., Zhu, W.B., Xiao, D.G. (2016). *MAL62* overexpression and *NTH1* deletion enhance the freezing tolerance and fermentation capacity of the baker's yeast in lean dough. *Microbial Cell Factories*, 15(1), 54.
- Suopajarvi, T., Ricci, P., Karvonen, V., Ottolina, G., Liimatainen, H. (2020). Acidic and alkaline deep eutectic solvents in delignification and nanofibrillation of corn stalk, wheat straw, and rapeseed stem residues. *Industrial Crops and Products*, 145, 111956.
- Syaka, D.R., Sugita, I.W., Bijaksana, M. (2019). Characteristics study of two-stage cascade refrigeration system design for household air blast freezing. *International Journal of Mechanical Engineering and Technology*, 10(1), 1804–1813.
- Szcześniak, L., Rachocki, A., Tritt-Goc, J. (2008). Glass transition temperature and thermal decomposition of cellulose powder. *Cellulose*, 15(3), 445–451. doi: 10.1007/s10570-007-9192-2.
- Taghizadeh, A. ve Rad-Moghadam, K. (2018). Green fabrication of Cu/pistachio shell nanocomposite using *Pistacia vera* L. hull: An efficient catalyst for expedient reduction of 4-nitrophenol and organic dyes. *Journal of Cleaner Production*, 198, 1105–1119.
- Tang, S., Feng, G., Cui, W., Gao, R., Bai, F., Wang, J., Zhao, Y., Zeng, M. (2019). Effect of  $\alpha$ -tocopherol on the physicochemical properties of Sturgeon surimi during frozen storage. *Molecules*, 24(4), 1–13.
- Thakur, M., Sharma, A., Ahlawat, V., Bhattacharya, M., Goswami, S. (2020). Process optimization for the production of cellulose nanocrystals from rice straw derived  $\alpha$ -cellulose. *Materials Science for Energy Technologies*, 3, 328–334. doi: 10.1016/j.mset.2019.12.005.
- Theivasanthi, T., Christma, F.L.A., Joshua, A., Gopinath, S.C.B. (2018). Synthesis and characterization of cotton fiber-based nanocellulose. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 832–836. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.11.054.
- Thomas, P., Duolikun, T., Rumjit, N.P., Moosavi, S., Lai, C.W., Bin Johan, M.R., Fen, L.B. (2020). Comprehensive review on nanocellulose: Recent developments, challenges and future prospects. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 110(November 2019), 103884.
- Topaloğlu, A. ve Gülten, Ş. (2002, Eylül 18–20). *Türkiye’de dondurulmuş gıda sektörü ve*

*gelişimi*. Türkiye V. Tarım Ekonomisi Kongresi, Erzurum, Türkiye.

- Trache, D., Tarchoun, A.F., Derradji, M., Hamidon, T.S., Masruchin, N., Brosse, N., Hussin, M.H. (2020). Nanocellulose: From fundamentals to advanced applications. *Frontiers in Chemistry*, 8(392).
- Tumuluru, J.S. ve Heikkila, D.J. (2019). Biomass grinding process optimization using response surface methodology and a hybrid genetic algorithm. *Bioengineering*, 6(1). doi: 10.3390/bioengineering6010012.
- Turbak, A.F., Snyder, F.W., Sandberg, K.R. (1983). U.S. Patent No. 4,374,702. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Varilla-Mazaba, A., Raggazo-Sánchez, J.A., Calderón-Santoyo, M., Gómez-Rodríguez, J., Aguilar-Uscanga, M.G. (2022). Optimization of lignin extraction by response surface methodology from sugarcane bagasse using deep eutectic solvents (DES). *Industrial Crops and Products*, 184, 115040. doi: 10.1016/j.indcrop.2022.115040.
- Vasafi, P.S., Hamdami, N., Keramat, J. (2019). Quality and microbial stability of part-baked ‘Barbari bread’ during freezing storage. *LWT*, 104, 173–179.
- Vasilenko, A., Koynov, S., Glasser, B.J., Muzzio, F.J. (2013). Role of consolidation state in the measurement of bulk density and cohesion. *Powder Technology*, 239, 366–373. doi: 10.1016/j.powtec.2013.02.011.
- Voda, A., Homan, N., Witek, M., Duijster, A., van Dalen, G., van der Sman, R., Nijse, J., van Vliet, L., van As, H., van Duynhoven, J. (2012). The impact of freeze-drying on microstructure and rehydration properties of carrot. *Food Research International*, 49(2), 687–693.
- Wang, J., Xu, J., Zhu, S., Wu, Q., Li, J., Gao, Y., Wang, B., Li, J., Gao, W., Zeng, J., Chen, K. (2021). Preparation of nanocellulose in high yield via chemi-mechanical synergy. *Carbohydrate Polymers*, 251, 117094. doi:10.1016/j.carbpol.2020.117094.
- Wang, J., Wang, Y., Ma, Z., Yan, L. (2020). Dissolution of highly molecular weight cellulose isolated from wheat straw in deep eutectic solvent of Choline/L-Lysine hydrochloride. *Green Energy and Environment*, 5(2), 232–239.
- Wang, Q., Yao, Q., Liu, J., Sun, J., Zhu, Q., Chen, H. (2019). Processing nanocellulose to bulk materials: A review. *Cellulose*, 26, 7585–7617.



- Wang, X., Pei, D., Teng, Y., Liang, J. (2018). Effects of enzymes to improve sensory quality of frozen dough bread and analysis on its mechanism. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 389–398.
- Wei, Q., Zhang, G., Mei, J., Zhang, C., Xie, J. (2023). Optimization of freezing methods and composition of frozen rice dough reconstituted by glutinous rice starch and gluten. *International Journal of Biological Macromolecules*, 240(March), 124424. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124424.
- Weng, L., Stott, S.L., Toner, M. (2019). Exploring dynamics and structure of biomolecules, cryoprotectants, and water using molecular dynamics simulations: Implications for biostabilization and biopreservation. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 21, 1–31.
- Wijaya, C.J., Ismadji, S., Aparamarta, H.W., Gunawan, S. (2019). Optimization of cellulose nanocrystals from bamboo shoots using Response Surface Methodology. *Heliyon*, 5(11), e02807. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02807.
- Wu, C., McClements, D.J., He, M., Zheng, L., Tian, T., Teng, F., Li, Y. (2021). Preparation and characterization of okara nanocellulose fabricated using sonication or high-pressure homogenization treatments. *Carbohydrate Polymers*, 255, 117364.
- Wu, W., He, H., Dong, Q., Wang, Y., An, F., Song, H. (2022). Structural and rheological properties of nanocellulose with different polymorphs, nanocelluloses I and II, prepared by natural deep eutectic solvents from sugarcane bagasse. *International Journal of Biological Macromolecules*, 220, 892–900.
- Wu, X., Yuan, Y., Hong, S., Xiao, J., Li, X., Lian, H. (2023). Controllable preparation of nano-cellulose via natural deep eutectic solvents prepared with lactate and choline chloride. *Industrial Crops and Products*, 194, 116259. doi:10.1016/j.indcrop.2023.116259.
- Wulandari, W.T., Rochliadi, A., Arcana, I.M. (2016). Nanocellulose prepared by acid hydrolysis of isolated cellulose from sugarcane bagasse. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 107(1). doi: 10.1088/1757-899X/107/1/012045.
- Xiao, Y., Liu, Y., Wang, X., Li, M., Lei, H., Xu, H. (2019). Cellulose nanocrystals prepared from wheat bran: Characterization and cytotoxicity assessment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 140, 225–233. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.160.

- Xing, S., Liu, L., Zhang, X., Guan, H., Gong, H., Li, H., Liu, W. (2022). A mathematical model to predict the color change of fresh dough sheets under fluctuation temperatures. *LWT*, 162, 113447.
- Xiong Chang, X., Mujawar Mubarak, N., Ali Mazari, S., Sattar Jatoti, A., Ahmad, A., Khalid, M., Walvekar, R., Abdullah, E.C., Karri, R.R., Siddiqui, M.T.H., Nizamuddin, S. (2021). A review on the properties and applications of chitosan, cellulose and deep eutectic solvent in green chemistry. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 104, 362–380. doi: 10.1016/j.jiec.2021.08.033.
- Xiong, B., Zhao, P., Hu, K., Zhang, L., Cheng, G. (2014). Dissolution of cellulose in aqueous NaOH/urea solution: Role of urea. *Cellulose*, 21, 1183–1192. doi:10.1007/s10570-014-0221-7.
- Xu, F., Li, X., Li, J.H., Chen, J. (2021). The interaction between inulin and wheat starch and effects of inulin on frozen storage quality of noodles. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(5), 2423–2431.
- Xu, J., Zhou, Z., Cai, J., Tian, J. (2020). Conductive biomass-based composite wires with cross-linked anionic nanocellulose and cationic nanochitin as scaffolds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 156, 1183–1190.
- Xu, R. (2008). Progress in nanoparticles characterization: Sizing and zeta potential measurement. *Particuology*, 6, 112–115. doi: 10.1016/j.partic.2007.12.002.
- Xue, H.Y., Li, J.R., Liu, Y.G., Gao, Q., Wang, X.W., Zhang, J.W., Tanokura, M., Xue, Y.L. (2019). Optimization of the ultrafiltration-assisted extraction of Chinese yam polysaccharide using response surface methodology and its biological activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 1186–1193. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.10.126.
- Xue, H., Tan, J., Li, Q., Tang, J., Cai, X. (2020). Optimization ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction of anthocyanins from raspberry using response surface methodology coupled with genetic algorithm. *Foods*, 9(10). doi: 10.3390/foods9101409.
- Yahya, M., Chen, Y.W., Lee, H.V., Hock, C.C., Hassan, W.H.W. (2019). A new protocol for efficient and high yield preparation of nanocellulose from *Elaeis guineensis* biomass: A response surface methodology (RSM) study. *Journal of Polymers and the Environment*, 27(4), 678–702.

- Yang, H., Wang, Y., Li, Q., Shuang, Y., Song, J., Pan, X., Ding, W., Ding, B., Wang, X. (2023). Role of inulin in dough and bread during freezing storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 58(4), 1795–1802.
- Yang, S., Jeong, S., Lee, S. (2020). Elucidation of rheological properties and baking performance of frozen doughs under different thawing conditions. *Journal of Food Engineering*, 284, 1–6.
- Yao, Z.Y., Qi, J.H., Wang, L.H. (2010). Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies on the biosorption of Cu (II) onto chestnut shell. *Journal of Hazardous Materials*, 174(1-3), 137–143.
- Yi, J. ve Kerr, W.L. (2009). Combined effects of dough freezing and storage conditions on bread quality factors. *Journal of Food Engineering*, 93(4), 495–501.
- Yilmaz, F.M. ve Ersus, S. (2018). Ultrasound-assisted vacuum impregnation on the fortification of freshcut apple with calcium and black carrot phenolics. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48, 509–516.
- Yilmaz, F.M. ve Zungur Bastioğlu, A. (2020). Production of phenolic enriched mushroom powder as affected by impregnation method and air drying temperature. *LWT*, 122, 109036.
- Yingngam, B., Tantiraksaroj, K., Taweetao, T., Rungseevijitprapa, W., Supaka, N., Brantner, A.H. (2018). Modeling and stability study of the anthocyanin-rich maoberry fruit extract in the fast-dissolving spray-dried microparticles. *Powder Technology*, 325, 261–270.
- You, Y., Kang, T., Jun, S. (2020). Control of ice nucleation for subzero food preservation. *Food Engineering Reviews*, 13, 15–35.
- Yu, W., Wang, C., Yi, Y., Zhou, W., Wang, H., Yang, Y., Tan, Z. (2019). Choline chloride-based deep eutectic solvent systems as a pretreatment for nanofibrillation of ramie fibers. *Cellulose*, 26(5), 3069–3082.
- Yue, C., Tang, Y., Qi, W., Zhao, Y., Liu, P., Hu, J., Song, L., Luo, D. (2023). Influences of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> on the rheological, water distribution, and microstructural properties of 5% long-chain inulin dough and quality of steamed bread. *LWT*, 176, 114501.
- Yusra, A.I., Juahir, H., Firdaus, N.N.A., Bhat, A.H., Endut, A., Khalil, H.A., Adiana, G. (2018). Controlling of green nanocellulose fiber properties produced by chemo-

- mechanical treatment process via SEM, TEM, AFM and image analyzer characterization. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 10(1), 1–17.
- Zaritzky, N.E. (2000). Factors affecting the stability of frozen foods. In C.J. Kennedy (Ed.), *Managing frozen foods* (pp. 111–135). Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Zeynali, M., Naji-Tabasi, S., Farahmandfar, R. (2019). Investigation of basil (*Ocimum bacilicum* L.) seed gum properties as cryoprotectant for frozen foods. *Food Hydrocolloids*, 90, 305–312.
- Zhang, Y., Holman, B.W.B., Ponnampalam, E.N., Kerr, M.G., Bailes, K.L., Kilgannon, A.K., Collins, D., Hopkins, D.L. (2019). Understanding beef flavour and overall liking traits using two different methods for determination of thiobarbituric acid reactive substance (TBARS). *Meat Science*, 149, 114–119.
- Zhang, Y., Jin, P., Huang, Y., Shan, T., Wang, L., Li, Y., Zheng, Y. (2016). Effect of hot water combined with glycine betaine alleviates chilling injury in cold-stored loquat fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 118, 141–147.
- Zhao, A., Shi, P., Yang, R., Gu, Z., Jiang, D., Wang, P. (2022). Isolation of novel wheat bran antifreeze polysaccharides and the cryoprotective effect on frozen dough quality. *Food Hydrocolloids*, 125, 107446.
- Zhao, D.Y., Shen, L., Fan, B., Liu, K.L., Yu, M.M., Zheng, Y., Ding, Y., Sheng, J.P. (2009). Physiological and genetic properties of tomato fruits from 2 cultivars differing in chilling tolerance at cold storage. *Journal of Food Science*, 74(5), 348–352.
- Zhao, Y. ve Takhar, P.S. (2017). Micro X-ray computed tomography and image analysis of frozen potatoes subjected to freeze-thaw cycles. *LWT*, 79, 278–286.
- Zheng, B., Yuan, Y., Xiang, J., Jin, W., Johnson, J.B., Li, Z., Wang, C., Luo, D. (2022). Green extraction of phenolic compounds from foxtail millet bran by ultrasonic-assisted deep eutectic solvent extraction: Optimization, comparison and bioactivities. *LWT*, 154, 112740. doi: 10.1016/j.lwt.2021.112740.
- Zhu, F. (2021). Frozen steamed breads and boiled noodles: Quality affected by ingredients and processing. *Food Chemistry*, 349, 129178.
- Zounis, S., Quail, K.J., Wootton, M., Dickson, M.R. (2002). Effect of final dough temperature on the microstructure of frozen bread dough. *Journal of Cereal Science*, 36, 135–146.

Zwingelstein, M., Draye, M., Besombes, J.L., Piot, C., Chatel, G. (2020). Viticultural wood waste as a source of polyphenols of interest: Opportunities and perspectives through conventional and emerging extraction methods. *Waste Management*, 102, 782–794. doi: 10.1016/j.wasman.2019.11.034.



**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİLİMSEL ETİK BEYANI**

“Antep Fıstığı Dış Kabuğu ve Kestane Kabuğundan Yenilikçi Yöntemlerle Üretilen Nanoselülozun Farklı Teknolojilerle Dondurulmuş Ekmek Hamurunda Kriyoprotektan Olarak Kullanım Potansiyelinin Araştırılması” başlıklı Doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Ahmet GÖRGÜÇ

09/06/2023

## ÖZ GEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : Görgüç, Ahmet

**Yabancı Dil** : İngilizce

### EĞİTİM

| Derece        | Kurum                                                                                           | Mezuniyet tarihi (yıl) |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| Doktora       | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi<br>Fen Bilimleri Enstitüsü<br>Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı | ...                    |
| Yüksek Lisans | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi<br>Fen Bilimleri Enstitüsü<br>Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı | 2018                   |
| Lisans        | Erciyes Üniversitesi<br>Mühendislik Fakültesi<br>Gıda Mühendisliği Bölümü                       | 2014                   |

### İŞ DENEYİMİ

| Yıl        | Yer/Kurum                                                                                                                  | Unvan               |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| 2016 – ... | Aydın Adnan Menderes Üniversitesi<br>Mühendislik Fakültesi<br>Gıda Mühendisliği Bölümü<br>Gıda Teknolojileri Anabilim Dalı | Araştırma Görevlisi |

### AKADEMİK YAYINLAR

#### 1. MAKALELER

##### Uluslararası Kitap ve Kitap Bölümleri

- Gençdağ, E., **Görgüç, A.**, Yılmaz, F.M. (2022). Valorization of sweet cherry (*Prunus avium*) wastes as a source of advanced bioactive compounds. In: Ramadan M.F., Farag M.A. (eds) Mediterranean Fruits Bio-wastes. Chemistry, Functionality and Technological Applications. *Springer, Cham*, 559–579.
- Görgüç, A.**, Gençdağ, E., Yılmaz, F.M. (2022). Industrial pomegranate wastes and their functional benefits in novel food formulations. In: Ramadan M.F., Farag M.A. (eds)

Mediterranean Fruits Bio-wastes. Chemistry, Functionality and Technological Applications. *Springer, Cham*, 721–738.

- Yılmaz F.M., **Görgüç A.**, Gençdağ E. (2021) Recovery and Purification of Antioxidant Compounds from Plant Origin Agro-Industrial By-products. In: Ekiert H.M., Ramawat K.G., Arora J. (eds) Plant Antioxidants and Health. Reference Series in Phytochemistry. *Springer, Cham*.

#### Uluslararası Makaleler (SCI & SCI-Expanded)

- Gençdağ, E., **Görgüç, A.**, Anakız, S., Yılmaz, F.M. (2023). Processing of verjuice by ultrasound-assisted microwave heating: An assessment on the enzyme activity retention, technological parameters and bioactive properties. *Food Science and Technology International*, in press.
- Bozkurt, S., **Görgüç, A.**, Gençdağ, E., Elmas, F., Koç, M., Yılmaz, F.M. (2023). Principles and recent applications of vacuum technology in the processing of dough-based cereal products: A comprehensive review. *Food Chemistry*, 403, 134443.
- Başığit, B., **Görgüç, A.**, Gençdağ, E., Cansu, Ü., Yılmaz, F.M., Karaaslan, M. (2022). Functional characterization of high-yield plant protein powder valorized from de-oiled sour cherry seed using microwave-assisted enzymatic extraction followed by spray-and freeze-drying. *Biomass Conversion and Biorefinery*, in press.
- **Görgüç, A.**, Gençdağ, E., Demirci, K., Vayiç, A., Yılmaz, F.M. (2022). The effect of high-power ultrasound pretreatment on drying efficiency and bioactive compounds of chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.). *Food Science and Technology International*, in press.
- Özdemir, E.E., **Görgüç, A.**, Gençdağ, E., Yılmaz, F.M. (2022). Physicochemical, functional and emulsifying properties of plant protein powder from industrial sesame processing waste as affected by spray and freeze drying. *LWT - Food Science and Technology*, 154, 112646.
- Gençdağ, E., **Görgüç, A.**, Aylan, F., Arı, G., Bilgin, Ö., Yılmaz, F.M. (2021). Techno-functional effect of stevia extract substitution on dry fig-fortified ice cream. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(6), e15578.
- **Görgüç, A.**, Gençdağ, E., Okuroğlu, F., Yılmaz, F.M., Bıyık, H. H., Köse, S. Ö., Ersus, S. (2021). Single and combined decontamination effects of power-ultrasound, peroxyacetic acid and sodium chloride sanitizing treatments on *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* and *Penicillium expansum* inoculated dried figs. *LWT - Food Science and Technology*, 140, 110844.
- Gençdağ, E., **Görgüç, A.**, Okuroğlu, F., Yılmaz, F.M. (2021). The effects of power-ultrasound, peroxyacetic acid and sodium chloride washing treatments on the physical and chemical quality characteristics of dried figs. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(1), e15009.



- Gençdağ, E., **Görgüç, A.**, Yılmaz, F.M. (2021). Recent advances in the recovery techniques of plant-based proteins from agro-industrial by-products. *Food Reviews International*, 37(4), 447–468.
- Yılmaz, F.M., **Görgüç, A.**, Uygun, Ö., Bircan, C. (2021). Steviol glycosides and polyphenols extraction from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves using maceration, microwave- and ultrasound-assisted techniques. *Separation Science and Technology*, 56(5), 936–948.
- **Görgüç, A.**, Gençdağ, E., Yılmaz, F.M. (2020). Bioactive peptides derived from plant origin by-products: Biological activities and techno-functional utilizations in food developments—A review. *Food Research International*, 136, 109504.
- **Görgüç, A.**, Özer, P., Yılmaz, F.M. (2020). Simultaneous effect of vacuum and ultrasound assisted enzymatic extraction on the recovery of plant protein and bioactive compounds from sesame bran. *Journal of Food Composition and Analysis*, 87, 103424.
- **Görgüç, A.**, Özer, P., Yılmaz, F.M. (2020). Microwave-assisted enzymatic extraction of plant protein with antioxidant compounds from the food waste sesame bran: Comparative optimization study and identification of metabolomics using LC/Q-TOF/MS. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(1), e14304.
- **Görgüç, A.**, Bircan, C., Yılmaz, F.M. (2019). Sesame bran as an unexploited by-product: Effect of enzyme and ultrasound-assisted extraction on the recovery of protein and antioxidant compounds. *Food Chemistry*, 283, 637 – 645.
- Yılmaz, F.M., **Görgüç, A.**, Karaaslan, M., Vardin, H., Ersus, S., Uygun, Ö., Bircan, C. (2019). Sour cherry by-products: Compositions, functional properties and recovery potentials – A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(22), 3549 – 3563.

#### Uluslararası Makaleler (Diğer İndeksler)

- Gençdağ, E., Özdemir, E.E., Demirci, K., **Görgüç, A.**, Yılmaz, F.M. (2022). Copigmentation and stabilization of anthocyanins using organic molecules and encapsulation techniques. *Current Plant Biology*, 29, 100238.
- **Görgüç, A.**, Gençdağ, E., Yılmaz, F.M. (2019). Optimization of microwave assisted enzymatic extraction of steviol glycosides and phenolic compounds from *Stevia* leaf. *Acta Periodica Technologica*, (50), 69-76.

#### Ulusal Makaleler (TR-İndeks)

- Özdemir, E.E., **Görgüç, A.**, Gençdağ, E., Yılmaz, F.M. (2021). Püskürtmeli kurutma ve dondurarak kurutma yöntemlerinin temelleri ve bu yöntemler ile gıda atıklarından toz ürünlerin üretimi. *GIDA/The Journal of FOOD*, 46(3), 583-607.

- **Görgüç, A.**, Gençdağ, E., Yılmaz, F.M. (2020). Gıda atıklarından biyoaktif peptitlerin geri kazanımı ve biyoyararlanım özellikleri. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 8(4), 855-863.
- Okuroğlu, F., **Görgüç, A.**, Yılmaz, F.M. (2019). Ultrases yıkama işleminin meyve ve sebzelerin mikrobiyal dekontaminasyonunda kullanımı. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(3), 1201-1216.
- Gençdağ, E., **Görgüç, A.**, Yılmaz, F.M. (2019). Kuru incirin işlenmesi, kalite problemleri ve gıda endüstrisinin geliştirdiği yenilikçi yöntemler. *Akademik Gıda*, 17(3), 378-388.
- **Görgüç, A.**, Gençdağ, E., Tecimen, S., Anakız, S., Köse, S.Ö., Bıyık, H.H., Yılmaz, F.M. (2019). Ultrases yıkama işleminin taze çileklerin soğukta depolama esnasında kalite özelliklerine etkisi. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi*, 7(9), 1457-1464.
- Gençdağ, E., **Görgüç, A.**, Birişik, M., Genç, E., Başkurt, C., Yılmaz, F.M. (2019). Kırmızı pancar suyu üretiminde enzim ön uygulaması: İşlem koşullarının meyve suyu verimi, betanin miktarı, toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite üzerine etkisi. *GIDA/The Journal of FOOD*, 44(4), 593-604.
- **Görgüç, A.** ve Yılmaz, F.M. (2019). Susam kepeğinden protein ve antioksidan özellikli maddelerin geri kazanım potansiyelinin bazı temel bileşim analizleri ile incelenmesi. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi*, 7(4), 624 – 630.
- **Görgüç, A.**, Yıldırım, A., Takma, D.K., Erten, E.S., Yılmaz, F.M. (2019). Aydın ilinde yetiştirilen ticari çilek çeşitlerinin fiziksel, kimyasal, biyoaktif ve aroma özellikleri. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 23(2), 131-141.
- Özer, P., **Görgüç, A.**, Yılmaz, F.M. (2018). Mikrodalga teknolojisinin bitkisel dokulardan makro ve mikro bileşenlerin özütlenmesinde kullanımı. *GIDA/The Journal of Food*, 43(5), 765 – 775.

## 2. PROJELER

- Sağlıklı bir Akdeniz diyetinin benimsenmesinin artırılması, *PRIMA*, 2023 – ... (Araştırmacı).
- Endüstriyel vişne çekirdeği atığından katma değeri yüksek bitkisel protein tozu üretimi, protein bar üretim formülasyonunda kullanımı ve ticarileştirilmesi, *T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı TAGEM Projesi*, 2021 – ... (Araştırmacı).
- Dondurulmuş gıda ürünlerinde kalite kayıplarının önlenmesi/azaltılmasında yenilikçi yaklaşımlar: Kriyoprotektan üretimi, kriyoprotektanların model gıdalara aktarımı ve farklı dondurma – çözündürme teknikleri ile depolama süresince etkilerinin incelenmesi, *TÜBİTAK-1001*, 2021 – 2023 (Bursiyer).
- Koruk suyunun pastörizasyonunda mikrodalga ve konvensiyonel ısı işlem yöntemlerin ürün depolama süresince mikrobiyal ve biyoaktif kalite özelliklerine etkileri, *Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, BAP*, 2019 – 2021 (Araştırmacı).

- Aronya (*Aronia melanocarpa*) meyvesinin tepsili kurutucu ile kurutulmasında ultrases ön işleminin etkisi ve kuruma kinetiği ile biyoaktif bileşenlerin değişiminin incelenmesi, *TÜBİTAK-2209-A*, 2019 – 2020 (Danışman).
- Ultrases ile yıkama işleminin kuru incirde mikrobiyal dekontaminasyon etkisinin incelenmesi, *TÜBİTAK-1002*, 2019 – 2020 (Bursiyer).
- Susam kepeğinden bitkisel protein tozu üretimi: Atık değerlendirme, farklı özütleme tekniklerinin ve püskürtmeli kurutma işlem parametrelerinin etkilerinin belirlenmesi, *TÜBİTAK-3501*, 2018 – 2021 (Bursiyer).
- İnsan beslenmesine uygun yulaf çeşitlerinin geliştirilmesi, *TÜBİTAK-1003*, 2015 – 2018 (Bursiyer).

### 3. BİLDİRİLER

#### A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

- Yılmaz, F.M., & **Görgüç, A.** Identification of Protein and Phenolic Compounds in Sesame Bran Enzymatic Protein Extracts by LC/Q-TOF/MS, 3<sup>rd</sup> International Conference on Food Bioactives & Health (2022, *Parma, Italy*) – Poster Sunum.
- **Görgüç, A.**, Yılmaz, F.M., Zungur Bastıoğlu, A., & Gençdağ, E. Cellulose based Cryo-Protectant Production from Food Industry Wastes, 3<sup>rd</sup> International Conference on Food Bioactives & Health (2022, *Parma, Italy*) – Poster Sunum.
- Okuroğlu, F., **Görgüç, A.**, Gençdağ, E., Öztürk Köse, S., Bıyık, H.H., Yılmaz, F.M. Decontamination effect of peroxyacetic acid on *Penicillium expansum* inoculated dried figs, First International Congress of the Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology (*TURJAF 2019, Antalya, Türkiye*) – Sözlü Sunum.
- **Görgüç, A.**, Gençdağ, E., Yılmaz F.M. Optimization of microwave assisted enzymatic extraction of steviol glycosides and phenolic compounds from stevia leaf, International Conference on Advanced Production and Processing (*ICAPP 2019, Novi Sad, Serbia*) – Sözlü Sunum.
- **Görgüç, A.**, Gençdağ, E., Yılmaz F.M. Combined effects of novel technologies on vacuum impregnation treatments of foods, International Conference on Agronomy and Food Science and Technology (*AGROFOOD 2019, İstanbul, Türkiye*) – Sözlü Sunum.
- Gençdağ, E., **Görgüç, A.**, Yılmaz F.M. The effect of impregnation pre-treatments on drying kinetics of saffron milk cap (*Lactarius deliciosus*), International Conference on Agronomy and Food Science and Technology (*AGROFOOD 2019, İstanbul, Türkiye*) – Sözlü Sunum.
- **Görgüç, A.**, Yılmaz, F.M., Bircan, C. Food waste sesame bran: A new plant protein source, Fifth International ISEKI Food Conference (*ISEKI 2018, Stuttgart, Germany*) – Sözlü Sunum.

- Yılmaz, F.M., **Görgüç, A.**, Birişik, M., Genç, E., Başkurt, C. Enzymatic extraction of betalains from red beet, Fifth International ISEKI Food Conference (*ISEKI 2018, Stuttgart, Germany*) – Sözlü Sunum.
- Yılmaz, F.M., **Görgüç, A.**, Karaaslan, M., Vardin, H., Ersus, S., Uygun, Ö., Bircan C. Composition and functional properties of sour cherry seed oil – A review, Fifth International ISEKI Food Conference (*ISEKI 2018, Stuttgart, Germany*) – Poster Sunum.
- Yılmaz, F.M., **Görgüç, A.**, Bircan, C. Protein isolation from sesame bran, First International GAP Agriculture and Livestock Congress (*UGAP 2018, Şanlıurfa, Türkiye*) – Sözlü Sunum.
- Yılmaz, F.M., **Görgüç, A.**, Karaaslan, M., Vardin, H., Bircan, C. Recovery potentials of grape and sour cherry by products, First International GAP Agriculture and Livestock Congress (*UGAP 2018, Şanlıurfa, Türkiye*) – Sözlü Sunum.
- Yılmaz, F.M., **Görgüç, A.**, Yıldırım, E., Karakuş, M. Formulation and production of colored hard candy, First International GAP Agriculture and Livestock Congress (*UGAP 2018, Şanlıurfa, Türkiye*) – Poster Sunum.
- Yılmaz, F.M., **Görgüç, A.**, Elmas, F., Mutlu, Ç.G., Atılğan, Ö. Ultrasound assisted extraction of natural colorant from red beet (*Beta vulgaris* L.), First International GAP Agriculture and Livestock Congress (*UGAP 2018, Şanlıurfa, Türkiye*) – Poster Sunum.

## **B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler**

- Demirci, K., **Görgüç, A.**, Bayraktar, B., & Yılmaz, F.M. Türkiye'nin üretim ve işlemede söz sahibi olduğu endüstriyel meyveler, Ulusal Meyvecilik Sempozyumu (*2022, Isparta, Türkiye*) – Sözlü Sunum.
- Bayraktar, B., **Görgüç, A.**, Demirci, K., & Yılmaz, F.M. Meyve yan-ürünlerinden elde edilen bileşenlerin üç boyutlu yazıcı filamenti olarak kullanım olanakları, Ulusal Meyvecilik Sempozyumu (*2022, Isparta, Türkiye*) – Sözlü Sunum.