T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SÜPERKRİTİK CO_2 İLE TRÜF MANTARI (*TUBER AESTİVUM*) EKSTRAKSİYONUNUN OPTİMİZASYONU VE MİKROENKAPSÜLASYONU

Akif ÇİÇEK

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2023

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İÇİNDEKİLER ii
ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
ŞEKİLLER DİZİNİ iv
ÇİZELGELER DİZİNİ v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ vi
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 5
3. MATERYAL ve YÖNTEM 7
3.1. Materyal 7
3.1.1. Hammaddenin hazırlanması 7
3.2. Yöntem 7
3.2.1. Trüf mantarı *(Tuber aestivum)* ekstraksiyon işlemi 8
3.2.1.1. Trüf mantarı (*Tuber aestivum*) aromasının mikroenkapsülasyon işlemi 9
3.2.2. Fiziksel ve fizikokimyasal analizler 10
3.2.2.1. Su aktivitesi 11
3.2.2.2. Islanabilirlik 11
3.2.2.3. Kitle yoğunluğu ve sıkıştırılmış kitle yoğunluğu 12
3.2.2.4. Hausner oranı ve Carr indeks 12
3.2.2.5. Toplam fenolik madde miktarı analizi 13
3.2.2.6. Toplam flavonoid miktarı analizi 14
3.2.2.7. DPPH ile antioksidan kapasite analizi 15
3.2.2.8. ABTS katyon radikali süpürme aktivite analizi 16
3.2.2.9. Toplam antosiyanin miktarı analizi 17
3.2.2.10. Kondanse tanen miktarı analizi ve uygulanışı 17
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 19
4.1. Yanıt Yüzey Metodolojisi ile Model İstatistiği 19
4.3. Trüf Mantarının Süperkritik CO2 Ekstraksiyonu İle Elde Edilen Verim Değerleri 21
4.3. Trüf mantarı aromasının fizikokimyasal analizleri 24
4.3.1. Trüf mantarı aromasının DPPH süpürme aktivite analizi 25
4.3.2. Trüf mantarı aromasının ABTS süpürme aktivitesi analizi 27
4.3.3. Trüf mantarı aromasının TFMM miktarları 30
4.4. Trüf mantarı aromasının enkapsülasyon koşulları 31
4.4.1. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin DPPH süpürme aktivitesi analizi 32
4.4.2. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin ABTS süpürme aktivitesi analizi 33
4.4.3. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin TFMM analizi 34
4.5. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin fiziksel analizleri 35
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 40
KAYNAKLAR 42
ÖZGEÇMİŞ ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SÜPERKRİTİK CO_2 İLE TRÜF MANTARI (*TUBER AESTİVUM*) EKSTRAKSİYONUNUN OPTİMİZASYONU VE MİKROENKAPSÜLASYONU

Akif ÇİÇEK

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Eyyüp KARAOĞUL
Yıl: 2023, Sayfa:44

Yapılan bu çalışma sürecinde trüf mantarı (*Tuber aestivum*) aromasının mikroenkapsülasyonu planlanmıştır. Bu amaçla, trüf mantarından süperkritik CO_2 ekstraksiyon cihazı kullanılarak aroma elde edilmiştir. Elde edilen bu aromanın, püskürtmeli kurutma ile liyofilizasyon tekniğinden yararlanılarak mikroenkapsülasyon yapılmıştır. Enkapsülasyon işleminin duvar malzemesi olarak maltodekstrin ve gam arabik kullanılmıştır. Enkapsülasyon işlemi öncesi ve sonrasında trüf mantarı aromasının fizikokimyasal analizleri yapılmıştır. Ek olarak, trüf mantarı aromasına Design expert programı ile model istatistiği ve bu modellere ait model katsayıları ve ANOVA çıktıları elde edilmiştir. Aynı zamanda aroma ve aroma enkapsüllerinin; su aktivitesi, toplam verim, kitle ve sıkıştırılmış kitle yoğunluğu, Carr indeks, Hausner oranı, ıslanabilirlik, toplam antioksidan, fenolik, flavanoid, antosiyanin, kondanse tanen ve brix gibi kimyasal özellikleri incelenmiştir. Trüf mantarı aromasında en yüksek antioksidan aktivite 200 bar basınç ve 60 ºC sıcaklıkta %27.13 olarak belirlenmiştir. En yüksek toplam fenolik madde miktarı ise 200 bar basınç ve 60 ºC sıcaklıkta 11,06 mg GAE/kg olarak tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda; toplam antosiyanin, toplam flavanoid ve kondanse tanen miktarlarının trüf mantarı aromasında bulunmadığı görülmüştür. Trüf mantarı aromasının Design expert sonucunda; verim ve fenolik madde miktarı değerinde 2FI modeli önerilmiştir. DPPH 75 mg/100 ml ve DPPH trolox 75 mg/100 ml değerlerinde kübik, DPPH IC50 değerinde ise kuadratik model önerilmiştir. Önerilen bu model türleri için $p<0.05$ olması modellerin anlamlı olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda, sıcaklık parametresinin antioksidan aktivite sonuçlarında $p<0.05$ ile önemli bulunurken, fenolik madde miktarı sonuçlarında ise $p>0.05$ ile önemli bulunmadığı tespit edilmiştir. Püskürtmeli ve dondurarak kurutma yöntemi sonucu elde edilen trüf mantarı ekstre ve aroma enkapsüllerinin yüksek miktarda antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Mantar enkapsüllerinde TFMM değerleri 53.05 mg GAE/kg püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen mantar tozlarında ve 43.75 mg GAE/kg dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen mantar tozlarında belirlenmiştir. Kapsülasyon teknikleri karşılaştırıldığında; spray dryer ile gerçekleştirilen enkapsülasyon işleminin lyofilizasyon ile yapılan kurutma işleminden daha fazla toplam fenolik madde miktarı bulundurduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca dondurarak kurutma (liyofilizasyon) ile elde edilen enkapsüllerin daha iyi su aktivitesi (0.060) ve enkapsülasyon verimine sahip olduğu saptanmıştır. Fakat püskürtmeli kurutma (spray dryer) metoduyla elde edilen tozlarda ise Carr indeks, Hausner oranı, ıslanabilirlik gibi özelliklerin daha kabul edilebilir seviyede olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda; Püskürtmeli kurutma (spray dryer) ile elde edilen mantar tozlarının daha kabul edilebilir özellikte olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak Trüf mantarı enkapsülasyonu ile kullanıma hazır yeni bir ürün elde edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Trüf mantarı, süperkritik CO_2, mikroenkapsülasyon, aroma, fizikokimyasal analizler

ABSTRACT

MSc Thesis

OPTIMIZATION AND MICROENCAPSULATION OF TRUFFLE AESTIVUM EXTRACTION WITH SUPERCRITICAL CO2
Akif ÇİÇEK

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. EYYÜP KARAOĞUL
Year:2023, Page:44

In this study, microencapsulation of truffle (Tuber aestivum) aroma was planned. For this purpose, aroma was obtained from truffles by using a supercritical CO2 extraction device. Microencapsulation of this aroma obtained was carried out by using spray drying and lyophilization technique. Maltodextrin and gum arabic were used as the wall material of the encapsulation process. Physicochemical analyzes of truffle aroma were made before and after the encapsulation process. In addition, model statistics, model coefficients and ANOVA outputs of the models were obtained with the Design expert program for truffle aroma. At the same time, aroma and aroma encapsulations; Chemical properties such as water activity, total yield, bulk and compacted bulk density, Carr index, Hausner ratio, wettability, total antioxidant, phenolic, flavonoid, anthocyanin, condensed tannin and brix were investigated. The highest antioxidant activity in truffle aroma was determined as 27.13% at 200 bar pressure and 60 ºC temperature. The highest total phenolic substance content was determined as 11.06 mg GAE/kg at 200 bar pressure and 60 ºC temperature. As a result of the Design expert of the truffle aroma; 2FI model was proposed for yield and phenolic content value. A cubic model is proposed for DPPH 75 mg/100 ml and DPPH trolox 75 mg/100 ml values, and a quadratic model for DPPH IC50 values. For these proposed model types, $p<0.05$ indicates that the models are significant. At the same time, while the temperature parameter was found to be significant in the antioxidant activity results with $p<0.05$, it was not found to be significant in the phenolic substance content results with $p>0.05$. As a result of the analyzes made; It was observed that total anthocyanin, total flavonoid and condensed tannin amounts were not found in truffle aroma. It was determined that truffle extract and aroma encapsules obtained as a result of spray and freeze drying method showed high antioxidant activity. TFMM values in mushroom encapsules were determined in 53.05 mg GAE/kg mushroom powders obtained by spray drying method and 43.75 mg GAE/kg mushroom powders obtained by freeze drying method. When encapsulation techniques are compared; It has been observed that the encapsulation process with a spray dryer contains more total phenolic substance than the drying with lyophilization. In addition, it was determined that the encapsules obtained by freeze drying (lyophilization) had better water activity (0.060) and encapsulation efficiency. However, it was determined that the properties such as Carr index, Hausner ratio and wettability were more acceptable in the powders obtained by the spray dryer method. As a result of these studies; It has been determined that the mushroom powders obtained by spray dryer are more acceptable. As a result, a new ready-to-use product was obtained with truffle encapsulation.

KEY WORDS: Truffle, supercritical CO2, microencapsulation, aroma, physicochemical analysis

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım süresince danışmanlığımı yapan, bilgi, deneyim ve zamanını benden esirgemeyen, her zaman sabır ve güvenle bu yolda ilerlememi sağlayan, kendisi ile çalışmaktan mutluluk duyduğum hocam Sayın Doç.Dr. Eyyüp KARAOĞUL'a, tez jüri üyelerim Sayın Prof. Dr. İbrahim Hayoğlu ve Doç.Dr Ertuğrul ALTUNTAŞ'a,

Yüksek lisans çalışmalarımda hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen Gıda Mühendisliği doktora öğrencisi Abdulhalık UĞURTAY ve yüksek lisans öğrencisi Büşra YAVUZ'a

Bu yolda yürümem için daima arkamda olan, desteklerini esirgemeyen sevgili eşim Sümeyra ÇİÇEK ve oğlum Ahmet ÇİÇEK'e ve kıymetli baldızım Senanur AL'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3. 1. Trüf mantarı öğütme işlemi 7
Şekil 3. 2. Süperkritik CO2 ekstraksiyon işlemi 8
Şekil 3. 3. Püskürtmeli kurutucu 10
Şekil 3. 4. Dondurarak kurutma 10
Şekil 3. 5. Su aktivitesi cihazı 11
Şekil 3. 6. Islanabilirlik tayini 12
Şekil 3. 7. TFMM analizi için gallik asit ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi 14
Şekil 3. 8. TFM analizi için quercetin referansı kullanılarak elde edilen kalibrasyon eğrisi 15
Şekil 4. 1. Trüf mantarı aromasının Design expert ile elde edilen verim grafiği……23
Şekil 4. 2. Trüf mantarı aromasının Design expert ile elde edilen DPPH 75 mg/100 ml grafiği 23
Şekil 4. 3. Trüf mantarı aromasının Design expert ile elde edilen DPPH Trolox 75 mg/100 ml grafiği 24
Şekil 4. 4. Trüf mantarı aromasının Design expert ile elde edilen DPPH IC50 grafiği 24
Şekil 4. 5. Trüf mantarı aromasının Design expert ile elde edilen fenolik madde miktarı grafiği 24
Şekil 4. 6. Örneklerin farklı konsantrasyonlardaki DPPH % inhibisyon değişim grafiği 27
Şekil 4. 7. Örneklerin farklı konsantrasyonlardaki ABTS % inhibisyon değişim grafiği 30
Şekil 4. 8. Örneklerin toplam fenolik madde miktarı değişim grafiği 31
Şekil 4. 9. Enkapsüle örneklerin DPPH % inhibisyon değişim grafiği 32
Şekil 4. 10. Enkapsüle örneklerin ABTS % inhibisyon değişim grafiği 34
Şekil 4. 11. Örneklerin toplam fenolik madde miktarı değişim grafiği 35
Şekil 4. 12. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin kitle yoğunluğu değişim grafiği 36
Şekil 4. 13. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin sıkıştırılmış kitle yoğunluğu değişim grafiği 36
Şekil 4. 14. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin carr indeks değişim grafiği 37
Şekil 4. 15. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin hausner oranı değişim grafiği 38
Şekil 4. 16. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin su aktivitesi değişim grafiği 38
Şekil 4. 17. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin ıslanabilirlik değişim grafiği 39

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3. 1. Trüf mantarının süperkritik CO_2 ekstraksiyonu için optimizasyon parametreleri 8
Çizelge 3. 2. Carr indeks, Hausner oranı ve akışkanlık ilişkisi 13
Çizelge 4. 1. Trüf mantarı aromasının yanıt yüzey metodolijisi ile model istatiği 19
Çizelge 4.2. Süperkritik CO_2 ekstraksiyon cihazı ile elde edilen trüf mantarı aromasına ait model katsayıları ve varyans analizi (ANOVA) çıktıları 20
Çizelge 4. 3. Trüf mantarı aromasının Design expert ile elde edilen deneysel tasarım ve sonuçları ... 21
Çizelge 4. 4. Trüf mantarının süperkritik CO_2 ekstraksiyonu için optimizasyon sonuçları 22
Çizelge 4. 5. Trüf mantarı aroma optimizasyon değerlerinin DPPH miktarları 25
Çizelge 4. 6. Trüf mantarı aroma optimizasyon değerlerinin ABTS miktarları 28
Çizelge 4. 7. Trüf mantarı aroma optimizasyon değerlerinin TFMM miktarları 30
Çizelge 4. 8. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin DPPH % inhibisyon değerleri 32
Çizelge 4. 9. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin ABTS % inhibisyon değerleri 33
Çizelge 4. 10. Trüf mantarı aromasının enkapsülasyon öncesi ve sonrası TFMM değerleri 34
Çizelge 4. 11. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin fiziksel analiz değerleri 35

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AA	Antioksidan aktivite
Bas	Basınç
Denk.	Denklem
Dk	Dakika
g	Gram
GA	Gam arabik
Kons.	Konsantrasyon
L	Litre
MD	Maltodekstrin
mL	Mililitre
sn	Saniye
TFM	Toplam flavanoid miktarı
TFMM	Toplam fenolik madde miktarı
R^2	Regresyon
R^2_{adj}	Yazılımsal uyarlanan regresyon
µL	Mikrolitre
°C	Derece

1. GİRİŞ

Yenilebilir mantarlar; benzeri olmayan aromaları, duyusal özellikleri, besleyici içerikleri sebebiyle toplulukların tüketimi ve değer durumu bakımından katma değeri yüksek ürün olarak kabul edilmektedir (Cho ve ark., 2006). Yenilebilir mantarlar sahip oldukları bu özelliklerinden dolayı gıda tüketiminde önemli bir yere sahiptir. İçeriğinde bulunan yüksek oranda protein, lif, mineral, vitamin ile az miktarda bulunan yağ sayesinde mantarlar insan beslenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Breene, 1990; Agrahar-Murugkar ve Subbulakshmi, 2005). Dünyada yenilebilir mantar tüketiminin Avrupa ülkelerinde yaşayanlarda yıllık 10 kg'ın üzerinde kişi başı tüketim olduğu sonucuna varılmıştır (Kalač ve Svoboda, 2000). Ülkemizde ise bu oranın kültür mantarında yıllık 579.2 gr, doğa mantarlarının ise daha çok tüketildiği sonucuna ulaşılmıştır (Eren ve Pekşen, 2016).

Yenilebilir mantarlar esansiyel amino asitleri içeriğinde bulunduran bir protein deposudur. Besleyici olması, tedavi edebilme özelliği gibi sahip oldukları tat ve aroma sayesinde kullanıldıkları gıdalarda özgün bir lezzet meydana getirmektedirler (Pekşen ve Karaca, 2000). Sahip oldukları zengin içerikler sayesinde üretimi yapılan bölgelerde yaşayan insanlar için önemli bir geçim kaynağı olmuştur (Pekşen ve Akdeniz, 2012).

Yenilebilir mantarlardan birisi olan trüf mantarı beğenilen duyusal özellikleri sayesinde dünya mutfağının aranılan bir ürünü haline gelmiştir (Harki ve ark., 2006). Trüf mantarlarının bu denli değerli olmasında sahip olduğu aromanın payı yüksektir (Mashayekhi, 2005).

Trüf mantarlarının %53-76'sı su, %9'u protein, %8'i mineral ve %7'si karbonhidrat'lar oluşturmakta bu nedenle de trüf mantarı diğer çeşitlere oranla daha zengin bir içeriğe sahiptir. Trüf mantarlarının ayırt edici olma özelliğini içeriğindeki 'dimetilsülfit'bazlı aromatik bileşikler oluşturmaktadır (Türkoğlu, 2015).

Yenilebilir mantarlar arasında, hipojen trüf mantarlarının sahip olduğu kendilerine has bazı özellikleri bulunmaktadır (Trappe, 2008). Yenilebilir mantarlardan olan trüf mantarları, toprağın altında dış gövdesi yumru ya da patates şeklinde yetişen mantar türüdür. Mantar bilimciler tarafından bu tür yetişme özelliklerine sahip mantarlar 'hipogöz mantarlar' olarak tanımlanmaktadır (Trappe, 2009).

Yaz aylarında üretimi yapılan trüf mantarı *Tuber aestivum*, Orta Avrupa'da en çok yetiştirilen trüf türlerindendir. Ayrıca, Avrupa ve Kuzey Afrika'da üretiminin yapılabildiği de bilinmektedir. Bu türün Dağlık bölgelerin yaklaşık olarak 1300-1600 m ye kadar olan kesimlerinde yetişebildiği görülmüştür (Wang ve Marcone, 2011).

Tuber aestivum'un yer altında bulunan gövdesi yaklaşık olarak 2-10 cm genişliğindedir. Rengi kahverengiden siyaha doğru değişebilmekte, dış kısmı siğiller ve enine ince şekillerle süslüdür. İç kısım ise koyu kahverengi renge sahip ve beyaz damarlı bir yapı görünümündedir (Wang ve Marcone, 2011).

Türkiye ise bulunduğu konumu sayesinde birçok trüf çeşidinin yetiştirilebilme olanağına sahiptir. Trüf mantarı gibi yetiştirilebilmesi zor olan mantar türleri açısından biyolojik olarak en uygun koşullara sahiptir (Montecchi ve Sarasini, 2000). *Tuber aestivum* Türkiye'de yetiştirilebilen bu türlerdendir. Bu türler Türkiye'nin ege ve akdeniz bölgeleri gibi istenen koşullara sahip yerlerinde üretimi yapılabilmektedir (Şen ve Civelek, 2016).

Genellikle karbondioksit kullanılan süperkritik CO_2 ekstraksiyonu, ürünlerden uçucu bileşikleri elde etmek için umut verici bir işlemdir. Süperkritik CO_2 ekstraksiyonu işleminde aroma bileşiklerinin termal olarak bozulması önlenmekte ve dolayısıyla daha kaliteli ürünlerin ortaya çıktığı belirtilmiştir (Schultz ve Rveall, 1970). Bu işlemde karbon dioksit; yanıcı, toksik ve aşındırıcı olmaması, düşük maliyetli olması, kolay temin edilebilmesi, düşük kritik sıcaklık ve basınca sahip olması gibi özellikleri gıda endüstrisinde çözücü olarak tercih edilmesinde önemli rol oynamaktadır (Caragay ve Little, 1981).

Mikroenkapsülasyon işlemi, katı, sıvı veya gaz maddelerin gıda içeriğine sahip bir kapsül maddesi kullanılarak kaplanması işlemidir. Mikroenkapsülasyon, ürünün ana bileşenleriyle diğer bileşenleri arasında duvar oluşturma yöntemidir (Shahidi ve Han, 1993).

Mikroenkapsülasyon işleminde birçok amaç gözetilmekte olup bunlar; eldeki ürünün sıcaklıktan, nemden, UV radyasyonundan ve diğer maddelerle olabilecek etkileşimlerden koruyabilmek, dış etmenlerin zararlarından korumak, ana ürünün aktarılma hızını azaltmak, var olan bileşenin duyusal özelliklerini korumak olarak sıralanabilir (Porte ve Couarraze, 1994).

Mikroenkapsülasyon tekniklerinden spray dryer ile liyofilizasyon en çok kullanılan tekniklerdir (Cheng ve ark., 2017). Spray dryer tekniği, kısa sürede sürekli şekilde yapılan kurutma tekniğidir (Huang ve ark., 2018). Bu teknik gıdalarda ve ilaç sanayiinde kapsamlıca uygulanmaktadır (Sosnik ve Seremeta, 2015). Püskürtmeli kurutma tekniğinde farklı mikroenkapsülasyon tekniklerine oranla daha fazla verim elde edilmektedir (Chen ve ark., 2013). Spray dryer tekniği, sıcak hava kulanılarak gerçekleştirilmektedir. Spray dryer tekniğinde, kuruma süreleri daha az ve partiküllerin boyut kontolleri daha güvenli yapılabilmektedir (Dolly ve ark., 2011).

Mikroenkapsülasyon tekniklerinden olan liyofilizasyon tekniği muhafazası daha zor olan ürünlerin muhafaza edilebilmesi için uygulanmaktadır (Cheng ve ark., 2017). Liyofilizasyon tekniği, çabuk bozulur özellikteki sahip ürünlerin muhafazası, kullanım zamanının artırılabilmesi veya ürün aktarımının daha güvenli şekilde yapılabilmesi için uygulanan bir tekniktir (Hansen ve ark., 2015). Dondurarak kurutma tekniğinde uzaklaştırılmak istenen maddeler vakum sayesinde üründen uzaklaştırılabilmektedir. Uzaklaştırılan maddeler kurutma bölmesindeki kondensör sayesinde ortamdan uzaklaştırılarak toz şeklindeki yeni ürün oluşturulabilmektedir (Pikal ve ark., 1990).

Trüf mantarı toplamada yapılan yanlışlar ve ürün yetiştirmedde yapılan hatalar sebebiyle elde edilen trüf mantarı her geçen gün azalmakta ve mevcut talepleri

karşılayamamaktadır. Bu da ürünün satışının çok yüksek fiyatlarla yapılmasına neden olmaktadır. Dünya'nın önde gelen mutfaklarında da *Tuber aestivum* beğenilen duyusal özelliklere sahiptir.

Sonuç olarak yapılan bu çalışmada;

- Trüf mantarının (*Tuber aestivum*) süperkritik CO_2 ile ekstrakte edilmesi,
- Üretilen bu ekstraksiyonların spray dryer ile liyofilizasyon teknikleri kullanılarak yeni toz ürün eldesi,
- Kurutulan trüf mantarı aromasının toplam fenolik, flavanoid, kondanse tanen, antosiyanin madde miktarı, antioksidan aktivite değerleri gibi analizlerinin yapılarak kalite değerlerinin araştırılması,
- Üretilmiş olan toz haldeki trüf mantarı aromasından istenilen şekilde kullanılmaya elverişli yeni ürün elde edilmesi,
- Piyasaya katma değeri yüksek yeni bir ürün imkanı sunularak ekonomiye pozitif verim sağlayabilmek amaçlanmaktadır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tejedor-Calvo ve ark. (2021), siyah trüf mantarının optimum ekstraksiyon oranını belirleme üzerine çalışmışlardır. Optimum ekstraksiyon oranı, süre ve basıncı belirlemek için ayırıcılara üzüm çekirdeği yağı ilave edilmiştir. Siyah trüf mantarından elde edilen aroma, ekstraktlar ve artık fraksiyonlar headspace gaz kromatografisi-spektrometrisi ve olfaktometri teknikleri ile karakterize edilmiştir. Sonuçlar, optimal ekstraksiyon koşullarının 3 saat için 30 MPa olduğunu göstermiştir. Ayrıca üzüm çekirdeği yağı ilavesi, 2,3-butanodion, 2-metil-1-butanol, oktanal ve dimetil disülfit gibi bazı önemli trüf aromatik bileşiklerinin tutulmasını arttırmıştır (Tejedor-Calvo ve ark., 2021).

Moldavo-Martins ve ark. (2000), kekik (Thymus zygis L. subsp. sylvestris) aroma bileşiklerinin süperkritik sıvı ekstraksiyonu (SFE) ile incelemişlerdir. Ekstraksiyon, farklı sıcaklıklarda (300–323 K) ve basınçlarda (8–20 MPa) gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon süresi 40 ile 100 dakika arasında değiştirilmiştir. Ekstreler, gaz kromatografisi (GC) ve gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ile analize tabi tutulmuştur. Süperkritik CO_2 ile üretilen özütlerin verimi ve bileşimi, buhar damıtma (SD) ile elde edilenlerle karşılaştırılmıştır. SFE, SD'den daha yüksek ekstraksiyon verimi üretmiştir. Daha yüksek basınç değerleri (20 MPa) ve ekstraksiyon süresi (120 dakika) ile daha yüksek verimler üretilmiştir. Bu çalışma, basıncın en önemli ekstraksiyon parametresi olduğu sonucuna varılmasını sağlamıştır (Moldao-Martins ve ark., 2000).

Diaz ve ark. (2002), çalışmalarında farklı trüf mantarlarının aromasını tam olarak karakterize etmek için gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ile birleştirilmiş bir üst boşluk katı faz mikro özütleme (HS-SPME) kullanılmışlardır. Farklı trüf mantarı türleri arasında, uçucu kompozisyon üzerindeki kalitatif ve kantitatif farklılıklar açısından bir karşılaştırma yapılmıştır. Optimum ekstraksiyon koşullarını ve GC-MS'yi kullanarak, *Tuber aestivum* ve *Tuber melanosporum* gibi iki

farklı trüf mantarı türünde 89 bileşik tanımlamak mümkün olmuştur (Díaz ve ark., 2002).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada ekstraksiyon malzemesi olarak Trüf mantarı *(Tuber aestivum)* kullanılmıştır. Kullanılan *Tuber aestivum* örnekleri analizlere kadar -20°C'de buzdolabında muhafaza altına alınmıştır.

3.1.1. Hammaddenin hazırlanması

Bu çalışmada ekstraksiyon yapabilmekiçin kullanılacak olan trüf mantarı, küçültülmek amacıyla öğütücüden geçirilmiştir (Şekil 3. 1.). Öğütülme işlemi sonrasında -20 ºC'de korunmuştur.



Şekil 3. 1. Trüf mantarı öğütme işlemi

3.2. Yöntem

3.2.1. Trüf mantarı *(Tuber aestivum)* ekstraksiyon işlemi

Bu çalışmada öcelikle süperkritik CO_2 ile trüf mantarı ekstraksiyon işleminin optimum sıcaklık ve basınç değerlerini belirlemek amacıyla optimizasyon çalışması uygulanmıştır (Çizelge 3.1.). Daha sonra belirlenen optimum sıcaklık ve basınç değerlerinde ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3. 2.).



Şekil 3. 2. Süperkritik CO2 ekstraksiyon işlemi

Çizelge 3. 1. Trüf mantarının süperkritik CO_2 ekstraksiyonu için optimizasyon parametreleri

Örnek	Basınç (bar)	Sıcaklık (˚C)
1	140	52,5
2	140	52,5
3	110	45
4	170	45
5	80	30
6	200	60
7	80	60
8	140	45
9	140	45
10	200	30
11	200	60
12	110	45
13	140	37,5
14	80	30
15	170	45
16	140	37,5
17	140	45

Çizelge 3.1. **(Devamı)**

18	80	60
19	140	45
20	200	30

3.2.1.1. Trüf mantarı (*Tuber aestivum*) aromasının mikroenkapsülasyon işlemi

Elde edilen trüf mantarı aromaları püskürtmeli kurutma ve dondurarak kurutma yöntemleriyle mikroenkapsülasyon işlemine tabi tutulmuştur. Kapsülasyon işleminde kaplama maddesi olarak maltodekstrin ve gam arabik kullanılmıştır. Ayrıca trüf mantarı aromasının mikroenkapsülasyon işlemi öncesi ve sonrasında kimyasal analizleri gerçekleştirilmiştir.

Püskürtmeli kurutma tekniğinde 100 ml'lik çözelti alınarak cihaz haznesine eklenmiştir. Püskürtmeli kurutma tekniğinde aroma örnekleri için %80 MD-GA, giriş sıcaklığı 132 °C, aspiratör çalışma hızı %90, çözelti besleme hızı 10 ml/dk olacak şekilde ayarlanmıştır (Şekil 3. 3.).



Şekil 3. 3. Püskürtmeli kurutucu

Dondurarak kurutma tekniğinde de 50 ml çözelti alınarak cihaz haznesine eklenmiştir. Dondurarak kurutma tekniğinde aroma örnekleri için %57 MD-GA oranı kullanılmıştır (Şekil 3. 4.).



Şekil 3. 4. Dondururak kurutma

3.2.2. Fiziksel ve fizikokimyasal analizler

3.2.2.1. Su aktivitesi

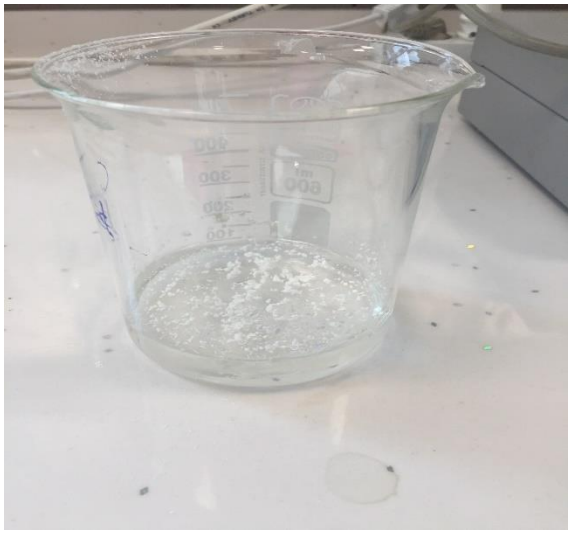
Toz ürünlerin işleme ve depolama sırasında su aktivite değerleri büyük bir önem arz ettiğinden aroma enkapsüllerinin su aktivitesi değerleri belirlenmiştir. Mikroenkapsülasyon ürünlerinin su aktiviteleri Aqualab model cihaz aracılığıyla tespit edilmiştir (Tatar ve ark., 2014)(Şekil 3. 5.).



Şekil 3. 5. Su aktivitesi cihazı

3.2.2.2. Islanabilirlik

Islanabilirlik, enkapsüle halindeki ürünlerin sıvıyı içerisine alabilme kabiliyetini göstermektedir. Tozun bu kabiliyeti ıslanma esnasında önemli bir parametredir. Islanabilirlik değerinin belirlemek için 1 gram enkapsüle halindeki Trüf mantarı aroma enkapsülünün su yüzeyinde kaybolma zamanı belirlenmiştir (Turchiuli ve ark., 2005)(Şekil 3. 6.).



Şekil 3. 6. Islanabilirlik tayini

3.2.2.3. Kitle yoğunluğu ve sıkıştırılmış kitle yoğunluğu

Enkapsüllerin paket hacminin artması ve boşluklar arasında daha fazla hava barınacağından düşük yığın yoğunluğu istenmeyen bir durumdur. Çünkü ürün okside olmaya daha elverişlidir ve muhafaza edilme zamanı kısalmaktadır (Koç ve ark., 2011). Bundan dolayı üretimi yapılmış olan enkapsüllerinin kitle yoğunluğu, sıkıştırılmış kitle yoğunluğu hesaplanmıştır.

Hesaplama için kaplanmış olan aromalardan 5 gram alınarak 20 ml mezür içerisine alınmıştır. Numunelerin kitle yoğunlukları kütlenin hacme oranlamasıyla belirlenmiştir. Daha sonra sıkıştırılmış kitle yoğunluğunu belirlemek için mezür içerisindeki enkapsüle haldeki aromalar düz bir zemine 200 defa vurulmuş ve kütlenin hacme oranlanmasıyla sıkıştırılmış kitle yoğunluğu miktarları hesaplanmıştır.

3.2.2.4. Hausner oranı ve Carr indeks

Carr indeks toz ürünün akışkanlığını gösterirken, Hausner oranı ise yapışkanlık özellliğini ifade etmektedir (Koç ve ark., 2011). Sonuçta da trüf mantarı aroma tozunun Carr indeks ve Hausner oranı hesaplanarak akışkanlığı ve yapışkanlığı

Çizelge 3.2' ye göre değerlendirilmiştir (Turchiuli ve ark., 2005). Carr indeks ve Hausner Oranının hesaplanması aşağıdaki formüle göre tespit edilmiştir (Koç ve ark. 2011).

$$\text{Carr indeks} = \frac{\text{Sıkıştırılmış kitle yoğunluğu-Kitle yoğunluğu}}{\text{Sıkıştırılmış kitle yoğunluğu}} \times 100 \quad (3.1)$$

$$\text{Hausner oranı} = \frac{\text{Sıkıştırılmış kitle yoğunluğu}}{\text{Kitle yoğunluğu}} \quad (3.2)$$

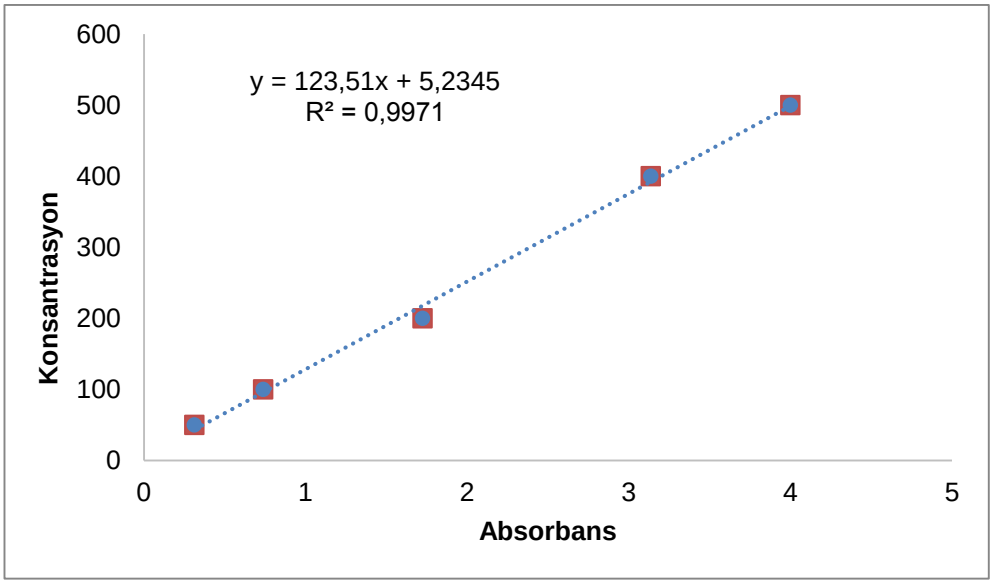
Çizelge 3. 2. Carr indeks, Hausner oranı ve akışkanlık ilişkisi

Carr indeks	Hausner Oranı	Akışkanlık
≤10	1.00-1.11	Mükemmel
11-15	1.12-1.18	İyi
16-20	1.19-1.25	Orta
21-25	1.26-1.34	Geçerli
26-31	1.35-1.45	Zayıf
32-37	1.46-1.59	Çok zayıf
38≥	1.60≥	Çok kötü

3.2.2.5. Toplam fenolik madde miktarı analizi

Trüf mantarı aroması ile enkapsüle aroma tozunun TFMM belirlenmiştir (Singleton ve Rossi, 1965). TFMM, gallik asit (mg/g) cinsinden hesaplanmıştır.

Trüf mantarı aroması ve enkapsüle aroma tozunun TFMM değerini tespit etmek için gallik asit referansından faydalanılmıştır. Gallik asitin farklı konsanstrasyonlarındaki absorbans değerleri belirlenmiş ve kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 3. 7.).

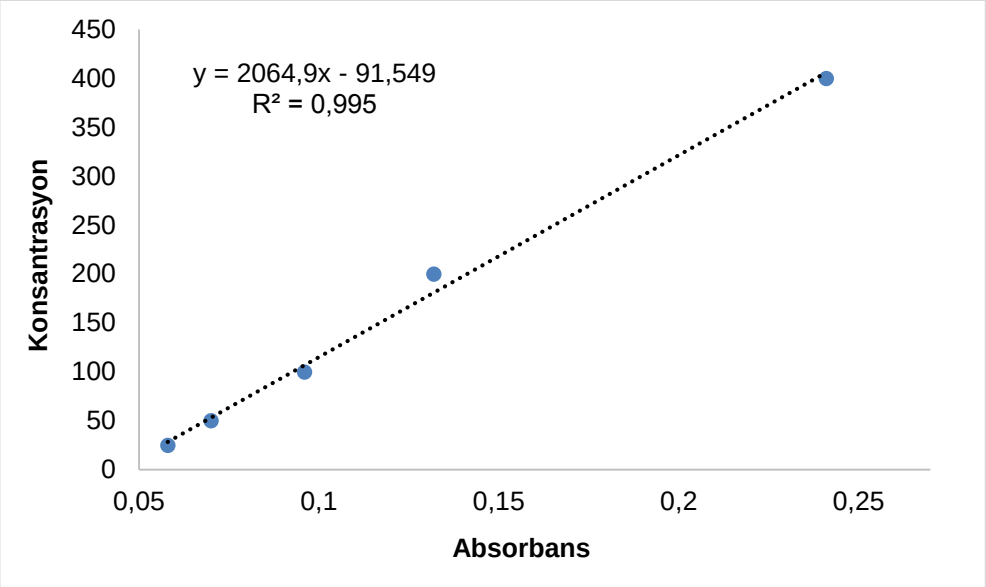


Şekil 3. 7. TFMM analizi için gallik asit ile oluşturulan kalibrasyon eğrisi

Mikroenkapsülasyon sonucu elde edilen ürünümüzün fenolik madde içeriğini tespit etmek amacıyla sırasıyla 0.4 ml ve 0.1 gr örnek alınmıştır. Tartımı yapılan örnek içerisine 1 ml saf su eklenerek karıştırıcıda yaklaşık olarak 1 dk karıştırılarak çözünen örnekler 4000 rpm hızda 5 dk süresince santrifüjlenmiştir. Yapılan bu işlemden sonra üstte birikmiş olan örnekten 0.4 ml alınıp analiz edilmiştir. Daha sonra Folin reaktifi 1:9 oranında saf su yardımıyla seyreltme işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlemden sonra %7.5 'lik Na_2CO_3 çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanmış olan çözeltiden önceden hazırlamış olduğumuz plastik malzeme içerisine 0.4 ml ilave edilmiştir. Devamında ise 2 ml folin ile 1.6 ml Na_2CO_3 çözeltisi tüplere aktarılmıştır. Hazır hale gelen örnekler karıştırı yardımıyla karıştırılarak oda sıcaklığında 60 dk süreyle ışıksız ortamda tutulmuştur. Zamanı dolmuş olan tüplerdeki örneklerin absorbans değerleri spektorofotometre kullanılarak elde edilmiştir.

3.2.2.6. Toplam flavonoid miktarı analizi

TFM analizi Zhishen ve ark. (1999)'nın yapmış oldukları teknik kullanılarak sonuçlar belirlenmiştir. Trüf mantarı aroması ile kurutma sonrası elde edilen yeni ürünün TFM değerini saptayabilmek amacıyla quercetin referansından kaydedilmiş ve kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Zhishen ve ark., 1999)(Şekil 3. 8.).



Şekil 3. 8. TFM analizi için quercetin referansı kullanılarak elde edilen kalibrasyon eğrisi

Trüf mantarından belirli işlemler sonucunda elde edilmiş olan yeni ürünün TFM değerlerini saptamak sırasıyla 1 ml ve 0.1 gr örnek alınmıştır. Ayrılan ürüne 1 ml saf su eklenerek 1 dk süresince karıştırıcıda işleme tabi tutulmuştur. Karıştırıcıda ayrıştırılma işleminden sonra da, 4000 rpm hızla 5 dk süresince santrifüjleme işlemi uygulanmıştır. Uygulanan işlemden sonra santrifüj sonrası 1 ml üründen alınarak tüpe aktarılmıştır. Ardından %5'lik $NaNO_2$ çözeltisi, %10'luk $AlCl_3$ çözeltisi ve 1 M NaOH çözeltisi hazırlanmıştır. Tüplerdeki 1 ml örneğe 4 ml'de çözücü eklemesi yapılmıştır. Elde edilem bu yeni karışıma 0.3 ml %5'lik $NaNO_2$ çözeltisi ilave edilmiştir. 5 dk'lık sürebeklenip karışımın üzerine 0.3 ml %10'luk $AlCl_3$ çözelti aktarılmıştır. 0.3 ml %10'luk $AlCl_3$ çözelti aktarımı sonrası 6. dakikada 2 ml 1 M NaOH çözeltisi de eklenerek hacim çözücü kullanılarak çözelti 10 ml'lik yeni çözelti elde edilmiştir. Oluşturulan bu yeni çözeltinin absorbans değerleri spektrofotometre cihazı kullanılarak bulunmuştur.

3.2.2.7. DPPH ile antioksidan kapasite analizi

Trüf mantarı aromasının mikroenkapsülasyon sonucunda üretilen üründeki antioksidan miktarı Brand-Williams ve ark. (1995) çalışmaları göz önüne alınarak yapılmıştır (Brand-Williams ve ark., 1995).

Trüf mantarı aromasının mikroenkapsülasyonu sonucunda elde edilmiş olan üründeki mevcut antioksidan içeriğinin miktarının belirlenmesi amacıyla kurutularak kaplanmış olan ürünlerden 0.1 gr alınmıştır. Tartılan ürüne 1 ml saf su eklenerek 60 sn süreyle otomatik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi sonrasında çözünmüş haldeki ürün 4000 rpm hız ve 5 dk süresince santrifüjlenmiştir. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra 110 , 220 ve 330 mg/ml örnek alınarak tüplere aktarılmıştır.

Trüf mantarı aroma içeriğindeki toplam antioksidan madde miktarını belirlemek amacıyla 110, 220 ve 330 µl/ml örnek tüplere aktarılmıştır. Analizden önce 0.008 gr tartılan DPPH radikali üzerine 150 ml çözücü eklenmiştir. 24 saat karanlık ortamda bekletildikten sonra 50 ml daha çözücü ilave edilmiştir. Sonra tüplere 0.01, 0.02 ve 0.03 ml örnek ilave edilmiştir. En son olarak tüplere DPPH radikali kullanılarak 4 ml'lik yeni örnek elde edilmiştir. Tüplerdeki örnekler yarım saat karanlık ortamda bekletilmiş ve spektrofotometrede absorbans değerlerine bakılmıştır.

3.2.2.8. ABTS katyon radikali süpürme aktivite analizi

Trüf mantarı aromasının mikroenkapsüllerinde ABTS katyon radikali süpürme aktivitesi Re ve ark. (1999) 'a göre belirlenmiştir (Re ve ark., 1999). $ABTS^+$ katyonu sulu çözeltisi ile potasyum persülfat kullanılarak çözelti elde edilmiştir. Elde edilen çözelti 12 saat süreyle bekletilmiştir. Analize başlamadan spektrofotometrede $ABTS^+$ 734 nm'de absorbansı 0.708±0.025 değerine ulaşıncaya kadar seyreltilmiştir.

Trüf mantarı aromasından elde edilen enkapsül taneciklerinden 0.01 gr alınmış ve 10 ml saf suda çözündürülmüş ve örneklerden 110, 165 ve 220 mg/L alınarak ürün miktarı $ABTS^+$ ile 4 ml'ye artırılmıştır. Daha sonra elde edilmiş olan örnekler 10 dk

boyunca ışıksız ortamda bekletilmiş ve Shimadzu UV-1800 UV-VIS Spektrofotometrede tekrardan ölçümler yapılarak sonuçlara bakılmıştır.

3.2.2.9. Toplam antosiyanin miktarı analizi

Bu analiz tekniği, antosiyaninlerin en yüksek absorbans değerlerine sahip olduğu dalga boyundaki absorbans değerlerinin bulundukları yerin pH derecelerine göre karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Tespit edilen absorbans değerleri, SHIMADZU UV-1280 UV-VIS marka spektrofotometrede 520 ve 700 nm dalga boyları aralığında saf su ölçüt alınarak yapılmıştır. Kullanılan teknik, antosiyaninlerin pH 1 de renkli oksonium formlarının hakim durumda olması ölçüt alınarak yapılmaktadır. Bu yöntemin uygulanması sonrasında mevcut ortamda pH 1 ve pH 4,5 olarak ölçüldüğünde tespit edilen absorbans aralıklarındaki görülen farkın tespit edilen antosiyanin miktarı ile paralel olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. Tekniğin uygulanması gayet basit ve özgündür. Toplam antosiyanin miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Wrolstad, 1976).

$$\mathbf{A=(A\lambda vis\text{-}max\text{-}A_{700})_{pH\ 1.0} - (A\lambda vis\text{-}max\text{-}A_{700})_{pH\ 4.5}}$$

A: Absorbans farkı

ε : Molar absorbans

L : Absorbans ölçüm küvetinin tabaka kalınlığı, cm

MW: Molekül ağırlığı

S_f : Seyreltme faktörü

$$\text{Toplam antosiyanin miktarı, mg/L} = \frac{A \times MW \times S_f \times 1000}{\varepsilon \times L} \qquad (3.3)$$

3.2.2.10. Kondanse tanen miktarı analizi ve uygulanışı

Trüf mantarı enkapsülasyonu öncesindeki ürünün ve kurutma işlemi yapıldıktan sonraki ürünün kondanse tanen miktarı analizinin yapılması amacıyla Karaoğul ve ark. (2017)'de yapmış oldukları çalışma esas alınmıştır (Karaoğul ve ark., 2017).

Tanen çözeltisini elde edebilmek amacıyla n-bütanol, HCI ve Fe_2SO_4 çözeltilerinden yararlanılmıştır. Ekstraksiyonla elde edilmiş olan üründen ml, kurutulma işlemi yapılmış olan üründen de 0.01 gr alınarak tüpe aktarılmıştır. Alınan örneğe 10 ml tanen çözeltisi aktarımı yapılmıştır. Aktarım işlemlerinden sonra ürün içerinde kaynamış halde su bulunan haznede 60 dk boyunca beklemeye bırakılmıştır. Sonuçta eldeki ürünün absorbans değerleri spektrofotometre cihazı kullanılarak tespit edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Yanıt Yüzey Metodolojisi ile Model İstatistiği

Çizelge 4. 1. Trüf mantarı aromasının yanıt yüzey metodolijisi ile model istatiği

Değer	Model türü	Standart sapma	R^2	R^2_{adj}	F değeri	p değeri	Lack of fit	Notlar
Verim	Doğrusal	0.56	0,24	0,15	2,74	0,09[c]	0,49	
	2FI	0,51	0,40	0,29	4,44	0,05[b]	0,82	Önerildi
	Kuadratik	0,52	0,46	0,27	0,81	0,46[c]	0,85	
	Kübik	0,54	0,49	0,20	0,35	0,71[c]	0,72	
DPPH 75 mg/100 ml	Doğrusal	5,35	0,01	-0,09	0,16	0,84[c]	0,02	
	2FI	5,46	0,03	-0,14	0,27	0,6 [c]	0,01	
	Kuadratik	5,12	0,25	-0,006	2,10	0,15[c]	0,01	
	Kübik	3,86	0,63	0,42	6,34	0,01[b]	0,16	Önerildi
Trolox 75 mg/100 ml (DPPH)	Doğrusal	30,82	0,02	-0,09	0,19	0,82[c]	0,06	
	2FI	31,56	0,03	-0,14	0,20	0,65[c]	0,04	
	Kuadratik	30,12	0,23	-0,04	1,78	0,20[c]	0,04	
	Kübik	24,39	0,56	0,31	4,67	0,03[b]	0,27	Önerildi
DPPH IC50	Doğrusal	447,74	0,14	0,04	1,49	0,25[c]	0,01	
	2FI	453,76	0,17	0,02	0,55	0,46[c]	0,01	
	Kuadratik	361,76	0,54	0,37	5,58	0,01[b]	0,06	Önerildi
	Kübik	365,42	0,60	0,36	0,86	0,44[c]	0,02	
Fenolik madde	Doğrusal	3,53	0,10	-0,0007	0,99	0,39[c]	0,14	
	2FI	3,11	0,34	0,22	5,85	0,02[b]	0,36	Önerildi
	Kuadratik	2,99	0,46	0,28	1,65	0,22[c]	0,45	
	Kübik	2,88	0,57	0,33	1,52	0,25[c]	0,94	

[a] Model p değerinin 0,001'den küçük olması modelin anlamlı olduğunu gösterir.
[b] Model p değerinin 0,05'ten küçük olması modelin anlamlı olduğunu gösterir.
[c] Model p değerinin 0,05'ten büyük olması modelin anlamlı olmadığını gösterir.

Çizelge 4. 1. 'de Design expert programı ile elde edilen trüf mantarı aromasının yanıt yüzey metadolojisi ile model istatiği verilmiştir. Çizelge incelendiğinde; trüf mantarı aromasında verim değeri için p değeri 0.05 ile 2FI model türü, DPPH 75 mg/100 ml değeri için ise p değeri 0.01 ile kübik model türü önerilmiştir. Trolox 75 mg/100 ml (DPPH) değerinde p değeri 0.03 ile kübik, DPPH IC50 değerinde p değeri 0.01 ile kuadratik ve fenolik madde miktarı değerinde p değeri 0.02 ile 2FI model

türü önerilmiştir. Trüf mantarı aromasında verim, DPPH 75 mg/100 ml , DPPH trolox 75 mg/100 ml, DPPH IC50 ve fenolik madde değerlerinde önerilen model türleri için $p<0.05$'te olması modellerin anlamlı olduğu göstermektedir.

Çizelge 4. 2. Süperkritik CO_2 ekstraksiyon cihazı ile elde edilen trüf mantarı aromasına ait model katsayıları ve varyans analizi (ANOVA) çıktıları

Katsayı/Değer	Verim	DPPH 75 mg/100 ml	Trolox 75 mg/100 ml (DPPH)	DPPH IC50	Fenolik madde
Ω_0	+0,25[a]	+10,55[a]	+397,14[a]	+1963,78[a]	+2,16[a]
Doğrusal					
Ω1 (Sıcaklık)	+0,28[e]	+12,60[c]	-13,92[b]	+248,54[e]	+1,40[e]
Ω2 (Basınç)	+0,33[e]	-1,17[e]	-11,68[e]	+70,45[e]	+0,89[e]
Etkileşim					
Ω12 (Sıcaklık×Basınç)	+0,38[e]	+1,01[e]	-0,37[e]	-119,17[e]	
İkinci sıra					
Ω11 (Sıcaklık×Sıcaklık)		+13,22[b]	+6,43[e]	-1472,03[b]	
Ω22 (Basınç×Basınç)		-14,92[b]	+3,90[b]	+1071,60[e]	
Üçüncü sıra					
Ω_{112} (Sıcaklık×Sıcaklık×Basınç)		+0,24[e]	+12,53[e]		
Ω_{122} (Sıcaklık×Basınç×Basınç)		+14,58[c]	+15,89[c]		

Model:Y(Cevap)=Ω0+Ω1(Sıcaklık)+Ω2(Basınç)+Ω12(Sıcaklık×Basınç)+Ω11(Sıcaklık×Sıcaklık)+ Ω22(Basınç×Basınç)+Ω112(Sıcaklık×Sıcaklık×Basınç)+Ω122 (Sıcaklık×Basınç×Basınç)
İstatistiksel önem değerleri: [a]denklem katsayısı, [b]P<0.05, [c]P<0.01; [d]P<0.001, [e]P<0.0001 P>0.05

Çizelge 4.2. 'de süperkritik CO_2 ekstraksiyon cihazı ile elde edilen trüf mantarı aromasına ait Design expert programı aracılığıyla model katsayıları ve varyans analizi (ANOVA) çıktıları verilmiştir. Çizelge incelendiğinde; trüf mantarı aromasının verim ve fenolik madde değerleri açısından sıcaklık ve basıncın $p>0.05$ ile önemli olmadığı tespit edilmiştir. Trüf mantarı aromasının DPPH 75 mg/100 ml konsantrasyonunda sıcaklığın $p<0.01$ ile önemli bulunduğu, basıncın ise $p>0.05$ ile önemli olmadığı belirlenmiştir. Ek olarak, DPPH trolox 75 mg/100 ml değerinde ise sıcaklığın $p<0.05$ ile önemli bulunduğu, ancak basıncın $p>0.05$ ile önemli olmadığı tespit edilmiştir. DPPH IC50 ve fenolik madde miktarı değerlerinde $p>0.05$ ile sıcaklık ve basıncın önemli olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4. 3. Trüf mantarı aromasının Design expert ile elde edilen deneysel tasarım ve sonuçları

No	Bağımsız parametreler		Bağımlı parametreler**				
	Sıcaklık (°C)	Basınç (bar)	Verim	DPPH 75 mg/100 ml	Trolox 75 mg/100 ml (DPPH)	DPPH IC50	Fenolik madde
1	52,5	140	0,002	15,58	653,561	1809,72	8,96
2	52,5	140	0,0127	27,13	565,94	1881,12	3,9
3	45	110	0,1218	9,59	673,13	2382,51	0
4	45	170	0,249	10,41	665,244	2674,89	0
5	30	80	0,1349	14,6	643,047	1095,71	0
6	60	200	2,8075	6,68	692,699	1622,7	3,74
7	60	80	0,0114	6,03	695,62	1994,18	0
8	45	140	0,3808	5,95	693,867	1791,45	0
9	45	140	0,1169	13,07	651,809	1266,22	6,66
10	30	200	0,0916	8,61	676,635	1415,13	0,77
11	60	200	0,1861	6,9	687,052	1774,58	10,94
12	45	110	0,1245	7,61	681,308	1920,42	0
13	37,5	140	0,0811	11,99	662,908	1139,76	0,73
14	30	80	0,0945	10,63	666,412	1195,98	7,41
15	45	170	0,1547	4,45	702,921	2650,61	0
16	37,5	140	0,0557	5,51	689,486	2254,2	0
17	45	140	0,0716	6,03	689,778	1852,89	0
18	60	80	0,0078	7,23	684,715	1818,38	0
19	45	140	0,1612	8,72	674,006	1716,51	0
20	30	200	0,0671	8,86	673,033	1414,64	0
DE	60	168,57	0870	29,71	565,941	960,128	3,98

**Sonuçlar Lack of Fit ve ANOVA değerleri için p>0.05'e önem seviyesine göre değerlendirilip, bu değerler üzerinden analiz parametreleri oluşmuştur.

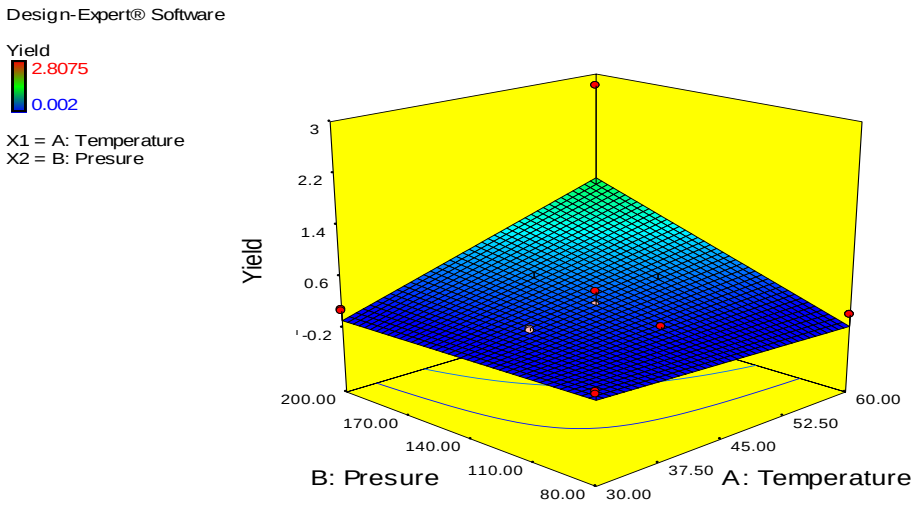
Çizelge 4.3. 'te trüf mantarı aromasının design expert ile elde edilen deneysel tasarım ve sonuçları verilmiştir. Sonuçlar p>0.05 önem seviyesine göre değerlendirilmiş olup; Design expert programı tarafından % 87,9 ile en iyi sonucun 60 °C sıcaklık ve 168,57 bar basınçta elde edileceğini önerilmiştir.

4.3. Trüf Mantarının Süperkritik CO2 Ekstraksiyonu İle Elde Edilen Verim Değerleri

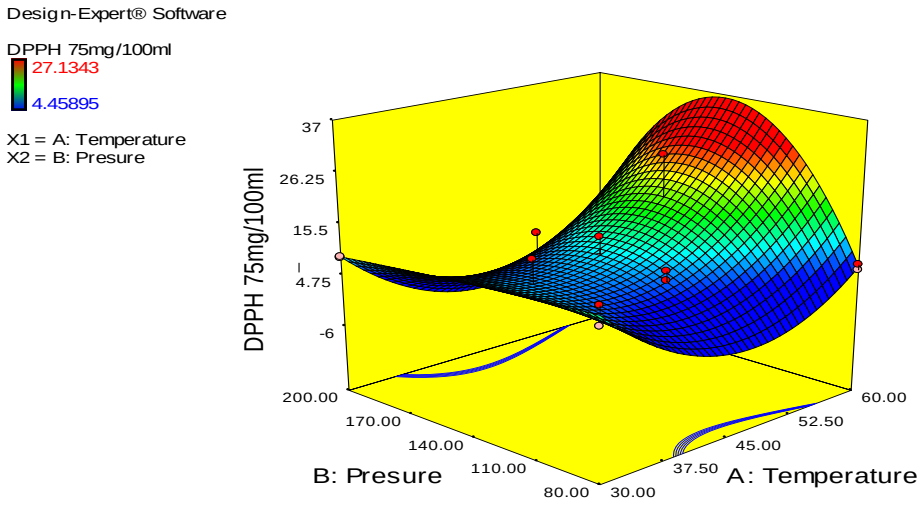
Çizelge 4. 4. Trüf mantarının süperkritik CO_2 ekstraksiyonu için optimizasyon sonuçları

Reçete	Basınç (bar)	Sıcaklık (˚C)	Örnek miktarı (g)	Verim (g)
1	140	52,5	50,1914	0,002
2	140	52,5	50,8351	0,0127
3	110	45	50,841	0,1218
4	170	45	50,5197	0,249
5	80	30	50,3449	0,1349
6	200	60	50,0858	2,8075
7	80	60	50,0014	0,0114
8	140	45	50,5945	0,3808
9	140	45	50,9736	0,1169
10	200	30	50,1052	0,0916
11	200	60	50,3675	0,1861
12	110	45	50,5353	0,1245
13	140	37,5	50,9427	0,0811
14	80	30	51,2213	0,0945
15	170	45	50,4572	0,1547
16	140	37,5	50,4312	0,0557
17	140	45	50,1171	0,0716
18	80	60	50,1563	0,0078
19	140	45	50,098	0,1612
20	200	30	50,6101	0,0671

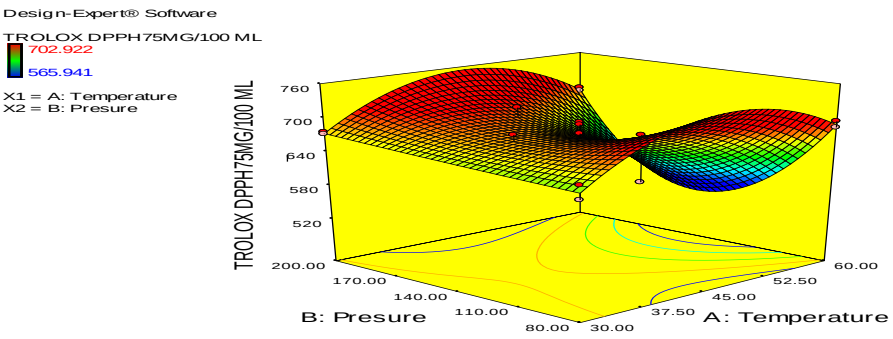
Çizelge 4.4.'te Trüf mantarının süperkritik CO_2 ekstraksiyonu için optimizasyon sonuçları verilmiştir. Buna göre en yüksek verim, 200 bar basınç ve 60 ˚C sıcaklık değerlerinde belirlenmiştir.



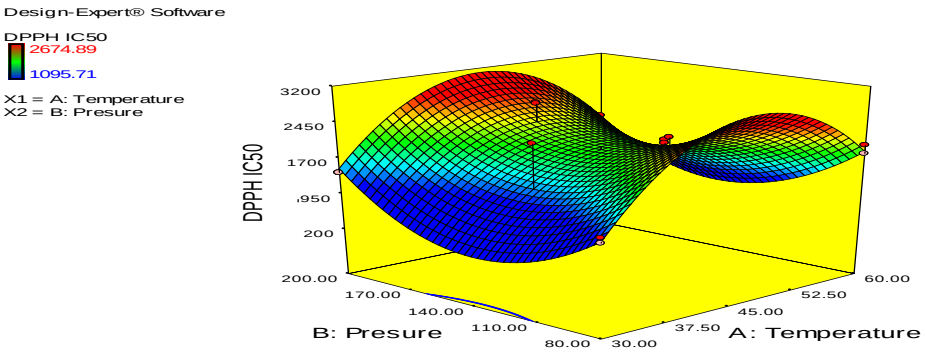
Şekil 4. 1. Trüf mantarı aromasının Design expert ile elde edilen verim grafiği



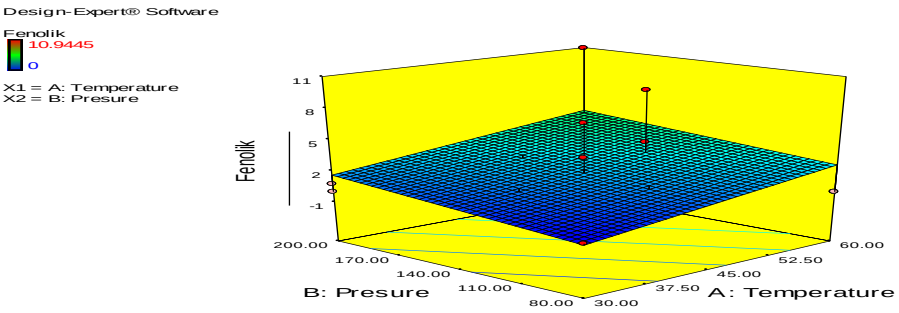
Şekil 4. 2. Trüf mantarı aromasının Design expert ile elde edilen DPPH 75 mg/100 ml grafiği



Şekil 4. 3. Trüf mantarı aromasının Design expert ile elde edilen DPPH Trolox 75 mg/100 ml grafiği



Şekil 4. 4. Trüf mantarı aromasının Design expert ile elde edilen DPPH IC50 grafiği



Şekil 4. 5. Trüf mantarı aromasının Design expert ile elde edilen fenolik madde miktarı grafiği

4.3. Trüf mantarı aromasının fizikokimyasal analizleri

4.3.1. Trüf mantarı aromasının DPPH süpürme aktivite analizi

Çizelge 4. 5. Trüf mantarı aroma optimizasyon değerlerinin DPPH miktarları

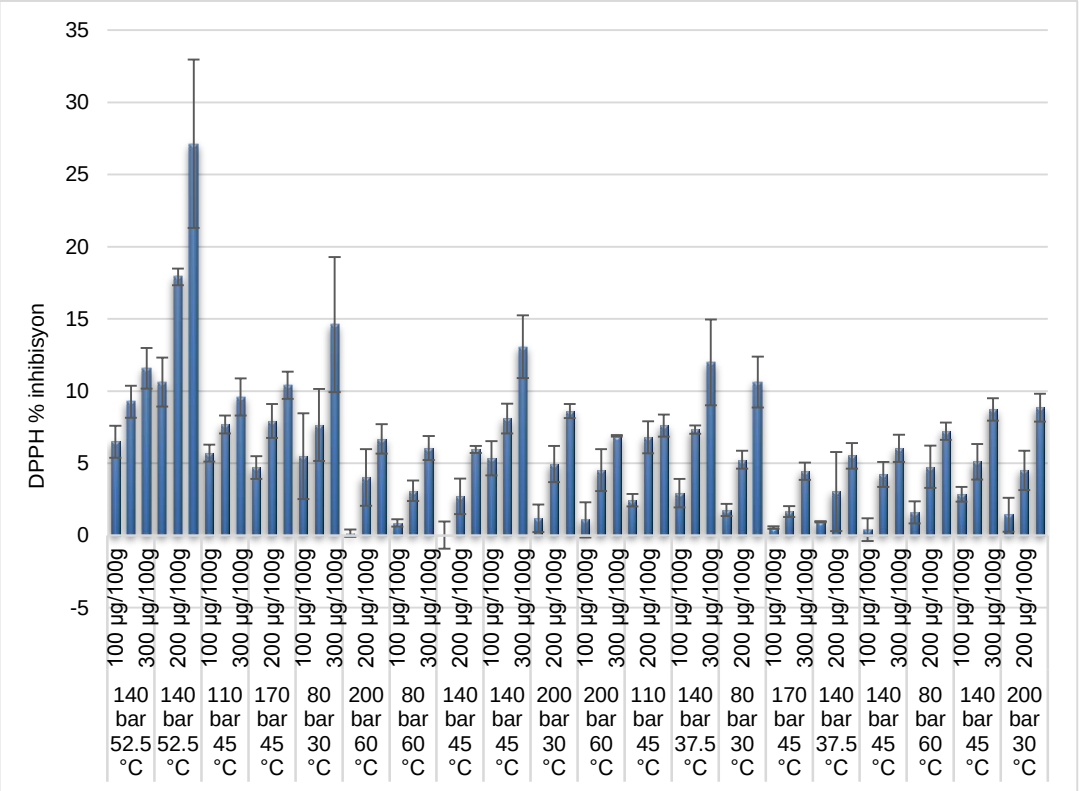
Basınç (bar)	Sıcak-lık °C	Örnek konsant-rasyonu µg/100g	DPPH % inhibisyon	Trolox	Denk.	R^2	IC50 (mg/kg)
80	60	110	1,60±0,75^{ab}	726.774±2,63	0,0281x - 1,0966	0,995	1818,38
		220	4,75±0,86^{abc}	702,434±10,47			
		330	7,23±0,60^{abcd}	684,715±4,30			
	30	110	1,76±0,41^{ab}	722,879±1,47	0,0443x - 2,9817	0,984	1195,97
		220	5,24±0,61^{abcd}	698,93±4,42			
		330	10,63±1,75^{abcde}	660,376±12,58			
	30	110	5,49±2,97^{cd}	693,478±23,61	0,0455x + 0,145	0,916	1095,71
		220	7,66±2,49^{cd}	684,715±11,97			
		330	14,60±4,67e	631,948±33,51			
	60	110	0,87±0,26^{a}	738,456±17,05	0,026x - 1,8488	0,993	1994,18
		220	3,09±0,71^{ab}	714,312±5,09			
		330	6,06±0,83^{abc}	693,088±5,09			
110	45	110	5,70±0,58^{cd}	695,619±4,21	0,0194x + 3,7792	0,999	2382,51
		220	7,69±0,62^{cd}	681,405±4,46			
		330	9,59±1,29^{abcde}	667,775±9,27			
	45	110	2,44±0,43^{abc}	718,985±3,09	0,0258x + 0,4531	0,865	1920,42
		220	6,79±1,10^{bcd}	671,475±17,05			
		330	7,61±0,75^{abcd}	679,458±5,42			
140	52,5	110	6,49±1,11^{d}	689,973±7,97	0,0254x + 4,033	0,997	1809,72
		220	9,27±9,27^{bd}	670,112±7,93			
		330	11,58±1,41^{bcde}	653,561±10,13			
	52,5	110	10,63±1,69^{e}	601,962±14,94	0,0825x + 2,0573	0,995	581,123
		220	17,91±0,57^{e}	608,193±0,67			
		330	27,13±5,82^{f}	542,185±1,82			
	45	110	0,02±0,93^{a}	734,367±7,44	0,0296x - 3,027	0,997	1791,45
		220	2,71±1,22^{ab}	717,038±8,78			
		330	2,95±0,24^{abc}	693,867±1,75			
	45	110	5,35±1,18^{cd}	698,151±8,45	0,0386x + 1,1238	0,937	1266,22
		220	8,10±1,03^{cd}	678,485±7,39			
		330	13,07±2,17^{e}	642,852±15,55			
	37,5	110	2,93±0,99^{abc}	715,480±7,10	0,0453x - 1,6313	0,999	1139,76
		220	7,34±0,29^{cd}	683,937±2,10			
		330	11,99±2,97^{cde}	650,641±21,27			
	37,5	110	0,95±0,04^{a}	739,235±7,93	0,0228x - 1,3957	0,997	2254,19
		220	3,04±2,74^{ab}	709,833±22,10			
		330	5,51±0,89^{ab}	693,672±7,25			

Çizelge 4.5. **(Devamı)**

	45	110	0,40±0,78[a]	733,004±4,08	0,0281x - 2,0663	0,958	1852,89
		220	4,24±0,86[abc]	706,134±6,18			
		330	6,03±0,94[abc]	693,283±6,73			
	45	110	2,86±0,50[abc]	715,986±3,63	0,0293x - 0,2936	0,982	1716,50
		220	5,11±1,22[abc]	700,098±8,94			
		330	8,72±0,77[abcde]	674,006±5,57			
170	45	110	4,70±0,79[bcd]	702,824±5,67	0,0285x + 2,2657	0,939	1674,88
		220	7,93±1,17[cd]	679,653±8,39			
		330	10,41±0,93[abcde]	661,934±6,71			
	45	110	0,54±0,09[a]	745,855±7,59	0,0195x - 1,6868	0,941	2650,60
		220	1,65±4,45[a]	724,826±2,54			
		330	4,45±0,60[a]	704,576±4,30			
200	30	110	1,44±1,17[ab]	726,579±8,60	0,0371x - 2,4832	0,990	1414,64
		220	4,51±1,35[abc]	704,187±9,72			
		330	8,86±0,96[abcde]	673,033±6,91			
	30	110	1,19±0,94[a]	727,747±6,58	0,0371x - 2,5014	1	1415,13
		220	4,94±1,24[abc]	701,071±8,94			
		330	8,61±0,49[abcde]	674,785±3,52			
	60	110	1,08±1,22[a]	731,057±5,76	0,0291x - 1,6404	0,988	1774,58
		220	4,54±1,45[abc]	703,992±10,38			
		330	6,90±0,04[abcd]	687,052±0,33			
	60	110	0,16±0,24[a]	734,951±1,87	0,0326x - 2,9001	0,988	1622,70
		220	4,02±1,95[abc]	707,692±13,99			
		330	6,68±1,01[abc]	688,610±7,29			

Tukey testine aynı sütundaki farklı küçük harfler ilgili değerlerin konsantrasyonlarının istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.5.'te trüf mantarı aroma optimizasyon değerlerinin DPPH değerleri verilmiştir. Buna göre en yüksek süpürme aktivitesi 330 µg/100g'da, 140 bar basınç ve 52.5 ˚C parametlerinde % 27.13 olarak tespit edilmiştir. En düşük süpürme aktivitesi ise 110 µg/100g'da, 200 bar basınç ve 60 ˚C parametlerinde % 0.16 olarak bulunmuştur. Örneklerin DPPH % inhibisyon değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmuştur ($p<0.05$). Ek olarak konsantrasyonlar değerlendirildiğinde genel olarak istatistiksel olarak farklılıklar gözlemlenmiştir ($p<0.05$).



Şekil 4. 6. Örneklerin farklı konsantrasyonlardaki DPPH % inhibisyon değişim grafiği

Şekil 4.6. incelendiğinde en yüksek süpürme aktivitesinin %27.13 ile 2 numaralı reçetede bulunduğu tespit edilmiştir. En düşük süpürme aktivitesi % 0.16 olarak Reçete 6'da gözlemlenmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde 140-170 bar basınç ve 45-52.5 ˚C arası parametrelerde ürünlerin daha iyi süpürme aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir.

4.3.2. Trüf mantarı aromasının ABTS süpürme aktivitesi analizi

Çizelge 4. 6. Trüf mantarı aroma optimizasyon değerlerinin ABTS miktarları

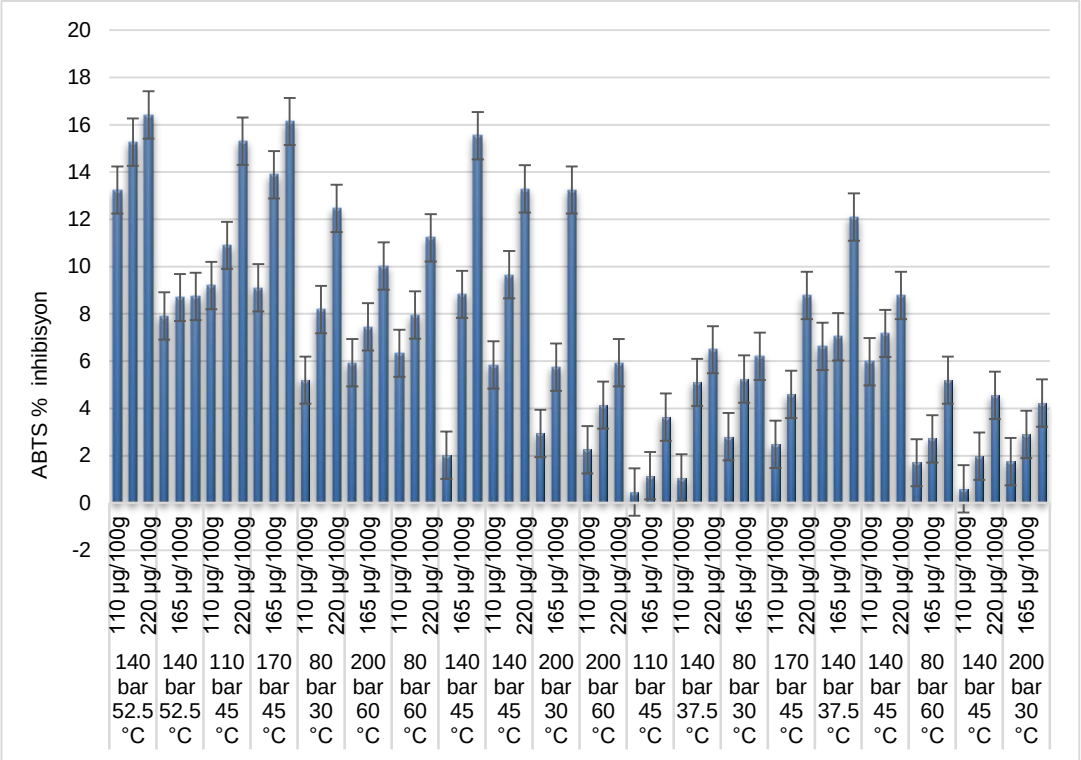
Bas. (bar)	Sıcak-lık °C	Örnek kons. µg/100 g	ABTS % inhibisyon	Trolox	Denk.	R^2	IC50 (mg/kg)
80	60	110	1,70±0,42^{ab}	436,066±0,89	0,0318x - 2,0383	0,94	1636,42
		165	2,71±0,28^{abc}	432,367±1,21			
		220	5,19±1,59^{ab}	421,852±6,77			
	30	110	2,80±0,28^{abcde}	431,977±1,21	0,0309x - 0,3525	0,94	1629,53
		165	5,24±2,03^{cdefgh}	421,658±8,6			
		220	6,20±0,99^{abc}	417,569±4,21			
	30	110	5,19±1,14^{bcdefg}	407,833±11,9	0,066x - 2,2835	0,98	792,17
		165	8,18±0,80^{hıjk}	409,196±3,42			
		220	12,45±2,22^{def}	391,282±9,61			
	60	110	6,33±1,30^{efgh}	417,024±5,51	0,0444x + 1,1785	0,96	1099,58
		165	7,95±0,93^{ghıjk}	410,170±3,97			
		220	11,21±2,03^{cdef}	396,345±8,61			
110	45	110	9,19±1,58^{h}	404,912±6,71	0,0556x + 2,6284	0,93	852,00
		165	10,89±0,41^{j}	397,708±6,71			
		220	15,31±0,96^{ef}	379,015±4,08			
	45	110	0,45±0,75^{a}	441,908±3,21	0,0288x - 3,0115	0,90	1840,67
		165	1,14±0,42^{a}	438,987±1,78			
		220	3,63±1,04^{a}	426,526±4,42			
140	52,5	110	13,24±1,53^{ı}	387,778±6,5	0,0288x + 10,215	0,97	1381,42
		165	15,26±0,44^{ı}	379,210±1,87			
		220	16,41±0,49^{f}	374,342±2,1			
	52,5	110	7,90±1,87^{gh}	415,816±7,1	0,0075x + 7,2031	0,93	5706,25
		165	8,68±1,12^{ijk}	407,054±4,78			
		220	8,73±0,65^{abcd}	406,859±2,76			
	45	110	2,02±0,62^{ab}	433,730±3,88	0,1229x - 11,479	1	500,79
		165	8,82±2,03^{jk}	410,754±10,3			
		220	15,54±0,78^{f}	378,042±3,32			
	45	110	5,83±1,15^{cdefgh}	419,126±4,89	0,0256x + 11,476	0.76	1504,84
		165	9,65±0,27^{jk}	375,705±46,2			
		220	13,28±1,98^{def}	387,583±8,39			
	37.5	110	1,05±0,88^{a}	437,819±3,75	0,0493x - 3,9234	0.92	1093,78
		165	5,10±0,36^{cdefg}	422,242±1,54			
		220	6,48±0,27^{abc}	416,400±1,16			
	37,5	110	6,62±0,41^{fgh}	415,816±1,75	0,0497x + 0,3755	0,80	998,48
		165	7,03±0,82^{efghıj}	414,064±3,5			
		220	12,09±1,38^{def}	392,645±5,88			
	45	110	5,97±0,44^{defgh}	418,542±1,87	0,0255x + 3,1034	0,99	1839,08
		165	7,17±0,63^{efghı}	413,480±2,67			
		220	8,78±0,44^{abcd}	406,665±1,87			

Çizelge 4.6. **(Devamı)**

	45	**110**	**0,59±0,97^{a}**	**430,225±12,49**	**0,0359x - 3,5556**	**0.97**	**1469,49**
		165	1,97±0,65^{ab}	435,482±2,76			
		220	4,55±1,44^{a}	424,578±6,09			
170	45	110	9,10±1,59^{h}	405,302±6,73	0,0639x + 2,4904	0.95	743,49
		165	13,88±0,62^{l}	385,052±2,63			
		220	16,13±0,72^{f}	375,511±3,09			
	45	110	2,48±0,82^{abcd}	432,756±2,67	0,0573x - 4,1609	0,96	945,21
		165	4,59±0,34^{bcdef}	424,384±1,47			
		220	8,78±3,23^{abcd}	406,665±13,70			
200	30	110	1,74±2,07^{ab}	435,872±8,26	0,0226x - 0,7663	0,99	2246,29
		165	2,89±0,23^{abcd}	431,588±1,01			
		220	4,22±0,70^{a}	425,941±1,01			
	30	110	2,94±0,48^{abcdef}	431,393±2,05	0,0936x - 8,1379	0,93	621,13
		165	5,74±1,63^{defghı}	419,516±6,91			
		220	13,24±4,68^{def}	387,778±19,83			
	60	110	2,25±2,13^{abc}	433,730±8,45	0,0334x - 1,41	0,99	1539,22
		165	4,13±0,13^{bcde}	426,331±0,58			
		220	5,93±0,27^{abc}	418,737±1,16			
	60	110	5,93±0,36^{cdefgh}	409,001±17,42	0,0372x + 1,6628	0,97	1302,78
		165	7,44±1,20^{fghij}	412,311±5,09			
		220	10,02±1,51^{bcde}	401,407±6,43			

Tukey testine aynı sütundaki farklı küçük harfler ilgili değerlerin konsantrasyonlarının istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.6.'da trüf mantarı aroma optimizasyon değerlerinin ABTS değerleri verilmiştir. Buna göre en yüksek süpürme aktivitesi 330 µg/100g'da, 140 bar basınç ve 52.5 ˚C parametlerinde % 16.41 olarak tespit edilmiştir. En düşük süpürme aktivitesi ise 110 µg/100g'da, 110 bar basınç ve 45 ˚C parametlerinde % 0.45 olarak bulunmuştur. Örneklerin ABTS % inhibisyon değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklılıklar gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Ek olarak konsantrasyonlar değerlendirildiğinde genel olarak istatistiksel olarak farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0.05$).



Şekil 4. 7. Örneklerin farklı konsantrasyonlardaki ABTS % inhibisyon değişim grafiği

Şekil 4.7. incelendiğinde en yüksek süpürme aktivitesinin % 16.41 ile 1 numaralı reçetede bulunduğu tespit edilmiştir. En düşük süpürme aktivitesi % 0.45 olarak Reçete 12'de gözlemlenmiştir. Genel olarak değerlendirme yapıldığında 140-170 bar basınç ve 45-52.5 ˚C arası parametrelerde ürünlerin daha iyi inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir.

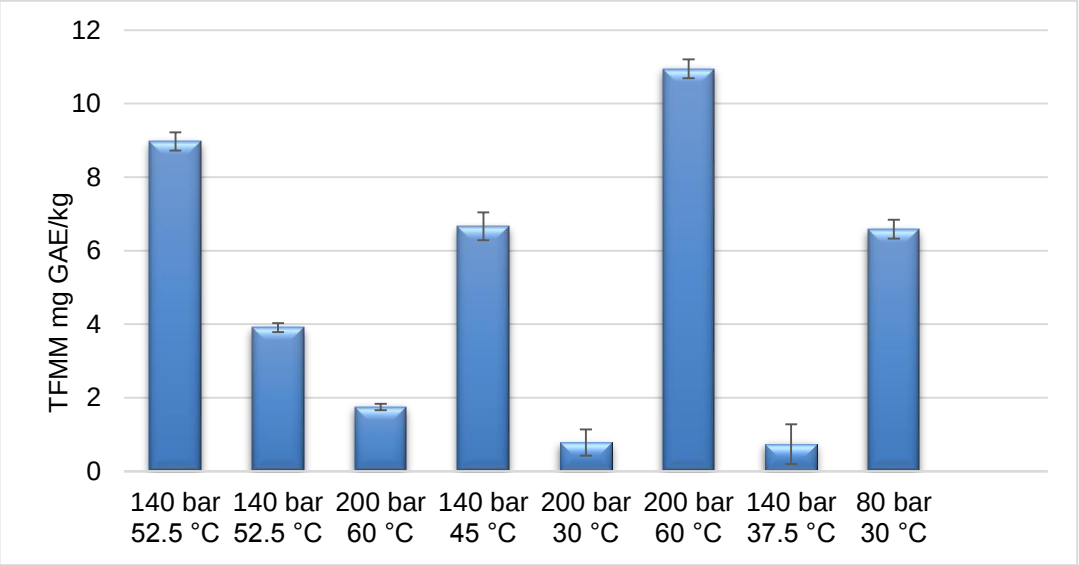
4.3.3. Trüf mantarı aromasının TFMM miktarları

Çizelge 4. 7. Trüf mantarı aroma optimizasyon değerlerinin TFMM miktarları

Örnek	TFMM mg GAE/kg
140 bar 52,5 °C	8,96±0,24^{e}
140 bar 52,5 °C	3,90±0,12^{bc}
200 bar 60°C	3,74±0,08^{a}
140 bar 45 °C	6,66±0,35^{d}
200 bar 30°C	0,77±0,25^{a}
200 bar 60°C	10,94±0,53^{f}
140 bar 37,5 °C	0,73±0,25^{a}
80 bar 30°C	7,41±0,39^{d}

Tukey testine göre aynı sütundaki farklı küçük harfler ilgili değerlerin istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.7.'de trüf mantarı aroma optimizasyon değerlerinin TFMM değerleri verilmiştir. Sonuç olarak en yüksek toplam fenolik madde miktarı, 200 bar basınç ve 60 ˚C sıcaklık değerlerinde 10.94 mg GAE/kg olarak tespit dilmiştir. En düşük toplam fenolik madde miktarı ise 200 bar basınç ve 30 ˚C sıcaklıkta 0.77 mg GAE/kg olarak belirlenmiştir.



Şekil 4. 8. Örneklerin toplam fenolik madde miktarı değişim grafiği

Şekil 4.8.'de örneklerin toplam fenolik madde miktarı değişim grafiği verilmiştir. Şekil incelendiğinde en yüksek fenolik madde miktarı 10.94 mg GAE/kg ile reçete 11'de tespit edilmiştir. En düşük fenolik madde miktarı ise 0.77 mg GAE/kg ile reçete 10'da belirlenmiştir.

4.4. Trüf mantarı aromasının enkapsülasyon koşulları

Trüf mantarı aromasının enkapsülasyon işlemi için daha önce Al S. 2020 tarafından belirlenen değerler kullanılmıştır. Spray dryer ile yapılan enkapsülasyon işleminde 132.78 °C sıcaklık, 15.83 g duvar malzemesi, % 80 MD/GA kombinasyonu kullanılmıştır. Lyofilizasyon ile yapılan enkapsülasyon işlemi için ise 20 g duvar, % 57.09 MD/GA kombinasyonu kullanılmıştır.

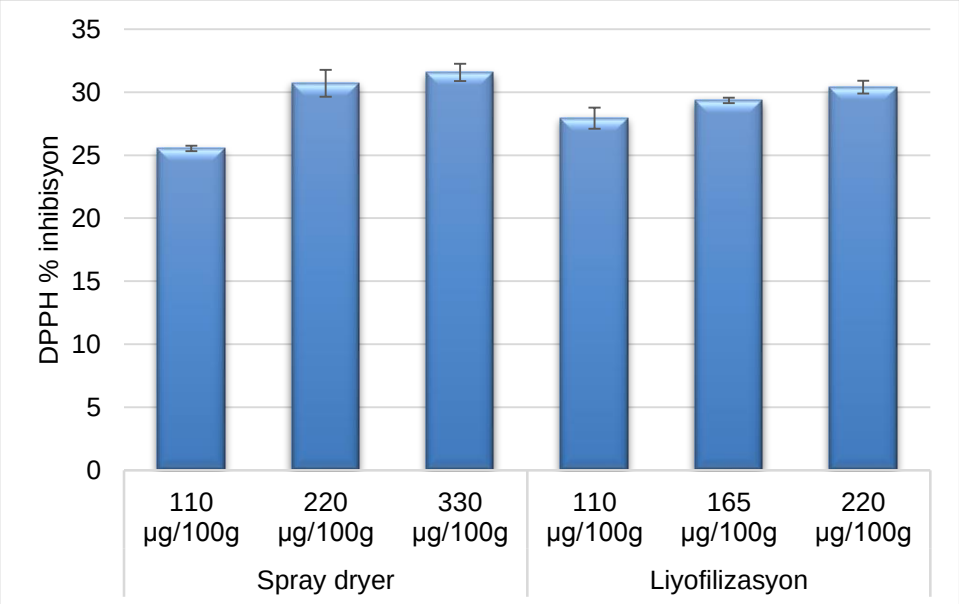
4.4.1. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin DPPH süpürme aktivitesi analizi

Çizelge 4. 8. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin DPPH % inhibisyon değerleri

Örnek	Örnek kons.	DPPH % inhibisyon	Trolox	Denklem	R^2	IC50 (mg/kg)
Spray dryer	110	25,53±1,21[a]	407,054±6,31	0,0275x + 23,227	0,8555	973,56
	220	30,70±1,07[a]	380,184±5,57			
	330	31,57±0,68[b]	375,705±3,56			
Liyofilizas-yon	110	27,93±0,84[b]	394,593±4,38	0,0225x + 25,522	0,9926	1087,91
	165	29,35±0,22[b]	387,193±1,16			
	220	30,40±0,50[b]	381,741±2,63			

Tukey testine aynı sütundaki farklı küçük harfler ilgili değerlerin konsantrasyonlarının istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.8.'de trüf mantarı aroma enkapsüllerinin DPPH % inhibisyon değerleri verilmiştir. Buna göre en yüksek süpürme aktivitesi 330 µg/100g'da % 31.57 olarak spray dryer ile enkapsüle edilen üründe tespit edilmiştir. En düşük süpürme aktivitesi ise 110 µg/100g'da % 25,53 olarak yine spray dryer ile enkapsülasyon işlemi gerçekleştirilen üründe tespit edilmiştir. Örneklerin DPPH % inhibisyon değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklılıklar gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Ek olarak konsantrasyonlar değerlendirildiğinde genel olarak istatistiksel olarak farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0.05$).



Şekil 4. 9. Enkapsüle örneklerin DPPH % inhibisyon değişim grafiği

Şekil 4.9.'da örneklerin en yüksek antioksidan aktivitesinin değişim grafiği verilmiştir. Şekil incelendiğinde spray dryer ile yapılan kurtuma işleminin daha iyi süpürme aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Ek olarak, örneklerin süpürme aktivitelerinin birbirine yakın olduğu gözlemlenmiştir.

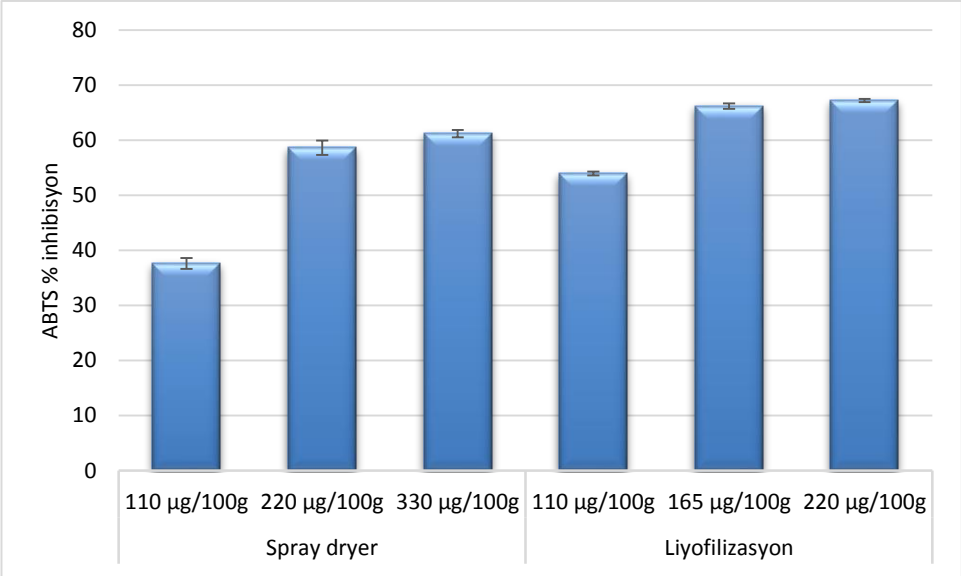
4.4.2. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin ABTS süpürme aktivitesi analizi

Çizelge 4. 9. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin ABTS % inhibisyon değerleri

Örnek	Örnek kons.	ABTS % inhibisyon	Trolox	Denklem	R^2	IC50 (mg/kg)
Spray dryer	110	37,62±0,98[a]	283,411±4,144	0,1072x + 28,897	0,8309	196,86
	220	58,63±1,31[a]	194,817±5,551			
	330	61,21±0,69[a]	183,913±2,92			
Liyofilizas-yon	110	53,97±0,34[b]	214,483±1,47	0,1205x + 42,588	0,8074	414,97
	165	66,20±0,49[b]	162,884±2,106			
	220	67,22±0,28[b]	158,6±1,215			

Tukey testine aynı sütundaki farklı küçük harfler ilgili değerlerin konsantrasyonlarının istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($p<0.05$)

Çizelge 4.9.'da trüf mantarı aroma enkapsüllerinin ABTS değerleri verilmiştir. Buna göre en yüksek süpürme aktivitesi 220 µg/100g'da, % 67.22 olarak tespit edilmiştir. En düşük süpürme aktivitesi ise 110 µg/100g'da, % 37.62 olarak bulunmuştur. Örneklerin ABTS % inhibisyon değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklılıklar gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Ek olarak konsantrasyonlar değerlendirildiğinde genel olarak istatistiksel olarak farklılıklar tespit edilmiştir ($p<0.05$).



Şekil 4. 10. Enkapsüle örneklerin ABTS % inhibisyon değişim grafiği

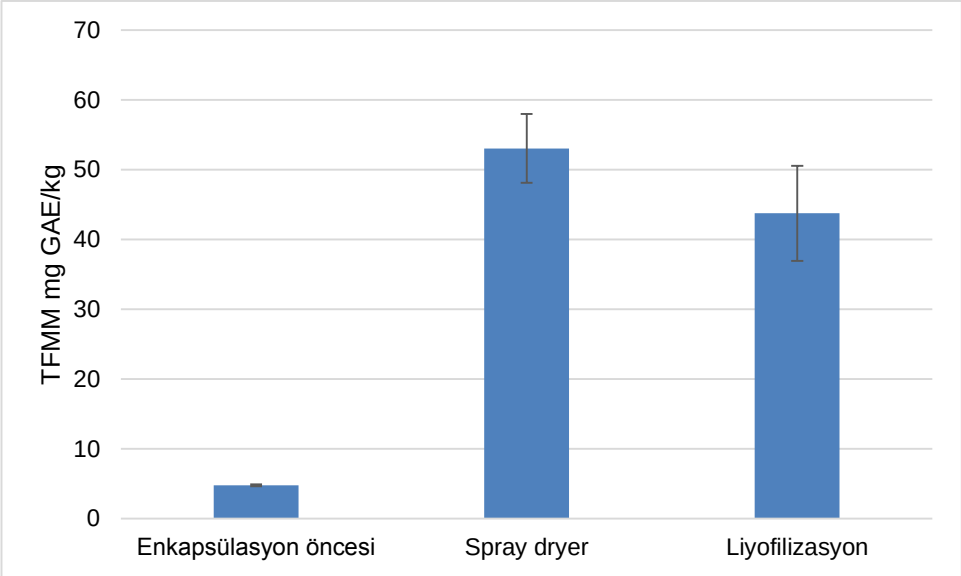
Şekil 4.10.'da örneklerin ABTS % inbihisyon değişim grafiği verilmiştir. Şekil incelendiğinde lyofilizasyon ile yapılan kurtuma işleminin daha iyi süpürme aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Ek olarak, örneklerin süpürme aktivitelerinin birbirine yakın olduğu tespit edilmiştir.

4.4.3. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin TFMM analizi

Çizelge 4. 10. Trüf mantarı aromasının enkapsülasyon öncesi ve sonrası TFMM değerleri

Örnek	TFMM mg GAE/kg
Enkapsülasyon öncesi	4.76±0.13
Spray	53,05±4,93[a]
Liyofilizasyon	43,75±6,80[a]

Çizelge 4.10.'da trüf mantarı aroma enkapsüllerinin TFMM değerleri verilmiştir. Sonuç olarak toplam fenolik madde miktarı, 53.05 mg GAE/kg olarak spray dryer ile yapılan kurutma işleminde tespit dilmiştir. Lyofilizasyon örneğinde ise 43.75 mg GAE/kg toplam fenolik madde miktarı gözlemlenmiştir.



Şekil 4. 11. Örneklerin toplam fenolik madde miktarı değişim grafiği

Şekil 4.11.'de örneklerin toplam fenolik madde miktarı değişim grafiği verilmiştir. Şekil incelendiğinde spray dryer ile gerçekleştirilen enkapsülasyon işleminin lyofilizasyon ile yapılan kurutma işleminden daha fazla toplam fenolik madde miktarı bulundurduğu gözlemlenmiştir.

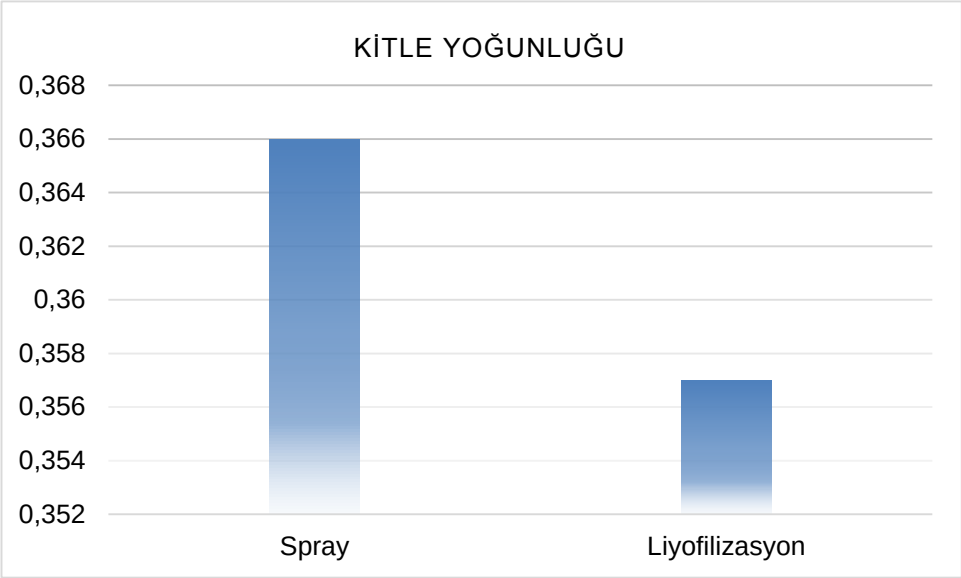
4.5. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin fiziksel analizleri

Çizelge 4. 11. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin fiziksel analiz değerleri

Örnek	Kitle yoğun-luğu	Sıkıştırılmış kitle yoğunluğu	Carr İndeks	Hausner Oranı	Su Aktivite-si	Islanabilir-lik(sn)
Spray dryer	0,366±0,01[a]	0,536±0,03[a]	31,51±7,20[a]	1,47±0,14[a]	0,24±0,00[a]	212±2,64[a]
Liyofilizas-yon	0,357±0,20[a]	0,492±0,01[a]	25,66±0,57[a]	1,34±0,01[a]	0,06±0,00[b]	116±4,72[b]

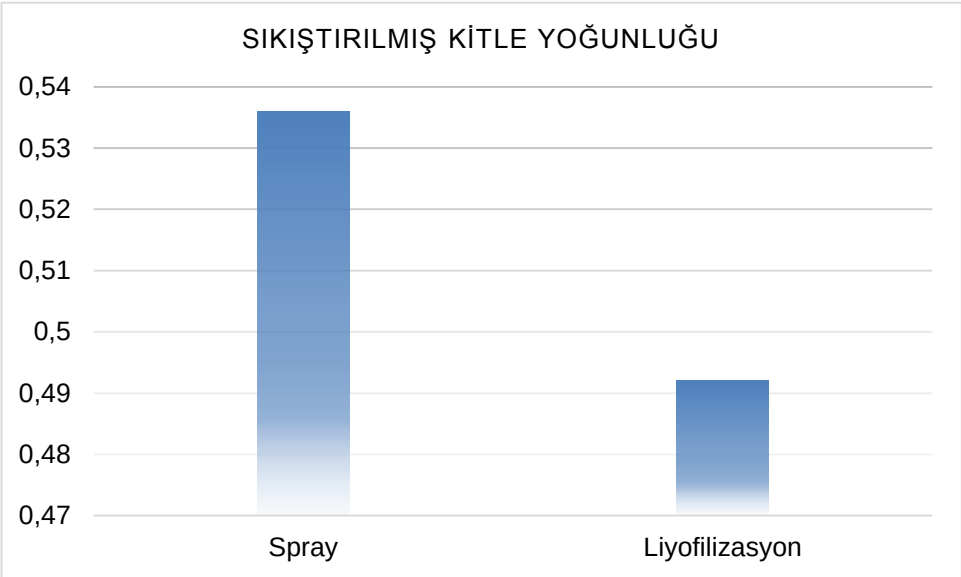
Çizelge 4.11.'de trüf mantarı aroma enkapsüllerinin fiziksel analiz sonuçları verilmiştir. Çizelge incelendiğinde kitle yoğunluğu ve sıkıştırılmış kitle yoğunluğu değerlerinin sırasıyla 0.357 ve 0.492 değerleri ile liyofilizasyon örneğinde daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Bu değerlere bağlı olarak carr indeks ve hausner oranında sırasıyla 25.66 ve 1.34 değerleriyle yine liyofilizasyon ile yapılan kurutma işleminde tespit edilmiştir. Su aktivitesi değeri açısından en iyi sonuç 0.060 olarak liyofilizasyon örneğinde belirlenmiştir. Islanabilirlik değeri ise yine 116 sn ile

liyofilizasyon örneğinde gözlemlenmiştir. Örnekler her bir parametre için karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklılıklar gözlemlenmiştir ($p<0.05$).



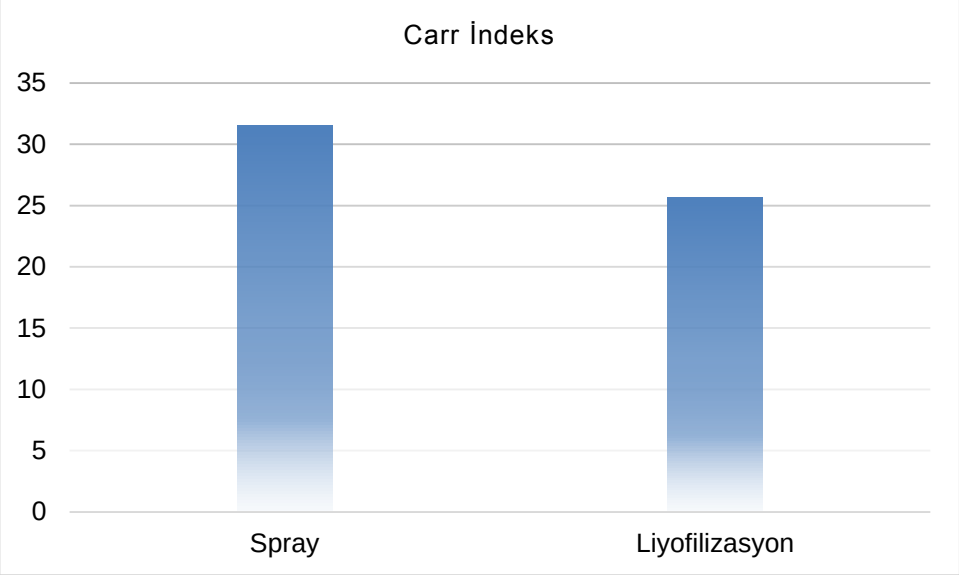
Şekil 4. 12. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin kitle yoğunluğu değişim grafiği

Şekil 4.12. incelendiğinde spray dryer enkapsüllerinin liyofilizasyon enkapsüllerine göre daha iyi derecede kitle yoğunluğuna sahip olduğu belirlenmiştir. Lyofilizasyon enkapsüllerinin düşük yığın yoğunlukları sebebiyle enkapsüller arasında daha fazla hava barındıracağından muhafaza esnasında sorun teşkil etmektedir.



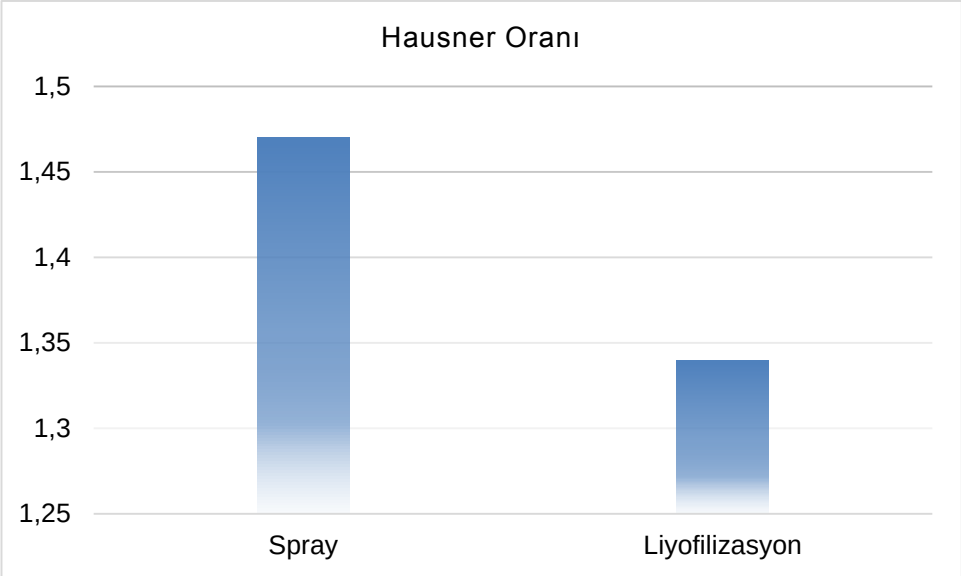
Şekil 4. 13. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin sıkıştırılmış kitle yoğunluğu değişim grafiği

Şekil 4.13. incelendiğinde aynı şekilde spray dryer enkapsüllerinin liyofilizasyon enkapsüllerine göre daha iyi derecede sıkıştırılmış kitle yoğunluğuna sahip olduğu belirlenmiştir.



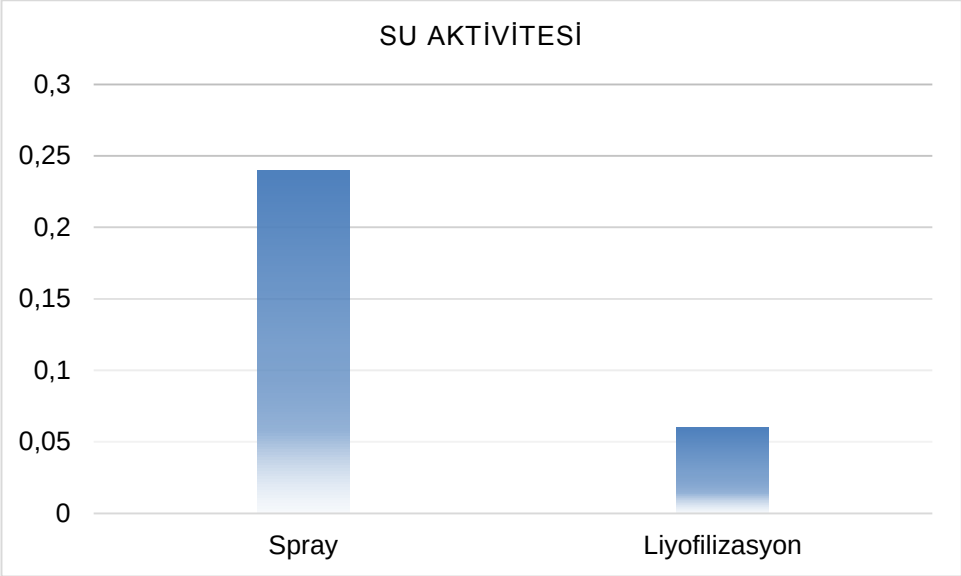
Şekil 4. 14. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin carr indeks değişim grafiği

Şekil 4.14. incelendiğinde kitle yoğunluğu ve sıkıştırılmış kitle yoğunluğu ile bağlantılı olan carr indeks değerinin liyofilizasyon enkapsüllerinin spray dryer enkapsüllerine göre daha iyi derecede olduğu belirlenmiştir. Carr indeks değerinin liyofilizasyon enkapsülü için geçerli olarak değerlendirilirken spray dryer enkapsülü için zayıf olarak değerlendirilmiştir.



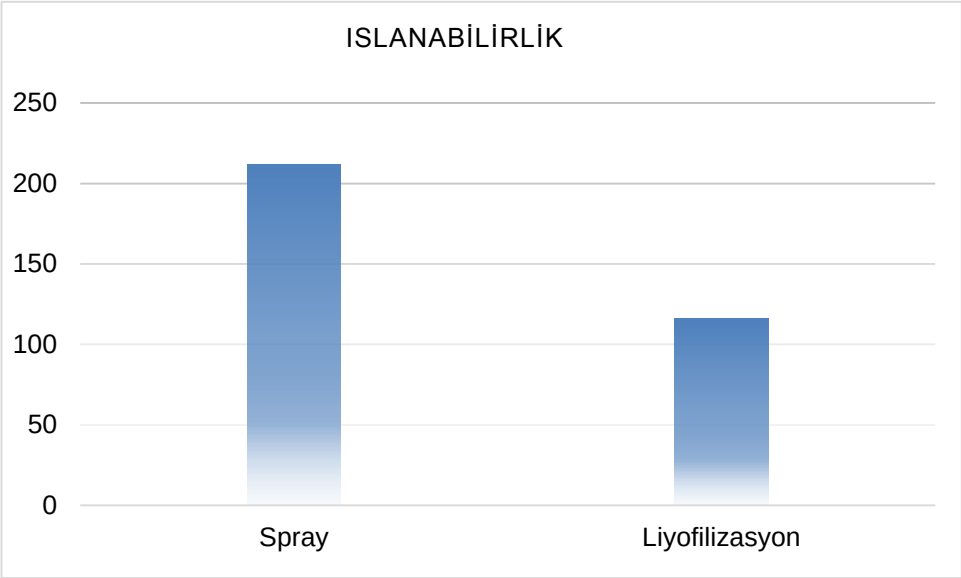
Şekil 4. 15. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin hausner oranı değişim grafiği

Şekil 4.15. incelendiğinde kitle yoğunluğu ve sıkıştırılmış kitle yoğunluğu ile bağlantılı olan hausner oranı değerinin liyofilizasyon enkapsüllerinin spray dryer enkapsüllerine göre daha iyi derecede olduğu belirlenmiştir. Hausner oranının liyofilizasyon enkapsülü için geçerli olarak değerlendirilirken spray dryer enkapsülü için zayıf olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4. 16. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin su aktivitesi değişim grafiği

Şekil 4.16. incelendiğinde su aktivitesi değerinin liyofilizasyon enkapsüllerinin spray dryer enkapsüllerine göre daha iyi derecede olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4. 17. Trüf mantarı aroma enkapsüllerinin ıslanabilirlik değişim grafiği

Şekil 4.17. incelendiğinde ıslanabilirlik değerinin liyofilizasyon enkapsüllerinin spray dryer enkapsüllerine göre daha iyi derecede olduğu tespit edilmiştir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada clavenger aparatı destekli Süper Kritik CO_2 ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen trüf mantarı (*Tuber aestivum*) ekstre ve aromasının antioksidan kapasite, toplam fenolik madde miktarı, flavanoid miktarı, toplam antosiyanin ve kondanse tanen içerikleri incelenmiştir. Elde edilen ekstre ve aromalar püskürtmeli ve lyofilizasyon yöntemleri kullanılarak mikroenkapsülasyon işlemine tabi tutulmuştur. Enkapsüle edilmiş aroma ve ekstrelerin antioksidan aktivitesi, toplam fenolik madde miktarı, toplam flavanoid, toplam antosiyanin, kondanse tanen değerleri ve fiziksel analizleri yapılmıştır.

Yapılan analizler sonucunda, daha yüksek sıcalık ve basınç değerlerine paralel olarak daha yüksek verim elde edildiği belirlenmiştir. Aynı zamanda sıcaklık ve basınç arttıkça süpürme aktivitesi ve toplam fenolik madde miktarında da artış gözlemlenmiştir. Ayrıca numunelerde toplam antosiyanin ve toplam flavanoid ve kondanse tanen içerikleri tespit edilememiştir.

Püskürtmeli kurutma (Spray dryer) işlemi kullanılarak elde edilen trüf mantarı ekstre ve aromasında yüksek oranda toplam fenolik madde ve flavanoid miktarı içerdiği gözlemlenmiştir. Elde edilen ürünlerin DPPH ve ABTS radikalleri ile yapılan antioksidan kapasite analizleri sonuçlarına göre yüksek oranda aktivite gözlemlenmiştir.

Dondurarak kurutma (Liyofilizasyon) işlemi sonucunda elde edilen trüf mantarı ekstre ve aromasında püskürtmeli kurutma yöntemine oranla daha düşük seviyede fenolik madde içeriğine sahip olduğu ancak flavanoid madde içermediği gözlemlenmiştir. Dondurarak kurutma ile elde edilen ekstre ve aromada antioksidan kapasite değeri daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Trüf ekstre ve aromasında toplam antosiyanin ve kondense tanen içeriği belirlenememiştir.

Trüf mantarının püskürtmeli kurutma kapsül örneklerinde Carr indeks, Hausner oranı ve ıslanabilirlik değerleri daha kabul edilebilir seviyede olduğu gözlemlenmiştir. Ancak dondurarak kurutma kapsüllerinde, veriminin daha fazla ve su aktivitesi açısından daha kabul edilebilir olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak; değerli oranlarda besleyici özelliklere sahip olan trüf mantarı ekstre ve aroma mikroenkapsülasyonu işlemi sonucunda katma değer açısından potansiyeli yüksek bir çıktı olduğundan ekonomiye de önemli katkılar sağlayacağı öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

AGRAHAR-MURUGKAR, D. and G. SUBBULAKSHMI., 2005. "Nutritional value of edible wild mushrooms collected from the Khasi hills of Meghalaya." Food Chem **89**(4): 599-603.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E. and BERSET, C.L.W.T., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology, 28(1), pp.25-30.

BREENE, W. M. 1990. "Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms." J Food Prot **53**(10): 883-895.

CARAGAY, A. B. and A. D. LITTLE., 1981. "Supercritical fluids for extraction of flavors and fragrances from natural products." Perfum. Flavor **6**(4): 43-46.

CHEN, Q., ZHONG, F., WEN, J., MCGILLIVRAY, D. and QUEK, S.Y., 2013. Properties and stability of spray-dried and freeze-dried microcapsules co-encapsulated with fish oil, phytosterol esters, and limonene. Drying Technology, 31(6), pp.707-716.

CHENG, A.W., XIE, H.X., QI, Y., LIU, C., GUO, X., SUN, J.Y. and LIU, L.N., 2017. Effects of storage time and temperature on polyphenolic content and qualitative characteristics of freeze-dried and spray-dried bayberry powder. Lwt, 78, pp.235-240.

CHO, I.H., KIM, S.Y., CHOI, H.K. and KIM, Y.S., 2006. Characterization of aroma-active compounds in raw and cooked pine-mushrooms (Tricholoma matsutake Sing.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(17), pp.6332-6335.

DÍAZ, P., SEÑORÁNS, F.J., REGLERO, G. and IBAÑEZ, E., 2002. Truffle aroma analysis by headspace solid phase microextraction. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(22), pp.6468-6472.

DOLLY, P., ANISHAPARVIN, A., JOSEPH, G.S. and ANANDHARAMAKRISHNAN, C., 2011. Microencapsulation of Lactobacillus plantarum (mtcc 5422) by spray-freeze-drying method and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions. Journal of microencapsulation, 28(6), pp.568-574.

EREN, E. ve PEKŞEN, A., 2016. "Türkiye'de kültür mantarı sektörünün durumu ve geleceğine bakış."

HANSEN, L.J.J., DAOUSSI, R., VERVAET, C., REMON, J.P. and DE BEER, T.R.M., 2015. Freeze-drying of live virus vaccines: a review. Vaccine, 33(42), pp.5507-5519.

HARKI, E., BOUYA, D. and DARGENT, R., 2006. Maturation-associated alterations of the biochemical characteristics of the black truffle Tuber melanosporum Vitt. Food Chemistry, 99(2), pp.394-400.

HUANG, X., SORMOLI, M.E. and LANGRISH, T.A., 2018. Review of some common commercial and noncommercial lab-scale spray dryers and preliminary tests for a prototype new spray dryer. Drying technology, 36(15), pp.1900-1912.

ŞEN, İ. ve CİVELEK, H. S., 2016. "Checklist of Turkish truffles." Turkish Journal of Life Sciences **1**(2): 103-109.

KALAČ, P. and L. R. SVOBODA., 2000. "A review of trace element concentrations in edible mushrooms." Food Chem **69**(3): 273-281.

KARAOGUL, E., ALTUNTAŞ, E. ve ALMA, M.H., 2017. Tanenlerin quercus türlerinde sınıflandırılması ve kantitatif analizi. Harran Üniversitesi Mühendislik Dergisi, 2(3), pp.17-24.

KOÇ, M., KOÇ, B. ve KAYMAK-ERTEKIN, F., 2011. Toz gıdaların fiziksel karakterizasyon özellikleri. Akademik Gıda, 9(4), pp.60-70.

MASHAYEKHI, P. 2005. Eine massensensitive elektronische Nase zur Erkennung, Unterscheidung und Qualitätskontrolle von Safran und Trüffel, Universitäts- und Landesbibliothek Bonn.

MOLDAO-MARTINS, M., PALAVRA, A., DA COSTA, M.B. and BERNARDO-GIL, M.G., 2000. Supercritical CO2 extraction of Thymus zygis L. subsp. sylvestris aroma. The Journal of Supercritical Fluids, 18(1), pp.25-34.

MONTECCHI, A. and M. SARASINI., 2000. "Funghi ipogei d'Europa."

PEKŞEN, A. ve AKDENİZ, H., 2012. "Organik ürün olarak doğa mantarları." Düzce Üniversitesi Orman Fakültesi Ormancılık Dergisi **8**(1): 34-40.

PEKŞEN, A. ve KARACA, G. H., 2000. "Samsun ili ve çevresinde saptanan yenilebilir mantar türleri ve bunların tüketim potansiyeli." A. Günay et al: 100-111.

PIKAL, M.J., SHAH, S., ROY, M.L. and PUTMAN, R., 1990. The secondary drying stage of freeze drying: drying kinetics as a function of temperature and chamber pressure. International journal of pharmaceutics, 60(3), pp.203-207.

PORTE, H. and G. COUARRAZE., 1994. "Microencapsulation processes for the manufacture of systems providing modified release of the active constituent." Powder Technology and Pharmaceutical Processes: 513-543.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M. and RICE-EVANS, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free radical biology and medicine, 26(9-10), pp.1231-1237.

SCHULTZ, W. and J. RANDALL., 1970. "Liquid carbon dioxide for selective aroma extraction." Food technology.

SHAHIDI, F. and X. Q. HAN., 1993. "Encapsulation of food ingredients." Critical Reviews in Food Science & Nutrition **33**(6): 501-547.

SINGLETON, V. L. and J. A. ROSSI., 1965. "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents." American journal of Enology and Viticulture **16**(3): 144-158.

SOSNIK, A. and K. P. SEREMETA., 2015. "Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers." Advances in colloid and interface science **223**: 40-54.

TATAR, F., TUNÇ, M.T., DERVISOGLU, M., CEKMECELIOGLU, D. and KAHYAOGLU, T., 2014. Evaluation of hemicellulose as a coating material

with gum arabic for food microencapsulation. Food Research International, 57, pp.168-175.

TEJEDOR-CALVO, E., AMARA, K., REIS, F.S., BARROS, L., MARTINS, A., CALHELHA, R.C., VENTURINI, M.E., BLANCO, D., REDONDO, D., MARCO, P. and FERREIRA, I.C., 2021. Chemical composition and evaluation of antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of Tuber and Terfezia truffles. Food Research International, 140, p.110071.

TRAPPE, J. 2008. Taming the Truffle—The History, Lore, and Science of the Ultimate Mushroom, JSTOR.

TRAPPE, J. M. 2009. Diversity, ecology, and conservation of truffle fungi in forests of the Pacific Northwest, US Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station.

TURCHIULI, C., FUCHS, M., BOHIN, M., CUVELIER, M.E., ORDONNAUD, C., PEYRAT-MAILLARD, M.N. and DUMOULIN, E., 2005. Oil encapsulation by spray drying and fluidised bed agglomeration. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 6(1), pp.29-35.

TÜRKOĞLU, A. 2015. "Yeraltındaki gizli hazine: Trüf mantarları." TC Orman ve Su İşleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü, Ankara.

WANG, S. AND M. F. MARCONE., 2011. "The biochemistry and biological properties of the world's most expensive underground edible mushroom: Truffles." Food Res Int **44**(9): 2567-2581.

WROLSTAD, R. E. 1976. Color and pigment analyses in fruit products. Station Bulletin 624, Agricultural Experiment Station Oregon, Oregon State University, Corvallis. s1-17.

ZHISHEN, J., MENGCHENG, T. and JIANMING, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food chemistry, 64(4), pp.555-559.