

FARKLI ÇÖZÜCÜ VE ULTRASONİKASYON UYGULAMALARININ MAYA HÜCRELERİ İLE B-KAROTEN ENKAPSÜLASYONUNDA ETKİSİ

İnci CERİT*, Rabia GÜNEŞ, Goncagül ÇELİK

Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, Sakarya, Türkiye

Geliş/Received: 05.09.2024; Kabul /Accepted: 19.11.2024; Online baskı /Published online: 25.11.2024

Cerit, İ., Güneş, R., Çelik, G. (2024). Farklı çözücü ve ultrasonikasyon uygulamalarının maya hücreleri ile β -karoten enkapsülasyonunda etkisi. GIDA (2024) 49 (6) 1162-1174 doi: 10.15237/gida.GD24091

Cerit, İ., Güneş, R., Çelik, G. (2024). The effect of different solvents and ultrasonication applications on β -carotene encapsulation with yeast cells. GIDA (2024) 49 (6) 1162-1174 doi: 10.15237/gida.GD24091

ÖZ

Karotenoid grubunun üyesi olan β -karoten, içerdiği çift bağlardan dolayı ışık, ısı ve oksijen gibi etmenlerin varlığında kolaylıkla bozulabilen bir moleküldür. β -karotenin bu çevresel faktörlerden korunması amacıyla maya hücreleri (*Saccharomyces cerevisiae*) ile enkapsüle edilmesi bu çalışmanın amacını oluşturmaktadır. Ayrıca, farklı çözücü (etil alkol ve etil asetat) ve ultrasonikasyon (5, 10, 20, 30 dk) uygulamalarının kapsülleme verimi üzerine etkisinin belirlenmesi çalışmanın diğer amaçlarıdır. Sonuçlar değerlendirildiğinde, en yüksek verim etil asetatın çözücü olarak kullanıldığı kapsüllerde (151.97 $\mu\text{g/g}$ maya) elde edilirken ultrasonikasyon uygulaması ile verimin azaldığı tespit edilmiştir. Etil alkol kullanılan kapsüllerde verim 34.86 $\mu\text{g/g}$ maya olarak belirlenmiş, 30 dk ultrasonikasyon ile 58.35 $\mu\text{g/g}$ 'a ulaşmıştır. Enkapsülasyon sonrası β -karotenin yapısında bir değişiklik olmadığı HPLC spektrumu ile doğrulanmıştır. FT-IR spektrumu ve SEM analizi görüntülerinde mikrokapsüller arasında fark görülmemiş ancak ultrasonikasyon işleminin maya çeperine zarar verdiği belirlenmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, düşük maliyeti ve güvenilirliği ile dikkat çeken maya hücreleri, β -karotenin kapsüllemesinde potansiyel taşıyan özellikler sunmuştur.

Anahtar kelimeler: Enkapsülasyon, maya, β -karoten, ultrasonikasyon

THE EFFECT OF DIFFERENT SOLVENTS AND ULTRASONICATION APPLICATIONS ON B-CAROTENE ENCAPSULATION WITH YEAST CELLS

ABSTRACT

β -carotene, a member of the carotenoid group, is a molecule that can be easily degraded in the presence of factors such as light, heat and oxygen due to the double bonds it contains. This study aimed to encapsulate β -carotene with yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*) to protect it from these environmental factors. Moreover, the effects of different solvents (ethyl alcohol, ethyl acetate) and ultrasonication durations (5–30 minutes) on encapsulation efficiency were evaluated. The highest yield (151.97 $\mu\text{g/g}$ yeast) was achieved using ethyl acetate, while ultrasonication reduced efficiency. With ethyl alcohol, yield was 34.86 $\mu\text{g/g}$ yeast, increasing to 58.35 $\mu\text{g/g}$ after 30 minutes of ultrasonication. HPLC confirmed no structural changes in β -carotene after encapsulation. FT-IR spectra and SEM analysis showed no significant differences between microcapsules, although

* Sorumlu yazar /corresponding author:

✉:incicantik@sakarya.edu.tr

☎: (+90) 264 295 5847

İnci Cerit; ORCID no: 0000-0002-3106-8951

Rabia Güneş; ORCID no: 0009-0009-3568-6376

Goncagül Çelik; ORCID no: 0009-0005-6841-3957

ultrasonication damaged yeast cell walls. These findings suggest that yeast cells, due to their low cost and safety, are a promising option for β -carotene encapsulation

Keywords: Encapsulation, yeast, β -carotene, ultrasonication

GİRİŞ

Karotenoidler, insan ve hayvanlar tarafından sentezlenmeyen ancak bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından üretilen hidrofobik bileşiklerdir (Mussagy vd., 2019). Yapısında karbon atomu bulunduyorsa karoten, oksijen atomu bulunduyorsa ksantofil olarak adlandırılmaktadır (Maslova vd., 2021). Karotenoidlerin doğada 1000'den fazla bileşiği bulunduğu bilinmektedir. Bu bileşiklerin büyük kısmını α -karoten, β -karoten, likopen, lutein ve zeaksantin oluşturmaktadır (Fernandes vd., 2018). β -karoten, karotenoidlerin doğada en yaygın bulunan pigmentidir. β -karotenin diğer karotenoidlerden farklı olmasının nedeni, zincir yapısının her iki ucunda da β -iyonon halkasının bulunmasıdır. β -karoten, suda çözünmezken yağda ise az çözünebilmektedir (Gul vd., 2015). Sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan bitkilere rengini veren kırmızı-turuncu renk pigmentidir. Tatlı patates, kırmızıbiber, balkabağı, ıspanak, marul gibi sebzeler ile kayısı ve mango gibi meyvelerde oldukça fazla bulunmaktadır (Durante vd., 2014; Sing ve Sambyal, 2022). İnsanlar, β -karoteni meyve ve sebzeler yoluyla vücuda almaktadır ve alınan β -karoten zamanla A vitamini dönüşmektedir (Wang vd., 2022). Karotenoid çeşitleri arasında β -karotenin en yüksek provitamin A aktivitesine sahip olduğu bilinmektedir. Ayrıca, sahip olduğu antioksidan özelliği ile birlikte bazı kanser türleri ve kalp hastalıklarını önlemede etkili olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmektedir (Chen vd., 2021). Margarin, fırıncılık yağları ve içeceklerde doğal renk verici madde olarak kullanımı oldukça yaygın olmakla birlikte içerdiği çift bağlardan dolayı ışık, ısı ve oksijen gibi etmenlerin varlığında çok kolay bozulabildiğinden β -karotenin gıda endüstrisinde uygulamaları sınırlıdır (Bilek ve Özkan, 2012). Bu sebepten dolayı, β -karoten biyoaktivitesinde değişim olmaması için enkapsülasyon gibi teknolojik bir süreç uygulanabilmektedir.

Enkapsülasyon; katı, sıvı veya gaz halindeki bileşiklerin bir taşıyıcı materyal ile koruma altına alınması şeklinde tanımlanmaktadır. Koruma

altına alınacak bileşik aktif bileşen olarak isimlendirilirken esas amaç bu bileşiğin korunması ve kontrollü salınımının gerçekleştirilebilmesidir. İşlem sırasında uygulanacak teknik ve kullanılacak malzeme, enkapsülasyon işleminde önem taşımaktadır (Aydın ve Ünlüel, 2021). Amaçlanan fonksiyonel özelliğin kazandırılması için kapsül oluşumunda püskürterek kurutma, dondurarak kurutma, koaservasyon ve akışkan yatak kaplaması gibi yöntemler kullanılmaktadır (Ayyarıl vd., 2023). Bu yöntemler arasında ısıya duyarlı maddelerin enkapsülasyonunda dondurarak kurutma ön plana çıkmaktadır. Enkapsülasyon işleminde önemli parametrelerden bir diğeri taşıyıcı materyalin seçimidir. Kullanılacak materyal toksik olmamalı, gıda matrisine uygun olmalı ve aktif bileşeni koruyucu özelliğe sahip olmalıdır (Ozkan vd., 2019). Maltodekstrin, gum arabik gibi polisakkaritler, peynir altı suyu, kazein ve jelatin gibi proteinler en çok kullanılan kaplama maddeleridir (Jia vd., 2016; Sarabandi vd., 2019). Bahsi geçen kaplama materyallerine ek olarak son yıllarda maya hücrelerinin de taşıyıcı olarak kullanılması ön plana çıkmaktadır. Maya hücrelerinin kaplama materyali olarak kullanıldığı enkapsülasyon işleminin maliyeti oldukça düşüktür ve prosesi basittir. Maya hücreleri etkin salınım ve hücrenin içine geçiş sağlamasından dolayı hidrofilik ve hidrofobik karaktere sahip moleküllerin enkapsülasyonunda kullanılabileceği bilinmektedir (Dadkhodazade, 2018; Nguyen vd., 2018; Rubio vd., 2022).

Mikrokapsülasyon sırasında seçilecek yöntem ve kaplama materyali dışında verimi arttırmak için ultrasonikasyon işlemi de uygulanabilmektedir (de Andrade vd., 2022; Rubio vd., 2022). Ultrasonikasyonun yarattığı kaviteasyon ve mikroskobik türbülans maya yüzeyine çarpmakta, gözenek oluşturmakta ve daha fazla bağlanma yerinin ortaya çıkarılmasını sağlayarak adsorpsiyonu kolaylaştırmaktadır. Ayrıca, ultrasonikasyon tekniği membranda geçici delikler oluşturarak hücre zarı geçirgenliğini arttırmak ve moleküllerin hücre içine geçişini sağlamak amacıyla da kullanılmaktadır (Pham-Hoang vd.,

2018). Bu çalışmada, farklı sürelerde ultrasonikasyon uygulanmış maya hücreleri ile ticari β -karotenin enkapsüle edilmesi hedeflenmiştir. Ek olarak, farklı çözücü kullanımının enkapsülasyon verimi üzerine etkisi de incelenmiştir. Enkapsülasyon işlemi uygulanmasının ardından mikrokapsüllerdeki β -karotenin HPLC-Diot Dizisi Dedektörü (DAD) ile tespit edilmesi ve yapısal özelliklerinin belirlenmesi çalışmanın diğer amaçlarını oluşturmaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada, Sakarya'da yerel bir marketten satın alınan ekmek mayası, *Saccharomyces cerevisiae*, (Dr. Oetker, Almanya) kullanılmıştır. β -karoten kaynağı olarak ise 7 mg kapsül (Solgar, ABD) temin edilmiştir. Yağda çözülmüş β -karoten, kapsüllerden kayıpsız çıkarılmış ve enkapsülasyon işleminde kullanılmıştır.

Enkapsülasyon için kullanılan maya, öncelikle fosfat tamponu ile yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Bunun için 50 g maya alınarak 500 ml fosfat tamponu (pH 6.8) ile manyetik karıştırıcıda homojen şekilde dağılına kadar 30-40 dk karıştırılmıştır. Falkon deney tüplerine eşit şekilde bölüştürülmüş ve 10 dk santrifüj (15°C, 9000 rpm) uygulanmıştır. Çöken maya tampondan ayrılmış ve saf su ile 5 kez yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Yıkama işlemi tamamlanmış olan mayalar cam petri kaplarına alınarak dondurarak kurutulmuştur (Dadkhodazade vd., 2018). Kurutma işlemi için liyofilizatör (Labconco, ABD) -50°C'de 48 saat çalıştırılmıştır. Liyofilizatörden alınan kurutulmuş mayalar havan yardımı ile öğütülmüş ve 40 mesh boyutunda elekten geçirilerek homojen toz maya elde edilmiştir.

Ultrasonikasyon işlemi

Bu çalışmanın amacı hem ultrasonikasyon hem de farklı çözücü kullanımının mayaların β -karoten yükleme kapasitesi üzerine etkilerini belirlemektir. Bu amaçla, 1 g maya 10 mL su ile oda sıcaklığında 10 dakika karıştırılmış ve sonrasında ultrasonikasyon işlemi uygulanmıştır. Çalışmada, farklı sürelerde ultrasonikasyon işlemi

uygulanmasının etkisi belirlendiğinden her bir süre parametresi (5, 10, 20, 30 dk) için ayrı maya çözeltisi hazırlanmıştır. Prob, maya çözeltisinin yüzeyinden 1.5 cm derinliğinde daldırılmıştır. Ultrasonikasyon işlemi $20\pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklıkta ve 120 W sabit güçte gerçekleştirilmiştir. Sıcaklığı sabit tutmak için maya çözeltisi karışımı bir behere konulmuş ve beher buz banyosuna yerleştirilmiştir. Kullanılan ultrasonik cihaz (Bandelin HD2200, Almanya) 200 W, 24 kHz gücünde olup 4.5 mm çapında ve 130 mm uzunluğunda TS 104 proba sahiptir.

Enkapsülasyon İşlemi

Enkapsülasyon işlemi için Pham-Hoang vd. (2018) kullandığı yöntem modifiye edilmiştir. Öncelikle, her bir tüpe 7 mg β -karoten ve 2 ml çözücü (etil asetat veya etil alkol) ilave edilmiş ve vorteks işlemi uygulanmıştır. Maya çözeltileri 10 mL alınarak β -karoten çözeltisine eklenmiş ve 2 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra 150 rpm, 27°C'de 3 saat çalkalamalı inkübatörde bekletilmiştir. Çalkalamalı inkübatörden alınan örnekler saf su ile 5 kez yıkama işlemi uygulanmıştır. Yıkama işlemi tamamlanmış olan mayalar cam petri kaplarına alınarak dondurarak kurutulmuş ve enkapsülasyon işlemi tamamlanmıştır. Çalışmada elde edilen mikrokapsüller ve kodları Çizelge 1'de verilmiştir.

HPLC ile β -karoten miktarının belirlenmesi

Maya mikrokapsüllerindeki β -karoten miktarını belirlemek için 0.1 g maya örneği tartılmış ve üzerine 1 ml etil asetat ilave edilmiştir. 2 dk vortekslendikten sonra 15 dk boyunca ultrasonik su banyosunda bekletilmiştir. Üst faz santrifüjleme işlemi ile ayrılmış ve geriye kalan alt faza 1 ml etil asetat ilave edilerek aynı işlemler tekrarlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar toplanarak bir şırınga yardımıyla 0.45 mikron filtreden geçirilip süzülerek şişelere aktarılmış ve HPLC cihazına enjekte edilmiştir (Xu vd., 2021). Dolgu maddesinin çapı 3 μm , iç çapı 4.6 mm ve uzunluğu 150 mm olan kolon (GL Sciences Inertsil ODS-3, Japonya) kullanılmıştır. Örneklerin karotenoid içeriklerini belirlemede kullanılan HPLC sistemi (Hitachi, Japonya) L-2130 pompa, L-2300 fırın, L-2200 otomatik örnekleme sistemi ve L-2455 PDA (Photo Diode Array) dedektör içermektedir.

Dedektörün dalga boyu 450 nm olarak ayarlanmıştır. Kullanılan mobil faz metanol: tetrahidrofuran (95:5) izokratik çözeltilisidir ve akış hızı 1 ml/dk olacak şekilde ayarlanmıştır. Analizler 450 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir (Cerit vd., 2023). Kalibrasyon

eğrileri için 0-25 mg/L standart β-karoten (saflık>0.98), (Sigma, ABD) çözeltileri hazırlanmış ve kalibrasyon eğrileri elde edilmiştir ($R^2=0.9938$). Her bir örnek ikişer defa analiz edilmiş ve ortalama değerler kullanılmıştır.

Çizelge 1. Örnek grupları ve kodları

Table 1. Sample groups and codes

Örnek Kodu <i>Sample code</i>	Örnek Grubu <i>Sample groups</i>
AL-0 <i>AL-0</i>	Ultrasonikasyon: 0 dk, Çözücü: Etil alkol <i>Ultrasonication: 0 min, Solvent: Ethyl alcohol</i>
AL-5 <i>AL-5</i>	Ultrasonikasyon: 5 dk, Çözücü: Etil alkol <i>Ultrasonication: 5 min, Solvent: Ethyl alcohol</i>
AL-10 <i>AL-10</i>	Ultrasonikasyon: 10 dk, Çözücü: Etil alkol <i>Ultrasonication: 10 min, Solvent: Ethyl alcohol</i>
AL-20 <i>AL-20</i>	Ultrasonikasyon: 20 dk, Çözücü: Etil alkol <i>Ultrasonication: 20 min, Solvent: Ethyl alcohol</i>
AL-30 <i>AL-30</i>	Ultrasonikasyon: 30 dk, Çözücü: Etil alkol <i>Ultrasonication: 30 min, Solvent: Ethyl alcohol</i>
AS-0 <i>AC-0</i>	Ultrasonikasyon: 0 dk, Çözücü: Etil asetat <i>Ultrasonication: 0 min, Solvent: Ethyl acetate</i>
AS-5 <i>AC-5</i>	Ultrasonikasyon: 5 dk, Çözücü: Etil asetat <i>Ultrasonication: 5 min, Solvent: Ethyl acetate</i>
AS-10 <i>AC-10</i>	Ultrasonikasyon: 10 dk, Çözücü: Etil asetat <i>Ultrasonication: 10 min, Solvent: Ethyl acetate</i>
AS-20 <i>AC-20</i>	Ultrasonikasyon: 20 dk, Çözücü: Etil asetat <i>Ultrasonication: 20 min, Solvent: Ethyl acetate</i>
AS-30 <i>AC-30</i>	Ultrasonikasyon: 30 dk, Çözücü: Etil asetat <i>Ultrasonication: 30 min, Solvent: Ethyl acetate</i>

Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) ile yapısal karakterizasyon

Hem mikrokapsüllerin hem de boş maya hücrelerinin mikro yapısını incelemek için taramalı elektron mikroskop sistemi (Tescan Vega II, Çek Cumhuriyeti) kullanılmıştır. Mayalar iletken bir tabaka (Au/Pd) ile kaplanmış ve vakum altında kurutulduktan sonra görüntüleme işlemi yapılmıştır. Örnekler 2500x ve 5000x büyütme oranlarıyla analiz edilmiştir (Fu vd., 2021).

Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) ile konformasyonel karakterizasyon

Hem boş hem de yüklü maya hücrelerinin yapılarındaki değişikliklerin incelenmesi için Perkin Elmer Spectrum Two Model (ABD) cihazıyla 400-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında

spektrumlar elde edilmiştir. Veriler Spectrum Software aracılığı ile analiz edilmiştir (Cerit vd., 2024).

İstatistiksel analiz

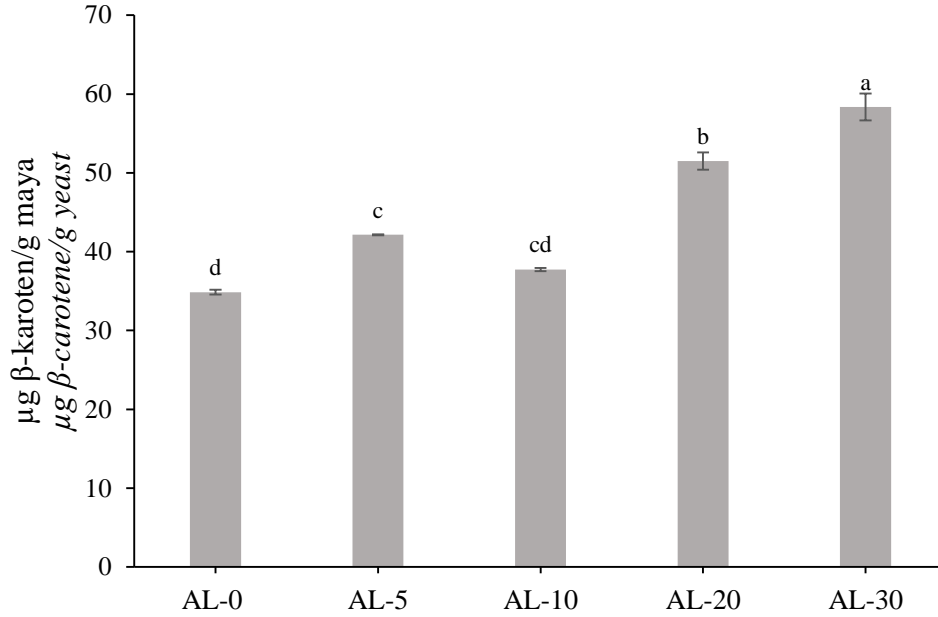
Kapsüllerin β-karoten içeriğine ait veriler, SPSS (versiyon 11.5, SPSS Inc., ABD) kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Örnekler arasındaki farklılıkları belirlemek için Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır ($P<0.05$).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada, maya hücreleri ile β-karoten enkapsülasyonunda farklı çözücülerin ve ultrasonikasyon işleminin verime etkisi incelenmiştir. Çözücü olarak etil asetat ve etil alkol

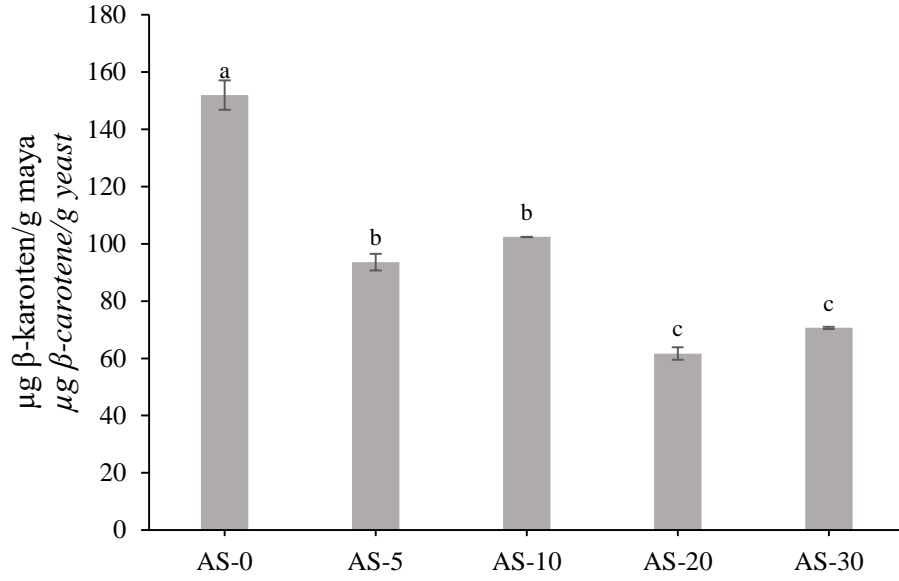
kullanılan maya kapsüllerinin β -karoten konsantrasyonları HPLC ile analiz edilmiş ve veriler Şekil 1 ve Şekil 2'de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, çözücü olarak etil asetat kullanıldığında β -karoten miktarı 151.97 $\mu\text{g/g}$ maya olurken etil alkol grubunda 34.86 $\mu\text{g/g}$ maya olarak tespit edilmiştir. Etil asetatın yükleme kapasitesini etil alkole göre 4 kattan fazla arttırdığı belirlenmiştir. Etil asetat, higroskopik olmayan ve yüksek karoten çözünürlüğüne sahip bir bileşik iken etil alkol, hücrelere zarar veren fakat karoten çözünürlüğü zayıf olan bir çözücü olarak bilinmektedir (Williams, 2006; Hladnik vd., 2024). Pham-Hong vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, *Yarrowia lipolytica* hücrelerinde karotenin kapsüllenme etkinliğini arttırmak için farklı çözücüler kullanılmıştır. Benzer olarak etil alkol kullanımının verimi arttırmadığı ancak kloroformun hem hücre duvarına zarar vererek

karoten girişini kolaylaştırdığı hem de karoteni tamamen çözerek agregasyonu önlediği bildirilmiştir. Bahsi geçen çalışmada enkapsülasyon veriminin kloroform kullanımı sonucunda 220 $\mu\text{g/g}$ yaş maya olduğu rapor edilmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada kabak kabuk kısmından elde edilen karotenoid ekstraktı, gum arabik ile karıştırılmış ve Ultra-Turrax (UT) ve Ultra-Turrax ile yüksek basınçlı bir arada kullanımı (UTHP) yoluyla üretilen emülsiyonlar püskürtülerek kurutulmuştur. Parçacıkların karotenoid konsantrasyonları, UT ve UTHP yoluyla üretilen örnekler için sırasıyla 159.1 ile 304.6 $\mu\text{g/g}$ ve 104.3 ile 346.2 $\mu\text{g/g}$ arasında değiştiği rapor edilmiştir (Lima vd., 2021). Bu sonuçlar, çalışmamızdaki verim değerleri ile benzerlik göstermektedir.



Şekil 1. Etil alkol kullanılan kapsüllerin β -karoten içerikleri. Farklı harflerle gösterilen değerler, gruplar arasında önemli fark olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

Figure 1. β -carotene contents of capsules using ethyl alcohol. Values represented by different letters indicate a significant difference between the groups ($P<0.05$).



Şekil 2. Etil asetat kullanılan kapsüllerin β-karoten içerikleri. Farklı harflerle gösterilen değerler, gruplar arasında önemli fark olduğunu göstermektedir ($P<0.05$).

Figure 2. β-carotene contents of capsules using ethyl acetate. Values represented by different letters indicate a significant difference between the groups ($P<0.05$).

Ultrasonikasyon işleminin etkisini belirlemek için hazırlanan maya çözeltileri, enkapsülasyon işlemi öncesinde, 0, 5, 10, 20 ve 30 dk sabit sıcaklıkta (20°C) ultrasonikasyon işlemine tabi tutulmuştur. Sonrasında ise enkapsülasyon işlemi aynı prosedürle gerçekleştirilmiştir. Analiz sonuçlarından elde edilen grafikler Şekil 1 ve Şekil 2'de verilmiştir. Sonuçlar, çözücü olarak etil asetat kullanımıyla yükleme kapasitesinin anlamlı düzeyde arttığını, ancak ultrasonikasyon uygulaması sonrası verimde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğunu ($P<0.05$) göstermiştir. Çözücü olarak etil alkol kullanılan örneklerde, kontrol grubundaki yükleme kapasitesi değeri 34.86 µg/g iken ultrasonikasyon uygulaması ile bu değer 58.35 µg/g'a anlamlı şekilde yükseldiği gözlenmiştir ($P<0.05$). Lieu vd. (2020) çalışmalarında, *Hibiscus sabdariffa* L. bitkisinden antosiyanin ekstraksiyonu yapmış ve daha sonra maya hücreleri ile enkapsülasyon gerçekleştirmiştir. Enkapsülasyon işleminde etil alkol ve ultrasonikasyon kullanımının etkilerini hem ayrı ayrı hem de kombine olarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda, maya hücrelerine sadece ultrasonikasyon uygulandığında bir değişiklik tespit edilmezken bu

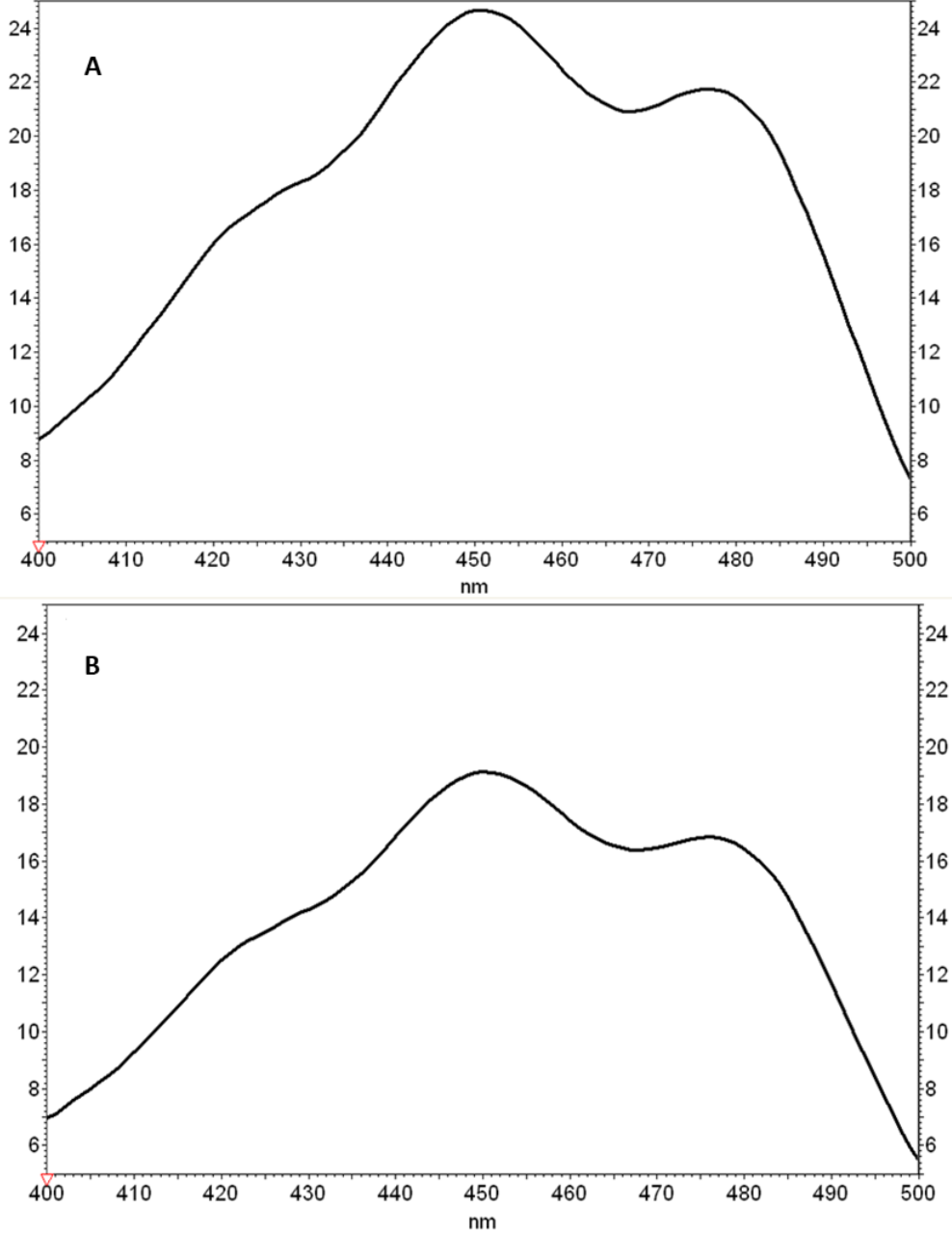
çalışmaya benzer olarak kombine uygulama ile verimin arttığı belirlenmiştir.

Yine yazar tarafından yapılan güncel bir çalışmada, karotenoid grubundan olan likopen, maya hücresi ile enkapsüle edilmiş ve ultrasonikasyonun verim üzerine etkisi belirlenmiştir. 20 dakika ultrasonikasyon uygulaması ile verim 324.95 µg/g'a yükselmiş, 40 ve 60 dakika uygulama sonunda ise verimin azaldığı tespit edilmiştir (Cerit, 2024). Ancak, çalışmamızda etil asetat kullanıldığında ultrasonikasyon ile verimin düşmesi beklenmeyen bir sonuçtur. β-karoten ve likopen aynı karotenoid grubun üyeleri olmalarına karşın β-karoten zincir yapısının her iki ucunda da β-iyonon halkası bulundurmaktadır (Genç vd., 2020). Bahsi geçen çalışmada farklı sonuçlar elde edilmesi, yapıdaki bu farklılıktan kaynaklandığını düşündürmektedir. En yüksek β-karoten içeriğine sahip kapsüller, etil alkol grubu için AL-30 ve etil asetat grubu için ise AS-0 olduğundan çalışmanın devamındaki analizlerde bu iki örnek kullanılmıştır.

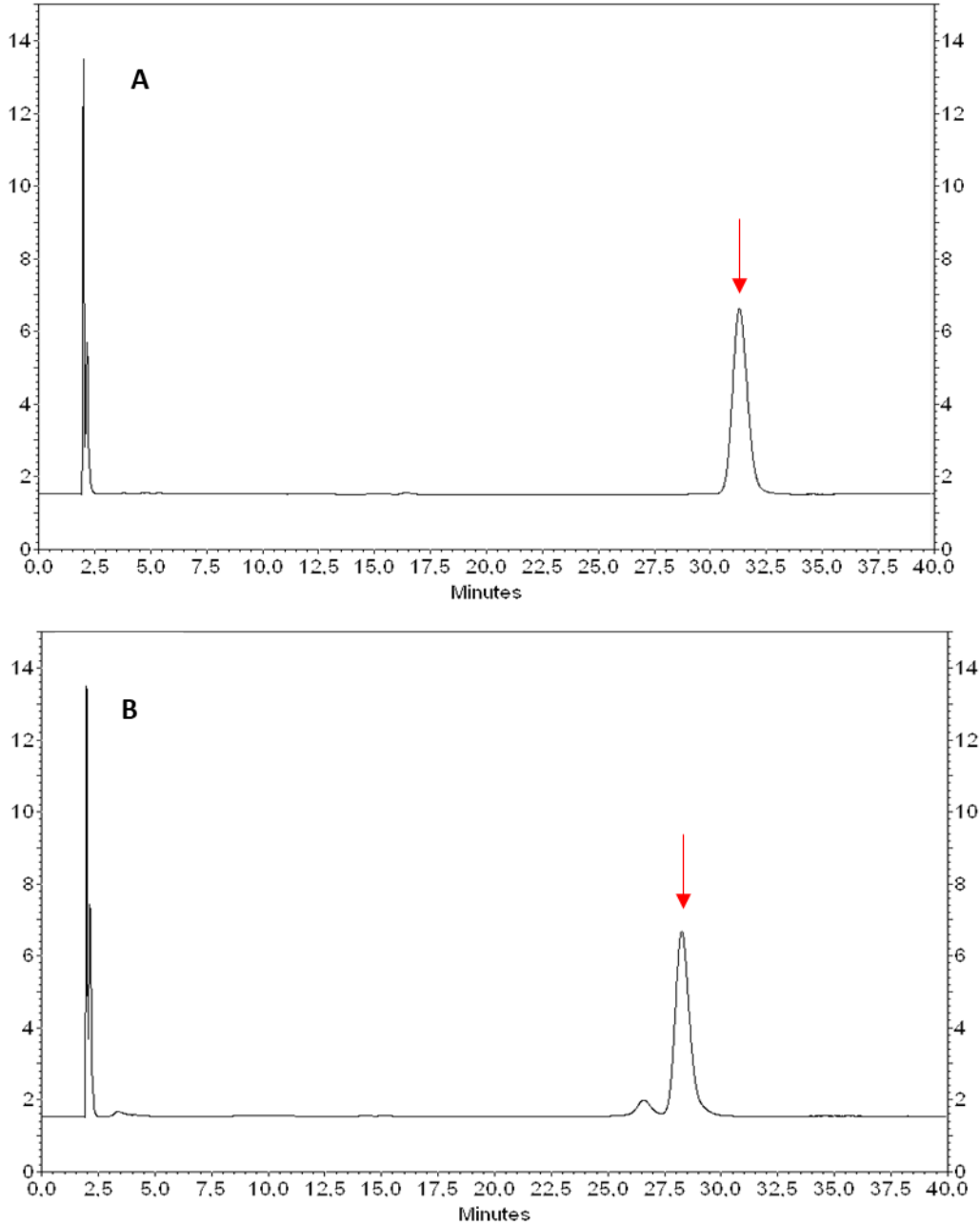
Maya mikrokapsüllerindeki β-karoten ile standart β-karotenin 450 nm dalga boyundaki spektrumları

Şekil 3'te, kromatogramları ise Şekil 4'te gösterilmektedir. Maya hücrelerinin β -karoten spektrumu ile standart β -karoten spektrumunun aynı olduğu tespit edilmiştir. Spektrumların benzerliğinden yola çıkarak reaksiyon sonrasında β -karoten yapısında herhangi bir değişiklik olmadığı yorumu yapılabilmektedir. β -karoten, 425 nm, 450 nm ve 477 nm dalga boylarında üç

tepe spektrumu sergilediği bilinmektedir (Rodriguez-Amaya, 2001). Enkapsülasyon sonrasında spektrumlarda herhangi bir kayma olmamasının kapsülleme işleminin yapıda değişikliğe sebep olmadığını bir göstergesi olduğu rapor edilmiştir (Pham-Hoang vd., 2018).



Şekil 3. Standart β -karoten (A) ve enkapsüle β -karoten (B) spektrumları
Figure 3. Spectrums of standard (A) and encapsulated β -carotene (B)



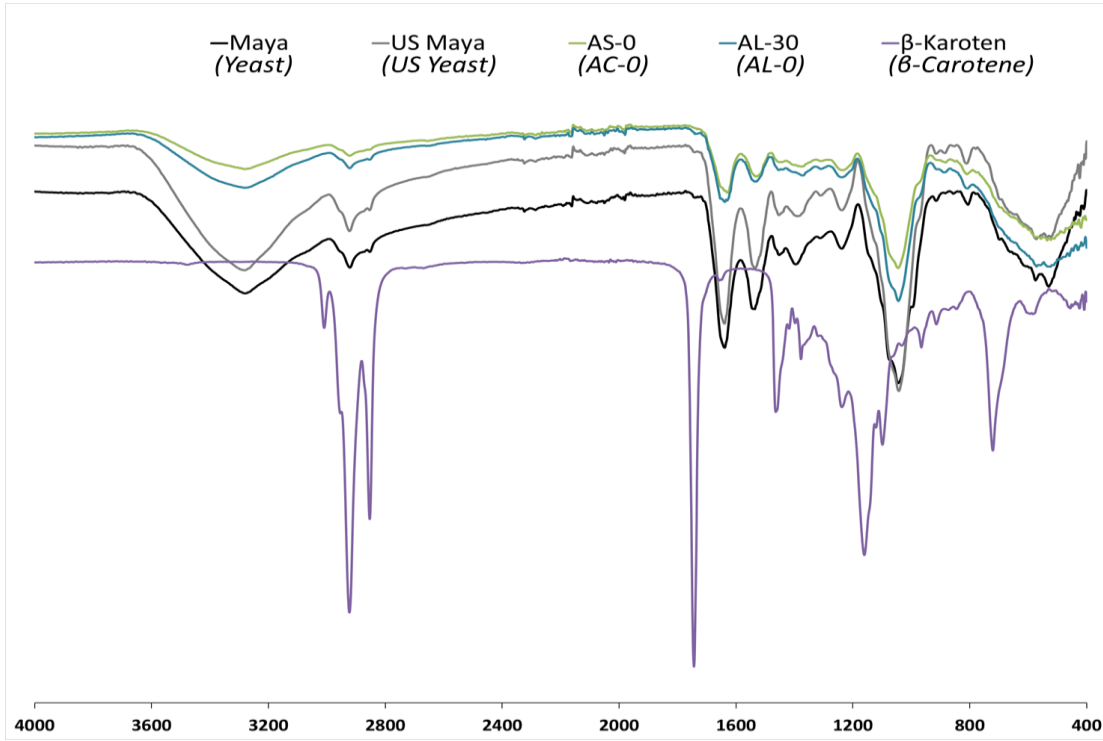
Şekil 4. Standart β -karoten (A) ve enkapsüle β -karoten (B) kromatogramları
Figure 4. Chromatograms of standard (A) and encapsulated β -carotene (B)

Maya hücrelerinde ultrasonikasyon ve enkapsülasyon işlemleri sonrasında oluşan değişimleri gözlemlmek için maya örnekleri ve standart β -karotenin Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi gerçekleştirilmiştir. Şekil 5'te tüm örneklerin 400-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığındaki spektrumları gösterilmektedir. Yüklü olmayan

maya hücrelerine ait spektrumlarında (maya ve US-maya) 3266 cm^{-1} dalga sayısında polisakaritlerin OH vibrasyon piki, 2921 cm^{-1} dalga sayısında lipidlerin asimetrik gerilme piki, 1638 ve 1531 cm^{-1} 'de proteinlerin amid 1 ve amid 2 piki, 1038 cm^{-1} β -glucan kaynaklı baskın bir pik görünmektedir. Benzer sonuçlar literatürdeki

diğer çalışmalarda da yer almaktadır (Liu vd., 2021; Pérez-Bassart vd., 2023). İşlem görmemiş maya hücresinde bulunan 530 cm^{-1} dalga sayısındaki baskın pikin ultrasonikasyon işlemi ile birlikte kaybolduğu tespit edilmiştir. Bahsi geçen pikin α -glukana ait olduğu tahmin edildiğinden ultrasonikasyon işleminin mayanın hücre duvarına zarar verdiği sonucu çıkarılabilmektedir (Zhbakov vd., 1997). Standart β -karotenin 2923 cm^{-1} ve 2854 cm^{-1} dalga sayısında C-H gerilme titreşimleri, 1744 cm^{-1} dalga sayısında C=C ve/veya C=O konjuge çift bağ gerilme titreşimleri, 1464 cm^{-1} dalga sayısında C-H makaslama titreşimleri veya CH_3 gruplarının antisimetrik deformasyonu, 1377 cm^{-1} dalga sayısında C-H metil titreşimleri, 1097 cm^{-1} dalga

sayısında C-H ve/veya C-O'ya karşılık gelen bükülmeler ve 965 cm^{-1} dalga sayısında ise C-H bükülme titreşimlerine ait karakteristik pikler olduğu bilinmektedir (Gurkok, 2022). Ayrıca 915 cm^{-1} dalga sayısında işlem görmemiş maya, US-maya ve β -karotende görülen pikler AL-30 ve AS-0 mikrokapsüllerinde belirlenememiştir. Bu pikin kapsülleme sonrasında kaybolmasının β -karoten ve maya hücreleri arasında bir etkileşim olduğuna işaret ettiği düşünülmektedir. Mikrokapsüllerin spektrumlarının (AL-30 ve AS-0) benzerlik göstermesi ise kullanılan çözücülerin enkapsülasyon işleminde yapısal bir farklılığa sebep olmadığını göstermektedir.



Şekil 5. Örneklerin FT-IR spektrumları

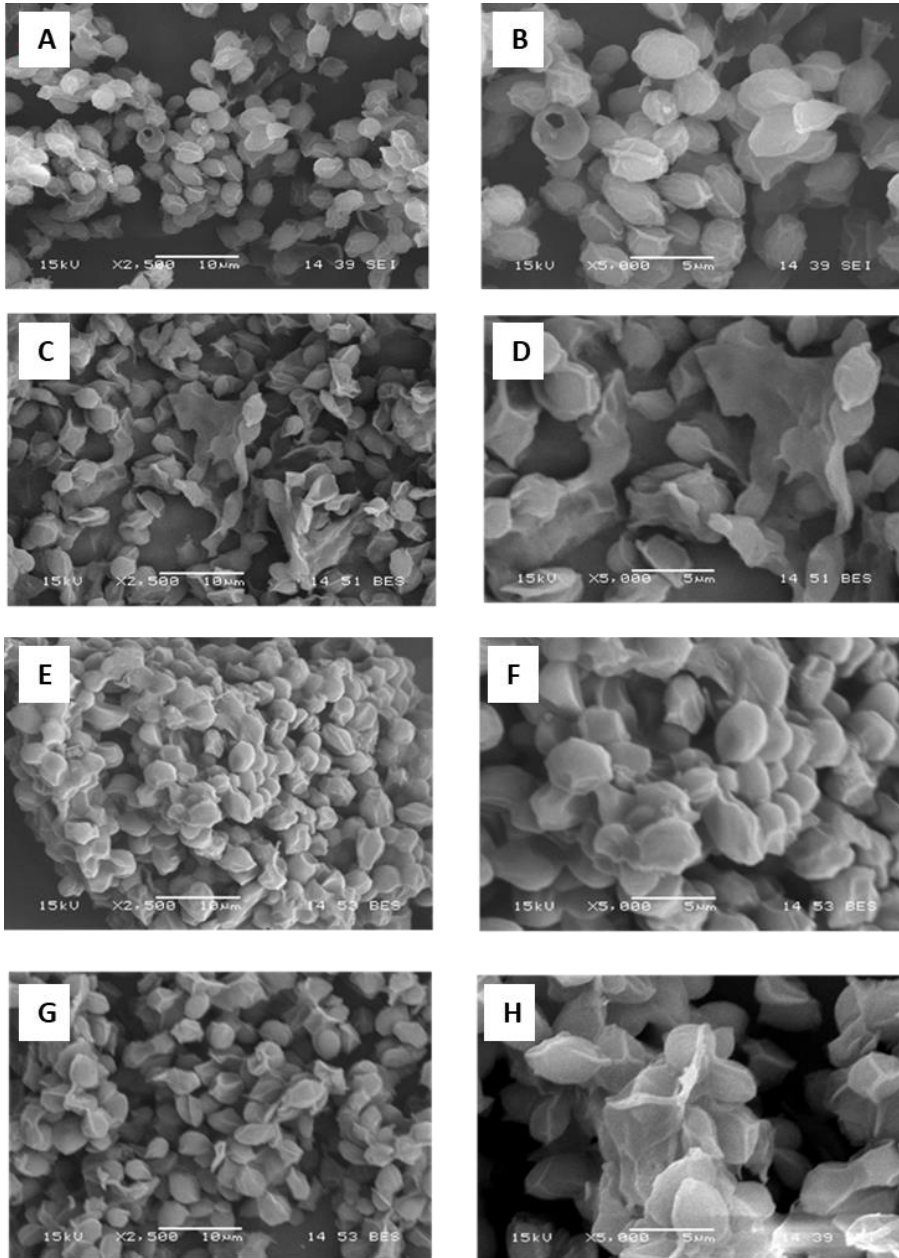
Figure 5. FT-IR spectrum of samples

AS-0 ve AL-30 kapsülleri ile yüklenmemiş ve ultrasonikasyon uygulanmış maya (US maya) hücrelerinin SEM görüntüleri, 2.5K ve 5K yakınlaştırma ile Şekil 6'da verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında yüklenmemiş maya hücreleri karakteristik yuvarlak ve düzgün şekilli iken ultrasonikasyon uygulaması ile maya hücrelerinin

zarar gördüğü ve şekillerinin bozulduğu tespit edilmiştir. Benzer bozulmalar ultrasonikasyon işleminin uygulandığı AL-30 kapsüllerinde de görülmektedir. Ultrasonikasyon uygulanmamış olan AS-0 kapsüllerinde ise oluşan değişimin daha az olduğu dikkat çekmektedir. AL-30 ve AS-0 spektrumlarındaki benzerlik de göz önüne

alındığında bu durumun, FT-IR analizi sonucunda ortaya konulan mayanın hücre duvarına çözücülerden ziyade ultrasonikasyon işleminin zarar verdiği sonuçlarını doğrulamaktadır. Ayrıca, tüm maya örneklerinde hücre aglomerasyonunun belirgin olduğu söylenebilir. Dondurarak kurutma

işleminde uygulanan düşük çalışma sıcaklığı, geri dönüştürülemez şekilde oluşan aglomerasyonu kolaylaştırmakta ve daha büyük parçacık boyutlarının oluşmasına neden olmaktadır (Adetoro vd., 2020).



Şekil 6. SEM analiz görüntüleri (A: AS-0 x2.5K, B: AS-0 x5K, C: AL-30 x2.5K, D: AL-30 x5K, E: Maya hücresi x2.5K, F: Maya hücresi x5K, G: US Maya x2.5K, H: US Maya x5K)
Figure 6. SEM images (A: AS-0 x2.5K, B: AS-0 x5K, C: AL-30 x2.5K, D: AL-30 x5K, E: Yeast cell x2.5K, F: Yeast cell x5K, G: US Yeast x2.5K, H: US Yeast x5K)

SONUÇ

Bu çalışmada, ultrasonikasyon yöntemi ve farklı çözücülerin kullanımlarının maya hücreleri ile β -karotenin enkapsülasyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Analizler sonucunda, etil asetat çözücüsünün kullanıldığı örnekte en yüksek enkapsülasyon verimi elde edilmiştir. Ultrasonikasyon uygulaması, etil alkol kullanılan grupta enkapsülasyon verimini artırırken, etil asetat kullanılan grupta verimi düşürmüştür. HPLC-DAD spektrum analizleri, enkapsüle edilen β -karotenin spektrumlarının, standart β -karoten ile örtüşüğünü, dolayısıyla β -karotenin kimyasal yapısında herhangi bir değişiklik meydana gelmediğini göstermiştir. Ayrıca, FT-IR analizinde β -karotenin başarılı bir şekilde enkapsüle edildiğine dair kanıtlar elde edilmiş olup, farklı çözücülerin kullanıldığı kapsüller arasında bir fark tespit edilmemiştir. Sonuç olarak, maya hücrelerinin β -karoten enkapsülasyonunda kullanılması umut verici olurken ultrasonikasyon uygulaması çözücü olarak etil asetat kullanımında verim üzerine negatif etki, etil alkol kullanımında ise pozitif etki oluşturduğu sonucuna varılmıştır.

Maya hücreleri kullanılarak enkapsüle edilen β -karotenin, gıda endüstrisinde özellikle ısı işlem gerektiren uygulamalarda işlevsel bir bileşen olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir. Maya hücreleri, güçlü hücre duvarları sayesinde çekirdek bileşenlerin korunmasını ve kontrollü salınımını sağlayabilmektedir. Bu hücre yapısı, mikrokapsüllerin termal stabilitesini artırmakta ve ısı işlem sırasında bileşiğin etkinliğini korumasına olanak tanımaktadır. Ayrıca, maya hücreleri, enkapsüle edilen bileşiğin lezzetini maskeleyebilme özelliğine de sahiptir. Bu özellikler göz önüne alındığında, gelecek çalışmalarda β -karoten kapsüllerinin kurabiye, ekmek gibi ısı işleme tabi tutulan gıdalarda uygulanabilmesi hedeflenmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

İnci Cerit: Çalışmanın planlanması ve yürütülmesi, laboratuvar analizleri, sonuçların analizi ve

yorumlanması, makalenin yazımı. Rabia Güneş: Laboratuvar analizleri. Goncağül Çelik: Laboratuvar analizleri.

KAYNAKLAR

Adetoro, A. O., Opara, U. L., Fawole, O. A. (2020). Effect of carrier agents on the physicochemical and technofunctional properties and antioxidant capacity of freeze-dried pomegranate juice (*Punica granatum*) powder. *Foods*, 9(10): 1388. <https://doi.org/10.3390/foods9101388>

Aydın, Ö., Ünlüel, İ. (2021). Enkapsülasyon teknikleri ve kontrollü salım. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (32): 640-648. <https://doi.org/10.31590/ejosat.1039736>

Ayyarıl, S. S., Shanableh, A., Bhattacharjee, S., Rawas-Qalaji, M., Cagliani, R., Shabib, A. G. (2023). Recent progress in micro and nano-encapsulation techniques for environmental applications: A review. *Results in Engineering*, 18: 101094. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2023.101094>

Bilek, S. E., Özkan, G. (2012). Gıda işleme ve depolamanın karotenoidler üzerine etkisi. *Akademik Gıda*, 10(2): 84-88.

Cerit, İ. (2024). Evaluation of the Effects of Plasmolysis, Solvent, and Ultrasonication on Encapsulation of Lycopene in *Saccharomyces cerevisiae* Cells. *Food and Bioprocess Technology*, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s11947-024-03611-w>

Cerit, I., Erdem, E. N., Yildirim, M., Dursun, M. E., Tekgöl, S., Kaya, Z., Demirkol, O. (2023). Optimization of carotenoid extraction from industrial tomato waste by response surface methodology. *GIDA*, 48(2): 459 - 470 <https://doi.org/10.15237/gida.GD23012>

Cerit, I., Mehdizade, K., Avcı, A., Demirkol, O. (2024). Production of low-protein cocoa powder with enzyme-assisted hydrolysis. *Food Science & Nutrition*, 12: 3309-3321. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3997>

Chen, Q. H., Wu, B. K., Pan, D., Sang, L. X., Chang, B. (2021). Beta-carotene and its protective effect on gastric cancer. *World Journal of Clinical*

- Cases, 9(23), 6591. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v9.i23.6591>
- Dadkhodazade, E., Mohammadi, A., Shojaee-Aliabadi, S. (2018). Yeast cell microcapsules as a novel carrier for cholecalciferol encapsulation: Development, characterization and release properties. *Food Biophysics*, 13: 404–411 <https://doi.org/10.1007/s11483-018-9546-3>
- de Andrade, E. W. V., Hoskin, R. T., da Silva Pedrini, M. R. (2022). Ultrasound-assisted encapsulation of curcumin and fisetin into *Saccharomyces cerevisiae* cells: a multistage batch process protocol. *Letters in Applied Microbiology*, 75(6): 1538-1548. <https://doi.org/10.1111/lam.13820>
- Durante, M., Lenucci, M. S., D'Amico, L., Piro, G., Mita, G. (2014). Effect of drying and co-matrix addition on the yield and quality of supercritical CO₂ extracted pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch.) oil. *Food Chemistry*, 148: 314-320. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.051>
- Fernandes, A. S., do Nascimento, T. C., Jacob-Lopes, E., De Rosso, V. V., Zepka, L. Q. (2018). Carotenoids: A brief overview on its structure, biosynthesis, synthesis, and applications. In: *Progress in Carotenoid Research*, Zepka, L. Q., Jacob-Lopes, De Rosso, V. V. (chief ed.), InTech Open, the UK, pp. 1-17.
- Fu, J., Song, L., Guan, J., Sun, C., Zhou, D., Zhu, B. (2021). Encapsulation of Antarctic krill oil in yeast cell microcarriers: Evaluation of oxidative stability and in vitro release. *Food Chemistry*, 338: 128089. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128089>
- Genç, Y., Bardakci, H., Yücel, Ç., Karatoprak, G. Ş., Küpeli Akkol, E., Hakan Barak, T., Sobarzo-Sánchez, E. (2020). Oxidative stress and marine carotenoids: Application by using nanoformulations. *Marine Drugs*, 18(8): 423. <https://doi.org/10.3390/md18080423>
- Gul, K., Tak, A., Singh, A. K., Singh, P., Yousuf, B., Wani, A. A. (2015). Chemistry, encapsulation, and health benefits of β-carotene-A review. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1): 1018696. <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1018696>
- Gurkok, S. (2022). A novel carotenoid from *Metabacillus idriensis* LipT27: production, extraction, partial characterization, biological activities and use in textile dyeing. *Archives of Microbiology*, 204(6): 296. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-02922-w>
- Hladnik, L., Vicente, F. A., Grilc, M., Likozar, B. (2024). β-Carotene production and extraction: A case study of olive mill wastewater bioremediation by *Rhodotorula glutinis* with simultaneous carotenoid production. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(7): 8459-8467. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03081-0>
- Jia, Z., Dumont, M. J., Orsat, V. (2016). Encapsulation of phenolic compounds present in plants using protein matrices. *Food Bioscience*, 15: 87-104. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.05.007>
- Lieu, M. D., Hoang, T. T. H., Nguyen, H. N. T., Dang, T. K. T. (2020). Evaluation of anthocyanin encapsulation efficiency into yeast cell by plasmolysis, ethanol, and ultrasound treatments using alone or in combination. *Food Research*, 4(2), 557-562. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(2\).283](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(2).283)
- Lima, P. M., Dacanal, G. C., Pinho, L. S., Perez-Cordoba, L. J., Thomazini, M., Moraes, I. C. F., Favaro-Trindade, C. S. (2021). Production of a rich-carotenoid colorant from pumpkin peels using oil-in-water emulsion followed by spray drying. *Food Research International*, 148, 110627. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110627>
- Liu, S., Tao, M., Huang, K. (2021). Encapsulation of mānuka essential oil in yeast microcarriers for enhanced thermal stability and antimicrobial activity. *Food and Bioprocess Technology*, 14: 2195-2206. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02714-y>
- Maslova, T. G., Markovskaya, E. F., Slemnev, N. N. (2021). Functions of carotenoids in leaves of higher plants. *Biology Bulletin Reviews*, 11: 476-487. <https://doi.org/10.1134/S2079086421050078>

- Mussagy, C. U., Winterburn, J., Santos-Ebinuma, V. C., Pereira, J. F. B. (2019). Production and extraction of carotenoids produced by microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103: 1095-1114. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9557-5>
- Nguyen, T. T., Phan-Thi, H., Pham-Hoang, B. N., Ho, P. T., Tran, T. T. T., Waché, Y. (2018). Encapsulation of *Hibiscus sabdariffa* L. anthocyanins as natural colours in yeast. *Food Research International*, 107: 275-280. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.044>
- Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J., Capanoglu, E. (2019). A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chemistry*, 272: 494-506.
- Pérez-Bassart, Z., Fabra, M. J., Martínez-Abad, A., López-Rubio, A. (2023). Compositional differences of β -glucan-rich extracts from three relevant mushrooms obtained through a sequential extraction protocol. *Food Chemistry*, 402: 134207. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134207>
- Pham-Hoang, B. N., Romero-Guido, C., Phan-Thi, H., Waché, Y. (2018). Strategies to improve carotene entry into cells of *Yarrowia lipolytica* in a goal of encapsulation. *Journal of Food Engineering*, 224, 88-94. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.12.029>
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). Some physicochemical properties of carotenoids. In: *A guide to carotenoid analysis in foods*, Volume 71, ILSI press, USA, pp. 14-22.
- Rubio, F. T. V., Haminiuk, C. W. I., de Freitas Santos, P. D., Martelli-Tosi, M., Thomazini, M., de Carvalho Balieiro, J. C., Fávoro-Trindade, C. S. (2022). Investigation on brewer's spent yeast as a bio-vehicle for encapsulation of natural colorants from pumpkin (*Cucurbita moschata*) peels. *Food & Function*, 13(19): 10096-10109. <https://doi.org/10.1039/D2FO00759B>
- Sarabandi, K., Jafari, S. M., Mahoonak, A. S., Mohammadi, A. (2019). Application of gum Arabic and maltodextrin for encapsulation of eggplant peel extract as a natural antioxidant and color source. *International Journal of Biological Macromolecules*, 140; 59-68. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.133>
- Singh, R. V., Sambyal, K. (2022). An overview of β -carotene production: Current status and future prospects. *Food Bioscience*, 47: 101717. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101717>
- Wang, J., Hu, X., Chen, J., Wang, T., Huang, X., Chen, G. (2022). The extraction of β -carotene from microalgae for testing their health benefits. *Foods*, 11(4); 502. <https://doi.org/10.3390/foods11040502>
- Williams, M., 2006. The Merck Index: an Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. *Drug Development Research*, 67 (11): 870. <https://doi.org/10.1002/ddr.20159>
- Xu, X., Liu, J., Lu, Y., Lan, H., Tian, L., Zhang, Z., Jiang, L. (2021). Pathway engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for efficient lycopene production. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 44, 1033-1047. <https://doi.org/10.1007/s00449-020-02503-5>
- Zhbankov, R. G., Andrianov, V. M., Marchewka, M. K. (1997). Fourier transform IR and Raman spectroscopy and structure of carbohydrates. *Journal of Molecular Structure*, 436: 637-654. [https://doi.org/10.1016/S0022-2860\(97\)00141-5](https://doi.org/10.1016/S0022-2860(97)00141-5)