



## PROBİYOTİKLERİN MİKROENKAPSÜLASYONUNDA KULLANILAN YÖNTEMLER VE GIDA TEKNOLOJİSİNDE UYGULAMALARI

Müzeyyen Kalfazade, Kübra Sultan Özdemir\*

Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Konya,  
Türkiye

Geliş /Received: 24.05.2022; Kabul /Accepted: 06.10.2023; Online baskı /Published online: 13.10.2023

Kalfazade, M., Özdemir, K.S. (2023). Probiyotiklerin mikroenkapsülasyonunda kullanılan yöntemler ve gıda teknolojisinde uygulamaları. GIDA (2023) 48 (6) 1143-1159 doi: 10.15237/ gida.GD22054

Kalfazade, M., Özdemir, K.S. (2023). Microencapsulation techniques for probiotics and applications in food technology. GIDA (2023) 48 (6) 1143-1159 doi: 10.15237/ gida.GD22054

### ÖZ

Probiyotikler insan vücudunda ve doğada doğal olarak bulunan ve patojen olmayan mikroorganizmalardır. Probiyotik mikroorganizmaların; B ve K vitaminlerini sentezleme, kolon hareketlerini düzenleme, enflamasyonu önleme, kandaki kolesterol seviyesini düşürme ve gastrointestinal sistemde patojen mikroorganizmalara karşı antagonistik etki gösterme gibi insan sağlığına olumlu etkileri vardır. Probiyotiklerin bu olumlu etkilerinden dolayı, gıda takviyesi olarak tüketimi ya da fonksiyonel gıda üretiminde kullanımı son yıllarda artmıştır. Ancak probiyotikler; gıdaların üretimi, işlenmesi ve depolanması sırasında çevre koşullarından olumsuz etkilenebilmektedir. Bu nedenle, probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonu gıda ve ilaç endüstrisi açısından önemli bir konu haline gelmiştir. Mikroenkapsülasyon; biyoaktif bileşenlerin ve mikroorganizmaların çevre koşullarından korunması veya tat-koku gibi özelliklerin maskelenmesi amacıyla taşıyıcı materyaller ile kaplanması işlemidir. Bu derlemede, probiyotik mikroorganizmaların kapsüllenmesinde kullanılan farklı teknikler incelenmiş ve literatürdeki güncel bilgi ve uygulamalar özetlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Mikroenkapsülasyon, probiyotikler, fonksiyonel gıdalar, sağlık

## MICROENCAPSULATION TECHNIQUES FOR PROBIOTICS AND APPLICATIONS IN FOOD TECHNOLOGY

### ABSTRACT

Probiotics are non-pathogenic microorganisms that occur naturally in the human body and in nature. Probiotics have many benefits for human health such as strengthening the immune system, synthesis B and K vitamins, regulating colonic movements, preventing inflammation, reducing blood cholesterol levels, having an antagonistic effect against pathogenic microorganisms in the gastrointestinal tract. Due to these beneficial effects of probiotics, their consumption as food supplements or their use in functional food production has increased in recent years. However, probiotics can be negatively affected by environmental conditions during the production, processing and storage of foods. Therefore, the microencapsulation of probiotics has become an important issue for food and drug industry. Microencapsulation is coating of the active ingredients with different carrier materials in order to protect them from environmental conditions. In this study, different techniques used in the encapsulation of probiotics are explained and current knowledge and applications in the literature are summarized.

**Keywords:** Microencapsulation, probiotics, functional foods, health

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author

✉:kubra.ozdemir@gidatarim.edu.tr

☎: (+90) 332 223 5447

Müzeyyen Kalfazade; ORCID no: 0000-0002-0812-2235

Kübra Sultan Özdemir; ORCID no: 0000-0002-7428-1840

## GİRİŞ

Probiyotik mikroorganizmalar insan vücudunda doğal olarak bulunmaktadır. Probiyotikler FAO/WHO (2002)'e göre, belirli miktarlarda tüketildiğinde konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan mikroorganizmalardır. Probiyotik olarak bilinen birçok mikroorganizma bulunmakta ancak en bilinenleri *Lactobacillus* (Lb.) ve *Bifidobacterium* (B.) sınıfı bakteriler ve bazı maya türleridir (Bilginer ve Çetin, 2019). Birçok nedene bağlı olarak insan bağırsağındaki sayıları azalan probiyotik mikroorganizmalar, dışarıdan alınan takviyeler ya da probiyotik içeren gıdalar ile alınarak tekrar optimum seviyeye ulaşabilirler. Ayrıca, probiyotik içerikli gıdalarda canlı probiyotik mikroorganizma sayısının en az 10<sup>6</sup> kob/g olması ve olumsuz çevre şartlarına karşı proses ve depolama sırasında canlı kalması gerekmektedir (Ghasemi vd., 2022). Son yapılan çalışmalarda, probiyotik mikroorganizmaların proses ve depolama sırasında çevresel koşullara karşı canlılıklarının arttırılmasında mikroenkapsülasyon yöntemlerinin olumlu etkiler gösterdiği belirtilmiştir (Ezekiel vd., 2020; Hadidi vd., 2021).

Probiyotikler; patojen olmayan mikroorganizmalar olup gastrointestinal sistemde patojen mikroorganizmalara karşı antagonistik etki göstermekte, toksin üretmemekte ve antimikrobiyel bileşikler sentezleyebilmektedirler. Probiyotikler aside karşı belli miktarda direnç göstererek kolona geçer, kolon mikrobiyotasını stabilize ederek bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkiler gösterir, T lenfositler ile birlikte enfeksiyonu azaltır, kolon hareketlerini düzenler, kandaki kolesterol seviyesinin düşürülmesini sağlar, ayrıca antibiyotik kullanım sonucu oluşan bağırsak problemlerine karşı olumlu etkiler gösterirler (Barat ve Özcan, 2016). Probiyotikler gastrointestinal sistemdeki patojen mikroorganizmaların kolonize olmasını engeller, antialerjik etki gösterir. Bazı kanser türlerinde prekanseröz hücrelerin kanserojen hücreye dönüşmesini engeller ve enflamatuvar hastalıkların önlenmesinde etki gösterir (Yeşilova vd., 2010). Laktoz intoleransı olan kişilerin bağırsak problemleri üzerinde olumlu etkiler gösterir, ayrıca vücutta B ve K vitamininin

emilmesinde yardımcı olduğu için gıdalardan alınan besinsel değeri artırır. Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda probiyotiklerin, kemik erimesini engellediği tespit edilmiştir (Rizzoli ve Biver, 2020).

Probiyotiklerin canlılığının ve stabilitesinin işleme, depolama ve satış aşamalarında korunabilmesi probiyotiklerin tüketildiklerinde yararlı etkilerini gösterebilmeleri açısından kritik öneme sahiptir. Gıdanın işlenmesi sırasında yüksek sıcaklık, kurutma, dondurma, yüksek basınç, asidik ve bazik ortam, aerobik ortam, patojenlerin oluşturduğu stres koşulları, tüketim sonrasındaki gastrointestinal sistemdeki ekstrem koşullar, probiyotiklerin fonksiyonel özelliklerinin göstermesinde karşılaşılan sorunlara örnek olarak verilebilir (Azam vd., 2020). Probiyotikler sadece insan vücudunda değil aynı zamanda yoğurt başta olmak üzere fermente gıdalarda doğal olarak bulunmaktadır. Endüstride çoğunlukla süt ve süt ürünlerine probiyotiklerin eklendiği görülmektedir. Ancak günümüzde, probiyotiklerin meyve suyu (Campos vd., 2019), bakliyat barı (Rajagukguk vd., 2022), dondurma (Çam vd., 2022), yeşil çay (Hernández-Barrueta vd., 2020), çikolata (Silva vd., 2017) ve yumuşak şeker (Miranda vd., 2020) gibi farklı gıda ürünlerinde (Cozentino vd., 2022) kullanımı ile ilgili çalışmalar da yapılmaktadır.

Son yıllarda mikroenkapsülasyon yöntemleri, biyoaktif bileşenlerin ve probiyotik mikroorganizmaların çevre koşullarından korunması ve fonksiyonel gıda tasarımında kullanımı açısından gıda ve ilaç teknolojisinde önemli hale gelmiştir. Mikroenkapsülasyon yöntemi, biyoaktif bileşen ya da hücrenin ortam ile arasında bir bariyer oluşturarak yüksek nem, ısı, oksijen, ışık gibi çevresel koşullar ve gastrointestinal enzimlere karşı korunmasını sağlamaktadır (Arslan-Tontul ve Erbaş, 2017).

Mikroenkapsülasyon aynı zamanda, katı, sıvı ya da gaz halinde bulunan gıda bileşenlerinin, enzimlerin, hücrelerin ve diğer maddelerin protein, yağ, sentetik polimer ya da karbonhidrat bazlı çok küçük kürecikler içinde hapsedilmesi ve kontrollü bir şekilde salınım ile dış ortama

verilmesi olarak tanımlanabilir (Kanat ve Gülel, 2021). Mikroenkapsülasyon bir çeşit immobilizasyon yani tutuklama işlemidir. Mikroenkapsülasyon 60 yıldır kullanılmakta ve kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Sadece gıda alanında değil aynı zamanda eczacılık, kimya, ziraat alanları ve kozmetik sektöründe de kullanılmaktadır. Mikroenkapsülasyon, kontrollü salınım sağlaması, sıvı maddeleri toz forma getirmesi, depolama sırasında stabilizasyon sağlaması, istenmeyen aromaları maskeleymesi, raf ömrünü artırması, gıdalarda oluşan besin kaybını azaltması, probiyotik mikroorganizma ya da aroma gibi hassas maddeleri çevre koşullarından koruması gibi avantajlara sahiptir ve farklı alanlarda kullanıma imkân vermektedir.

Farklı mikroenkapsülasyon teknikleri ile yarı geçirgen, yuvarlak özellikte, içerisindeki madde ya da hücreyi koruyan mikrokapsül ya da mikroküre oluşturulmaktadır. Mikroenkapsülasyon tekniği ile 1 µm'den 1 mm'ye kadar farklı boyutlarda mikrokapsüller üretilebilmektedir. Mikrokapsül iç kısmındaki madde; çekirdek, aktif madde veya iç faz olarak adlandırılırken, dışını oluşturan kısma duvar materyali, taşıyıcı membran ya da kaplama materyali denilmektedir.

Enkapsülasyon yöntemleri için birçok taşıyıcı materyal kullanılabilir. Taşıyıcı materyaller; farklı kaynaklardan ekstrakte edilen polisakaritler (maltodekstrin, modifiye nişasta, siklodekstrin) lipitler, proteinler (sodyum kazeinat, peynir altı suyu proteini, jelatin) ve gamlar (gam arabik, sodyum aljinat, karragenan, guar gam) olarak sıralanabilir (Balcı-Torun, 2019). Enkapsülasyon sırasında kullanılacak taşıyıcı materyalin sahip olduğu özellikler son ürün için istenilen özellikleri büyük oranda etkilemektedir. Taşıyıcı materyallerin sahip olması gereken belli başlı özellikler bulunmaktadır. Bu özellikler; iyi film oluşturma, yüksek konsantrasyonlarda düşük viskozite özellikleri gösterme, yüksek çözünürlüğe sahip olma, maliyet açısından uygun olma, gıdaya uygunluk gösterme yani toksik özellik göstermeme, inert olma ve emülsifiye edilebilir özellikte olma şeklinde söylenebilir (Balcı-Torun, 2019; Özgüner-Kabak, 2019).

Bu derlemede, probiyotik mikroorganizmaların mikroenkapsülasyonunda kullanılan yöntemler detaylı olarak açıklanmış ve gıda teknolojisinde kullanımı ile ilgili çalışmalar aşağıda özetlenmiştir. Bu alanda yaygın olarak kullanılan yöntemler püskürterek kurutma, püskürterek soğutma ya da dondurma, dondurarak kurutma, ekstrüzyon ve emülsiyondur (Tao vd., 2019; Abedinia vd., 2021).

### PROBİYOTİK İÇEREN GIDA ÜRÜNLERİ ve TAKVİYELER

Yıllar içerisinde probiyotikler ile ilgili araştırmaların artması ve sağlık üzerine olumlu etkilerinin gözlenmesi sonucunda gıda takviyeleri olarak kapsül, tablet, sıvı ve toz formlarda tüketimlerinin yanında gıda ürünlerine eklenerek tüketimi de önemli bir alan olarak ortaya çıkmaktadır. Probiyotik mikroorganizmaların eklendiği ilk gıda ürünü yoğurt olup ilerleyen zamanlarda probiyotik içeren çeşitli süt ürünleri geliştirilmiştir. Bu ürünler tüketiciler tarafından oldukça büyük bir ilgi görmüştür. Ayrıca son yıllarda süt ürünlerinden farklı gıda ürünlerinde (çikolata, tahıl barları, içecekler, yumuşak şekerler) probiyotik kullanılarak fonksiyonel gıda ürünleri çeşitlendirilmeye başlanmıştır. Böylelikle probiyotik ürün kaynakları takviyeler ve fonksiyonel gıdalar olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Fakat bu iki gruptan hangisinin daha etkin olduğu halen araştırma konusu olmakla beraber yapılan araştırmalarda her ikisinin de hastalıklardan korunmak için tüketiminin olumlu etki gösterdiği düşünülmektedir. Fonksiyonel gıdalar, takviyelerden farklı olarak gıda bileşenlerinin tamponlama özelliği göstermesinden dolayı probiyotik mikroorganizmaların canlı kalmasını teşvik etmekte ve probiyotiklerin gıda bileşenleri ile sinerjik etki göstererek yüksek canlılıklarını korunması olarak söylenebilir (Homayoni Rad vd., 2016). Ayrıca yapılan araştırmalar sonucunda toplumlarda genel kullanım ve hastalıklardan korunmak için probiyotik gıdaların kullanımı, ancak terapötik uygulamalarda ise takviyelerin kullanımı daha çok önerilmektedir (Mollakhalili vd., 2017).

Gıdalarda ve takviyelerde kullanılacak birçok probiyotik suş gerektiği kadar kararlı yapı

gösterememektedir. Kullanılacak suşlar gıda ve takviye üretim proseslerinin koşullarına karşı ve gastrointestinal sistemin ekstrem koşullarına tolerans göstermelidir. Bu nedenle enkapsülasyon teknikleri probiyotik suşların kararsızlığının önüne geçilmesi için son zamanlarda kullanılan bir yöntem olarak da kullanılmaktadır (Meybodi vd., 2017).

### PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN ENKAPSÜLASYONUNDA KULLANILAN YÖNTEMLER ve UYGULAMALAR

Probiyotik mikroorganizmaların enkapsülasyonunda kullanılan yöntemler ve bazı uygulamalar Çizelge 1’de verilmiştir. Ayrıca uygulanan yöntemler sırasıyla açıklanmıştır.

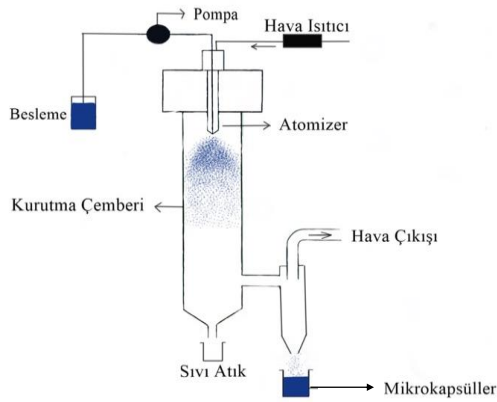
Çizelge 1. Gıda ürünlerinde probiyotik bakteri enkapsülasyonunda kullanılan yöntemler

Gıda Ürünü	Probiyotik Bakteri	Kaplama materyali	Uygulanan Metot	Kaynak
Meyveli içecek	<i>Lb.reuteri</i> DSM 17938	Meyve pulpu- maltodekstrin	Püskürterek Kurutma	Santos Monteiro vd. (2020)
Badem sütü	<i>Lb.plantarum</i> ATCC8014	Badem maltodekstrin	Püskürterek Kurutma	Lipan vd. (2020)
Yumuşak keçi peyniri	<i>Lb.plantarum</i> 564	Yağsız süt	Püskürterek Kurutma	Radulovic vd. (2017)
Kefir	<i>Lb. plantarum</i> 21805	Konjuge peynir altı suyu protein izolatu ve dekstran	Püskürterek Kurutma	Guo vd.(2022)
Krem peynir	<i>Lb.acidophilus</i> La-5	Katı pamuk yağı	Püskürterek Dondurma	Silva vd. (2022)
Tahıl barı	<i>Lb.scidophilus</i> <i>B.animalis subsp. lactis</i> (BL)	Bitkisel katı yağ	Püskürterek Dondurma	Bampi vd. (2016)
Çikolata	<i>Lb.casei</i> , <i>Lb.acidophilus</i> <i>Lb.rhamnosus</i> , <i>Lb.plantarum</i> <i>Lb.sanfranciscensis</i> <i>B.lactis</i> <i>S.thermophilus</i>	Na-aljinat Na-aljinat-Fos	Dondurarak Kurutma	Hossain vd. (2021)
Çikolata	<i>Lb.rhamnosus</i>	Aljinat, FOS, Peptit, Jelatin	Ekstrüzyon	Ünal-Turhan vd. (2019b)
Portakal suyu	<i>Lb.lactis</i> ABRIINW-N19	Aljinat- Fars zamkı Aljinat- Fars zamkı-FOS Aljinat- Fars zamkı-İnülin	Ekstrüzyon	Nami vd. (2020)
Keçiboynuzu pekmezi	<i>Lb.rhamnosus</i>	Aljinat çözeltisi	Ekstrüzyon	Ünal-Turhan, E.(2021)
Geleneksel Sucuk	<i>Lb.plantarum</i> <i>Lb.rhamnosus</i>	Sodyum aljinat, FOS, Jellan zamkı, Jelatin, Peptit	Ekstrüzyon	Ünal-Turhan vd. (2019a)
Elma suyu Yoğurt	<i>Lb.rhamnosus</i> GG	Bitkisel yağ Aljinat	Emülsiyon	Romero-Chapol vd.(2022)
Glutensiz ekmek	<i>Lb.plantarum</i> ATCC-14917 <i>Lb.acidophilus</i> NRRLB-4495	Kitre zamkı Sago nişastası Ayçiçek yağı	Emülsiyon	Ghasemi vd.(2022)

### Püskürterek (Sprey) Kurutma Yöntemi

Mikroorganizmaların enkapsüle edilerek endüstriyel üretimine ilk olarak 1950 yılında başlanmıştır. Püskürterek kurutma, gıda sanayisinde sıvı ürünlerden toz ürünler elde etme amacıyla kullanılan en eski ve en ekonomik yöntemlerden biridir. Püskürterek kurutmanın, sürekli çalışılabilir ve ekonomik bir üretim yöntemi olması, probiyotiklerin endüstriyel ölçekte enkapsülasyonuna olanak sağlamaktadır (Misra vd., 2021).

Püskürterek kurutma ile enkapsülasyonda; çalışılmak istenen aktif maddeyi içeren emülsiyon oluşturulur ve sonrasında sıcak hava ortamına bir nozul yardımıyla püskürtülerek su buharlaştırılır ve ürün toz forma dönüştürülür. Kurutma sonucunda oluşan kapsülün merkez kısmında aktif madde ya da hücre, dış kabuk kısmında ise taşıyıcı materyal bulunur. Taşıyıcı olarak sıklıkla suda çözünebilir karbonhidratlar, proteinler ve türevleri kullanılmaktadır (Arslan Tontul, 2017). Püskürterek kurutma sisteminin şematik gösterimi Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Püskürterek kurutma sistemi

Literatürde probiyotik bakterilerin püskürterek kurutma ile enkapsülasyonu konusunda oldukça fazla çalışma mevcuttur. Santos Monteiro vd. (2020) yaptıkları çalışmada, *Lb. reuteri* DSM 17938 probiyotik bakterisini püskürterek kurutma ile mikroenkapsüle etmişler ve elde ettikleri kapsülleri çarkifelek meyve suyu üretiminde

kullanmışlardır. Araştırmada taşıyıcı madde olarak maltodekstrin, jelatin ve çarkifelek meyve posası kullanmışlar ve işlem sırasında giriş sıcaklığı ve çıkış sıcaklığını sırasıyla 112°C ve 74°C olarak belirlemişlerdir. Meyveli içecek içerisindeki probiyotik bakterilerin farklı sıcaklıklar (10-20-30°C) ve farklı pH'larda (3.18; 5.5; 6.5) canlılık stabilitelelerini izlemişler ve sonuç olarak *Lb. reuteri* gelişimi için en iyi koşulların pH 3.18 ve 30°C olduğunu tespit etmişlerdir.

Bir başka çalışmada Lipan vd. (2020), *Lb. plantarum* (ATCC8014) bakterisini maltodekstrin içerisinde püskürterek kurutma yöntemi ile mikroenkapsüle ederek badem sütüne eklemişlerdir. Enkapsülasyon işlemi için üç farklı giriş sıcaklığı (170°C, 180°C ve 190°C) ve üç farklı çıkış sıcaklığı (57.3°C, 59.6°C ve 62.3°C) kullanılmıştır. Depolama sırasında probiyotik canlılığın takibi yapılarak 7 log kob/g canlı bakteri sayısının korunması için optimum koşulların 4°C'de 8 ay ve 22°C'de ise 6 ay olduğunu tespit etmişlerdir.

Radulović vd. (2017), *Lb. plantarum* 564 probiyotik bakterisini püskürterek kurutma ile mikroenkapsüle ederek yumuşak keçi peynirine eklemişlerdir. Bu işlem için taşıyıcı olarak rekonstitüe yağsız süt kullanmışlar, püskürterek kurutma koşulları olarak 170°C giriş ve 80°C çıkış sıcaklığı belirlemişlerdir. Sonrasında mikroenkapsüle edilmiş ve edilmemiş probiyotik bakteriler, keçi sütü peynirine eklenmiş ve raf ömrü süresince stabilitelelerini izlemişlerdir. 8 haftalık depolama sonunda kapsüllenmiş probiyotik bakteri içeren peynirde 8.82 log kob/g canlı bakteri bulunurken serbest formda bakteri içeren peynirde ise 6.9 log kob/g bakteri bulunmuştur. Araştırmacılar mikroenkapsülasyon işleminin probiyotik bakteriler üzerinde önemli bir koruyucu etkisinin olduğunu bildirmiştir.

### Püskürterek (sprey) dondurma/soğutma yöntemi

Son zamanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanan püskürterek dondurma yöntemi diğer mikroenkapsülasyon yöntemlerine nazaran daha yeni bir yöntemdir. Diğer yöntemlerden farklı olarak duvar materyali için hidrofobik özellik

gösteren taşıyıcı maddeler kullanılmaktadır (Favaro-Trindade vd., 2021). Hidrofobik özellik gösteren maddelere örnek olarak; mumlar, fosfolipitler, hidrojenize yağlar, fitosteroller ve yağ asitleri verilebilir (Silva vd., 2022).

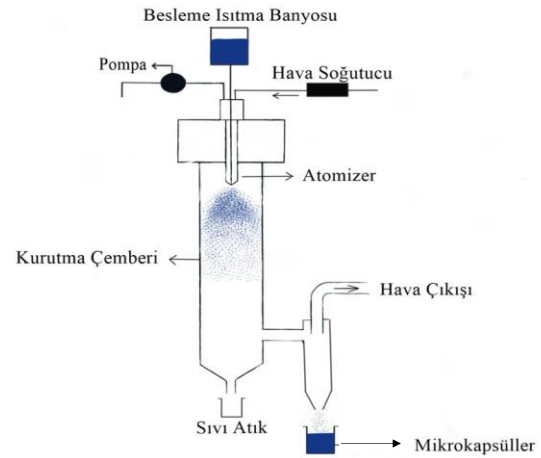
Lipitlerin; insan vücudunda sindiriminin ilk olarak ince bağırsakta lipaz enzimi ile başlaması ve yine ince bağırsakta sonlanmasından dolayı kapsüllerin, midede ekstrem koşullara dayanıklılık göstermesi bu yöntemin en büyük avantajlarından birisidir (Okuro vd., 2013). Aynı zamanda organik çözücü kullanımı gerektirmez ve yüksek sıcaklık yerine düşük sıcaklık koşulları kullanıldığı için probiyotiklerin ve yüksek sıcaklığa karşı hassas biyomoleküllerin enkapsülasyonuna imkân tanır. Ayrıca püskürterek soğutma tekniği, aktif ilaç bileşenlerinin enkapsülasyonunda düşük maliyetli bir süreç olduğu için kullanılabilen, kolaylıkla küçük ölçekten büyük ölçüğe dönüştürülebilmekte ve organik çözücülere ihtiyaç duyulmamaktadır (Favaro-Trindade vd., 2021). Bunlar gibi birçok avantajı nedeniyle püskürterek dondurma yöntemi gıda ve eczacılıkta yaygın olarak kullanım alanı bulmuştur. Özellikle eczacılıkta vitaminler, peptitler, mineraller ve enzimler gibi hassas biyomoleküllerin püskürterek dondurma ile enkapsüle edilmesi yaygınlaşmıştır (Arslan-Tontul ve Erbaş, 2017).

Bu yöntemin prensibi; taşıyıcı olan lipit madde ve kapsüllenmek istenen çekirdek maddeden oluşan dispersiyonun, soğuk hava ya da sıvı nitrojen bulunan ortama nozul ile atomize edilmesidir. Yöntem sırasında düşük sıcaklıklar kullanıldığı için ısıya duyarlı maddelerin (enzimler, vitaminler, aromalar, pigmentler, antioksidanlar vb.) ve probiyotiklerin kapsüllenmesi için uygun bir yöntemdir (Figueiredo vd., 2021).

Püskürterek dondurma yöntemi temel olarak 3 adımdan oluşmaktadır. İlk adım, çekirdek materyal olarak seçilen maddenin erime sıcaklığının üzerinde bir sıcaklıkta bekletilerek eritilmiş duvar materyali içerisine dispersiyonunun yapılması işlemidir. İkinci adım, emülsiyonun nozul yardımıyla soğuk bir ortama atomize edilmesi ve son adım olarak ise nozuldan

püskürtülen damlaların katılarak istenilen kapsüllerin elde edilmesidir (Favaro-Trindade vd., 2021). Püskürterek dondurma sistemi Şekil 2'de verilmiştir.

Püskürterek soğutma yöntemi, püskürterek dondurma ile aynı prensibe dayanmakta olup, mikrokapsüllerin üretimi için ideal bir yöntemdir. Gıda, kozmetik ve farmasötik alanlarında kullanılmaktadır (Favaro-Trindade vd., 2021). Genellikle püskürterek dondurmadan farklı bir yöntem olduğu düşünülür. Püskürterek dondurmada erime sıcaklığı 32-42°C olan hidrofobik taşıyıcılar kullanılırken püskürterek soğutma yönteminde ise erime sıcaklığı 45-122°C olan hidrofobik taşıyıcılar kullanılmaktadır (Arslan-Tontul ve Erbaş, 2017).



Şekil 2. Püskürterek dondurma yöntemi

Literatürde püskürterek dondurma yöntemiyle probiyotiklerin enkapsülasyonu ve çeşitli ürünlerde kullanımı ile ilgili çalışmalar mevcuttur.

De Lara Pedroso vd. (2013), taşıyıcı madde olarak seçtiği kakao yağında *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* (BI-01) ve *Lb. acidophilus* (LAC-04) bakterilerini püskürterek dondurma yöntemi ile kapsüllemişlerdir. Kapsüller -18°C, 7°C ve 20°C sıcaklıklarda 90 gün boyunca depolanmış stabilite ve gastrointestinal sisteme dayanıklılıkları takip edilmiştir. Kapsüllenmemiş *Lb. acidophilus* hücreleri 20°C'de 30. gün sonrasında ve 7°C'de 60. gün sonrasında canlılıklarını

kaybetmiştir. Buna karşın enkapsüle *Lb. acidophilus* -18°C'de 90 günlük depolama sonunda 6.6 log kob/g canlılık göstermiştir. *B. animalis* subsp. *Lactis* ise 90 gün depolama ve 3 farklı sıcaklık değerlerinde canlılık göstermiştir. 90 gün depolamanın sonunda 20°C'de 3.8 log kob/g, 7°C'de 5.2 log kob/g, -18°C'de ise 7.3 log kob/g olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, püskürterek dondurma yönteminin probiyotik canlılığı olumlu yönde etkilediği anlaşılmıştır.

Başka bir çalışmada Bampi vd. (2016), *Lb. acidophilus* ve *B. animalis* subsp. *lactis* bakterilerini bitkisel katı yağ kullanarak püskürterek dondurma yöntemiyle kapsüllemiş ve bu kapsülleri tuzlu tahıl barında kullanarak probiyotik tahıl barı geliştirmiştir. Sonuçlara göre her iki probiyotik bakteride kapsüllemiş halde tuzlu tahıl barına eklendiğinde 4°C'de 105 günlük depolama boyunca 7 log kob/g seviyesinde canlılığını korumuştur.

Bir başka çalışmada ise Silva vd. (2022), taşıyıcı olarak pamuk yağı ile *Lb. acidophilus* La-5 bakterisini püskürterek dondurma ile kapsüllemişler ve tuz içeriği azaltılmış krem peynirde kullanmışlardır. Tuz içeriği azaltılmış ve enkapsüle probiyotik bakteri içeren peynir örneğinde gastrointestinal koşullarda probiyotik bakteri canlılığı  $\geq 6$  log kob/g olarak belirlenmiştir. Probiyotiklerin püskürterek dondurma tekniği ile kapsüllemeye peynirde kullanılması yenilikçi bir yöntem olarak kabul edilmiştir.

De Lara Pedroso vd. (2012), taşıyıcı yağ olarak palm ve palm çekirdeği yağını 47.5°C'de eriterek, *B. lactis* (BI-01) ve *Lb. acidophilus* (LAC-04) bakterilerini püskürterek soğutma yöntemi ile kapsüllemişlerdir. Erimeş palm yağına %1 lesitin, 7 log kob/g canlı probiyotik bakteri eklenmiş ve 10°C'lik ortama atomizasyon yapılmıştır. Serbest ve enkapsüle formdaki bakterilerin canlılıkları farklı raf ömrü koşullarında incelenmiştir. 37°C depolama sıcaklığına karşın 7°C ve -18°C sıcaklıklarda depolama sonucunda probiyotik bakterilerin canlılığı daha yüksek belirlenmiştir. Ayrıca bakterilerin gastrointestinal sistemdeki canlılıkları da simüle edilmiş gastrik ve intestinal

sıvılarla belirlenmiştir. Sonuç olarak *B. lactis* bakterisinin hem serbest hem de kapsüllü formu gastrointestinal koşullara dirençli çıkmış, enkapsüle formda canlılıkta sadece 0.7 log kob/g azalma gözlenirken, serbest formda bu oran 1.3 log kob/g a yükselmiştir. Çalışma sonucunda palm yağında püskürterek soğutma yöntemi ile probiyotik bakteri enkapsülasyonu gelecek vadedir.

### **Dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yöntemi**

Liyofilizasyon yönteminin geçmişi çok eski yıllara dayanmaktadır. 1880 yılında sağlık alanında laboratuvar ölçekli kullanılmaya başlanmış ve bu durum 1930 yılına kadar devam etmiştir. Gıda ve eczacılık gibi alanlarda kullanımı daha yakın tarihlerde başlanmış olup farklı ürün çeşitleri üzerinde uygulamaları geliştirilmektedir (Karagül ve Altuntaş, 2018).

Dondurarak kurutma, gıda ve farmasötik alanlarında çok önemli bir mikroenkapsülasyon teknolojisidir. Vitaminler, pigmentler, flavonoid maddeler, balık yağı ve probiyotik bakteri hücreleri gibi yüksek sıcaklığa karşı hassas bileşenler için en kullanışlı ve popüler yöntemdir (Ezhilarasi vd., 2013). Liyofilizasyon yöntemi sayesinde ürünlerin stabilitesi iyileşir, muhafazası kolaylaşır, katma değerli ürünler üretilebilir ve çevresel koşulların neden olduğu olumsuz etkiler azaltılarak raf ömrü uzatılabilir (Kawasaki vd., 2019).

Dondurarak kurutma yöntemi; dondurma, birincil kurutma ve ikincil kurutma olmak üzere temel olarak 3 aşamadan oluşmaktadır (Kawasaki vd., 2019). İlk aşama olan dondurma aşaması en önemli aşama olarak sayılabilir. Çünkü dondurma aşamasında dondurma sıcaklığı ve dondurma hızı kritik proses parametreleri olduğu için oluşan yapılar son ürünün kalitesini ve sonraki kurutma parametrelerini etkilemektedir. Dondurma işlemi sayesinde çözücü kısım ile çözünen kısım ayrılmaktadır. Burada kullanılacak süspansiyon çözeltinin sıcaklığı, suyun üçlü noktası (0.006 atm basınç ve 273.16 K sıcaklık) altındaki sıcaklıklara kadar düşürülmesi gerekmektedir (Özdemir vd., 2021). Böylece serbest su olarak bilinen su buz kristallerine dönüşür. İkinci aşama olan birincil

kurutma aşamasında katı fazdaki buz süblimleştirilir. Birincil kurutma aşaması en uzun süre gerektiren aşamadır (Kawasaki vd., 2019). Son aşama olan ikincil kurutma aşamasında ise önceki aşamalarda süblimleşememiş bağlı suyun uzaklaştırılması sağlanmaktadır. Böylece elde edilecek son ürünün su içeriği istenen düzeye indirilir (Kawasaki vd., 2019).

Dondurarak kurutma işlemi sırasında hücrenin membranında bulunan lipitlerin ve proteinlerin yapısı etkilenebilmekte ve probiyotik hücrenin canlılığı da azalabilmektedir. Dondurarak kurutma sırasındaki olumsuz etkileri ortadan kaldırmak için ortama kriyoprotektan maddeler eklenebilmektedir. Genellikle; yağsız süt, şekerler (ksilooligosakkarit, fruktoz, laktoz, mannoz, trehaloz, sakkaroz ve glikoz), aminoasitler (arjinin, glisin) ve sodyum bikarbonat kriyoprotektan madde olarak kullanılmaktadır (Chen vd., 2019; Romyasamit vd., 2021).

Dondurarak kurutmanın en büyük dezavantajı, birincil kurutma aşamasında gerekli olan yüksek enerji ve yatırım maliyetidir. Bu nedenle bu aşama dikkatli bir şekilde planlanmalı ve gerçekleştirilmelidir (Kawasaki vd., 2019). Literatürde probiyotik bakterilerin dondurarak kurutma ile enkapsülasyonu ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur.

Hossain vd. (2021), *Lb. casei* 431, *Lb. acidophilus* La5, *Lb. rhamnosus* LGG, *Lb. plantarum*, *Lb. sanfranciscensis*, *B. animalis* subsp. *lactis* (Bb12) ve *Streptococcus thermophilus* bakterilerini Na-aljinat ve Na-aljinat-fruktooligosakkarit ile birlikte farklı oranlarda kullanarak kapsüllemişler ve 7 farklı kakao tozu formülasyonu geliştirmişlerdir. Oluşturulan formülasyonlar çikolata üretiminde kullanılmıştır. Genel olarak formülasyonların çoğunda 7 log kob/g canlılık gözlemlenmiştir. Ayrıca *Lb. casei* 431 ve *Lb. acidophilus* La5 içeren formülasyonlar en yüksek kapsülleme verimliliği göstermiştir. Araştırmacılar liyofilizasyon tekniği kullanılarak probiyotik ile zenginleştirilmiş çikolata üretiminin yenilikçi ve gelecek vadeden bir ürün olarak nitelendirmişlerdir.

Başka bir çalışmada Sornsenee vd. (2022), *Lactocaseibacillus paracasei* T0901 bakterisini ilk önce dondurarak kurutmuş ve bir probiyotik toz elde etmiştir. Daha sonra elde edilen probiyotik toz, yeşil muz tozuna eklenerek probiyotik içeren yeşil muz tozu elde edilmiştir. Karışım probiyotikli içecek oluşturmak için kullanılmıştır. Liyofilize halde probiyotik canlılığı düşük pH ortamlarında (pH 2 ve 3), %0,3'lük safra tuzu, pepsin, pankreatin içeren ortamlarda ayrı ayrı takip edilmiş ve ayrıca probiyotik hücrelerin tutunma yeteneği ve hidrofobikliği ölçülmüştür. Ayrıca probiyotikli yeşil muz tozu oda sıcaklığında 60 gün depolanarak depolama süresince hücre canlılığı takip edilmiştir. 60 gün sonunda oda sıcaklığında 7,10 log kob/g canlılık tespit edilmiştir. Böylece probiyotikli yeşil muz tozunun, fonksiyonel gıda olarak kullanılabilceği belirlenmiştir.

Sun vd. (2023) yaptıkları çalışmada *Lb. plantarum* 299v bakterisini duvar materyali olarak peynir altı suyu proteini ve denatüre peynir altı suyu proteini kullanarak probiyotik elma suyu denemesi yapmışlardır. Raf ömrü olarak 4°C sıcaklık seçerek 6 hafta boyunca gözlem yapmışlardır. 6 hafta sonunda 1:1 oranında duvar materyalini içeren hücreler en yüksek canlılığı (yaklaşık olarak 9 log kob/g) göstermişlerdir.

### Ekstrüzyon yöntemi

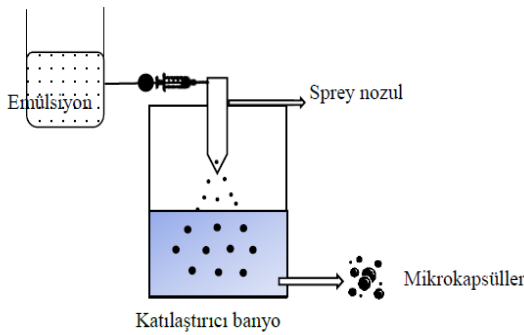
Ekstrüzyon yöntemi biyoaktif bileşiklerin ve bakterilerin enkapsülasyonu için oldukça sık kullanılan bir yöntemdir. Ekstrüzyonun diğer enkapsülasyon yöntemlerine göre daha basit, kullanımı kolay, uygun maliyetli bir yöntem olması ve küçük boyutta kapsüller oluşturması büyük avantaj sağlamaktadır (Nami vd., 2020).

Bu işlem, biyoaktif madde ile taşıyıcı materyalinin karışımından oluşmaktadır. Karışım, ekipmanın ekstrüzyon nozulundan geçmekte ve hızlı bir şekilde katılaştırma banyosunda kapsül haline dönüşmektedir (Whelehan ve Marison 2011; Heidebach vd. 2012). Bu tekniğin avantajları çözücü ve yüksek sıcaklıkların kullanılmamasıdır. Ancak mikrokapsül üretim hızının düşük olması ve endüstriyel boyuta dönüştürebilme zorluğu bu yöntemin dezavantajlarıdır (Heinzen vd. 2004;



Burgain vd. (2011). Oluşturulacak mikrokapsüllerin boyutu kullanılacak enjektör iğnesinin boyutuna bağlıdır. Ayrıca ekstrüzyon yöntemi probiyotik hücelere zarar vermemekte, böylece yüksek canlılık elde edilebilmekte ve aerobik ve anaerobik koşullarda yürütülebilmektedir. Kullanımı için elde edilmek istenen ürüne uygun hidrokolloidler seçilebilmektedir. En yaygın kullanılan taşıyıcı maddeler; sodyum aljinat, peynir altı suyu proteinleri, ksantan zımkı, jellan zımkı, nişasta, pektin, kitosan, jelatin ve kolajendir (Frakolaki vd., 2021).

Ekstrüzyon yöntemiyle probiyotik mikroorganizma enkapsülasyonu Şekil 3'te gösterilen şekilde yapılmaktadır.



Şekil 3. Ekstrüzyon yöntemi şematik gösterimi

Nami vd. (2020), *Lactococcus lactis* ABRIINW-N19 hücrelerini, ekstrüzyon yöntemiyle enkapsüle ederek portakal suyunda kullanmışlardır. Kaplama materyali olarak aljinat, Fars zımkı, FOS ve inülin farklı konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda kullanılarak 7 farklı formülasyon oluşturulmuştur. Sonuç olarak tüm formülasyonlarda %98'in üzerinde bir kapsülleme verimliliği ve 4°C'de 6 hafta depolama sonucunda yüksek canlı hücre stabilitesi (%61) elde etmişlerdir.

Ünal-Turhan vd. (2019a), *Lb. rhamnosus* probiyotik bakterisini ekstrüzyon yöntemiyle kapsüllemiş ve 6 aylık depolama boyunca geleneksel sucukta oluşan biyojen aminlerin miktarına depolama süresi ve probiyotik bakteri etkisini araştırmışlardır. Biyojen amin miktarının depolama süresi ile arttığını ancak *Lb. plantarum* bakterisi ile *Lb. rhamnosus*'un beraber kullanımının

biyojen aminler üzerinde etkili bir azalma gösterdiğini belirlemişlerdir.

Castro-Rosas vd. (2021), *Lb. paracasei* bakterisi %2 aljinat solüsyonu ve %1,25 ayçiçek yağı duvar materyali olarak kullanılmış ve ekstrüzyon yöntemi ile mikrokapsüller oluşturulmuştur. Kapsüllerin bir kısmı daha sonra liyofilize edilmiştir. Oluşturulan probiyotik kapsüller ve serbest probiyotik bakteri 6 hafta boyunca 4°C ve 30°C olmak üzere iki farklı depolama sıcaklığında saklanmıştır. Liyofilize mikrokapsüller 4°C'de %89,2 30°C'de %86,1 canlılık göstererek en iyi sonuçları vermiştir. Mikrokapsüllü probiyotiklere verimlilik, morfoloji, gastrointestinal koşullara dayanıklılık gibi farklı analizler yapılmıştır. Ayrıca kapsüllenmiş probiyotik bakteri ve serbest probiyotik bakteri çilekli dondurma formülasyonuna eklenerek çilekli probiyotik dondurma yapılmıştır. Dondurma 4 hafta boyunca depolanmış ve 6 log/kob canlı bakteri elde edilmiştir. Böylece tüketici için yararlı ürün elde edilmiştir.

### Emülsiyon yöntemi

Emülsiyon yöntemi diğer yöntemlere göre daha yakın zamanda kullanılmaya başlanan bir enkapsülasyon yöntemidir. Probiyotik bakterilerin kapsüllemesi için tekli ya da ikili emülsiyon olmak üzere iki farklı emülsiyon kullanılabilir. Tekli emülsiyonlar, bitkisel yağ (sürekli faz) içerisine belirli miktarda serbest probiyotik bakteri hücreleri ve hidrokolloid madde (dağılmış faz) eklenerek emülsiyon çözeltisi elde edilmesi ile oluşturulmaktadır. Çözelti, yağ içinde su emülsiyonu ya da su içinde yağ emülsiyonu oluşana kadar homojenize edilmektedir. Emülsiyonun yapısını iyileştirmek için sürfaktanlar kullanılabilir (El-Salam ve El-Shibiny, 2015; Rodrigues vd., 2020).

İkili emülsiyon oluşturmak için ilk aşamada tipik su/yağ (veya yağ/su) birincil emülsiyonu hazırlanır. Daha sonra tekli emülsiyon çözeltisine uygun bir yüzey aktif madde eklenir ve emülsiyonun ortalama damlacık boyutunda önemli bir azalma sağlamak için genellikle yüksek basınçlı homojenizasyon işlemine tabi tutulur. Hazırlanan ikili emülsiyon çözeltisine, kalsiyum

klorür çözeltisi yavaş yavaş eklenir. Eklenen kalsiyum klorür çözeltisi sertleştirici görevi görerek ikili emülsiyon çözeltisinde çözünmüş olan polimerlerin çözünmez hale gelmesini sağlamaktadır. Bu işlemler sonunda kapsüller oluşmaktadır (Huq vd., 2013; Riaz ve Masud, 2013; El-Salam ve El-Shibiny, 2015). Emülsiyon yöntemi ile enkapsülasyon işleminin uygulanması kolaydır ve bakteri canlılık oranı yüksektir. Emülsiyon yönteminde elde edilen kapsüller 25µm-2mm boyutundadır. Oluşan kapsül boyutu küçük olduğu için ince doku, pürüzsüz bir yapı ve görünüm elde edilmektedir. Bu avantajlar sayesinde gıdalarda kullanım kolaylığı elde edilmektedir. Ayrıca emülsiyon yöntemi kolayca ölçeklendirilebilmektedir. Fakat homojen bir emülsiyon oluşturmak için yapılan karıştırma işleminde probiyotik bakterilerin hücre zarı zarar görebilmektedir. Ayrıca bu yöntemde, bitkisel yağ kullanımından dolayı ekstrüzyon gibi enkapsülasyon yöntemleri ile karşılaştırıldığında maliyetli bir yöntem olabilmektedir (Huq vd., 2013; Riaz ve Masud, 2013; Cai vd., 2014; El-Salam ve El-Shibiny, 2015; Altamirano-Ríos vd., 2022).

Emülsiyon oluşturma, pigmentlerin ve probiyotiklerin enkapsülasyonu için uygun bir yöntemdir (Koşay,2020; Loyeau vd., 2021). Kullanılan bitkisel yağın çeşidi ve damlacık boyutu gastrointestinal sistemde salınım hızını büyük oranda etkilemektedir (Jiang ve Charcosset, 2022).

Romero-Chapol vd. (2022), yaptıkları çalışmada laktoz intoleransı olan bireyler için enkapsüle probiyotik bakteri içeren yoğurt ve elma suyu üretimini araştırmışlardır. Bakteri olarak *Lactocaseibacillus rhammosus* GG ve taşıyıcı materyal olarak bitkisel yağ-aljinat karışımını kullanmışlardır. Sonuç olarak elma suyunda 22 gün boyunca 4°C'de depolama koşullarında ve yoğurtta 30 gün boyunca 4°C depolama koşullarında her iki ürün içinde %80'in üzerinde canlılık tespit etmişlerdir.

Ghasemi vd. (2022), *L. acidophilus* (NRRL B-4495) ve *L. plantarum* (ATCC-14917) probiyotik bakterilerini ayçiçek yağı, sago nişastası ve kitre zıncığı ile emülsiyon yöntemini kullanarak

enkapsüle etmiş ve glutensiz, probiyotik bakteri içeren sorgum ekmeği yapmışlardır. Sonuç olarak ekmekte probiyotik bakteri kullanımı pişirme ve depolama boyunca ekmeğin daha iyi nem tutmasını sağlamış ve bayatlamayı geciktirmiştir.

### **Pickering yöntemi ile probiyotiklerin enkapsülasyonu**

Emülsiyonlar gıda ve farmasötik alanlarında sıklıkla kullanılmaktadır. Emülsiyonların kararsız yapıya sahip olmaları nedeniyle raf ömrü boyunca stabil kalmaları için stabilizatörlerin kullanılması gerekmektedir. Pickering emülsiyonları katı partiküllerin kullanılması ile stabilize yapı özelliği gösteren emülsiyon sistemleridir. Pickering hakkında ilk çalışma Ramsden (1904) tarafından yapılmıştır. Ancak Pickering (1907) tarafından yapılan öncü çalışma nedeniyle adını Pickering emülsiyonu olarak almıştır. Bu yöntem son 15 yıldır artan ilgiyle pek çok farklı alanda bilimsel çalışmalara konu olmaktadır. 2000-2018 yılları arasında Pickering emülsiyonları hakkında çalışma oranı %0.05'ten %8'e yükselmiştir. Bu oranın artmasının nedeni Pickering emülsiyonunun normal emülsiyon sistemlerine göre daha çekici özellikler taşıması ile ilgilidir. Bu özellikler olağanüstü oksijen bariyeri özelliği göstermesi, eklendiği gıdaya uzun süreli stabilizasyon sağlaması, emülsiyon filmi özelliği göstermesi, gıda matrisi ile uyumlu olması, geleneksel emülsiyon sistemlerine oranla daha iyi oksidatif stabilite göstermesi, vitamin ve aroma gibi hassas maddeleri koruma özelliği göstermesi, gastrointestinal sistemdeki pH, enzim ve iyonlar gibi dış faktörlere karşı kontrol sağlayarak kapsüllenen biyoaktif bileşenin ya da probiyotik bakterinin istenen bölgede salınımını sağlaması, su temasını sınırlaması, çeşitli gıdaların yapısını değiştirmesi ve tokluk sağlayarak obezite tedavisinde tüketicilere alternatif sunması olarak söylenebilmektedir ( Albert vd., 2019; Huang vd., 2019; Mwangi vd., 2020).

Pickering emülsiyonlarında polisakkaritler, proteinler ve lipitler kullanılabilir. Selüloz, kitin, kitosan, aljinat, siklodekstrinler, nişasta gibi maddeler polisakkarit olarak, jelatin, keratin, laktoferrin, laktoglobulin, bezelye proteini, soya proteini, peynir altı suyu proteini, zein gibi

maddeler ise protein olarak kullanılabilir. Lipitler ile ilgili protein ve polisakkaritlere kıyasla daha az araştırma yapılmıştır ve daha az kullanılmaktadır. Lipidler, farklı yapılarda Pickering emülsiyonları oluşturulabilmektedir. Bunlar suda yağ emülsiyonu ve yağ içinde su emülsiyonu olarak sınıflandırılabilirler.

Qin vd., (2021), yaptıkları çalışmada yüksek iç fazlı pickering emülsiyonu yöntemi ile peynir altı suyu protein izolatu epigallokateşin-3-gallat ve yağ fazı olarak orta zincirli trigliserit (MCT) kullanarak *Lb. plantarum* probiyotik hücrelerini enkapsüle etmişlerdir. Probiyotik bakterinin simüle edilmiş gastrointestinal sistemde ve depolamada (4°C sıcaklıkta 14 gün) canlılığı gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, partikül konsantrasyonu %3'ün üzerine çıkarıldığında probiyotik canlılığını olumlu yönde etkilemiştir. Ayrıca depolama ve gastrointestinal koşullar sonunda toplam hücre canlılığı yaklaşık  $3 \times 10^7$  kob/mL olarak tespit edilmiştir.

### **Kompleks koaservasyon yöntemi ile probiyotiklerin enkapsülasyonu**

Kompleks koaservasyon elektrostatik olarak zıt yüklere sahip polimerlerin (ör. protein ve polisakkarit) belirli spesifik koşullar altında bir araya gelmesiyle oluşturulan bir çözeltidir. Bu koşullar; pH, iyonik kuvvet, kullanılan biyopolimerin konsantrasyonu, oranı ve molekül ağırlığı, sıcaklık ve homojenizasyon derecesi olarak söylenebilir (Da Silva vd., 2018; Eratte vd., 2018). Bu yöntem sayesinde biyoaktif madde ya da hücre etrafında koaservat birikerek mikro küre oluşumu sağlanır (Gouin, 2004). Oluşturulan kapsüllerin boyutu mikro ve nano olarak ayrılmaktadır. Ayrıca kapsüller toksik olmamalı, biyoyumlu olmalı ve kontrollü salınım özelliği göstermelidir (Kaushik vd., 2016).

Kompleks koaservasyon yöntemi iyi uyum gösterebilen, yüksek kapsülleme verimliliği olan, düşük maliyetli, organik çözücü kullanımı ve ekstrem reaksiyon koşulları gerektirmeyen bir yöntemdir (Da Silva vd., 2018; Eratte vd., 2018). Kullanılan proteinlere; jelatin, albümin, peynir altı suyu proteini,  $\beta$ -laktoglobulin örnek olarak verilebilirken, polisakkaritlere ise arap zımkı,

pektin, kitosan, aljinat, ksantan zımkı ve karragenan örnek gösterilebilir. Kompleks koaservasyon işleminden sonra genellikle püskürtülerek kurutma ya da dondurarak kurutma yapılmaktadır. Bunun nedeni kapsülü oluşturmak değil suyu uzaklaştırmaktır. Kapsüllerin boyutu kompleks koaservasyon işleminden sonra gözlemlenmektedir. Oluşturulan koaservat çözeltinin sınırlı bir pH, sıcaklık ve iyonik güç aralığında stabil özellik göstermesi kompleks koaservasyon yönteminin dezavantajıdır (Eratta vd., 2018).

Da Silva vd. (2018) yaptıkları çalışmada *B. lactis* Bb-12'yi ilk önce kompleks koaservasyon yöntemi uygulayıp ardından dondurarak kurutma kullanarak enkapsüle etmiş ve oluşan kapsüllerin morfolojisini, boyutunu, *in vitro* salınımını ve simüle gastrointestinal sistem koşullarında canlılığını incelemiştir. Çalışma sonucunda, kapsülleme verimliliği kompleks koaservasyon uygulanması sonunda %99.52 ve kompleks koaservasyondan sonra dondurarak kurutma uygulanması sonunda %86.04 olarak belirlenmiştir. Bu azalmanın, kurutma koşullarından bazı canlı hücrelerin zarar görmesinden kaynaklı olabileceği belirtilmiştir. Oda sıcaklığı koşullarında 90 günlük depolama sonunda probiyotik canlılığı sadece kompleks koaservasyon uygulandığında 6.6 log kob/g seviyesinde tespit edilirken hem kompleks koaservasyon ve sonrasında dondurarak kurutulmuş elde edilen kapsüllerde 9.45 log kob/g seviyesinde tespit edilmiştir. Dondurarak kurutma ile ortamdaki uzaklaştırılan su sayesinde probiyotik canlılığının daha iyi korunduğu belirlenmiştir. Çalışma sonucunda kompleks koaservasyon yönteminin probiyotik enkapsülasyonu için uygun yöntem olduğu sonucuna varılmıştır.

### **Elektrosprey yöntemi**

Elektro-hidrokinamik proses çeşitlerinden biri olan elektrosprey yöntemi son yıllarda probiyotik enkapsülasyonu için diğer enkapsülasyon yöntemlerine alternatif bir kapsülleme yöntemidir. Elektrosprey yöntemi probiyotiklerin canlılığını olumsuz etkilemeden oda sıcaklığında enkapsülasyon sağlamaktadır. Ayrıca birden fazla kapsülleme bileşeni kullanma imkânı, yüksek

kapsülleme verimliliği ve yüksek probiyotik canlılığı gibi özellikler taşımasından dolayı diğer enkapsülasyon yöntemlerinden ayrılmaktadır. Fakat yüksek yatırım maliyeti ve henüz sanayileşmemiş bir yöntem olması gibi dezavantajları da mevcuttur (Mendes ve Chronakis, 2021).

Bu teknikte yüksek voltaj sayesinde oluşan elektrostatik kuvvet, polimer çözeltiyi nozuldan ince damlacıklar şeklinde atomize eder ve çözelti ince damlacık şekline dönüşürken çözücü buharlaştırılır. İnce damlacıklar nozuldan toplayıcı denilen bölüme geçer ve bu sırada katılma meydana gelir. Oluşan damlacıkların boyutu 1µm'den daha küçüktür (Jaworek, 2008; Pérez-Masiá vd., 2014; Zaeim vd., 2018 ). Oluşturulan damlacıkların boyutunun değiştirilmesi için uygulanan voltaj, akış hızı ve nozuldan toplayıcıya olan mesafe gibi faktörlerin optimize edilmesi gerekmektedir (Enayati vd., 2011). Oluşturulan çözeltinin elektrospreyleme kabiliyeti viskozite, yüzey gerilimi, iletkenlik ve dielektrik sabiti gibi faktörlere bağlıdır.

Taşıyıcı materyallerin seçimi elektrosprey yönteminde oldukça fazla önem taşımaktadır. Çünkü kullanılacak materyalin polielektrolit doğasının bilinmesi gerekmektedir. Aljinat, akasya zamkı ve kitosan gibi farklı polisakaritler ile soya proteini konsantresi, patates proteini ve peynir altı suyu proteini gibi protein çeşitleri elektrosprey yönteminde taşıyıcı materyal olarak kullanılabilir ( González-Ferrero vd., 2018; Zaeim vd., 2018; Zaeim vd., 2019; Mendes ve Chronakis vd., 2021).

Zaeim vd., (2018), yaptıkları çalışmada *Lb. plantarum* ATCC 8014 bakterisini farklı oranlarda (%20-25-30-35 ve 40) hazırlanmış akasya zamkı çözeltisi ile 19 kV voltaj kullanarak enkapsüle etmişlerdir. Enkapsülasyon sonunda probiyotik canlılığı ve morfoloji incelenmiştir. Analizler sonucunda taşıyıcı olarak %30'luk akasya zamkı kullanılan kapsüllerin maksimum iletkenliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Morfoloji analizi sonuçlarına göre ise en düzgün küresel yapıya %35 akasya zamkı çözeltisi kullanılan kapsüllerin

sahip olduğu belirlenmiştir. Probiyotik bakteri canlılığı ise %96 oranında tespit edilmiştir.

## SONUÇ

Bilim ve teknolojinin gelişmesiyle birlikte gıda endüstrisinde probiyotik kullanımı ve probiyotik içeren fonksiyonel gıda üretimi popüler hale gelmiştir. Probiyotik bakterilerin canlılıklarının gıda işleme ve depolama süresince korumak amacıyla çeşitli mikroenkapsülasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin temeli probiyotik hücreyi, proses sırasında ve gastrointestinal sistemde ekstrem koşullardan korumak ve bakterilerden vücuda sağlayacağı en yüksek verimlilikte yarar sağlamaktır. Enkapsülasyon yöntemleri kullanılan sıcaklık, taşıyıcı materyal, ekipman ve uygulama kolaylığı, zorluğu gibi özellikler ile birbirinden ayrılmaktadır. Son üründe istenen özelliklere bağlı olarak mikroenkapsülasyon yöntemi seçilebilir ya da birbiri ile kombine olarak kullanılabilir. Literatür incelendiğinde çeşitli gıda ürünlerine enkapsüle probiyotik bakterilerin eklendiği görülmektedir ve gelecek yıllarda da konu ile ilgili çalışmaların artış göstereceği öngörülmektedir.

## ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar, bu derleme makalesiyle ilgili olarak başka kişiler ve/veya kurumlar arasında çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

## YAZAR KATKILARI

Her iki yazar da makalenin yazılmasında ve düzenlenmesinde eşit katkı sağlamıştır.

## KAYNAKLAR

Abedinia, A., Alimohammadi, F., Teymori, F., Razgardani, N., Saedi Asl, M. R., Ariffin, F., roslan, j. (2021). Characterization and cell viability of probiotic/prebiotics film based on duck feet gelation: a novel poultry gelatin as a suitable matrix for probiotics. *Foods*, 10(8), 1761.

Albert, C., Beladjine, M., Tsapis, N., Fattal, E., Agnely, F., Huang, N. (2019). Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. *Journal of Controlled Release*, 309, 302-332.

- Altamirano-Ríos, A. V., Guadarrama-Lezama, A. Y., Arroyo-Maya, I. J., Hernández-Álvarez, A. J., Orozco-Villafuerte, J. (2022). Effect of encapsulation methods and materials on the survival and viability of *Lactobacillus acidophilus*: A review. *International Journal of Food Science Technology*, 57(7), 4027-4040.
- Arslan-Tontul, S., Erbaş, M. (2017). Biyoaktif gıda bileşenlerinin püskürterek dondurma yöntemi ile mikroenkapsülasyonu. *GIDA*, 43(1), 11-20.
- Arslan-Tontul, S. (2017). Probiyotik mikroorganizmaların püskürterek dondurma ve kurutma teknikleriyle mikroenkapsüle edilerek probiyotik kek üretiminde kullanım imkanlarının araştırılması. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Antalya, Türkiye, 153s.
- Azam, M., Saeed, M., Pasha, I., Shahid, M. (2020). A prebiotic-based biopolymeric encapsulation system for improved survival of *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Bioscience*, 37, 100679.
- Balcı-Torun, F. (2019). Farklı enkapsülasyon yöntemleri kullanılarak elde edilen aroma kapsüllerinin depolama stabilitesinin ve gıda katkı maddesi kullanımının araştırılması. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Antalya, Türkiye, 211s.
- Bampi, G.B., Backes, G.T., Cansian, R.L. de Matos, F.E., Ansolin, I.M.A., Poletto, B.C., Favaro-Trindade, C.S. (2016). Spray chilling microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and its use in the preparation of savory probiotic cereal bars. *Food and Bioprocess Technology*, 9(8), 1422-1428.
- Barat, A., Özcan, T. (2016). Fermente süt ieeğinde probiyotik bakterilerin gelişimi üzerine meyve ilavesinin etkisi. *Journal of Agriculture Faculty of Ege University*, 53(3), 259-267.
- Bilginer, H., etin, B. (2019). Probiyotikler ve belirlenmelerinde kullanılan in vitro testler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50(3), 312-325.
- Cai, S., Zhao, M., Fang, Y., Nishinari, K., Phillips, G. O., Jiang, F. (2014). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* CGMCC1.2686 via emulsification/internal gelation of alginate using Ca-EDTA and CaCO<sub>3</sub> as calcium sources. *Food hydrocolloids*, 39, 295-300.
- Campos, R.C.D.A.B., Martins, E.M.F., de Andrade Pires, B., Peluzio, M.D.C.G., da Rocha Campos, A.N., Ramos, A.M., Martins, M. L. (2019). In vitro and in vivo resistance of *Lactobacillus rhamnosus* GG carried by a mixed pineapple (*Ananas comosus* L. Merrill) and jussara (*Enterpe edulis* Martius) juice to the gastrointestinal tract. *Food Research International*, 116, 1247-1257.
- Castro-Rosas, J., Gómez-Aldapa, C. A., Chávez-Urbiola, E. A., Hernández-Bautista, M., Rodríguez-Marín, M. L., Cabrera-Canales, Z. E., Falfán-Cortés, R. N. (2021). Characterisation, storage viability, and application of microspheres with *Lactobacillus paracasei* obtained by the extrusion technique. *International Journal of Food Science Technology*, 56(4), 1809-1817.
- Chávarri, M., Marañón, I., Ares, R., Ibáñez, C., Marzo, F., del Carmen Villarán, M. (2010). Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 142(1-2), 185-189.
- Chen, H., Tian, M., Chen, L., Cui, X., Meng, J., Shu, G. (2019). Optimization of composite cryoprotectant for freeze-drying *Bifidobacterium bifidum* BB01 by response surface methodology. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, 47(1), 1559-1569.
- Cozentino, I.D.S.C., de Paula, A.V., Riberio, C.A. Alonso, J.D., Grimaldi, R., Luccas, V., Cavallini, D.C.U. (2022). Development of a potentially functional chocolate spread containing probiotics and structured triglycerides. *LWT-Food Science and Technology*, 154, 112746.
- am, G., Akın, N., Konak Göktepe, ., Demirci, T. (2022). Pea (*Pisum sativum* L.) pod powder as a potential enhancer of probiotic *Enterococcus faecium* M74 in ice cream and its physicochemical, structural, and sensory effects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(6):3184-3193.
- De Lara Pedroso, D., Thomazini, M., Heinemann, R.J.B., Favaro-Trindade, C.S. (2012).

- Protection of *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus* by microencapsulation using spray-chilling. *International Dairy Journal*, 26(2), 127-132.
- De Lara Pedroso, Dogenski, M., Thomazini, M., Heinemann, R.J.B., Favaro-Trindade, C.S. (2013). Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and *Lactobacillus acidophilus* in cocoa butter using spray chilling technology. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(3), 777-783.
- Da Silva, T. M., Lopes, E. J., Codevilla, C. F., Cichoski, A. J., de Moraes Flores, É. M., Motta, M. H., ... de Menezes, C. R. (2018). Development and characterization of microcapsules containing *Bifidobacterium* Bb-12 produced by complex coacervation followed by freeze drying. *LWT-Food Science and Technology*, 90, 412-417.
- El-Salam, A., Mohamed, H., El-Shibiny, S. (2015). Preparation and properties of milk proteins-based encapsulated probiotics: a review. *Dairy Science and Technology*, 95(4), 393-412.
- Enayati, M., Chang, M. W., Bragman, F., Edirisinghe, M., Stride, E. (2011). Electrohydrodynamic preparation of particles, capsules and bubbles for biomedical engineering applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 382(1-3), 154-164.
- Eratte, D., Dowling, K., Barrow, C. J., Adhikari, B. (2018). Recent advances in the microencapsulation of omega-3 oil and probiotic bacteria through complex coacervation: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 71, 121-131.
- Ezekiel, O. O., Okechie, I.D., Adedeji, O. E. (2020). Visibility of *Lactobacillus rhamnosus* GG in simulated gastrointestinal conditions and after baking White pan bread at different temperature and time regimes. *Current Microbiology*, 77(12), 3869-3877.
- Ezhilarasi, P.N., Karthik, P., Chhanwal, N., Anandharamakrishnan, C. (2013). Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 63(3), 628-647.
- FAO, 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. World Health Organization-Food and Agriculture Organization of the United Nations, London, Ontario, Canada.
- Favaro-Trindade, C.S., de Matos Junior, F. E., Okuro, P. K., Dias-Ferreira, J., Cano, A., Severino, P., Souto, E. B. (2021). Encapsulation of active pharmaceutical ingredients in lipid micro/nanoparticles for oral administration by spray-cooling. *Pharmaceutics*, 13(8), 1186.
- Figueiredo, J., dePaula Silva, C. R., Oliveira, M. F. S., Norcino, L. B., Campelo, P. H., Botrel, D. A., Borges, S. V. (2021). Microencapsulation by spray chilling in the food industry: Opportunities, challenges and innovations. *Trends in Food Science Technology*, 120, 274-287.
- Frakolaki, G., Kekes, T., Lympaki, F., Giannou, V., Tzia, C. (2021). Use of encapsulated *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* through extrusion or emulsification for the production of probiotic yogurt. *Journal of Food Process Engineering*, e13792.
- Ghasemi, L., Nouri, L., Mohammadi Nafchi, A., Al-Hassan, A.A. (2022). The effects of encapsulated probiotic bacteria on the physicochemical properties, staling and viability of probiotic bacteria in gluten-free bread. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(3), e16359.
- González-Ferrero, C., Irache, J. M., González-Navarro, C. J. (2018). Soybean protein-based microparticles for oral delivery of probiotics with improved stability during storage and gut resistance. *Food Chemistry*, 239, 879-888.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*, 15(7-8), 330-347.
- Guo, Q., Li, S., Tang, J., Chang, S., Qiang, L., Du, G., Yuan, Y. (2022). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* by spray drying: Protective effects during simulated food processing, gastrointestinal conditions, and in kefir. *International Journal of Biological Macromolecules*, 194, 539-545.
- Hadidi, M., Majidiyan, N., Jelyani, A. Z., Moreno, A., Hadian, Z., Mousavi Khanegah, A. (2021). Alginate/fish gelatin\* encapsulated *Lactobacillus*

- acidophilus*: A study on viability and technological quality of bread during baking and storage. *Foods*, 10(9), 2215.
- Hernández-Barrueta, T., Martínez-Bustos, F., Castaño-Tostado, E., Lee, Y., Miller, M. J., Amaya-Llano, S. L. (2020). Encapsulation of probiotics in whey protein isolate and modified huauzontle's starch: An approach to avoid fermentation and stabilize polyphenol compounds in a ready-to-drink probiotic green tea. *LWT-Food Science and Technology*, 124, 109131.
- Homayoni Rad, A., Vaghef Mehrabany, E., Alipoor, B., Vaghef Mehrabany, L. (2016). The comparison of food and supplement as probiotic delivery vehicles. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, (56)6, 896-909.
- Hossain, M.N., Ranadheera, C.S., Fang, Z., Ajlouni, S. (2021). Impact of encapsulation probiotics with cocoa powder on the viability of probiotics during chocolate processing, storage, and in vitro gastrointestinal digestion. *Journal of Food Science*, 86(5), 1629–1641.
- Huang, X. N., Zhu, J. J., Xi, Y. K., Yin, S. W., Ngai, T., Yang, X. Q. (2019). Protein-based Pickering high internal phase emulsions as nutraceutical vehicles of and the template for advanced materials: A perspective paper. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(35), 9719-9726.
- Huq, T., Khan, A., Khan, R. A., Riedl, B., Lacroix, M. (2013). Encapsulation of probiotic bacteria in biopolymeric system. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(9), 909-916.
- Jaworek, A., Sobczyk, A. T. (2008). Electro spraying route to nanotechnology: An overview. *Journal of Electrostatics*, 66(3–4), 197–219.
- Jiang, T., Charcosset, C. (2022). Encapsulation of curcumin within oil-in-water emulsion prepared by premix membrane emulsification: Impact of droplet size and carrier oil type on physicochemical stability and in vitro bioaccessibility. *Food Chemistry*, 375, 131825.
- Kanat, S., Gülel, G.T. (2021). Mikroenkapsülasyon ve Gıda Endüstrisinde Kullanım Alanları. *Aydın Gastronomy*, 5(1), 81-89.
- Karagül, M. S., Altuntaş, B. (2018). Liyofilizasyon: genel proses değerlendirmesi. *Etilik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 29(1), 62-69.
- Kaushik, P., Dowling, K., McKnight, S., Barrow, C. J., Adhikari, B. (2016). Microencapsulation of flaxseed oil in flaxseed protein and flaxseed gum complex coacervates. *Food Research International*, 86, 1-8.
- Kawasaki, H., Shimanouchi, T., Kimura, Y. (2019). Recent development of optimization of lyophilization process. *Journal of Chemistry*, 9502856.
- Koşay, R. (2020). Antosiyanin ekstraktlarının çift emülsiyon yöntemiyle enkapsülasyonu. Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüleri Ortak Yüksek Lisans Programı Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Osmaniye, Türkiye, 105s.
- Lipan, L., Rusu, B., Sendra, E., Hernández, F., Vázquez-Araújo, L., Vodnar, D.C., Carbonell-Barrchina, A.A. (2020). Spray drying and storage of probiotic-enriched almond milk: probiotic survival and physicochemical properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(9).
- Loyeau, P. A., Spotti, M. J., Vinderola, G., Carrara, C. R. (2021). Encapsulation of potential probiotic and canola oil through emulsification and ionotropic gelation, using protein/polysaccharides maillard conjugates as emulsifiers. *LWT-Food Science and Technology*, 150, 111980.
- Mendes, A. C., Chronakis, I. S. (2021). Electrohydrodynamic encapsulation of probiotics: a review. *Food Hydrocolloids*, 117, 106688.
- Meybodi, N. M., Mortazavian, A. (2017). Probiotic supplements and food products: a comparative approach. *Biochemical Pharmacology*, 6(2), 1-7.
- Miranda, J. S., Costa, B. V., de Oliveira, I. V., de Lima, D. C. N., Martins, E. M. F., Júnior, B. R. D. C. L., ... Martins, M. L. (2020). Probiotic jelly candies enriched with native Atlantic Forest fruits and *Bacillus coagulans* GBI-30 6086. *LWT-Food Science and Technology*, 126, 109275.

- Misra, S., Pandey, P., Mishra, H. N. (2021). Novel approaches for co-encapsulation of probiotic bacteria with bioactive compounds, their health benefits and functional food product development: a review. *Trends in Food Science Technology*, 109, 340-351.
- Mollakhalili, M. N., Mortazavian, A. M., SOHRABVANDI, S., CRUZ, A. G. D., Mohammadi, R. (2017). Probiotic supplements and food products: Comparison for different targets. *Applied Food Biotechnology*, 4(3), 123-132.
- Moreno, J. S., Dima, P., Chronakis, I. S., Mendes, A. C. (2021). Electrosprayed ethyl cellulose core-shell microcapsules for the encapsulation of probiotics. *Pharmaceutics*, 14(1), 7.
- Mwangi, W. W., Lim, H. P., Low, L. E., Tey, B. T., Chan, E. S. (2020). Food-grade Pickering emulsions for encapsulation and delivery of bioactives. *Trends in Food Science Technology*, 100, 320-332.
- Nami, Y., Lornezhad, G., Kiani, A., Abdullah, N., Haghshenas, B. (2020). Alginate-Persian gum-prebiotics microencapsulation impacts on the survival rate of *Lactococcus lactis* ABRIINW-N19 in orange juice. *LWT-Food Science and Technology*, 124, 109190.
- Okuro, P.K. de Matos Junior, F.E., Favaro-Trindade, C.S. (2013). Technological challenges for spray chilling encapsulation of functional food ingredients. *Food Technology and Biotechnology*, 51(2), 171.
- Özdemir, E.E., Görgüç, A., Gençdağ, E., Yılmaz, F.M. (2021). Püskürtmeli kurutma ve dondurarak kurutma yöntemlerinin temelleri ve bu yöntemler ile gıda atıklarından toz ürünlerin üretimi. *Gıda*, 46(3), 583-607.
- Özgüner-Kabak, M. (2019). Meyan kökünde bulunan bazı biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu üzerine farklı yöntemlerin etkisinin araştırılması. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Antalya, Türkiye, 91s.
- Pérez-Masiá, R., Lagaron, J. M., & López-Rubio, A. (2014). Development and optimization of novel encapsulation structures of interest in functional foods through electrospraying. *Food and Bioprocess Technology*, 7, 3236-3245.
- Pickering, S. U. (1907). Cxcvi.—emulsions. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 91, 2001-2021.
- Qin, X. S., Gao, Q. Y., Luo, Z. G. (2021). Enhancing the storage and gastrointestinal passage viability of probiotic powder (*Lactobacillus plantarum*) through encapsulation with pickering high internal phase emulsions stabilized with WPI-EGCG covalent conjugate nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 116, 106658.
- Rajagukguk, Y. V., Arnold, M., Sidor, A., Kulczyński, B., Brzozowska, A., Schmidt, M., Gramza-Michalowska, A. (2022). Antioxidant activity, probiotic survivability, and sensory properties of a phenolic-rich pulse snack bar enriched with *Lactiplantibacillus plantarum*. *Foods*, 11(3), 309.
- Radulavić, Z., Miočinović, N., Mirković, M., Paunović, D., Ivanović, M., Seratlić, S. (2017). Survival of spray-dried and free-cells of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* 564 in soft goat cheese. *Animal Science Journal*, 88(11), 1849-1854.
- Ramsden, W. (1904). Separation of solids in the surface-layers of solutions and 'suspensions' (observations on surface-membranes, bubbles, emulsions, and mechanical coagulation).—Preliminary account. *Proceedings of the Royal Society of London*, 72(477-486), 156-164.
- Riaz, Q. U. A., Masud, T. (2013). Recent trends and applications of encapsulating materials for probiotic stability. *Critical Reviews in Food Science And Nutrition*, 53(3), 231-244.
- Rizzoli, R., Biver, E. (2020). Are probiotics the new calcium and vitamin D for bone health? *Current Osteoporosis Reports*, 18(3), 273-284.
- Rodrigues, F. J., Cedran, M. F., Bicas, J. L., Sato, H. H. (2020). Encapsulated probiotic cells: Relevant techniques, natural sources as encapsulating materials and food applications—A narrative review. *Food Research International*, 137, 109682.
- Romero-Chapol, O.O., Varela-Pérez, A., Castillo-Olmos, A.G., García, H.S., Singh, J., García-



- Ramírez, P.J., Cano-Sarmiento, C. (2022). Encapsulation of *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG: Probiotic survival, in vitro digestion and viability in apple juice and yogurt. *Applied Sciences*, 12(4), 2141.
- Romyasamit, C., Saengsuwan, P., Boonserm, P., Thamjarongwong, B., Singkhamanan, K. (2022). Optimization of cryoprotectants for freeze-dried potential probiotic *Enterococcus faecalis* and evaluation of its storage stability. *Drying Technology*, 40:11, 2283-2292.
- Santos Monteiro, S., Albertina Silva Beserra, Y., Miguel Lisboa Oliveira, H., Pasquali, M.A.D.B. (2020). Production of probiotic passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* Deg.) drink using *Lactobacillus reuteri* and Microencapsulation via spray drying. *Foods*, 9(3),335.
- Silva, M. P., Tulini, F. L., Marinho, J. F., Mazzocato, M. C., De Martinis, E. C., Luccas, V., Favaro-Trindade, C. S. (2017). Semisweet chocolate as a vehicle for the probiotics *Lactobacillus acidophilus* LA3 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BLC1: Evaluation of chocolate stability and probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 75, 640-647.
- Silva, R., Pimentel, T.C., de Matos Junior, F.E., Esmerino, E.A., Freitas, M.Q., Fávoro-Trindade, C.S., Cruz, A.G. (2022). Microencapsulation with spray-chilling as an innovative strategy for probiotic low sodium rewueijão cremoso processed chesee processing. *Food Bioscience*, 46, 101517.
- Silva, K.K.D.P., de Souza Queirós, M., Riberio, A. P. B., Gigante, M. L. (2022). Modified milk fat as encapsulating material for the probiotic microorganism *Lactobacillus acidophilus* LA3. *International Dairy Journal*, 105237.
- Sornsenee, P., Chimplee, S., Saengsuwan, P., Romyasamit, C. (2022). Characterization of probiotic properties and development of banana powder enriched with freeze-dried *Lactocaseibacillus paracasei* probiotics. *Heliyon*, 8(10), e11063.
- Sun, W.; Nguyen, Q.D.; Süli, B.K.; Alarawi, F.; Szécsi, A.; Gupta, V.K.; Friedrich, L.F.; Gere, A.; Bujna, E. (2023). Microencapsulation and Application of Probiotic Bacteria *Lactiplantibacillus plantarum* 299v Strain. *Microorganisms*, 11, 947.
- Tao, T., Ding, Z., Hou, D., Prakash, S., Zhao, Y., Fan, Z., Han, J. (2019). Influence of polysaccharide as co-encapsulant on powder characteristics, survival and viability of microencapsulated *Lactobacillus paracasei* Lpc-37 by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 252,10-17.
- Ünal-Turhan, E., Erginkaya, Z., Benli, H., Akın, M.B., Agcam, E. (2019a). The effects of microencapsulated *L. rhamnosus* and storage on biogenic amine amount of sucuk. *GIDA*, 44(5), 819-825.
- Ünal Turhan, E., Erginkaya, Z., Sarkodal, E., Özkütük, S. T., Konuray, G. (2019b). Probiyotik bitter çikolata üretiminde mikroenkapsüle *Lactobacillus Rhamnosus* kullanımı. *GIDA*, 44(2), 238-247.
- Ünal-Turhan, E. (2021). Mikroenkapsüle ve serbest probiyotik kültür ilavesiyle fonksiyonel keçiyoynuzu pekmezi üretimi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 11(1), 307-317.
- Yeşilova Y, Sula B, Yavuz E, Uçmak D. (2010). Probiyotikler. *Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, 49-56.
- Zaeim, D., Sarabi-Jamab, M., Ghorani, B., Kadkhodae, R., Tromp, R. H. (2018). Electro-spray-assisted drying of live probiotics in acacia gum microparticles matrix. *Carbohydrate polymers*, 183, 183-191.
- Zaeim, D., Sarabi-Jamab, M., Ghorani, B., Kadkhodae, R. (2019). Double layer co-encapsulation of probiotics and prebiotics by electro-hydrodynamic atomization. *LWT-Food Science and Technology*, 110, 102-109