



Techniki mikrokapsułkowania bakterii fermentacji mlekowej i probiotyków w produktach mleczarskich

Ewa Kowalska

Zakład Technologii Mleka, Katedra Technologii i Oceny Żywności

Instytut Nauk o Żywności, SGGW w Warszawie

ewa_kowalska@sggw.edu.pl

Wprowadzenie

Mikrokapsułkowanie to pojęcie obejmujące nowoczesne techniki, które zyskują na znaczeniu w przemyśle spożywczym. Szczególnie ważne dla samego przemysłu mleczarskiego są procesy enkapsulacji bakterii fermentacji mlekowej. Polegają one na otaczaniu mikroorganizmów warstwą ochronną, która zabezpiecza je przed niekorzystnymi warunkami panującymi w trakcie przechowywania oraz obróbki termicznej [3]. W kontekście produktów mleczarskich, mikroorganizmy te odgrywają kluczową rolę w procesie fermentacji, wpływając na smak, teksturę oraz wartość odżywczą produktów. Pasaż żołądkowo-jelitowy oraz czynniki takie jak niskie pH żołądka, obecność soli żółciowych prowadzą do osłabienia żywotności bakterii fermentacji mlekowej obecnych w produktach mlecznych [2].

Probiotyki, będące żywymi mikroorganizmami, wykazują korzystny wpływ na zdrowie człowieka poprzez działanie na mikrobiotę jelitową, w tym ogólną poprawę funkcjonowania układu pokarmowego, łagodzenie objawów nietolerancji laktozy, obniżanie poziomu cholesterolu we krwi, minimalizowanie objawów zespołu jelita drażliwego, jak również łagodzenie objawów alergii pokarmowej u niemowląt. Kluczowe dla zachowania odpowiedniej aktywności mikroorganizmów w produkcie końcowym jest zapewnienie im ochrony podczas produkcji i okresu przechowywania przed działaniem czynników takich jak temperatura, pH czy tlen [11].

Spożywanie produktów mleczarskich z dodatkiem kultur starterowych lub wyizolowanych szczepów probiotycznych niesie za sobą szereg korzyści zdrowotnych. Od wielu lat produkty bogate w bakterie fermentacji mlekowej są polecane jako uzupełnienie diety podczas stosowania antybiotykoterapii, jak również po jej zakończeniu [5]. Dostarczenie do organizmu bakterii fermentacji mlekowej i probiotyków wpływa na zmianę funkcji mikrobioty jelitowej. Korzystne bakterie konkurują o miejsce adhezji do nabłonka jelit z mikroflorą patogenną, dzięki czemu minimalizowane jest ryzyko rozwoju chorób układu pokarmowego. Szczególnie korzystne może być spożywanie tego typu produktów w sezonach infekcyjnych, kiedy jesteśmy narażeni na infekcje wirusowe, a układ odpornościowy jest mocno obciążony. Ponadto warto wprowadzić do diety produkty z dodatkiem bakterii fermentacji mlekowej w przypadku występowania takich problemów jak zaparcia, biegunki czy nietolerancje pokarmowe [4].

W przemyśle mleczarskim najczęściej stosowane są kultury starterowe zawierające bakterie z rodzajów



Lactobacillus i *Bifidobacterium*. Niezwykle ważne jest, aby nie nadużywać terminu „probiotyki” i stosować go jedynie wtedy, gdy mówimy o wyselekcjonowanych szczepach, które wykazują szereg cech, takich jak dobra tolerancja na szkodliwe czynniki środowiskowe, nietoksyczność, zdolność do kolonizacji mikrobioty jelitowej i adhezji do nabłonka jelit [21]. Zgodnie z tym produkty fermentowane, takie jak kiszona kapusta nie zawierają probiotyków, a jedynie bakterie fermentacji mlekowej. O produkcie probiotycznym możemy mówić tylko wtedy, gdy wyselekcjonowany szczep został dodany do produktu podczas procesu technologicznego. Należy też pamiętać, iż nie istnieje konkretna liczba komórek bakteryjnych, która zapewni efekt zdrowotny, natomiast przyjmuje się, iż $10^6 - 10^7$ jtk/g jest wystarczające do zapewnienia pozytywnych efektów działania szczepów probiotycznych [3]. Jest to liczba żywych komórek mikroorganizmów, która musi dotrzeć do miejsca docelowego w ludzkim organizmie, jakim jest jelito grube. Z tego względu producenci suplementów zawierających szczepy probiotyczne oraz producenci żywności z dodatkiem probiotyków muszą zapewnić zdecydowanie większą liczbę żywych komórek bakteryjnych na etapie produkcji oraz liczyć się ze stratami, jakie zostaną poniesione podczas procesu technologicznego, a następnie magazynowania, dystrybucji oraz przechowywania. Głównym celem procesu mikrokapsułkowania jest zachowanie wysokiej żywotności bakterii probiotycznych na całym etapie produkcji i przechowywania, jak również zwiększenie stabilności sensorycznej oraz unieruchomienie komórek w celu ich jednorodnej dystrybucji w całym produkcie [14].

Techniki mikrokapsułkowania bakterii fermentacji mlekowej i probiotyków

W ostatnich latach naukowcy szczególnie intensywnie pracują nad możliwościami zabezpieczania bakterii fermentacji mlekowej poprzez różnorodne techniki enkapsulacji, aby uzyskać jak najefektywniejsze działanie poprzez zachowanie możliwie najwyższej liczebności żywych komórek bakteryjnych. Obecnie najczęściej stosowanymi technikami mikrokapsułkowania bakterii fermentacji mlekowej są suszenie rozpyłowe, liofilizacja, koacerwacja, emulsyfikacja oraz ekstruzja (wytłaczanie) [6].

Ze wszystkich wymienionych technik, suszenie rozpyłowe jest stosowane najdłużej w przemyśle spożywczym ze względu na niskie koszty przeprowadzania procesu, łatwą dostępność sprzętu oraz jego wysoką wydajność. Pomimo wielu zalet, metoda ta zakłada użycie bardzo wysokiej temperatury, która jest szkodliwa dla większości bakterii, szczególnie bakterii fermentacji mlekowej i szczepów probiotycznych. Kluczowym etapem jest zatem dobór odpowiednich substancji nośnych, które stanowią matrycę zabezpieczającą probiotyki przed działaniem niekorzystnych warunków. W tym celu wykorzystywane są zazwyczaj takie materiały jak: sacharoza, inulina, trehaloza, maltodekstryna, odtłuszczone mleko i białka serwatkowe, które pełnią funkcje ochronne podczas szybkiego odwadniania w procesie suszenia rozpyłowego [19]. Pomimo wielu modyfikacji metody, technika ta wymaga użycia temperatury sięgającej nawet 200°C , co jest konieczne do całkowitego odparowania wody i wytworzenia proszku. Dlatego pomimo zabezpieczenia bakterii odpowiednimi matrycami, istnieje duże ryzyko poniesienia strat w liczebności żywych bakterii podczas prowadzenia procesu. Dobrym rozwiązaniem jest wykorzystanie technik łączonych, które zakładają w pierwszym etapie usieciowanie probiotyków alginianami i przeprowadzenie suszenia rozpyłowego. Dzięki takim modyfikacjom możliwe jest uzyskanie wysokiej przeżywalności szczepów probiotycznych, przekraczającej 10^9 jtk/g po ekspozycji na symulowany sok żołądkowy [19]. W przemyśle mleczarskim do procesu enkapsulacji probiotyków wykorzystuje się tłuszcz mleczny w połączeniu z białkami serwatkowymi, które efektywnie chronią mikroorganizmy przed działaniem niekorzystnych czynników zewnętrznych [10].

Inną techniką, już od dawna stosowaną w przemyśle spożywczym, jest liofilizacja. Podobnie jak w przypadku suszenia rozpyłowego, jest to technika, w której warunki całego procesu mogą negatywnie wpłynąć na żywotność wybranych szczepów probiotycznych. Istnieją modyfikacje procesu, jak również możliwość doboru odpowiednich substancji



zabezpieczających, takich jak glukoza, sacharoza, trehaloza lub maltodekstryna [8]. Liofilizacja jest efektywną alternatywą suszenia rozpyłowego i bardzo często prowadzi do otrzymania bardziej zadowalających wyników niż po procesie suszenia rozpyłowego. Liofilizacja to proces, w którym zamrożeniu ulegają związki bioaktywne, przez co woda w nich zawarta zostaje przekształcona w lód w warunkach próżni, a następnie ulega procesowi sublimacji. Najbardziej krytycznym momentem liofilizacji jest początkowy etap zamrażania próbek, który ma istotny wpływ na późniejszą żywotność komórek bakteryjnych. Właśnie na tym etapie istnieje największe zagrożenie utraty żywotności szczepów probiotycznych. Wykazano, że nawet 60% komórek, które przeżywają etap zamrażania jest w stanie przetrwać następujący później etap odwadniania, dlatego też bardzo ważny jest dobór odpowiednich krioprotektantów oraz szybkość zamrażania. Powolne zamrażanie prowadzi do stopniowego odwadniania komórek, a powstający lód może prowadzić do rozległego uszkodzenia komórek. Natomiast szybkie zamrażanie może pomóc uniknąć nadmiernych skurczów komórek i tworzenia się lodu na zewnątrz komórki [1]. W przemyśle spożywczym obecnie możemy spotkać się z modyfikacjami procesu liofilizacji, a jedną z nich jest liofilizacja błyskawiczna (FFD), która polega na cyklicznych zmianach ciśnienia w bardzo krótkim czasie. Pozwala to na uzyskanie wysokiej liczby żywych bakterii, które odpowiednio zabezpieczone są dodawane do produktów spożywczych [1].

Techniką mniej popularną, ale wciąż stosowaną w przemyśle spożywczym jest emulsyfikacja, która pozwala na tworzenie stabilnych mieszanin złożonych z dwóch faz - lipidowej oraz wodnej. W większości procesów bakterie fermentacji mlekowej są wprowadzane do fazy wodnej i mieszane z fazą lipidową, dzięki czemu możliwe jest uzyskanie emulsji [20]. W technice tej należy skupić się na odpowiednim dobraniu emulgatorów w celu uzyskania mikrostruktury ochronnej pozwalającej na kontrolowane uwalnianie mikroorganizmów. Systemy mikrokapsułkowania zakładające użycie emulsyfikacji są bardzo często wykorzystywane do poprawy biodostępności leków, co spowodowało wykorzystanie tych technik w kontekście zabezpieczenia probiotyków. Biorąc pod uwagę niestabilność systemów emulsyjnych zawsze należy je stabilizować za pomocą emulgatorów. W tym celu wykorzystuje się gumę arabską, a w przemyśle mleczarskim głównie koncentrat białka serwatkowego ze względu na jego właściwości emulgujące, żelujące i pieniące [7]. Naukowcy stosują łączone metody mikrokapsułkowania wykorzystujące różnego rodzaju polisacharydy w celu uzyskania lepszego zabezpieczenia rdzenia kapsułki, który stanowią szczepy probiotyczne. W przypadku badań nad enkapsulacją *Limosilactobacillus reuteri* zastosowanie 2 rodzajów polisacharydów oraz oleju słonecznikowego wykazało zwiększoną przeżywalność komórek bakteryjnych podczas chłodniczego przechowywania przez okres 3 miesięcy. Wyniki tego badania jednoznacznie pokazały, że ta technika skutecznie chroni bakterie probiotyczne w podłożu żywnościowym i nadaje się do tworzenia mrożonych produktów probiotycznych, takich jak lody czy niemrożone jogurty [6].

Zyskująca na popularności w przemyśle spożywczym technika wytlaczania (ekstruzja) jest jedną z ciekawszych metod stosowanych do mikrokapsułkowania bakterii fermentacji mlekowej ze względu na liczne modyfikacje jakim można poddawać proces. Ekstruzja z definicji jest techniką, w której wykorzystuje się działanie wysokiego ciśnienia i temperatury, dzięki czemu następuje formowanie mikrokapsulek. W procesie tym można wyeliminować zastosowanie wysokiej temperatury przy wykorzystaniu odpowiednich materiałów powlekających oraz utwardzających. Technika wytlaczania znalazła zastosowanie w enkapsulacji bakterii z rodzaju *Lactocaseibacillus rhamnosus*, które są często stosowane w puddingach, deserach mlecznych, deserach jogurtowych oraz deserach do picia [7]. Najpopularniejszymi materiałami wykorzystywanym do mikrokapsułkowania probiotyków metodą wytlaczania są alginiany, które w formie usieciowanych mikrosfer znalazły zastosowanie w układach do kontrolowanego uwalniania leków [9]. W przypadku mikrokapsułkowania probiotyków wykorzystuje się sieciowanie jonowe poprzez działanie na alginian sodu chlorkiem wapnia. Podczas tego procesu następuje stopniowa wymiana jonów sodu na jony wapnia, co jest stosunkowo łatwe



i zachodzi podczas mieszania wodnego roztworu alginianu sodu z roztworem chlorku wapnia. Zazwyczaj mikrosfery są przygotowywane dwuetapowo. Pierwszy etap zakłada dokładne wymieszanie zawiesiny komórkowej wcześniej namnożonych komórek bakteryjnych z alginianem. W drugim natomiast następuje wkraplanie uzyskanej mieszaniny do roztworu utwardzającego za pomocą strzykawki lub przy użyciu pompy, której program można dostosować do wymagań produktu finalnego [18].

Popularne w ostatnich czasach stają się mleka fermentowane, które podobnie jak inne produkty mleczarskie z dodatkiem szczepów probiotycznych wykazują szereg korzyści zdrowotnych, a ponadto charakteryzują się także lepszą strawnością w porównaniu do świeżego mleka, co sprawia, że są szczególnie polecane osobom z nietolerancją laktozy. Dodatkowo, ich różnorodność smaków oraz konsystencji sprawia, że znalazły szerokie zastosowanie w diecie i kulinariach na całym świecie. Sprawilo to, że stały się one punktem zainteresowania naukowców, którzy postanowili ocenić potencjał mikrokapsułkowania szczepów probiotycznych wykorzystywanych do produkcji mlek fermentowanych. Sama technika - homogenizacja wysokociśnieniowa - jest dość innowacyjna i podobnie jak w przypadku wytłaczania, wykorzystuje wysokie ciśnienie, dzięki czemu możliwe jest rozdrobnienie fazy ciągłej i wytworzenie jednorodnej zawiesiny lub emulsji [12]. Należy wspomnieć, że technika ta pozwala na uzyskanie jednorodnej dystrybucji probiotyków w całym produkcie, co jest kluczowym aspektem dla uzyskania spójnych właściwości sensorycznych i zdrowotnych. Homogenizacja wysokociśnieniowa to również metoda na tyle wszechstronna, że umożliwia użycie różnego rodzaju nośników, dzięki czemu cały proces można dostosować do specyficznych wymagań danego produktu [16].

Mniej zaawansowaną techniką wykorzystywaną do mikrokapsułkowania probiotyków w produktach mleczarskich jest koacerwacja. W procesie tym dąży się do wytworzenia dwóch faz, z czego jedna z nich zawiera substancje aktywne, które będą poddawane procesowi mikrokapsułkowania, a faza druga, to mieszanina biopolimerów - materiałów otoczkujących, takich jak alginiany, chitozan, żelatyna, guma arabska, albumina oraz kazeina [13]. Należy wspomnieć, że ta technika umożliwia stopniowe uwalnianie probiotyków w odpowiednich warunkach jelitowych, co również poprawia efektywność działania całego produktu. Zaletą koacerwacji jest również możliwość wytwarzania różnych form mikrokapsułek jeśli chodzi o ich kształt i rozmiar. Jest to ważne z punktu widzenia konsumenta, jak również producenta, który może dostosować parametry mikrosfer do danego rodzaju produktu. Jest to szczególnie przydatne przy produkcji wszelkiego rodzaju jogurtów, w których duże kapsułki probiotyczne mogłyby negatywnie wpływać na odbiór i ocenę organoleptyczną produktu przez konsumentów [23]. Obecnie wykorzystuje się złożoną koacerwację, która polega na połączeniu dwóch lub więcej polimerów o przeciwnych ładunkach elektrycznych przy danym pH, co prowadzi do separacji faz w układzie, a następnie do wytworzenia kompleksów koacerwatowych. Dotychczas najczęściej wykorzystywanymi układami były te zakładające użycie gumy arabskiej oraz żelatyny, która jest materiałem biodegradowalnym, a ponadto charakteryzuje się doskonałą rozpuszczalnością w wodzie, posiada zdolność do zagęszczania oraz wysoką aktywność sieciowania w związku z obecnością pierwotnych grup aminowych [15].

Najnowocześniejszą techniką stosowaną do mikrokapsułkowania probiotyków w przemyśle spożywczym, wykorzystywaną również w przemyśle mleczarskim jest elektrospinning. Jest to proces bardzo szybki, charakteryzujący się ciągłym przebiegiem. W kontekście probiotyków jest to technika posiadająca wiele zalet, ze względu na to, że nie wiąże się z koniecznością użycia wysokiej temperatury, ciśnienia, jak również rozpuszczalników organicznych. Jest to niezwykle ważne dla żywych komórek bakteryjnych i zachowania przez nie żywotności na odpowiednim poziomie [17]. Ponadto stosując technikę elektrospinningu jesteśmy w stanie kontrolować parametry



całego procesu, w tym rozmiar uzyskiwanych mikrosfer, co jest niezwykle ważną cechą wpływającą na właściwości sensoryczne produktu spożywczego. Procedura mikrokapsułkowania jest bardzo zbliżona do techniki wytłaczania, ze względu na to, że wykorzystuje się do niej pompy strzykawkowe. Podobnie jak w innych technikach, kluczowe jest dobranie odpowiednich materiałów kapsułkujących. W przemyśle mleczarskim wykorzystuje się połączenia m.in. żelatyny i serwatki, dzięki czemu możliwe jest wytworzenie fizycznej bariery ochraniającej żywe komórki bakteryjne. Żelatyna wchodzi w interakcje z serwatką za pomocą wiązań wodorowych powstających pomiędzy grupami aminowymi łańcucha żelatynowego, a grupą hydroksylową laktozy obecnej w serwatce mlecznej. Połączenie tych materiałów jest bardzo korzystne, szczególnie w przemyśle mleczarskim, gdyż wykorzystywane są produkty bezpieczne, niewykazujące toksyczności, jak również tanie, gdyż serwatka jest produktem ubocznym uzyskiwanym przy produkcji serów [22].

Podsumowanie

Mikrokapsułkowanie probiotyków obejmuje stosunkowo nowe techniki, które są stosowane już nie tylko w przemyśle farmaceutycznym do zabezpieczania substancji aktywnych w lekach, ale również w przemyśle spożywczym. Przemysł mleczarski daje możliwości wykorzystania wielu materiałów kapsułkujących, takich jak białka serwatkowe, laktoza, kazeina, które są bezpieczne dla konsumenta. W obecnych czasach konieczna jest praca nad optymalizacją technologicznych i ekonomicznych aspektów tworzenia produktów probiotycznych, co pomoże zachować żywotność mikroorganizmów oraz odpowiednią jakość produktu spożywczego. Z roku na rok, bazy naukowe poszerzają się o nowe doniesienia w związku z opracowaniem nowych metod lub modyfikacji już istniejących, jednak nadal wiele kwestii związanych z enkapsulacją probiotyków jest jeszcze nierozwiązanych. Kluczowe czynniki, które wpływają na wydajność, jakość i bezpieczeństwo mikrokapsułkowania muszą zostać zoptymalizowane w celu ochrony i zwiększenia przeżycia mikroorganizmów. Innowacyjne technologie mikrokapsułkowania są w stanie generować duże ilości produktów spożywczych przy relatywnie niskich kosztach, natomiast nadal potrzebna jest poprawa wielu kwestii, jak np. dobór warunków przeprowadzanych procesów i wykorzystanie nowatorskich materiałów.

Literatura

1. Acosta-Piantini E., Villarán M.C., Martínez Á., Lombraña J.I. (2024). Examining the Effect of Freezing Temperatures on the Survival Rate of Micro-Encapsulated Probiotic *Lactobacillus acidophilus* LA5 Using the Flash Freeze-Drying (FFD) Strategy. *Microorganisms* 12(3), 506.
2. Adhikari K., Mustapha A., Grun I.U., Fernando L. (2000). Viability of microencapsulated bifidobacteria in set yogurt during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science* 83, 1946-1951.
3. Anal A.K., Singh H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science and Technology* 18, 240-251.
4. Brown A.C., Valiere A. (2004). Probiotics and medical nutrition therapy. *Nutrition in Clinical Care* 7, 56-68.
5. Champagne C.P., Møllgaard H. (2008). Production of probiotic cultures and their addition in fermented foods. [w]: *Handbook of Fermented Functional Foods* (pod red. Franworth ER), CRC Press Taylor & Francis Group.
6. Ding W.K., Shah N. (2009). Effect of various encapsulating materials on the stability of probiotic bacteria. *Journal of Food Science* 74, M100-M107.
7. Divya J.B., Varsha K.K., Nampoothiri K.M., Ismail B., Pandey A. (2012). Probiotic fermented foods for health benefits. *Engineering in Life Sciences* 12, 377-390.
8. Dolly P., Anishaparvin A., Joseph G.S., Anandharamakrishnan C. (2011). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422) by spray-freeze-drying method and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Microencapsulation* 28(6), 568-574.
9. Ganje M., Sekhavatizadeh S.S., Teymouri F., Gilkheiri M., Rahmani B. (2024). Encapsulation of *Lactocaseibacillus rhamnosus* by Extrusion Method to Access the Viability in Saffron Milk Dessert and Under Simulated Gastrointestinal Conditions. *Food Science and Nutrition* 12(11), 9714-9726.



10. Guo Q., Li S., Tang J., Chang S., Qiang L., Du G., Yue T., 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.
11. Hill C., Guarner F., Reid G., Gibson G.R., Merenstein D.J., Pot B., Morelli L., Canani R.B., Flint H.J., Salminen S., et al. (2014). Expert consensus document. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 11, 506-514.
12. Khorshidian N., Yousefi M., Mortazavian A.M. (2020). Fermented milk: The most popular probiotic food carrier. *Advances in Food and Nutrition Research* 94, 91-114.
13. Liu Q., Lin C., Yang X., Wang S., Yang Y., Liu Y., Xiong M., Xie Y., Bao Q., Yuan Y. (2023). Improved Viability of Probiotics via Microencapsulation in Whey-Protein-Isolate-Octenyl-Succinic-Anhydride-Starch-Complex Coacervates. *Molecules* 28(15), 5732.
14. Madsen K., Cornish A., Soper P., McKaigney C., Jijon H., Yachimec C., Doyle J., Jewell L., De Simone C. (2001). Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. *Gastroenterology* 121, 580-591.
15. Marques da Silva T., Sonza Pinto V., Ramires Fonseca Soares V., Marotz D., Cichoski A.J., Queiroz Zepka L., Jacob Lopes E., de Bona da Silva C., de Menezes C.R. (2021). Viability of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* by complex coacervation associated with enzymatic crosslinking under application in different fruit juices. *Food Research International* 141, 110190.
16. Mis Solval K.E., Cavender G., Jiang N., Chen J., Singh R. (2020). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* NRRL B-1927 with Skim Milk Processed via Ultra-High-Pressure Homogenization. *Molecules* 25(17), 3863.
17. Serrano-Delgado A., Quintanilla-Carvajal M.X. (2023). Electrospinning Microencapsulation of *Lactobacillus fermentum* K73 Using Gelatin as the Main Component of a Food-Grade Matrix. *Microorganisms* 11(11), 2682.
18. Shu G., He Y., Chen L., Song Y., Meng J., Chen H. (2017). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* by Xanthan-Chitosan and Its Stability in Yoghurt. *Polymers* 9(12), 733.
19. Tan L.L., Mahotra M., Chan S.Y., Loo S.C.J. (2022). In situ alginate crosslinking during spray-drying of lactobacilli probiotics promotes gastrointestinal-targeted delivery. *Carbohydrate Polymers* 286, 119279.
20. Teymoori F., Roshanak S., Bolourian S., Mozafarpour R., Shahidi F. (2024). Microencapsulation of *Lactobacillus reuteri* by Emulsion Technique and Evaluation of Microparticle Properties and Bacterial Viability Under Storage, Processing, and Digestive System Conditions. *Food Science and Nutrition* 12(12), 10393-10404.
21. Wilkins T., Sequoia J. (2017). Probiotics for gastrointestinal conditions: A summary of the evidence. *American Family Physician* 96, 170-178.
22. Wu Y., Zhang S., Yan Z., Li S., Wang Q., Gao Z. (2024). Improvement of Stress Resistance of Microencapsulated *Lactobacillus plantarum* by Emulsion Electrospinning. *Foods* 13(12), 1897.
23. Zhang M., Yin C., Qian J. (2022). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* LN66 and its survival potential under different packaging conditions. *Journal of Microencapsulation* 39(7-8), 601-608.