

## MICROENCAPSULACIÓN DE CEPAS LÁCTICAS

*Madai Bringas-Lantigua\**, *Tatiana Beldarraín* y *Jorge A. Pino*

*Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria, Carretera al Guatao, km 3 ½,*

*La Habana C.P. 19200, Cuba*

*\*E-mail: madai@iiaa.edu.cu*

### RESUMEN

Las cepas lácticas y dentro de ellas, las probióticas son microorganismos vivos capaces de proporcionar efectos beneficiosos en la salud de las personas. La mayoría de los probióticos comerciales se someten a un proceso llamado microencapsulación para garantizar su protección ante entornos agresivos. La microencapsulación tiene muchos desafíos para su aplicación a escala industrial: los retos tecnológicos para producir microcápsulas con las mejores propiedades deben mejorarse, así como el comportamiento del consumidor hacia nuevos productos. En aplicaciones de laboratorio, el método seleccionado es la emulsificación, pero esta técnica presenta desventajas para aplicaciones en alimentos, tales como la presencia de aceite residual en la superficie de la cápsula que es perjudicial en la textura y propiedades sensoriales del producto; dificulta la incorporación de la cápsula en el producto y el aceite residual, surfactante o emulsificante pueden ser tóxico para las células probióticas. Como los beneficios que aportan los probióticos están en la actualidad bien documentados, los requerimientos del consumidor para los alimentos, bebidas y suplementos dietéticos se incrementarán en el futuro.

**Palabras clave:** cepas lácticas, probióticos, microencapsulación.

### ABSTRACT

#### **Microencapsulation of lactic strains**

The lactic strains and among them, the probiotics are live microorganisms able to provide beneficial effects in the health benefits to persons. Most of the commercial probiotics undergoes a process called microencapsulation to guarantee their protection against aggressive environments. Microencapsulation has many challenges for its application to industrial scale: the technological challenges to produce microcapsules with the best properties should be improved, as well as the consumer's behavior toward new products. In laboratory applications, the selected method is the emulsification, but this technique presents disadvantages for applications in foods, such as the presence of residual oil in the surface of the capsule that is harmful in the texture and sensory properties of the product; it hinders the incorporation of the capsule in the product and the residual oil, surfactant or emulsifier can be toxic for the probiotic cells. As the benefits that contribute the probiotics are actually well documented, the consumer's requirements for foods, drinks and dietary supplements will be increased in the future.

**Keywords:** lactic strain, probiotics, microencapsulation.

### INTRODUCCIÓN

Las bacterias ácido lácticas (BAL) están presentes en la alimentación del hombre desde los inicios de la humanidad y es posible encontrarlas en diferentes productos fermentados, entre los que se encuentran el yogurt, los quesos frescos y madurados, en diferentes carnes y sus derivados, y en algunas hortalizas (1, 2). Desde hace mucho tiempo, se ha reconocido la importancia de las BAL como microorganismos benéficos en los alimentos y en la salud, ya que mejoran el tracto gastrointestinal, tanto de los animales como de los se-

---

*\*Madai Bringas Lantigua: Ingeniera Química, CUJAE, 2009. Trabaja en la Planta de Aromas. Principales líneas de trabajo normalización y control de la calidad de productos aromáticos, microencapsulación de aceites esenciales y obtención de productos naturales.*

res humanos, al inhibir el desarrollo de patógenos por la estimulación del sistema inmunológico y la producción de anticuerpos (3).

Debido a que una de las principales tendencias en la tecnología alimentaria moderna es el desarrollo de alimentos con propiedades que promuevan la salud (alimentos funcionales), la incorporación de células probióticas en los productos alimenticios es una herramienta común para satisfacer la demanda del consumidor de alimentos con valor adicional más allá del nutricional (4).

Las células como organismos vivos son muy sensibles a los compuestos del alimento funcional, por lo que la estabilización, mediante medios tecnológicos, durante el procesamiento, conservación y tránsito gastro-intestinal son factores clave para su aplicación efectiva (5). En este sentido, el uso de células microencapsuladas ha ganado un interés razonable en los últimos años, debido a que ofrece una vía para mejorar la supervivencia de estas bacterias sensibles.

Para una implementación exitosa en alimentos, se deben cumplir algunas demandas importantes. En particular, las microcápsulas de cepas lácticas: (a) deben generarse por procesos de encapsulación que no disminuyan el conteo de células vivas o induzcan daño sub-lethal; (b) no deben alterar las propiedades sensoriales del alimento, un hecho que puede causarse por partículas grandes, perceptibles o cambiar el sabor; (c) deben proporcionar protección contra condiciones adversas que puedan ser causadas por el procesamiento del alimento y el entorno en la matriz del alimento; (d) deben estabilizar las células probióticas contra la tensión inducida por las condiciones gástricas altamente ácidas, así como (e) deben ser digerible en el intestino y liberar las células con un alto nivel de actividad. Para cumplir todos estos requisitos, se han utilizado dos posibles estrategias, una es optimizar los tipos de cápsulas existentes, con respecto a las características requeridas y la otra es desarrollar tipos alternativos de microcápsulas, cuya generación requiera el desarrollo de métodos de encapsulación novedosos y el uso de materiales alternativos de grado alimentario (5-17).

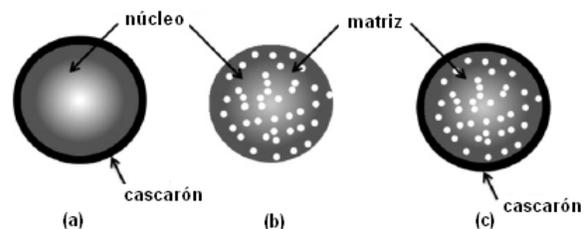
A pesar de ser una temática de actualidad, en Cuba se han realizado pocos trabajos para la búsqueda de tecnologías con vistas a la microencapsulación de bacte-

rias lácticas y cuáles son los materiales que se deben usar. Es por ello que el objetivo del presente trabajo estuvo encaminado a recopilar información actualizada de la tecnología de microencapsulación de cepas lácticas.

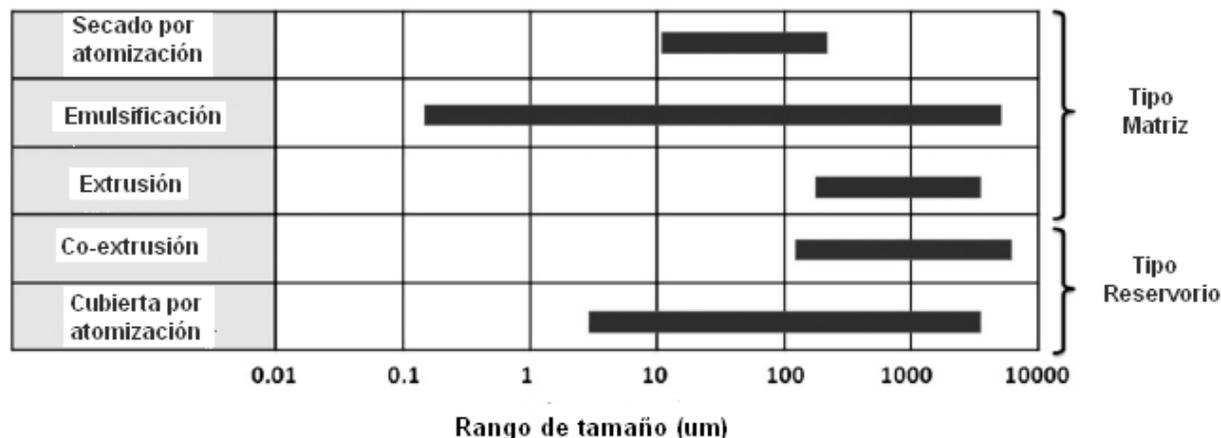
## Encapsulación

La encapsulación es un proceso físico-químico o mecánico para atrapar una sustancia en un material con el fin de producir partículas con diámetros de unos pocos nanómetros a unos pocos milímetros (18). La encapsulación de componentes bioactivos puede ser usada en muchas aplicaciones de la industria alimentaria, tales como controlar reacciones oxidativas, atrapar colorantes y saborizantes, garantizar el desprendimiento sostenido y controlado de sustancias, extender la vida de anaquel, entre otras. La encapsulación de probióticos es usada para proteger las células contra un entorno adverso más que para un desprendimiento controlado (19, 20). La sustancia encapsulada es el núcleo, que es dispersada en una matriz denominada cápsula. Este material soporte debe ser de grado alimentario si va a ser usado en la industria alimentaria y debe ser capaz de formar una barrera para proteger a la sustancia encapsulada.

Existen diferentes tipos de encapsulados: tipo reservorio y tipo matriz (Fig. 1). El tipo reservorio posee un cascarón alrededor del núcleo y es por esto que también es llamado cápsula. En el tipo matriz, el agente activo es dispersado sobre el material soporte y puede ser encontrado en la superficie. Una combinación de estos dos tipos genera un tercer tipo de cápsula, en el cual la matriz donde está el agente activo es recubierta por un cascarón (20). La encapsulación produce una estructura y permite crear una nueva función o siste-



**Fig.1. Representación esquemática de los sistemas de encapsulación.**  
**(a) tipo reservorio, (b) tipo matriz, (c) tipo matriz recubierta.**



**Fig. 2. Tecnologías de encapsulación probióticas: rango de tamaño provisto por cada técnica.**

mas innovadores para productos prebióticos (21). La tecnología de encapsulación de células probióticas se desarrolló a partir de la tecnología de cultivo de células inmovilizadas, usada en la industria biotecnológica.

Los probióticos presentan dos tipos de problemas cuando se considera la encapsulación: su tamaño (diámetros entre 1 y 5 µm), lo que inmediatamente excluye a la nanotecnología y el hecho de que deben mantenerse vivos. Este último aspecto ha sido crucial en la selección de la tecnología de microencapsulación apropiada (9,20). Diferentes tecnologías pueden ser aplicadas para la encapsulación de probióticos y cada una de ellas provee microcápsulas con diferentes características en rango de tamaño y tipo de cápsula (Fig. 2). Por ejemplo, la emulsificación permite la producción de un rango amplio de tamaño de partícula desde 0,2 hasta 5 000 µm, mientras que la extrusión produce un rango de tamaño más bajo, pero no se obtienen partículas por debajo de 300 µm.

La habilidad de los microorganismos de sobrevivir y multiplicarse en el hospedero influencia fuertemente sus beneficios probióticos. Los estudios han reportado una baja viabilidad de probióticos en productos lácteos tales como yogur y postres helados debido a la concentración de ácido láctico y ácido acético, bajo pH, la presencia de peróxido de hidrógeno y el alto contenido de oxígeno (4). La encapsulación ha sido investigada en productos lácteos y en el tracto gastrointestinal (22,23). La viabilidad de las células probióticas encapsuladas depende de las propiedades físico-químicas

de las cápsulas. De hecho, el tipo y concentración del material soporte, tamaño de partícula, número de células inicial y cepa de bacteria son algunos parámetros que deben considerarse (18). En el caso de la encapsulación de probióticos, el objetivo no es solo proteger las células contra el entorno adverso, sino también permitir su liberación en un estado viable y metabólicamente activo en el intestino (23). Las micropartículas obtenidas han de ser insolubles en agua para mantener su integridad en la matriz del alimento y en la parte alta del tracto gastrointestinal y finalmente, las propiedades de la partícula deben permitir la liberación progresiva de las células durante la fase intestinal (23, 24).

Los materiales más comúnmente usados para encapsular células probióticas son: alginato (22,25,26), gomas gelana y xantana (18,27,28), -carragenato (18,22), oftalato acetato de celulosa (26, 29), quitosana (26,30), almidón (8,26,31,32), gelatina (8, 22) y proteínas de la leche (33, 34).

La tecnología de encapsulación se realiza usualmente en tres etapas (Fig. 3). La primera consiste en incorporar el componente bioactivo en una matriz que puede ser líquida o sólida. En caso de que el núcleo sea líquido, la incorporación será una disolución o una dispersión en la matriz, mientras que si el núcleo es sólido la incorporación será una aglomeración o una adsorción. Para la segunda etapa, la matriz líquida es dispersada mientras que una solución es pulverizada en la matriz sólida. La última etapa consiste en la estabilización por

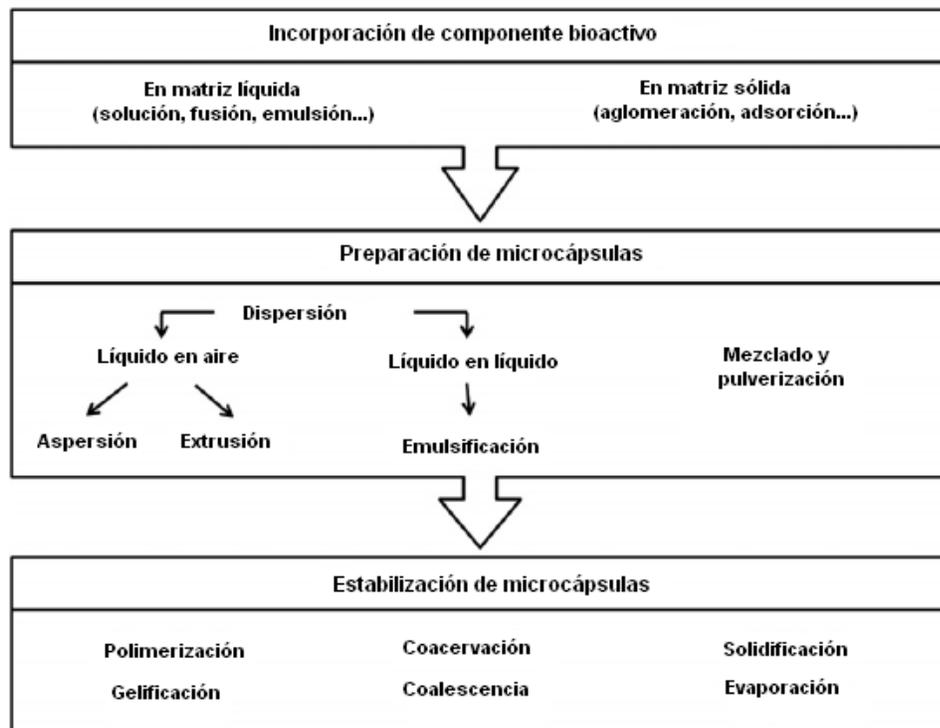


Fig. 3. Plan general para producir microcápsulas.

un agente químico (polimerización), un proceso físico-químico (gelificación) o uno físico (evaporación, solidificación, coalescencia) (21).

Más adelante, las técnicas usadas comúnmente para encapsular células vivas de probióticos serán descritas; sin embargo, otras técnicas también pueden producir micropartículas, entre las que pueden mencionarse liposoma, coacervación, co-cristalización e inclusión molecular, pero su uso es limitado debido a sus costos o al tamaño grande de las bacterias (19). La comparación de los costos de manufactura de los diferentes métodos de secado con respecto a la liofilización (100 %) es la siguiente: secado a vacío (51,6 %), secado en tambor (24,1 %), secado por atomización (20 %), cama fluidizada (17,9 %) y secado con aire (17,9 %) (35). Se han reportado muchos intentos para el desarrollo de procesos de secado alternativos a menores costos (36-41).

### Métodos por dispersión

#### Atomización

Dentro de esta tecnología existen dos variantes: (i) secado por atomización y (ii) liofilización por atomización.

#### (i) Secado por atomización

Esta tecnología es considerada un método de preservación adecuado para el ácido láctico y cultivos probióticos (42). La etapa inicial en el secado por atomización es la selección de un material soporte o agente encapsulante adecuado. El soporte ideal debe tener buenas propiedades emulsificantes, ser un buen formador de películas, poseer baja viscosidad con altos valores de sólidos (menos de 300 mPaos con más de 35 % de sólidos), tener baja higroscopicidad, bajo costo, no aportar aroma y sabor, estabilidad en la oferta comercial y ofrecer una adecuada protección al agente activo microencapsulado (43). Los soportes más

comúnmente usados son goma arábica y almidones, debido a que tienden a formar micropartículas esféricas durante el proceso de secado (12,13,16,18).

Durante el secado la solución es presurizada y atomizada para producir una niebla dentro de la cámara de secado (Fig. 4). El gas caliente (aire o nitrógeno) es soplado también dentro de la cámara. Este gas caliente permite la evaporación del disolvente y las cápsulas son transportadas mediante un ciclón hacia un colector. Muchos factores están involucrados en la viabilidad de los cultivos durante el secado por atomización (35,38,44-48), entre los que cabe señalar: parámetros del proceso (temperaturas del aire de entrada y de salida, tiempo de secado y presión en la boquilla), composición del material a secar (soporte y concentración), parámetros biológicos (especie, medio de cultivo, fase de crecimiento y tolerancia a la tensión intrínseca) y pre-tratamientos (respuesta a la tensión y sustancias protectoras) (16).

Las temperaturas del aire controlan el contenido de humedad del producto en polvo. En la medida que se incrementa la temperatura del aire de entrada y disminuya la diferencia de temperatura del aire en el secador (Tentrada-salida), disminuirá la humedad en el producto. Esto es debido a la humedad relativa del aire de salida en el secador. Al incrementar la temperatura del aire (a un Tentrada-salida fijo), tomará una mayor humedad y por

consiguiente el producto quedará con menos humedad. El Tentrada-salida (a una temperatura de entrada del aire fija) actúa de forma similar. Al disminuir Tentrada-salida significa que se está alimentando menos emulsión, por tanto, habrá menor humedad, disminuirá la humedad relativa del aire y por consiguiente, se obtendrá un producto más seco. La mayoría de los productos secados por atomización contienen de 1 a 6 % de humedad (43). Una disminución de la temperatura del aire de salida incrementa la viabilidad del probiótico (39), pero la calidad del producto microencapsulado también es influenciada por el contenido de humedad que debe ser alrededor de 3,5 % (49).

Las ventajas de esta tecnología son la rapidez y el costo relativamente bajo. Esta técnica es altamente reproducible y puede ser utilizada a escala industrial. Una desventaja de este proceso es que la técnica tiene un campo pequeño de aplicación, pero el principal problema es el uso de altas temperaturas que no es compatible con la supervivencia de las bacterias. Con el fin de mejorar esta supervivencia, se pueden adicionar protectores al medio antes del secado. Por ejemplo, el almidón granulado mejora la viabilidad del cultivo durante el secado y conservación, la fibra soluble incrementa la viabilidad del probiótico durante la conservación y la trehalosa es un termoprotector. Además, las cápsulas formadas pueden ser recubiertas por una capa adicio-

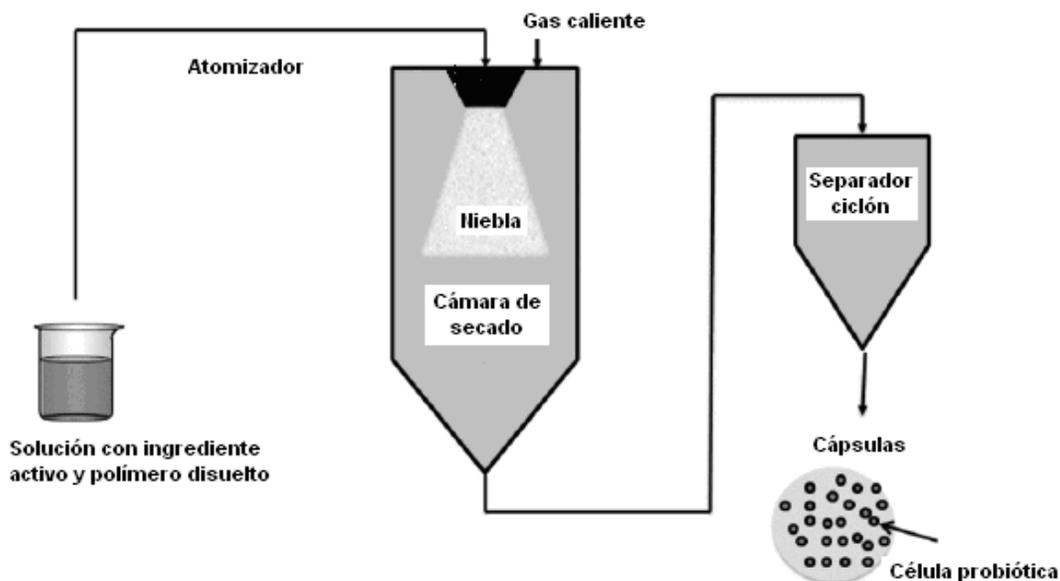


Fig. 4. Esquema del procedimiento mediante secado por atomización.

nal con el fin de la protección contra el entorno ácido del estómago o reducir el efecto nocivo de las sales biliares (50).

Existe una variedad de protectores que son adicionados al medio de secado antes del proceso, tales como, leche en polvo descremada, proteína de suero, trehalosa, glicerina, betaina, adonitol, sacarosa, glucosa, lactosa y polímeros como dextrana y polietilenglicol (7,11,51). Crioprotectores compatibles pueden adicionarse al medio antes de la fermentación para ayudar a los probióticos en la adaptación al medio (52).

El incremento de la viabilidad celular y las propiedades probióticas durante la conservación fue estudiado mediante el secado por atomización en una cepa de *Lactobacillus acidophilus* (42). Además, se ha reportado que no existió diferencia en la viabilidad entre productos obtenidos mediante secado por atomización y por liofilización (53). Otros autores han demostrado que el secado por atomización de *Bifidobacteria* a una temperatura de entrada del aire de 80 °C y una temperatura de salida del aire de 48 °C, seguido de un secado a vacío a baja temperatura (45 °C) puede ser utilizado para obtener un microencapsulado alimenticio que contiene esta bacteria viable con una baja humedad segura y actividad de agua para la conservación (54). El secado en dos etapas es una alternativa tres veces más económica que la liofilización.

### **(ii) Liofilización por atomización**

Este método combina las etapas de proceso que son comunes a la liofilización y secado por atomización. Las células probióticas están en una solución que es atomizada dentro de una fase de vapor frío de un líquido criogénico tal como el nitrógeno líquido. Esta etapa genera una dispersión de gotas congeladas, las que son secadas en un liofilizador (12,13,50,55). La liofilización por atomización posee varias ventajas, tales como, produce un tamaño de partículas controlado y área superficial específica más grande que las cápsulas obtenidas por secado por atomización. El proceso tiene como desventajas el alto consumo energético, largo tiempo de operación y el costo es de 30 a 50 veces más alto que en el secado por atomización (20). Las cápsulas son cubiertas por una capa adicional para darle protección contra las condiciones ambientales adversas (50).

## **Emulsificación**

Dentro de este procedimiento existen tres variantes: (i) emulsificación y gelificación iónica, (ii) emulsificación y gelificación enzimática, y (iii) emulsificación y polimerización interfásica.

### **(i) Emulsificación y gelificación iónica**

La emulsificación es una técnica química para encapsular células vivas probióticas que emplea hidrocoloides (alginato, carragenato y peptina) como agentes encapsulantes. El principio de esta técnica está basado en la relación entre las fases discontinua y continua. Un pequeño volumen de la suspensión célula-polímero (fase discontinua) se adiciona a un volumen mayor del aceite vegetal (fase continua). La mezcla es homogenizada para formar una emulsión de agua en aceite. Una vez formada la emulsión, el polímero hidrosoluble debe ser insolubilizado para formar una partícula de gel fina dentro de la fase de aceite. Para la encapsulación en una emulsión, se requiere de un emulsificador, un surfactante y un agente solidificador (cloruro de calcio) (12,13,18,56).

La técnica de emulsificación es simple de escalar y produce un alto porcentaje de supervivencia (18). Las cápsulas obtenidas poseen un diámetro pequeño, pero la principal desventaja de este método es que produce un amplio intervalo de tamaño y forma. El procedimiento de emulsificación permite la producción de un tamaño de microcápsulas controlado mediante la variación de la velocidad de agitación y de la relación agua/aceite (12). Las perlas de gel pueden ser introducidas dentro de una solución de un segundo polímero para crear una capa recubridora que permita una protección adicional de la célula o mejore las propiedades organolépticas (12).

### **(ii) Emulsificación y gelificación enzimática**

Un problema con la encapsulación química es que el uso de soportes como el alginato, -carragenato, goma gelana o xantana no están permitidos en algunos países (23). La solución puede ser el uso de proteínas de leche en las que los probióticos serán encapsulados mediante una gelificación inducida enzimática (33). Las proteínas de leche poseen buenas propiedades gelificantes y son vehículos naturales para prebióticos (34).

### **(iii) Emulsificación y polimerización interfásial**

Esta es una técnica alternativa que se realiza en una sola etapa. La misma requiere de la formación de una emulsión en la que, la fase discontinua contiene una suspensión acuosa con las células probióticas y una fase continua que es un disolvente orgánico. Para iniciar la reacción de polimerización, se adiciona un agente biocompatible que sea soluble en la fase continua. Las gotas obtenidas que contienen las células probióticas son recubiertas en una membrana fina y fuerte (57). La polimerización interfásial es empleada para encapsular microorganismos con el fin de mejorar su productividad en la fermentación (58).

### **Método de extrusión**

La extrusión es un proceso continuo que involucra el trabajo y la compresión sobre un material para formar una masa semi-sólida, que en determinadas condiciones controladas es forzada a fluir a través de una abertura restringida. En este proceso se combinan una serie de operaciones unitarias que incluyen mezclado, amasado, cizallamiento, calentamiento, enfriamiento y conformación (59). Esta técnica puede ser empleada para encapsular probióticos con el uso de hidrocoloides (alginato y carragenato) como materiales soportes. El principio de la técnica se basa en que las células probióticas son adicionadas a la solución hidrocoloidal y goteadas a través de una aguja de jeringuilla o una máquina de aspersión por boquilla en forma de gotas que caen libremente en el seno de una solución endurecedora tal como cloruro de calcio (12,13,18,22). Este es un procedimiento simple y económico que no causa daño a las células probióticas y produce una alta viabilidad (60). La tecnología no utiliza disolventes nocivos y puede ser en condiciones aeróbicas y anaeróbicas. Su principal desventaja es que es difícil de escalar debido a la formación lenta de las micropartículas.

### **Encapsulación por revestimiento y aglomeración**

En el revestimiento por aspersión, el núcleo necesita estar en estado sólido y es mantenido en movimiento en un recipiente diseñado especialmente (9, 13). Un material líquido recubridor es asperjado sobre el núcleo y se solidifica para formar una capa en la superficie. La ventaja de esta técnica es que es fácil de esca-

lar, lo que justifica que es la más usada para encapsular probióticos destinados a nutracéuticos. El revestimiento por encapsulación puede adaptarse para producir revestimientos multicapas. Sin embargo, es importante señalar que es una tecnología que es difícil de dominar. Existen diferentes compañías que han patentado procesos, para encapsular probióticos, basados en esta tecnología (15).

### **Probióticos encapsulados en productos alimenticios**

La microencapsulación es importante para la supervivencia de probióticos durante la conservación y su paso a través del tracto digestivo. La adición de microcápsulas no debe afectar las propiedades sensoriales de los productos alimenticios (9). Para evitar un impacto sensorial negativo de las microcápsulas en el alimento, es aconsejable obtener un tamaño 100 m (61).

La mayoría de los alimentos que contienen microorganismos probióticos requieren de refrigeración debido a que las bacterias son termosensibles. Es por ello que el sector lácteo tiene una mayor ventaja para su incorporación en productos alimenticios. Así, su uso en yogur (26,52,62-66), queso (67-69) y postres helados (70-72) es común, pero por la intolerancia a la lactosa de algunas personas se han realizado esfuerzos para introducirlos en otros alimentos, tales como mayonesa (73), bebidas deshidratadas (74), jugos de frutas (75-78), chocolate (79, 80), embutidos (81, 82), entre otros (15, 83).

### **CONCLUSIONES**

La microencapsulación ha sido explorada como una vía de mejorar la resistencia de probióticos en el tracto gastrointestinal y para prolongar la vida de anaquel de las cepas bacterianas en los productos alimenticios. Esta vía, que contempla el empleo de biopolímeros naturales tales como alginato, -carragenato y goma gelana, ha mostrado resultados prometedores a escala de laboratorio, pero ha presentado dificultades en su escalado. Así por ejemplo, en los métodos de extrusión las capacidades de producción son bajas y los tamaños de partículas son grandes; mientras que en el método de emulsificación, se obtienen dispersiones de gran tamaño.

La rama láctea tiene una mayor ventaja para la producción de alimentos probióticos, no obstante, las investigaciones se enfocan actualmente hacia la expansión de otras categorías de alimentos. La microencapsulación tiene muchos desafíos para su aplicación a escala industrial. Por una parte, los desafíos tecnológicos para producir microcápsulas con las mejores propiedades debe ser mejorado y por otra, el comportamiento del consumidor hacia nuevos productos deber tomarse en cuenta.

Un importante reto para la encapsulación probiótica es reducir el tamaño de partícula debido a que esto afecta negativamente las propiedades texturales y sensoria-

les del producto. En aplicaciones de laboratorio, el método seleccionado es la emulsificación, pero esta técnica presenta desventajas para aplicaciones en alimentos, tales como la presencia de aceite residual en la superficie de la cápsula que es perjudicial en la textura y propiedades organolépticas del producto; dificulta la incorporación de la cápsula en el producto y el aceite residual, surfactante o emulsificante pueden ser tóxico para las células probióticas. Como los beneficios que aportan los probióticos están en la actualidad bien documentados, los requerimientos del consumidor para los alimentos, bebidas y suplementos dietéticos se incrementarán en el futuro.

## REFERENCIAS

1. Carrasco, M.H. *Aus. J. Dairy Tech.* 57 (1): 15-19, 2002.
2. Mateos, J. Aspectos Básicos de la Tecnología de las Leches Fermentadas. En A.M.R.M. Ortega (Ed.), *Alimentos Funcionales. Probióticos.* Ed.Médica Panamericana, 2002.
3. Olaoye, O. y Onilude, A. *Adv. Nat. Appl. Sci.* 2: 44-52, 2008.
4. León, M. Empleo de cultivos probióticos para la conservación de un producto conformado a base de carne de cerdo. Tesis entregada en opción al título de Licenciado en Ciencias Alimentarias. Instituto de farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana, 76 p., 2012
5. Kuang, S.S.; Oliveira, J.C. y Crean, A.M. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 50 (10): 951-968, 2011.
6. Desai, K.G.H. y Park, H.J. *Drying Technol.* 23 (7): 1361-1394, 2005.
7. Morgan, C.A.; Herman, N.; White, P.A. y Vesey, G. J. *Microbiol. Methods* 66: 183-193, 2006.
8. Anal, A.K. y Singh, H. *Trends Food Sci. Technol.* 18: 240-251, 2007.
9. Champagne, C.P. y Fustier, P. *Curr. Opin. Biotechnol.* 18: 184-190, 2007.
10. Mortazavian, A.; Razavi, S.H.; Ehsani, M.R. y Sohrabvandi, S. *Iranian J. Biotechnol.* 5 (1): 1-18, 2007.
11. Meng, X.C.; Stanton, C.; Fitzgerald, G.F.; Daly, C. y Ross, R.P. *Food Chem.* 106: 1406-1416, 2008.
12. Kailasapathy, K. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 4 (6), 2009.
13. De Vos, P.; Faas, M.M.; Spasojevic, M. y Sikkema, J. *Int. Dairy J.* 20 (4): 292-302, 2010.
14. Borgogna, M.; Bellich, B.; Zorzini, L.; Lapasin, R. y Cesàro, A. *Food Chem.* 122: 416-423, 2010.
15. Burgain, J.; Gaiani, C.; Linder, M. y Scher, J. J. *Food Eng.* 104: 467-483, 2011.
16. Peighambaroust, S.H.; Tafti, A.G. y Hesari, J. *Trends Food Sci. Technol.* 22: 215-224, 2011.
17. Rokka, S. y Rantamäki, P. *European Food Res. & Technol.* 231 (1): 1-12, 2011.
18. Chen, M.J. y Chen, K.N. Applications of probiotic encapsulation in dairy products. En: Lakkis, Jamileh M. (Ed.), *Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems.* Wiley-Blackwell, USA, pp. 83-107, 2007.
19. Champagne, C.P. y Kailasapathy, K. Encapsulation of probiotics. En: Garti, N. (Ed.), *Delivery and Controlled Release of Bioactives in Foods and Nutraceuticals.* Woodhead publishing Ltd., Cambridge, UK, pp. 344-369, 2008.
20. Zuidam, N.J. y Shimoni, E. Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to take them. En: Zuidam, N.J., Nedovic, V. (Eds.), *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing.* Springer-Verlag, New York Inc., pp. 3-29, 2009.
21. Poncelet, D.; Dreffier, C.; Subra, P.P. y Vandamme, T.F. Introduction aux techniques de microencapsulation. En: Vandamme, T., Poncelet, D., Subra-Paternault, P. (Eds.), *Microencapsulation: des Sciences aux Technologies.* Ed. Tec & Doc, Paris, pp. 3-7, 2007.
22. Krasaekoopt, W.; Bhandari, B. y Deeth, H. *Int. Dairy J.* 13 (1): 3-13, 2003.
23. Picot, A. y Lacroix, C. *Intern. Dairy J.* 14 (6): 505-515, 2004.

24. Ding, W.K. y Shah, N.P. *J. Food Sci.* 72 (9): 446-450, 2007.
25. Gouin, S. *Trends in Food Sci. Technol.* 15 (7-8): 330-347, 2004.
26. Mortazavian, A.M.; Azizi, A.; Ehsani, M.R.; Razavi, S.H.; Mousavi, S.M.; Sohrabvandi, S. y Reinheimer, J.A. *Milchwissenschaft* 63 (4): 427-429, 2008.
27. Sultana, K.; Godward, G.; Reynolds, N.; Arumugaswamy, R. y Peiris, P. *J. Food Microbiol.* 62 (1-2): 47-55, 2000.
28. Sun, W. y Griffiths, M.W. *Int. J. Food Microbiol.* 61 (1): 17-25, 2000.
29. Fávoro-Trindade, C.S. y Grosso, C.R.F. *J. Microencapsulation* 19 (4): 485-494, 2002.
30. Chávarri, M.; Marañón, I.; Ares, R.; Ibáñez, F.C.; Marzo, F. y Villarán M.D.C. *Int. J. Food Microbiol.* 142 (1-2): 185-189, 2010.
31. Crittenden, R.; Laitila, A.; Forsell, P.; Matto, J.; Saarela, M.; Mattila, S.T. y Myllarinen, P. *App. Environm. Microbiol.* 67 (8): 3469-3475, 2001.
32. Sajilata, M.G.; Singhal, R.S. y Kulkarni, P.R. *Rev. Food Sci. Food Safety* 5 (1): 1-17, 2006.
33. Heidebach, T.; Först, P. y Kulozik, U. *Food Hydrocolloids* 23 (7): 1670-1677, 2009.
34. Livney Y.D. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 15 (1-2): 73-83, 2010.
35. Santivarangkna, C.; Kulozik, U. y Foerst P. *Biotechnol. Progress* 23: 302-315, 2007.
36. Cardona, T.D.; Driscoll, R.H.; Paterson, J.L.; Szrednicki, G.S. Y Kim, W.S. *Drying Technol.* 20: 1611-1632, 2002.
37. Efiuvwevwere, B.J.O.; Gorris, L.G.M.; Smid, E.J. y Kets E.P.W. *Applied Microbiol. Biotechnol.* 51:100-104, 1999.
38. Fu W.Y. y Etzel M.R. *J. Food Sci.* 60: 195-200, 1995.
39. Gardiner, G.E.; O'Sullivan, E.; Kelly, J.; Auty, M.A.E.; Fitzgerald, G.F. y Collins, J.K. *Applied Environm. Microbiol.* 66: 2605-2612, 2000.
40. King, V.A.E. y Su J.T. *Process Biochem.* 28: 47-52, 1994.
41. Millqvist-Fureby, A.; Malmsten, M. y Bergenstahl, B. *J. Col. Interface Sci.* 225: 54-61, 2000.
42. Riveros, B.; Ferrer, J. y Borquez, R. *Drying Technol.* 27 (1): 123-132, 2009.
43. Reineccius, G.A. *Flavor Chemistry and Technology.* CRC Press. Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL. 2006.
44. Johnson, J.A.C. y Etzel, M.R. *J. Dairy Sci.* 78: 761-768, 1995.
45. Desmond, C.; Stanton, C.; Fitzgerald, G.F.; Collins, K. y Ross, P.R. *Int. Dairy J.* 11: 801-808, 2001.
46. Lian, W.C.; Hsiao, H.C. y Chou C.C. *Int. J. Food Microbiol.* 86: 293-301, 2003.
47. Boza, Y.; Barbin, D., y Scamparini, A.R.P. *Process Biochem.* 39: 1275-1284, 2004.
48. Corcoran, B.M.; Ross, R.P.; Fitzgerald, G.F. y Stanton, C. *J. Applied Microbiol.* 96: 1024-1039, 2004.
49. Zayed, G. y Roos, Y.H. *Process Biochem.* 39: 1081-1086, 2004.
50. Semyonov, D.; Ramon, O.; Kaplun, Z.; Levin, B.L.; Gurevich, N. y Shimoni, E. *Food Res. Int.* 43 (1): 193-202, 2010.
51. Hubalek, Z. *Cryobiol.* 46: 205-229, 2003.
52. Capela, P.; Hay, T.K.C. y Shah, N.P. *Food Res. Int.* 39: 203-211, 2006.
53. Teixeira, P.; Castro, H. y Kirby, R. *J. Applied Bacteriol.* 78: 456-462, 1995.
54. Chavez, B. y Ledebauer, A. *Drying Technol.* 25 (7): 1193-1201, 2006.
55. Wang, Z.L.; Finlay, W.H.; Peppler, M.S. y Sweeney L.G. *Powder Technol.* 170 (1): 45-52, 2006.
56. Heidebach, T.; Först, P. y Kulozik, U. *J. Food Eng.* 98: 309-316, 2010.
57. Kailasapathy, K. *Curr. Iss. Intestinal Microbiol.* 3 (2): 39-48, 2002.
58. Yanez, J.; Ramos, E.G. y Salazar, J.A. *European Food Res. Technol.* 226 (5): 957-966, 2008.
59. Hui, Y.H. *Encyclopedia of Food Science and Technology.* Vol. 2, Wiley-Interscience Publication, New York, pp. 800-801, 1992.
60. Krasaekoopt, W.; Bhandari, B. y Deeth, H. *Int. Dairy J.* 13 (1): 3-13, 2003.
61. Truelstrup-Hansen L.; Allan-Wojotas, P.M.; Jin, Y.L. y Paulson, A.T. *Food Microbiol.* 19 (1): 35-45, 2002.
62. Kailasapathy, K. *Food Sci. Technol.* 39 (10): 1221-1227, 2006.
63. Su, L.C. ; Lin, C.W. y Chen, M.J. *J. Dairy Technol.* 60 (1): 49-54, 2007.
64. Urbanska, A.M.; Bhatena, J.; Prakash, S. *Can. J. Physiol. Pharm.* 85 (9): 884-893, 2007.
65. Kailasapathy, K.; Harmstorf, I. y Phillips, M. *LWT - Food Sci. Technol.* 41 (7): 1317-1322, 2008.
66. Sandoval-Castilla, O.; Lobato-Calleros, C.; García-Galindo, H.S.; Álvarez-Ramírez, J. y Vernon-Carter, E.J. *Food Res. Int.* 43 (1): 111-117, 2010.
67. Gardiner, G.E.; Bouchier, P.; O' Sullivan, E.; Kelly, J.; Collins, J.K.; Fitzgerald, G.; Ross, R.P. y Stanton, C. *Int. Dairy J.* 12 (9): 749-756, 2002.
68. Kailasapathy, K. y Masondole, L. *Australian J. Dairy Technol.* 60 (3): 252-258, 2005.
69. Özer, B.; Uzun, Y.S. y Kirmaci, H.A. *Int. J. Dairy Technol.* 61 (3): 237-244, 2008.
70. Sheu, T.Y. y Marshall R.T. *J. Food Sci.* 58: 557-561, 1993.

71. Kailasapathy, K. y Sultana K. *Australian J. Dairy Technol.* 58 (3): 223-227, 2003.
72. Homayouni, A.; Azizi, A.; Ehsani, M.R.; Yarmand, M.S. y Razavi, S.H. *Food Chem.* 111: 50-55, 2008.
73. Khalil, A.H. y Mansour, E.H. *J. Food Sci.* 63 (4): 702-705, 1998.
74. O'Riordan, K.I.; Andrews, D.; Buckle, K. y Conway, P. *J. Applied Microbiol.* 91 (6): 1059-1066, 2001.
75. Ainsley, R.A.; Champagne, C.P.; Gardner, N.; Fustier, P. y Vuilleumard, J.C. *J. Food Sci.* 72 (1): 31-37, 2007.
76. King V.A.-E.; Huang, H. Y. y Tsen, J.H. *Mid-Taiwan J. Med.* 12 (1): 1-7, 2007.
77. Ding, W.K. y Shah, N.P. *Int. Food Res. J.* 15 (2): 219-232, 2008.
78. Tsen, J.H.; Lin, Y.P.; Huang, H. Y. y King, V.A.-E. *J. Food Processing and Preservation* 32 (2): 178-189, 2008.
79. Maillard, M. y Landuyt, A. *Agro Food Industry Hi-Tec* 19 (3 Suppl.): 13-15, 2008.
80. Possemiers, S.; Marzorati, M.; Verstraete, W. y Van de Wiele, T. *Int. J. Food Microbiol.* 141 (1-2): 97-103, 2010.
81. Muthukumarasamy, P. y Holley, R.P. *Int. J. Food Microbiol.* 111 (2): 164-169, 2006.
82. Muthukumarasamy, P. y Holley, R.A. *Food Microbiol.* 24 (1): 82-88, 2007.
83. Ranadheera, R.D.C.S.; Baines, S.K. y Adams, M.C. *Food Res. Int.* 43 (1): 1-7, 2010.