



Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 3 (1): 130-151. Enero-Junio, 2012  
<http://www.rvcta.org>  
ISSN: 2218-4384 (versión en línea)  
© Asociación RVCTA, 2012. RIF: J-29910863-4. Depósito Legal: ppi201002CA3536.

Revisión

## Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones

Microencapsulation in alginate for food. Technologies and applications

Bryshila **Lupo Pasin**<sup>1\*</sup>, Carmen **González Azón**<sup>2</sup>, Alicia **Maestro Garriga**<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Centrocidental Lisandro Alvarado, Núcleo Obelisco, Programa de Ingeniería Agroindustrial. Av. Florencio Jiménez, Barquisimeto, Lara, Venezuela.

<sup>2</sup>Universitat de Barcelona, Facultat de Química. Calle Martí i Franquès, 1-11, 08028, Barcelona, Cataluña, España.

\*Autora para correspondencia: [bryshilalupo@ucla.edu.ve](mailto:bryshilalupo@ucla.edu.ve)

Aceptado 03-Julio-2012

### Resumen

El objetivo de este trabajo fue realizar una revisión de las técnicas de microencapsulación con alginato para aplicaciones en alimentos. El alginato ha sido uno de los polímeros más empleado en la microencapsulación, este forma una matriz altamente versátil, biocompatible y no tóxica para la protección de componentes activos, células o microorganismos sensibles al calor, pH, oxígeno y luz, entre otros factores, a los que son expuestos los alimentos durante el procesamiento y almacenaje. El proceso de microencapsulación con alginato se lleva a cabo a través de dos mecanismos de gelificación iónica: la gelificación externa y la gelificación interna, dependiendo de si el calcio se suministra desde fuera de las cápsulas o en el interior de las mismas. Para la preparación de microcápsulas de alginato de calcio con aplicaciones alimentarias, se tienen las técnicas por extrusión, en emulsión y secado por atomización. Aunque el secado por atomización ha sido para la industria un proceso práctico y económico, su aplicación con alginato se ha visto limitada por la viscosidad y velocidad de gelificación. Por el contrario, la técnica por extrusión ha sido la técnica tradicional empleada en las últimas décadas, debido a la uniformidad de las microcápsulas en su forma y tamaño. En este sentido, la técnica en emulsión es la aplicada más recientemente, la cual ha demostrado ser sencilla y de producción a gran escala. En la actualidad se desarrollan nuevas tecnologías a fin de disminuir el tamaño de las microcápsulas para así ampliar sus usos en la industria. Entre las últimas tendencias de

microencapsulación, se estudian sistemas mixtos de matrices poliméricas con la finalidad de obtener propiedades físico-químicas combinadas, permitiendo hacer el proceso de encapsulación más eficiente tanto para la protección como para la liberación controlada del principio activo.

**Palabras claves:** alginato, emulsión, extrusión, gelificación, microencapsulación y secado por atomización.

### Abstract

The objective of the work was to review the alginate microencapsulation techniques for food applications. Alginate has been one of the most widely used polymers in microencapsulation, the matrix forms a highly versatile, biocompatible and nontoxic for the protection of active components, cells or microorganisms sensitive to heat, pH, oxygen, light and others factors which are exposed to foods during processing and storage. The gelation process of calcium alginate for the preparation of the microcapsules is possible by two mechanisms of ionic gelation: external and internal gelation depending on whether the calcium is supplied from outside the capsule or within the same. For preparing calcium alginate microcapsules into food applications, there are techniques such as: extrusion, emulsion and spray drying. Although spray drying has been a simple and economic process for industry, the application with alginate has been limited by the viscosity of solution and the speed of gelation. Moreover, the technique by extrusion has been traditionally used due of the homogeneity of the microcapsules in shape and sizes. While the emulsion technique has been used more recently, proving to be easy to apply and mass production. Nowadays new technologies are developed to decrease the size of the microcapsules thus extending its application in industry. Among the latest trends in microencapsulation, new systems are studied by using mixed polymers matrices in order to obtain combined physical-chemical properties, that allowing microencapsulation process being more efficient for the protection and controlled release of active ingredient.

**Keywords:** alginate, emulsion, extrusion, gelation, microencapsulation and spray drying.

## INTRODUCCIÓN

El alginato ha sido usado debido a sus múltiples ventajas tanto para el consumo humano como versatilidad en aplicaciones industriales. Tales aspectos han sido compilados en la literatura por Imeson (2010) resaltando el efecto prebiótico de los alginatos de bajo peso molecular, los beneficios de su ingesta como fibra diaria para la reducción de los niveles de azúcar y colesterol en sangre, así como, la capacidad para prolongar la vida útil en productos. Las nuevas tendencias tecnológicas se han enfocado en la producción

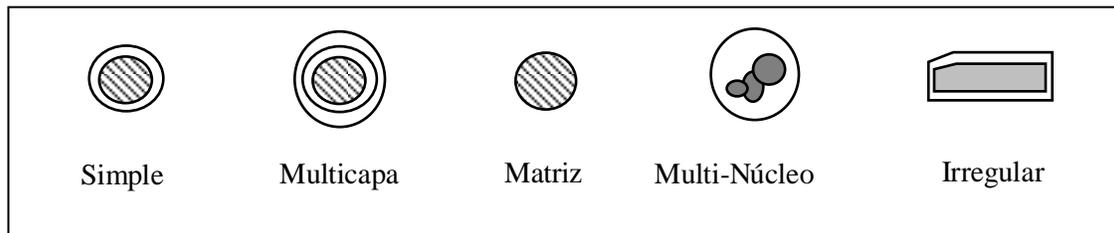
de alimentos reestructurados y funcionales a partir de compuestos activos como antioxidantes, vitaminas, aminoácidos, minerales e incluso de pequeñas moléculas como células, enzimas y microorganismos probióticos beneficiosos para la salud, y por tanto, de su conservación en los alimentos durante el procesamiento y almacenaje (Parra-Huertas, 2010). Estas ventajas del alginato y las recientes tendencias tecnológicas se han fusionado en la técnica de microencapsulación, resultando en un producto final que permite proteger a los compuestos encapsulados de factores adversos como el calor y la humedad,

mejorando así su estabilidad y biodisponibilidad. En este sentido, la microencapsulación puede ser usada como medio para enmascarar o preservar sabores y aromas al hacer funciones de aislante.

El concepto de encapsulación se ha fundamentado en la incorporación de una matriz polimérica, la cual forma un ambiente capaz de controlar su interacción con el exterior. La técnica de microencapsulación ha sido descrita como un proceso en donde pequeñas partículas o gotas son rodeadas por un recubrimiento homogéneo o heterogéneo integrado a las cápsulas con variadas aplicaciones (Borgogna *et al.*, 2010). Una definición general de encapsulación dada por Desai y Park (2005) se refirió al empaquetado de materiales sólidos, líquidos o gaseosos mediante cápsulas que liberan su contenido de forma controlada bajo condiciones determinadas. Estas especificaciones han llevado a describir la microencapsulación como, la técnica de obtención de una barrera que retarda las reacciones químicas con el medio que lo rodea promoviendo un aumento en la vida útil del producto, la liberación gradual del compuesto encapsulado e incluso facilitando su manipulación al convertir un material líquido o gaseoso a una forma sólida llamada microcápsula (Fang y Bhandari, 2010). Una microcápsula consiste en una membrana esférica, semipermeable, delgada y fuerte que rodea un núcleo sólido o líquido, con un diámetro que varía de pocos micrones a 1000  $\mu\text{m}$ . El núcleo que compone la microcápsula es también denominado fase interna o principio activo, así como a la membrana se puede nombrar capa externa o matriz. En este sentido, las micropartículas, microcápsulas o microesferas son definidas como el producto del proceso de microencapsulación dependiendo de cual sea su morfología y estructura interna (Anal y Singh, 2007; Saez *et al.*, 2007). Las microcápsulas se han diferenciado de las microesferas principalmente

por la distribución del principio activo. En el primer caso, el núcleo puede ser de naturaleza líquida o sólida incluido en una especie de reservorio recubierto por una película del material. Mientras que, en las microesferas, el principio activo se encuentra altamente disperso en forma de partículas o moléculas en una matriz. La obtención de un tipo de estructura u otra depende de las propiedades físico-químicas del principio activo y de la matriz, así como de la técnica empleada para su preparación (Lopretti *et al.*, 2007). Las microcápsulas pueden tener forma esférica o irregular. Asimismo, pueden estar constituidas por una membrana simple, múltiples capas e incluso núcleos múltiples cuya matriz puede ser del mismo material o una combinación de varios tal como se muestra en la Fig.1 (Gibbs *et al.*, 1999).

Los hidrocoloides han sido empleados como matriz debido a su capacidad para absorber agua, fácil manipulación e inocuidad. El alginato es un hidrocoloide que posee tanto estas características como propiedades gelificantes, estabilizantes y espesantes, razones por las cuales ha sido de gran interés para la industria alimentaria. El alginato es descrito como un polisacárido lineal poliiónico e hidrofílico proveniente de algas marinas conformado por dos monómeros en su estructura, el ácido  $\alpha$ -L-gulurónico (G) y el ácido  $\beta$ -D-manurónico (M) que se distribuyen en secciones constituyendo homopolímeros tipo G-bloques (-GGG-), M-bloques (-MMM-) o heteropolímeros donde los bloques M y G se alternan (-MGMG-). Tanto la distribución de sus monómeros en la cadena polimérica como la carga y volumen de los grupos carboxílicos confieren al gel formado características de flexibilidad o rigidez dependiendo del contenido en G. Si en su estructura polimérica se tiene mayor cantidad de G-bloques, generalmente el gel es fuerte y frágil, mientras que con la presencia de mayor proporción de M-bloques el gel formado se presenta suave y

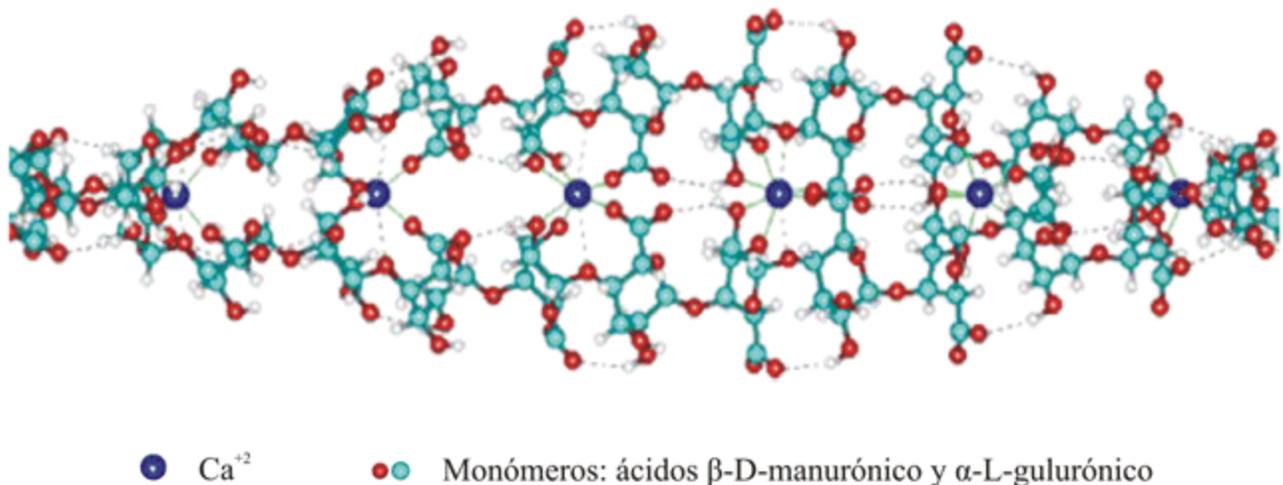


**Figura 1.-** Tipos de microcápsulas.

elástico. El proceso de gelificación ocurre en presencia de cationes multivalentes (excepto el magnesio) donde el ión calcio es el más empleado por la industria alimentaria. La gelificación tiene lugar al producirse una zona de unión entre un G-bloque de una molécula de alginato que se enlaza físicamente a otro G-bloque contenido en otra molécula de alginato a través del ión calcio. La visualización de la estructura física es denominada modelo “caja de huevos” por Draget (2000), mostrada en la Fig. 2 (Reddy-K. y Reddy, P., 2010).

Entre las sales de alginato más empleadas se han encontrado la sal de sodio debido a su alta solubilidad en agua fría y característica transición sol-gel de forma instantánea e irreversible ante el ión calcio (Funami *et al.*, 2009). También, se han desarro-

llado alginatos modificados químicamente tales como el alginato de propilenglicol empleado en la fabricación de cervezas y aderezos para ensaladas por su alta solubilidad a bajos pH. Así como otras dos nuevas familias, los derivados de la sal de amonio cuaternaria del ácido algínico y los obtenidos de injertos con acrilato caracterizados por la obtención de geles fuertes y altamente deformables (Draget *et al.*, 1997; Helgerud *et al.*, 2010). En contraste con la mayoría de los polisacáridos, el alginato forma geles prácticamente independientes de la temperatura, aspecto que lo ha hecho atractivo en la elaboración de cremas, quesos, salsas, y aderezos. Sin embargo, la exposición prolongada a tratamientos de calor y variaciones extremas de pH degrada al polímero, presentado como consecuencia



**Figura 2.-** Modelo “caja de huevos”.

pérdidas en las propiedades del gel (Mancini *et al.*, 1999; Soares *et al.*, 2004). Adicionalmente, la condición de polielectrolito le ha conferido la capacidad de interactuar con otras moléculas permitiendo formar sistemas mixtos que muestran mejoras en las propiedades estructurales del gel de alginato. Por tanto, al seleccionar una matriz polimérica para la microencapsulación deben considerarse sus propiedades físico-químicas, solubilidad, transición sol-gel (cinética) y permeabilidad (Champagne y Fustier, 2007).

La microencapsulación aplicada en alimentos con el objetivo de preparar productos funcionales, debe tener en cuenta que la incorporación de microcápsulas, micropartículas o microesferas no puede interferir con la textura ni sabor original del alimento (de Vos *et al.*, 2010). En este sentido, se han descrito diferentes aplicaciones de microencapsulación empleando como principio activo: vitaminas, minerales, ácidos grasos, microorganismos probióticos, proteínas, aminoácidos, polifenoles, fibras y enzimas (Sanguansri y Augustin, 2010). Su versatilidad incluso ha llegado a ser aplicada en la alta cocina con el término “Sferificación”, técnica culinaria con el propósito de modificar las propiedades texturales de los alimentos para así desarrollar nuevas sensaciones en el comensal (Corell *et al.*, 2007).

## CONTENIDO

- 1.- Mecanismos de gelificación con alginato
  - 1.1.- Gelificación externa
  - 1.2.- Gelificación interna
- 2.- Técnicas de microencapsulación
  - 2.1.- Encapsulación por extrusión
  - 2.2.- Encapsulación en emulsión
  - 2.3.- Encapsulación mediante secado por atomización
- 3.- Tratamientos especiales
- 4.- Aplicaciones
  - 4.1.- Microorganismos probióticos
  - 4.2.- Compuestos activos no microbianos

## REVISIÓN DE LA LITERATURA

### 1.- Mecanismos de gelificación con alginato

El proceso de formación del gel se inicia a partir de una solución de sal de alginato y una fuente de calcio externa o interna desde donde el ión calcio se difunde hasta alcanzar la cadena polimérica, como consecuencia de esta unión se produce un reordenamiento estructural en el espacio resultando en un material sólido con las características de un gel. El grado de gelificación depende de la hidratación del alginato, la concentración del ión calcio y el contenido de los G-bloques (Funami *et al.*, 2009). La transición sol-gel se ha visto esencialmente controlada por la habilidad de introducir el ión vinculante al alginato. También se ha observado que la cinética de gelificación y las propiedades del gel pueden depender del tipo de contra-ión, es decir, el ión monovalente de la sal de alginato (K o Na). De hecho, se ha encontrado que los alginatos de potasio presentan un proceso de transición sol-gel más rápido respecto a los alginatos de sodio preparados a bajas concentraciones calcio. Y a pesar que los geles de alginato de calcio obtenidos mostraron semejante estabilidad a simple vista, al ser analizadas sus propiedades reológicas se evidenciaron marcadas diferencias en los módulos elásticos; siendo menores los valores de módulos elásticos para los geles preparados a partir del alginato de sodio que en aquellos con alginato de potasio. En este sentido, se ha señalado que este aspecto de las propiedades viscoelásticas de los geles puede ser contrarrestado utilizando alginatos con mayor composición de ácido gulurónico en su estructura (Draget, 2000).

Los mecanismos de gelificación iónica se han llevado a cabo fundamentalmente por dos procesos: la gelificación externa y la gelificación interna.

### 1.1.- Gelificación externa

El proceso de gelificación externa ocurre con la difusión del ión calcio desde una fuente que rodea al hidocoloide hacia la solución de alginato de pH neutro. La formación del gel se inicia en la interfase y avanza hacia el interior a medida que la superficie se encuentra saturada de iones calcio, de manera que el ión sodio proveniente de la sal de alginato es desplazado por el catión divalente solubilizado en agua. Este interacciona con los G-bloques de diferentes moléculas poliméricas, enlazándolas entre sí. Aunque, la fuente de calcio más usada ha sido el  $\text{CaCl}_2$  debido a su mayor porcentaje de calcio disponible, existen otras sales empleadas con menor frecuencia tales como el acetato monohidratado y el lactato de calcio (Helgerud *et al.*, 2010).

### 1.2.- Gelificación interna

El proceso de gelificación interna consiste en la liberación controlada del ión calcio desde una fuente interna de sal de calcio insoluble o parcialmente soluble dispersa en la solución de alginato de sodio. Donde la liberación del ión calcio puede ocurrir de dos formas, si se tiene una sal de calcio insoluble a pH neutro pero soluble a pH ácido, por lo que es necesario adicionar un ácido orgánico que al difundirse hasta la sal permita la acidificación del medio consiguiendo solubilizar los iones calcio. En este caso, las sales de calcio más empleadas son el carbonato de calcio y el fosfato tricálcico, y en casos específicos el fosfato dicálcico y el citrato tricálcico. Para la acidificación del medio se cuenta con ácidos orgánicos como el acético, adípico y el glucono delta-lactona. Si la sal de calcio es parcialmente soluble, el proceso de gelificación interna consiste en la adición a la mezcla alginato-sal de calcio, un agente secuestrante como el fosfato, sulfato o citrato de sodio. Al adicionar

un secuestrante este se enlaza con el calcio libre retardando así el proceso de gelificación, el sulfato de sodio ha sido comúnmente el más empleado debido a su bajo costo y conveniente solubilidad. Los mecanismos de gelificación iónica son descritos en la Fig. 3 (Helgerud *et al.*, 2010).

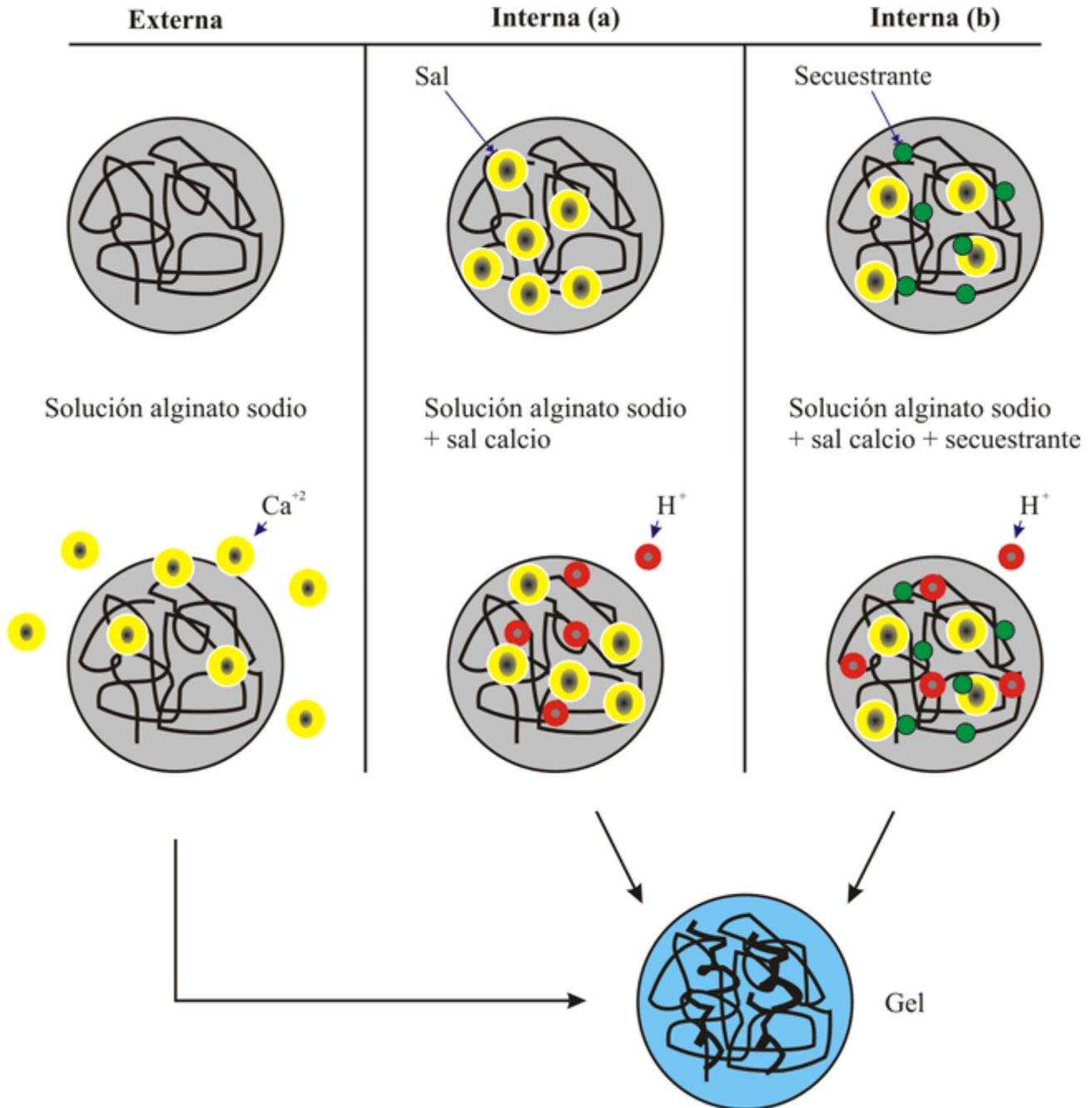
La principal diferencia entre el mecanismo de gelificación externa e interna es la cinética del proceso. Si lo que se pretende es el control de la transición sol-gel, en el proceso de gelificación externa los factores a manipular son la concentración de calcio y composición del polímero. Mientras que, para el proceso de gelificación interna se deben considerar la solubilidad y concentración de la sal de calcio, concentración del agente secuestrante y del ácido orgánico empleado (Draget, 2000).

## 2.- Técnicas de microencapsulación

La microencapsulación de pequeñas moléculas como enzimas hasta células y microorganismos puede realizarse por diferentes técnicas. La selección de la técnica de encapsulación adecuada se ve determinada por las propiedades físico-químicas del material soporte y la aplicación final deseada con el objeto de asegurar la biodisponibilidad de los compuestos, su funcionalidad e incluso su fácil incorporación en los alimentos sin la alteración de sus propiedades sensoriales (Pal *et al.*, 2009). Al emplear el alginato como matriz polimérica, las técnicas de microencapsulación en aplicaciones alimentarias se reducen a: extrusión, emulsión y secado por atomización.

### 2.1.- Encapsulación por extrusión

La técnica consiste en la formación de gotas de la solución de alginato que contiene el componente a encapsular al hacer pasar dicha solución por un dispositivo extrusor de tamaño y velocidad de goteo controlado. Estas gotas caen sobre un baño que contiene la fuente del



(a) Sal insoluble. (b) Sal parcialmente soluble.

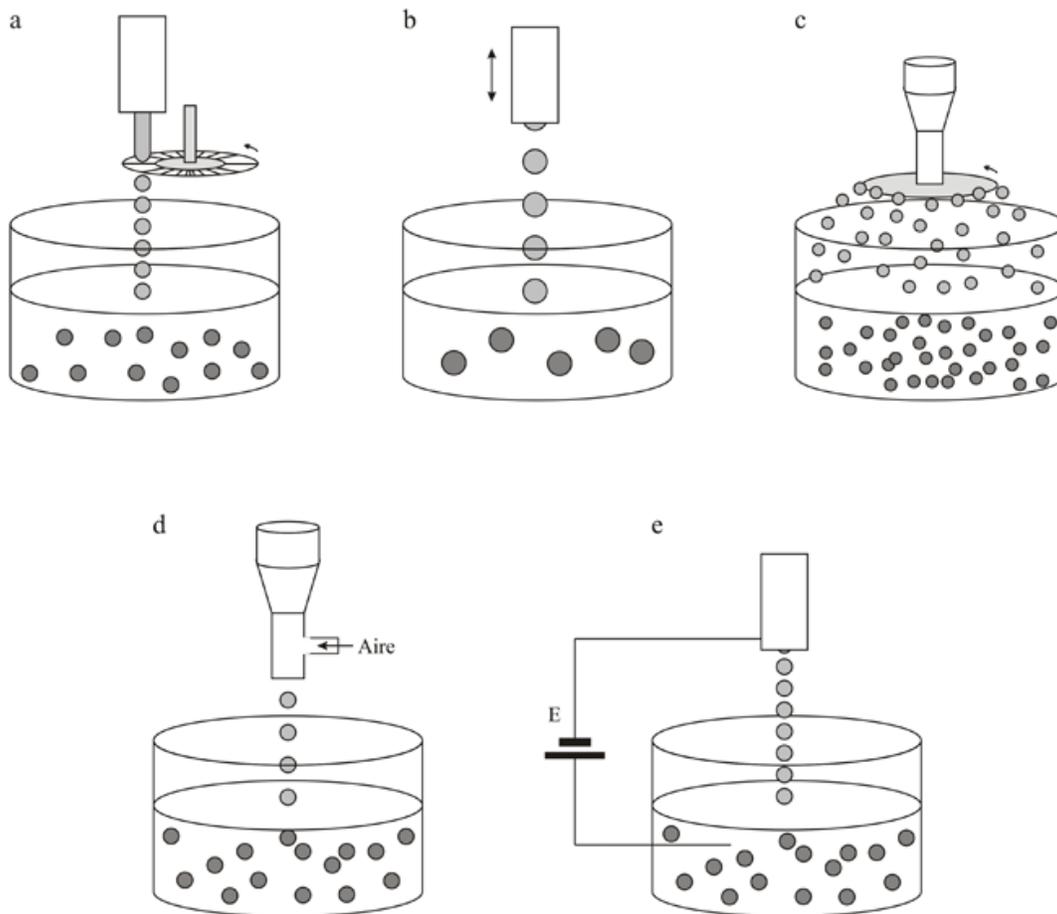
**Figura 3.-** Mecanismos de gelificación iónica.

ión divalente, quien induce la gelificación mediante el mecanismo de gelificación externa (Chan *et al.*, 2009). La principal limitación presentada por esta técnica ha sido el gran

tamaño de las microcápsulas, lo cual depende del diámetro de la boquilla del dispositivo extrusor. Entre otras desventajas, la dificultad de producción a gran escala debido a que la

formación de las microcápsulas se logra una a una lo cual trae como consecuencia largos tiempos de gelificación (Mofidi *et al.*, 2000). Adicionalmente, es de considerar aspectos que influyen en su forma esférica y tamaño como la distancia de separación de la boquilla al baño, el efecto de la gravedad y la tensión superficial de la solución que induce la gelificación (Chan *et al.*, 2009). A pesar de todos estos factores, la técnica de microencapsulación por extrusión ha sido empleada tradicionalmente al permitir la producción de microcápsulas con tamaños uniformes.

Recientes estudios, demuestran que la aplicación de esta técnica mejora notablemente al incorporar dispositivos extrusores como boquillas múltiples y discos aspersores (Champagne *et al.*, 2000), inyectoros con impulsos vibratorios (Dohnal y Štěpánek, 2010) e incluso con flujo de aire incorporado (Mark *et al.*, 2009), todos diseñados bajo el mismo objetivo, la producción masiva de microcápsulas. Como ejemplo, en la Fig. 4 se muestran diferentes tipos de dispositivos extrusores para la preparación de microcápsulas (Zuidam y Shimoni, 2010).



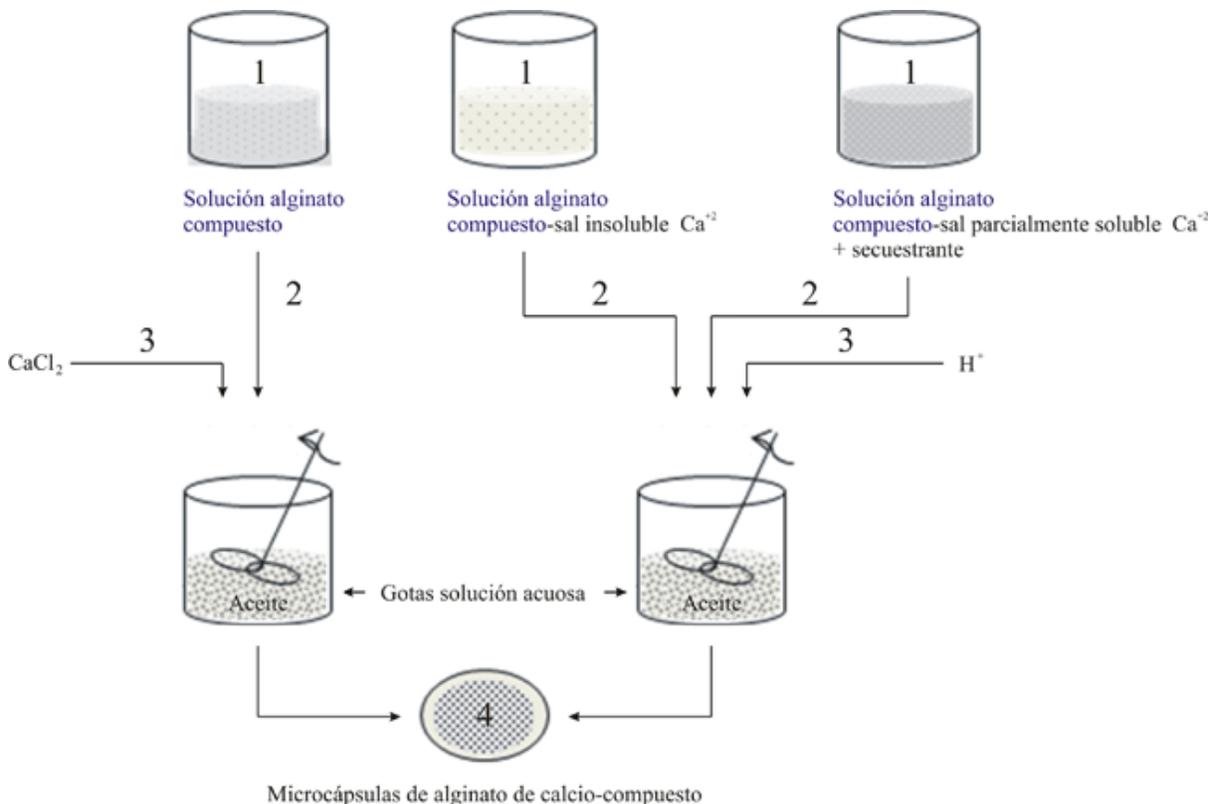
a: Atomizador con corte sistemático del chorro. b: Boquilla vibratoria. c: Disco atomizador. d: Flujo de aire coaxial. e: Potencial electroestático.

**Figura 4.-** Tipos de dispositivos extrusores.

## 2.2.- Encapsulación en emulsión

La técnica de encapsulación en emulsión se ha definido como el proceso de dispersión de un líquido en otro líquido inmiscible donde la fase dispersa consta de la matriz que incluye el componente a encapsular. La adición de un tensioactivo mejora la formación y estabilidad de la emulsión, así como la distribución de tamaño de las gotas (Poncelet, 2001; de Vos *et al.*, 2010). En este sentido, la preparación de microcápsulas por emulsificación puede llevarse a cabo empleando el mecanismo de gelificación externa o interna. Para el primer caso, la gelificación externa en emulsión consta en la dispersión de una mezcla solución de alginato-compuesto en una fase continua no acuosa, seguido de la adición de una fuente de calcio

que al difundirse a la fase dispersa inicie la gelificación permitiendo la encapsulación, y a su vez, la desestabilización de la emulsión para la separación de las cápsulas formadas. Mientras que, la técnica en emulsión por gelificación interna se fundamenta en la liberación del ión calcio desde un complejo insoluble o parcialmente soluble en cuyo caso se adiciona un agente secuestrante, contenido en una solución de alginato-compuesto el cual es dispersado en una fase continua no acuosa generando una emulsión agua en aceite (W/O) (Gouin, 2004; Chan *et al.*, 2006). La liberación del ion calcio ocurre con la adición de un ácido orgánico soluble en la fase continua que al difundirse disminuye el pH del medio solubilizando la sal y produciendo la gelificación. Las técnicas de microencapsulación en emulsión se describen en la Fig. 5 (Champagne y Fustier, 2007).



**Figura 5.-** Técnica de microencapsulación en emulsión.

En este orden de ideas, investigaciones recientes han determinado la posibilidad de combinar las técnicas de microencapsulación o modificar las propuestas, al incorporar dispositivos mecánicos más efectivos e incluso procesos físico-químicos adicionales que los optimicen. Como ejemplo, se aplicó la técnica por extrusión con la incorporación de un dispositivo atomizador para la solución de alginato, que permitió la formación de matrices cuyos núcleos estaban conformados a su vez por nanopartículas compuestas por el principio activo de interés pero preparadas en una matriz polimérica distinta a la membrana más externa. La propuesta de esta técnica demostró ser una alternativa para el control gradual en la liberación de fármacos, enzimas y componentes activos; así como para la preparación de sistemas multifuncionales (Joshi *et al.*, 2010). En este sentido, en un estudio previo se informa que con el desarrollo de nuevas técnicas para la producción de microesferas de tamaños uniformes y diámetro medio entre 18 y 22  $\mu\text{m}$ , fue altamente viable combinar la técnica en emulsión y el mecanismo de gelificación externa a través del diseño de un módulo compuesto por microcanales de 8  $\mu\text{m}$  de diámetro por los cuales se forzó el paso de la solución de alginato en una fase continua no acuosa. Para propiciar la formación de una emulsión W/O, el equipo fue acondicionado con láminas de vidrio y silicona tratadas previamente en soluciones que le confiriesen un carácter hidrofóbico. La investigación demostró que, el mejor diámetro medio de gota se obtuvo usando altas concentraciones de alginato y bajos caudales de la fase dispersa asegurando durante todo el proceso un flujo de caudal constante para la fase continua (Chuah *et al.*, 2009).

### **2.3.- Encapsulación mediante secado por atomización**

El secado por atomización ha sido una

tecnología ampliamente usada por la industria debido a su reproducibilidad y economía. Su aplicación principal se ha usado para enmascarar sabores, aromas y la encapsulación de vitaminas. El procedimiento consiste en la preparación de una emulsión o suspensión que contenga al compuesto a encapsular y el material polimérico, el cual es pulverizado sobre un gas caliente que generalmente es aire promoviendo así la evaporación instantánea del agua, permitiendo que el principio activo presente quede atrapado dentro de una película de material encapsulante. Las micropartículas en polvo obtenidas son separadas del gas a bajas temperaturas. Una de las grandes ventajas de este proceso es, además de su simplicidad, que es apropiado para materiales sensibles a altas temperaturas debido a que los tiempos de exposición son muy cortos (5 a 30 s) (Martín-Villena *et al.*, 2009; de Vos *et al.*, 2010; López-Hernández, 2010).

A pesar, que la suspensión o emulsión a pulverizar con la técnica de secado por atomización se ha limitado a formulaciones acuosas, trabajos recientes han demostrado que la combinación de distintos biopolímeros de fuentes naturales como las gomas (carregenato, goma arábica y alginato), proteínas (suero, caseinatos y gelatina), maltodextrinas, dextrosas, ceras y sus mezclas, crean nuevas matrices poliméricas altamente versátiles y que por tanto facilitan ser empleadas con otras formulaciones. La preparación de microcápsulas con esta técnica requiere primeramente, la selección del tipo de atomizador considerando la viscosidad de la solución, así como el tamaño de gota deseado a fin de generar la mayor superficie de contacto entre el aire caliente y el líquido, la forma de contacto entre las gotas y el aire caliente dependiendo de la sensibilidad al calor del producto, el tiempo de contacto gota-aire, la temperatura del aire y por último el tipo de método de separación de los sólidos secos (Gharsallaoui *et al.*, 2007). Básicamente su

aplicación con alginato se resume en tres etapas: dispersión del principio activo en el alginato, atomización de la mezcla y deshidratación (Zuidam y Shimoni, 2010).

### 3.- Tratamientos especiales

A pesar que el alginato ha sido adecuado para la encapsulación, el gel presenta sensibilidad a pH extremos y matrices porosas que condicionan tanto la liberación como la protección de los compuestos. Esta característica puede ser contrarrestada al modificar la estructura del gel, al emplear sistemas mixtos poliméricos para la formación de la matriz o con el recubrimiento de las micropartículas (Pal *et al.*, 2009). Diversas investigaciones mostraron mejoras en las propiedades físico-químicas del alginato al preparar matrices mixtas con quitosano y polilisina aplicando diferentes técnicas de encapsulación (Krasaekoopt *et al.*, 2003; Cui *et al.*, 2007; Chávarri *et al.*, 2010). En este sentido, otros estudios señalaron el uso de sistemas compuestos por alginato y almidones, proteína de suero (lactoglobulina) y proteína del huevo (Chen y Subirade, 2006; Somchue *et al.*, 2009), glucomanano konjac y pectinas (Wang y He, 2002; Guérin *et al.*, 2003; Madziva *et al.*, 2006). Incluso formulaciones de matrices con alginato y alcohol polivinílico para la encapsulación de aromas (Levi *et al.*, 2001).

### 4.- Aplicaciones

#### 4.1.- Microorganismos probióticos

Las bacterias probióticas han sido adicionadas a una gama de productos alimentarios como yogurt, bebidas lácteas, quesos, cremas, helados y postres lácteos. A pesar de las ventajas que implica su ingesta, el mayor problema se ha presentado en la viabilidad de supervivencia de los microorganismos al procesamiento y almacena-

je de los alimentos e incluso en procesos posteriores a su consumo como las agresivas condiciones gastrointestinales.

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) han definido los probióticos como microorganismos vivos (bacterias o levaduras) que al ser ingeridos o con aplicaciones localizadas en una cantidad suficiente confieren uno o más beneficios previamente demostrados para la salud del huésped (FAO/WHO, 2001). Las bacterias probióticas más empleadas por la industria pertenecen a los géneros *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri*, *L. bulgaricus*, *L. brevis*, *L. cellobiosus*, *L. curvatus* y *L. plantarum*), *Bifidobacterium* (*B. bifidum*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. infantis*, *B. longum* y *B. thermophilum*) y cocos Gram positivos (*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Streptococcus thermophilus*) (Krasaekoopt *et al.*, 2003).

La microencapsulación ha permitido inmovilizar bacterias probióticas en una matriz de alginato debido a la simplicidad del proceso de preparación de las microcápsulas, su biocompatibilidad y alta retención de microorganismos como consecuencia del tamaño de poro mostrado por la matriz estimado en 17 nm, mientras que el tamaño promedio de las bacterias oscila entre 1-3  $\mu\text{m}$ . Por estas razones, la microencapsulación de probióticos ha sido investigada con la finalidad de proteger y mejorar la biodisponibilidad de los microorganismos tanto en los productos alimentarios como en el tracto intestinal (Krasaekoopt *et al.*, 2003; 2004). Por otra parte, se han encontrado trabajos donde el objetivo ha sido producir mayor cantidad de biomasa para mejorar el proceso de fermentación, así como la obtención de metabolitos secundarios de interés industrial, tal como la vitamina B12 (Gardner y Champagne, 2005).

La técnica por extrusión ha sido la más antigua y empleada para la microencapsulación

de bacterias probióticas en hidrocoloides. Diferentes estudios obtuvieron diámetros de cápsulas superiores a 2 mm al inmovilizar diversas bacterias ácido lácticas. Los resultados mostraron una influencia importante de la viscosidad de la solución de alginato, la distancia desde el dispositivo extrusor al baño de calcio y del diámetro del orificio sobre el tamaño y esfericidad de las cápsulas. Por el contrario, al aplicar la técnica en emulsión se lograron producir micropartículas con tamaños entre 25  $\mu\text{m}$  y 2 mm; mostrando ser las variables de influencia significativa sobre la distribución de tamaño la velocidad de agitación y el tipo de emulsionante (Krasaekoop *et al.*, 2003). En un estudio posterior sobre microencapsulación con *B. longum* por extrusión, mostró mayor cantidad de bacterias existentes en un ambiente gástrico simulado frente a las células libres. Este índice de resistencia se incrementó con la concentración de alginato y el tamaño de las cápsulas. Por otra parte, las microcápsulas con *Lactobacillus* preparadas en emulsión presentaron tamaños inferiores a 100  $\mu\text{m}$  y poca supervivencia de las células frente a fluidos gástricos, aun así, al ser agregadas en productos refrigerados como yogurt y crema agraria mostraron estabilidad durante el almacenamiento (Chandramouli *et al.*, 2004).

No obstante al éxito alcanzado por diferentes investigaciones, se han encontrado variados estudios que han empleado tratamientos especiales para elevar la eficiencia de encapsulación. Entre ellos, el uso de sistemas combinados de alginato-almidón aplicando la técnica por extrusión y la incorporación de bacterias del grupo *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, resultando en un aumento importante de supervivencia para los *Lactobacillus* en ambientes ácidos pero no significativa para los *Bifidobacterium* (Jayalalitha *et al.*, 2012). Asimismo, en un trabajo anterior lograron incrementar la producción de bacterias ácido lácticas (*L. acidophilus*) con la misma técnica y combina-

ción de biopolímeros para la formación de la matriz. Lo que representó para el momento, una alternativa para la preparación de concentrados de bacterias, evitando así la etapa de centrifugación o filtración durante el proceso productivo de fermentación láctica a escala industrial (Dembczyński y Jankowski, 2000). En este sentido, en otro trabajo se refleja que produjeron microcápsulas usando un sistema alginato-péptido con prebióticos como matriz. Los resultados mostraron gran cantidad de bacterias inmovilizadas, biodisponibles aún luego de ser adicionadas en leches con una semana de almacenamiento y altamente resistentes a condiciones gástricas simuladas (Chen *et al.*, 2006). Igualmente, investigaciones recientes infieren el éxito de aplicar tratamientos especiales al efecto de las altas cargas de microorganismos encapsulados. Tal como, la microencapsulación de *Lactobacillus* spp. aislado del ensilaje de maíz y *L. plantarum* utilizado como sistema control en una matriz alginato-xantana para la obtención de microcápsulas por extrusión y posterior recubrimiento con quitosano. Los resultados demostraron alta tolerancia de los microorganismos a las sales biliares, así como una cantidad significativa de bacterias retenidas y un elevado índice de supervivencia durante el almacenamiento a temperaturas entre 4 y 25 °C por tiempos de 1 semana y 1 mes frente a las células libres (Kasra-Kermanshahi *et al.*, 2010). En el mismo sentido, también se obtuvieron buenos resultados en la producción de etanol a partir de la fermentación de melazas de caña con la microencapsulación de *Saccharomyces cerevisiae* en una matriz de alginato y tejido del tallo de la planta de maíz, al evidenciarse un incremento importante en la formación del metabolito primario y una disminución considerablemente de los secundarios (Razmovski y Vučurović, 2011). En este mismo orden de ideas, se muestran en el Cuadro 1, más aplicaciones de microencapsulación con bacterias probióticas empleado las técnicas por extrusión y en emulsión para la elaboración de alimentos funcionales (Burgain *et al.*, 2011).

**Cuadro 1.-** Aplicaciones de microencapsulación con probióticos.

Bacterias	Técnica	Matriz	Aplicación	Referencias
<i>L. acidophilus</i> , <i>B. lactis</i>	Em	Alginato	Leche; queso feta	1
<i>L. acidophilus</i> , <i>B. bifidum</i>	Ex y Em	Alginato	Quesos kasar y blanco	2
<i>L. plantarum</i>	Em	Alginato/pectina/quitosano	Yogurt	3
<i>L. acidophilus</i> , <i>B. lactis</i>	Ex	Alginato	Leche fermentada	4
<i>L. casei</i> , <i>B. lactis</i>		Alginato	Helados	5
<i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i>	Em	Alginato	Postres congelados	6
<i>Lactobacillus</i> , <i>L. acidophilus</i>		Alginato/almidón	Yogurt	7
<i>L. acidophilus</i>	Ex	Alginato/xantana	Zumos vegetales	8
<i>L. reuteri</i>	Ex y Em	Alginato	Salchichas	9

Em: emulsion. Ex: extrusión. 1: (Talwalkar y Kailasaphaty, 2003; Kailasaphaty y Masondole, 2005). 2: (Özer *et al.*, 2008; Özer *et al.*, 2009). 3: (Brinques y Záchia-Ayub, 2011). 4: (Khosrokhavar y Mortazaviam, 2010). 5: (Homayouni *et al.*, 2008). 6: (Shah y Ravula, 2000). 7: (Iyer, C. and Kailasaphaty, 2005). 8: (King *et al.*, 2007; Nazzaro *et al.*, 2009). 9: (Muthukumarasamy y Holley, 2006).

En otro estudio aplicaron la técnica de secado por atomización para microencapsular microorganismos como el *L. brevis* usado ampliamente por la industria de los quesos. El proceso se llevó a cabo con la preparación de una suspensión de alginato-maltodextrina y las bacterias probióticas bajo continua agitación en

una solución de Ringer (solución con NaCl, K, Ca y Mg) para así evitar la formación de grumos. La suspensión homogenizada fue atomizada empleando una boquilla con ultrasonido para conseguir micropartículas finas a 130 °C. Los resultados mostraron tamaños medios entre 80 y 110 µm y una gran existencia

de bacterias encapsuladas frente a las células libres (Both *et al.*, 2012).

La mayoría de los trabajos realizados con la finalidad de proporcionar una protección microbiana, presentaron mejoras significativas al emplear sistemas mixtos de alginato con polilisina, hidroxipropil celulosa, pectina, proteína del suero y quitosano (Cui *et al.*, 2000; Guérin *et al.*, 2003; Chávarri *et al.*, 2010; Sohail *et al.*, 2011) frente a la matriz pura. Incluso al incorporar tratamientos especiales posteriores como el recubrimiento de las microcápsulas con otros biopolímeros (Kasra-Kermanshahi *et al.*, 2010; Zou *et al.*, 2011).

#### **4.2.- Compuestos activos no microbianos**

La protección de los compuestos activos con la técnica de microencapsulación ha sido importante para evitar la degradación química causada por factores como la oxidación e hidrólisis con la finalidad de mantener sus propiedades funcionales. En este sentido, si se considera que entre las propiedades sensoriales, el sabor y el aroma son las más importantes, se tiene que la tecnología de encapsulación ha sido empleada por la industria alimentaria para enmascarar sabores amargos o astringentes de componentes específicos o para su protección, ya que al degradarse debido a diversos factores, estos cambian su sabor u olor original. A saber, trabajos hacen referencia a la encapsulación de ácidos grasos como el omega-3 y omega-6 aplicados tradicionalmente para el enriquecimiento de productos alimenticios, los cuales son altamente oxidables y de sabor desagradable (Champagne y Fustier, 2007; Sanguansri y Augustin, 2010). También se tienen compañías como Denomega Nutritional Oils (Denomega Pure Health, Sarpsborg, Noruega) y GAT Food Essentials (Ebenfurth, Austria) que han encapsulado aceite de pescado en microesferas de alginato con tamaños entre 1 y 30  $\mu\text{m}$  usando la técnica en emulsión y un

recubrimiento de goma xantana. Para la formación de las microesferas, primeramente se preparó una emulsión W/O con la sal de calcio en la fase acuosa, seguido de la adición bajo constante agitación de una solución de alginato de sodio hasta lograr una inversión de fases que a su vez facilita la deposición de las microesferas de alginato de calcio. Finalmente, la superficie de las microesferas es recubierta de goma xantana y un tensioactivo que minimiza el tamaño de las gotas de agua residual encontradas en el aceite hasta alcanzar la completa gelificación empleando altas temperaturas (Beindorff y Zuidam, 2010).

La vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) ha sido un antioxidante usado frecuentemente por la industria farmacéutica y de gran interés para los procesos alimentarios pero de aplicación limitada debido a su carácter lipofílico, alta sensibilidad al calor y a la luz. Bajo estas consideraciones, se han propuesto otras técnicas para preparar microcápsulas con compuestos oleosos tal como aceites esenciales en alginato usando la técnica por extrusión y un dispositivo especial con doble boquilla para extruir la solución. En donde, el componente oleoso es canalizado a través de un tubo concéntrico en otro tubo donde fluye la solución de alginato y cuyas gotas extruidas caen sobre un baño de cloruro de calcio (Helgerud *et al.*, 2010). Al respecto, un trabajo previo refiere que microcápsulas con vitamina E han sido preparadas empleando la técnica en emulsión mediante la formación de una emulsión aceite en agua (O/W), donde la vitamina es solubilizada en la fase oleosa seguido de una dispersión en la fase acuosa constituida por la solución de alginato y un tensioactivo. Finalmente, la emulsión es extruida por atomización con aire comprimido sobre una solución de calcio para conseguir la gelificación de las gotas (Yoo *et al.*, 2006). Mientras que, en otra investigación prepararon microcápsulas con  $\alpha$ -tocoferol en sistemas mixtos de  $\beta$ -lactoglobulina y albúmina como matriz en un

recubrimiento con alginato empleando la técnica por extrusión y solución de  $ZnCl_2$  como agente gelificante. El estudio demostró la viabilidad del sistema mixto propuesto como matriz para la encapsulación de la vitamina, resaltando una marcada influencia de la concentración de proteína y del recubrimiento con alginato aplicado a las microcápsulas sobre la eficiencia de encapsulación y el control en los tiempos de liberación (Somchue *et al.*, 2009). Por otra parte, también se demostró la posibilidad de microencapsular vitamina A (retinol) con acetato, el proceso de obtención de las microcápsulas se fundamentó en estudios previos donde se evaluó la influencia en la estabilidad de emulsiones preparadas por ultrasonido de aceite con retinol en solución de alginato a diferentes concentraciones del polímero y para distintos ratios O/W. La emulsión más estable obtenida fue adicionada gota a gota sobre un baño de  $CaCl_2$  donde se dejaron gelificar durante 25 a 30 min. Los resultados mostraron pérdidas menores del principio activo frente a una muestra control del mismo sistema sin encapsular, al evaluar la influencia de diferentes factores destructivos como iones metálicos pesados, luz UV, la exposición al oxígeno y al calor, con intervalos de temperatura entre 55 y 60 °C (Kislitz *et al.*, 2009).

En la última década, las investigaciones han mostrado un interés creciente por la encapsulación de extractos naturales con alto contenido en polifenoles provenientes de plantas medicinales, hierbas, flores y semillas. Dicho manifiesto ha surgido con la finalidad de alcanzar nuevas propuestas nutricionales que permitan el uso de antioxidantes como aditivos alimentarios sin cambiar el sabor, aroma y color de los productos originales. Así como, el aprovechamiento de sus beneficios protectores ante los efectos de los radicales libres y las enfermedades degenerativas. En sus aplicaciones destaca su gran carácter hidrofílico y por tanto rápida liberación en medios acu-

osos. En consecuencia, diversos trabajos señalan que tal efecto puede ser contrarrestado con la aplicación de tratamientos especiales para su microencapsulación. Así, la hierba mate (*Ilex paraguariensis*) fue microencapsulada en alginato, recubierta en quitosano y con posterior deshidratación de las microcápsulas utilizando diferentes métodos de secado. Demostrando que la matriz alginato-quitosano retarda los tiempos de liberación del compuesto respecto a las microcápsulas sin recubrir (Deladino *et al.*, 2008).

Otro ejemplo de aplicaciones en matrices mixtas, es la encapsulación del aroma de limoneno ampliamente usado por la industria de bebidas refrescantes en un sistema alginato-alcohol polivinílico. Considerando su gran sensibilidad al calor, se evaluó las pérdidas del olor a altas temperaturas y compararon con las correspondientes al limoneno libre, los resultados señalaron una alta resistencia frente a temperaturas por encima de las presentadas como críticas para el limoneno sin encapsular. Las microcápsulas fueron preparadas realizando un tratamiento térmico previo al alcohol polivinílico para asegurar la formación del crio-gel. Luego, se mezclaron el crio-gel, alginato y aroma, con la extrusión final de la suspensión sobre un baño de calcio. Se observó una fuerte dependencia entre las propiedades térmicas del aroma y la matriz mixta, produciéndose un gel estable para una concentración óptima del 20 % en alcohol polivinílico en la mezcla polimérica (Levi *et al.*, 2001).

Las enzimas, como catalizadores, siempre han sido una atractiva elección en vista de sus altos rendimientos y pocas exigencias de esfuerzos dentro de un proceso catalítico. Por estas razones, la inmovilización de enzimas ha propuesto ser una alternativa para el diseño de biocatalizadores. Asimismo, la microencapsulación de enzimas facilita su manipulación, recuperación y mayor estabilidad. Al respecto, el estudio sobre la hidrólisis del almidón a partir de la microencap-

sulación de las enzimas glucoamilasa y pululanasa en alginato mostró mayor estabilidad térmica y al pH respecto a las moléculas libres. El proceso de preparación de las microencápsulas se logró empleando la técnica por extrusión en forma individual de las enzimas, las cuales fueron mezcladas en relación 3:2 y colocadas sobre un sustrato en reactores de lecho fluidizado para iniciar sus funciones catalizadoras (Roy y Gupta, 2004). En este sentido, en un estudio posterior, prepararon cápsulas con el producto enzimático comercial Flavourzyme® (Novozymes® A/S, Bagsværd, Dinamarca) empleado en el proceso de maduración de quesos, en matrices poliméricas de alginato, alginato-almidón y alginato-pectina aplicando la técnica por extrusión sobre una solución de calcio con y sin quitosano. Los resultados demostraron baja eficacia de encapsulación para todas las matrices estudiadas, sin embargo al adicionar quitosano al baño de calcio se evidenció un aumento significativo en la retención de las enzimas, por tanto este actuó como recubrimiento en las microcápsulas. Además, al ser evaluado su adición en productos alimenticios se observó un mayor control en la liberación, al permitir la cuantificación de células liberadas durante el desarrollo proteolítico del proceso de maduración de quesos (Anjani *et al.*, 2007).

La técnica de secado por atomización con alginato propone una alternativa para la formación de microcápsulas de tamaño uniforme y reproducible (Burey *et al.*, 2009). En este sentido, se prepararon microesferas de alginato empleando una matriz de alginato y almidón modificado para la encapsulación de aceite de pescado a fin de preservar los componentes de interés. El estudio mostró la habilidad de la matriz como tratamiento de protección ante la oxidación de los ácidos grasos presentes, al someter las microesferas a diferentes periodos de almacenamiento a 40 °C y 70 % de humedad relativa. Asimismo, se

consideraron distintas formulaciones para la elaboración de la matriz mediante la combinación de alginatos con altos y bajos contenidos en G e incluso varios intervalos de concentraciones. Los resultados mostraron la viabilidad del sistema mixto para la preservación de los principios activos frente a la muestra control, así como la obtención de microesferas con alto contenido de aceite de pescado (Tan *et al.*, 2009). Aunque la técnica ha sido la más empleada para encapsular aceites marinos, presenta la desventaja de la oxidación parcial de las grasas al ser expuestas a altas temperaturas durante su procesamiento, y periodos cortos de almacenamiento cuando la superficie de las micropartículas se presenta muy porosa (Beindorff y Zuidam, 2010).

Se ha logrado microencapsular péptidos y proteínas provenientes de la albúmina del suero en matrices de alginato-glicol-quitosano altamente resistentes a las condiciones gastrointestinales. La incorporación de estas microcápsulas en alimentos promete ser un suplemento proteico de usos nutricionales específicos (Erdinc y Neufeld, 2011).

## CONCLUSIONES

Las técnicas de microencapsulación con alginato permiten la protección de diferentes principios activos como proteínas, aminoácidos, vitaminas, extractos, sabores, aromas, microorganismos y enzimas que en contacto con el medio circundante sufren degradación y pérdida de sus propiedades nutricionales y benéficas para la salud. El alginato es un material polimérico adecuado para la microencapsulación por ser biocompatible, no tóxico y degradable. Diversas investigaciones demostraron que los compuestos encapsulados se encuentran biodisponibles y por tanto pueden mantener sus actividades funcionales durante el procesamiento y almacenaje de los alimentos. Aspectos que pueden reforzarse con la incorporación de matrices mixtas de alginato y

xantana, polilisina, almidón, pectina, glucomanano konjac, alcohol polivinílico, proteína del suero, quitosano, maltodextrina, entre otros, al mostrar mejoras en las propiedades físico-químicas del sistema, incrementos en la eficiencia de encapsulación y mayores tiempos en la liberación del principio activo. La selección de la técnica de encapsulación por extrusión, en emulsión o secado por atomización con alginato o sistemas mixtos que lo contengan depende fundamentalmente de las propiedades del componente a encapsular, el tamaño deseado de las microcápsulas, la composición del alginato y la concentración de calcio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anal, Anil Kumar and Singh, Harjinder. 2007. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science & Technology*. 18:240-251.
- Anjani, K.; Kailasaphaty, K. and Phillips, M. 2007. Microencapsulation of enzymes for potential application in acceleration of cheese ripening. *International Dairy Journal*. 17(1):79-86.
- Beindorff, Christiaan and Zuidam, Nicolaas Jan. 2010. Microencapsulation of fish oil. In *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*. (pp. 161-185). New York, NY, USA: Springer Science+Business Media, LLC.
- Borgogna, M.; Bellich, B.; Zorzini, L.; Lapasin, R. and Cesàro, A. 2010. Food microencapsulation of bioactive compounds: rheological and thermal characterisation of non-conventional gelling system. *Food Chemistry*. 122(2):416-423.
- Both, Emese; Gyenge, László; Bodor, Zsolt.; György, Éva.; Lángy, Szabolcs and Ábrahám, Beáta. 2012. Intensification of probiotic microorganisms viability by microencapsulation using ultrasonic atomizer. *University Politehnica of Bucharest Scientific Bulletin. Series B*. 74(1):27-32.
- Brinques, Graciela Brusca and Záchia-Ayub, Marco Antônio. 2011. Effect of microencapsulation on survival of *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, and yogurt. *Journal of Food Engineering*. 103(2):123-128.
- Burey, Paulomi; Bhandari, Bhash R.; Howes, Tony and Gidley, Michael J. 2009. Gel particles from spray-dried disordered polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*. 76(2):206-213.
- Burgain, J.; Gaiani, C.; Linder, M. and Scher, J. 2011. Encapsulation of probiotic living cells: from laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*. 104(4):467-483.
- Champagne, C.P.; Blahuta, N.; Brion, F. and Gagnon, C. 2000. A vortex-bowl disk atomizer system for the production of alginate beads in a 1500-liter fermentor. *Biotechnology and Bioengineering*. 68(6):681-688.
- Champagne, Claude P. and Fustier, Patrick. 2007. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current Opinion in Biotechnology*. 18(2):184-190.
- Chan, Eng Seng; Lee, Boon Beng; Ravindra, Pogaku and Poncelet, Denis. 2009. Prediction models for shape and size of calcium-alginate macrobeads produced through extrusion-dripping method. *Journal of Colloid and Interface Science*. 338(1):63-72.
- Chan, Lai Wah; Lee, Huey Ying and Heng, Paul W.S. 2006. Mechanisms of external and internal gelation and their impact on the functions of alginate as a coat and delivery system. *Carbohydrate Polymers*. 63(2):176-187.

- Chandramouli, V.; Kailasaphaty, K.; Peiris, P. and Jones, M. 2004. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus* spp. in simulated gastric conditions. *Journal of Microbiological Methods*. 56(1):27-35.
- Chávarri, María; Marañón, Izaskun; Ares, Raquel; Ibáñez, Francisco C.; Marzo, Florencio and Villarán, María del Carmen. 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, Kun Nan; Chen, Ming Ju and Lin, Chin Wen. 2006. Optimal combination of the encapsulating materials for probiotic microcapsules and its experimental verification (R1). *Journal of Food Engineering*. 76(3):313-320.
- Chen, Lingyun and Subirade, Muriel. 2006. Alginate-whey protein granular microspheres as oral delivery vehicles for bioactive compounds. *Biomaterials*. 27(26):4646-4654.
- Chuah, Ai Mey; Kuroiwa, Takashi; Kobayashi, Isao; Zhang, Xain and Nakajima, Mitsutoshi. 2009. Preparation of uniformly sized alginate microspheres using the novel combined methods of microchannel emulsification and external gelation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 351(1-3):9-17.
- Corell, P.; García-Segovia, Purificación; Sapiña, F.; Farré, I.; Castells, P. y Martínez-Monzó, J. 2007. Efecto del ión calcio sobre las propiedades texturales de esferas de alginato aplicadas a cocina. *Alimentaria*. 388:79-83.
- Cui, Jing Hao; Goh, Juhn Su; Kim, Pyung Hyun; Choi, Suk Ho and Lee Beom Jin. 2000. Survival and stability of bifidobacteria loaded in alginate poly-L-lysine microparticles. *International Journal of Pharmaceutics*. 210(1-2):51-59.
- de Vos, Paul; Faas, Marijke M.; Spasojevic, Milica and Sikkema, Jan. 2010. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*. 20(4):292-302.
- Deladino, Lorena; Anbinder, Pablo S.; Navarro, Alba S. and Martino, Miriam N. 2008. Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. *Carbohydrate Polymers*. 71(1):126-134.
- Dembczyński, R. and Jankowski, T. 2000. Growth of lactic acid bacteria in alginate/starch capsules. In *Food Biotechnology. Progress in Biotechnology*. Vol. 17. (pp. 291-294). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science B. V.
- Desai, Kashappa Goud H. and Park, Hyun Jin. 2005. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*. 23(7):1361-1394.
- Dohnal, Jiří and Štěpánek, František. 2010. Inkjet fabrication and characterization of calcium alginate microcapsules. *Powder Technology*. 200(3):254-259.
- Draget, K.I. 2000. Alginates. In *Handbook of hydrocolloids*. (pp. 379-395). Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited - Boca Raton, FL, USA: CRC Press LLC.
- Draget, Kurt Ingar; Skjåk-Bræk, Gudmund and Smidsrød, Olav. 1997. Alginate based new materials. *International Journal of Biological Macromolecules*. 21(1-2):47-55.
- Erdinc, B. and Neufeld, R.J. 2011. Protein micro and nanoencapsulation within glycol-chitosan/Ca<sup>2++</sup>/alginate matrix by spray drying. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 37(6):619-627.
- Fang, Zhongxiang and Bhandari, Bhesh. 2010. Encapsulation of polyphenols - a review.

- Trends in Food Science & Technology. 21(10):510-523.
- FAO/WHO. 2001. Food and Agriculture Organization of the United Nations-World Health Organization. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on evaluation of health and Nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. 1-4 October. Córdoba, Argentina.
- Funami, Takahiro; Fang, Yapeng; Noda, Sakie; Ishihara, Sayaca; Nakauma, Makoto; Draget Kurt I. Nishinari, Katsuyoshi and Phillips, Glyn O. 2009. Rheological properties of sodium alginate in an aqueous system during gelation in relation to supermolecular structures and Ca<sup>2+</sup> binding. Food Hydrocolloids. 23(7):1746-1756.
- Gardner, N. and Champagne, C.P. 2005. Production of *Propionibacterium shermanii* biomass and vitamin B12 on spent media. Journal of Applied Microbiology. 99(5):1236-1245.
- Gharsallaoui, Adem; Roudaut, Gâelle; Chambin, Odile; Voilley, Andrée and Saurel, Rémi. 2007. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. Food Research International. 40(9):1107-1121.
- Gibbs, Bernard F.; Kermasha, Selim; Alli, Inteaz and Mulligan, Catherine N. 1999. Encapsulation in the food industry: a review. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 50(3):213-224.
- Gouin, Sébastien. 2004. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. Trends in Food Science & Technology. 15(7-8):330-347.
- Guérin, D.; Vuilleumard, J.C. and Subirade, M. 2003. Protection of bifidobacteria encapsulated in polysaccharide-protein gel beads against gastric juice and bile. Journal of Food Protection. 66(11):2076-2084.
- Helgerud, Trond; Gåserød, Olav; Fjæreide, Therese; Andersen, Peder O. and Larsen, Christian K. 2010. Alginates. In Food stabilizers, thickeners and gelling agents. (pp. 50-72). United Kingdom: Wiley-Blackwell.
- Homayouni, A.; Azizi, A.; Ehsani, M.R.; Yarmand, M.S. and Razavi, S.H. 2008. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. Food Chemistry. 111(1):50-55.
- Imeson, A. 2010. Food stabilizers, thickeners and gelling agents. United Kingdom: Wiley-Blackwell.
- Iyer, C. and Kailasaphaty, K. 2005. Effect of co-encapsulation of probiotics with prebiotics on increasing the viability of encapsulated bacteria under *in vitro* acidic and bile salt conditions and in yogurt. Journal of Food Science. 70(1):M18-M23.
- Jayalalitha, V.; Balasundaram, B. and Palanidorai, R. 2012. *In vitro* assessment of microencapsulated probiotics beads. International Journal of Agriculture: Research and Review. 2(1):1-6.
- Joshi, Abhijeet; Keerthiprasad, R.; Jayant, Rajul Dev and Srivastava, Rohit. 2010. Nano-in-micro alginate based hybrid particles. Carbohydrate Polymers. 81(4):790-798.
- Kalasaphaty, K. and Masondole L. 2005. Survival of free and microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* and their effect on texture of feta cheese. Australian Journal of Dairy Technology. 60(3):252-258.
- Kasra-Kermanshahi, R.; Fooladi, J. and Peymanfar, S. 2010. Isolation and microencapsulation of *Lactobacillus* spp. from corn silage for probiotic application. Iranian Journal of Microbiology. 2(2):98-102.

- Khosrokhavar, R. and Mortazavian, A.M. 2010. Effects probiotic - containing microcapsules on viscosity, phase separation and sensory attributes of drink based on fermented milk. *Milchwissenschaft - Milk Science International*. 65(2):177-179.
- King, V. An-Erl; Huang, Hui Ying and Tsen, Jen Horng. 2007. Fermentation of tomato juice by cell immobilized *Lactobacillus Acidophilus*. *Mid-Taiwan Journal of Medicine*. 12(1):1-7.
- Kislitza, O.; Manaenkov, O. and Savin, A. 2009. Microencapsulation of retinol-acetate in alginate microspheres. In XVIIth International Conference on Bioencapsulation. September 24-26. (pp. 1-4). Groningen, Netherlands.
- Krasaekoopt, Wunwisa; Bhandari, Bhesh and Deeth, Hilton. 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*. 13(1):3-13.
- Krasaekoopt, Wunwisa; Bhandari, Bhesh and Deeth, Hilton. 2004. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *International Dairy Journal*. 14(8):737-743.
- Levi, Steva; Rac, Vladilav; Manojlovi, Verica; Raki, Vesna; Bugarski, Branko; Flock, Teresa; Krcyczmonik, Katarzyna Ewa and Nedovi, Viktor. 2001. Limonene encapsulation in alginate/poly (vinyl alcohol). *Procedia Food Science*. 1:1816-1820.
- López-Hernández, Orestes Darío. 2010. Microencapsulación de sustancias oleosas mediante secado por aspersión. *Revista Cubana de Farmacia*. 44(3):381-389.
- Lopretti, M.; Barreiro, F.; Fernandes, I.; Damboriarena, A.; Ottati C. y Olivera A. 2007. Microencapsulación de compuestos de actividad biológica. *INNOTEC* (Publicación anual del Laboratorio Tecnológico del Uruguay). 2:19-23.
- Madziva, H.; Kailasapathy, K. and Phillips, M. 2006. Evaluation of alginate-pectin capsules in cheddar cheese as a food carrier for the delivery of folic acid. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie (LWT) - Food Science and Technology*. 39(2):146-151.
- Mancini, Marco; Moresi, Mauro and Rancini, Roberto. 1999. Mechanical properties of alginate gels: empirical characterisation. *Journal of Food Engineering*. 39(4):369-378.
- Mark, Daniel; Haerberle, Stefan; Zengerle, Roland; Ducree, Jens and Vladislavljević, Goran T. 2009. Manufacture of chitosan microbeads using centrifugally driven flow of gel-forming solutions through a polymeric micronozzel. *Journal of Colloid and Interface Science*. 336(2):634-641.
- Martín-Villena, M.J.; Morales-Hernández, M.E.; Gallardo-Lara, V. y Ruíz-Martínez, M.S. 2009. Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *ARS Pharmaceutica*. 50(1):43-50.
- Mofidi, N.; Aghai-Moghadam, M. and Sarbolouki, M.N. 2000. Mass preparation and characterization of alginate microspheres. *Process Biochemistry*. 35(9):885-888.
- Muthukumarasamy, Parthiban and Holley, Richard A. 2006. Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. *International Journal of Food Microbiology*. 111(2):164-169.
- Nazzaro, Filomena; Fratianni, Florinda; Coppola, Raffaele; Sada, Alfonso and Orlando, Pierangelo. 2009. Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and survival under simulated gastrointestinal

- conditions. *Journal of Functional Foods*. 1(3):319-323.
- Özer, Barbaros; Kirmaci, Hüseyin Avni; Şenel, Ebru; Atamer, Metin and Hayaloğlu, Adnan. 2009. Improving the viability of *Bifidobacterium bifidum* BB-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5 in white-brined cheese by microencapsulation. *International Dairy Journal*. 19(1):22-29.
- Özer, Barbaros; Uzun, Yakup Salih and Kirmaci, Hüseyin Avni. 2008. Effect of microencapsulation on viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 during kasar cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*. 61(3):237-244.
- Pal, Kunal; Paulson, Allan T. and Rousseau, Dérick. 2009. Biopolymers in controlled-release delivery systems. In *Modern biopolymer science. Bridging the divide between fundamental treatise and industrial application*. (pp. 519-557). London-Burlington-San Diego: Academic Press.
- Parra-Huertas, Ricardo Adolfo. 2010. Revisión: microencapsulación de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*. 63(2):5669-5684.
- Poncelet, D. 2001. Production of alginate beads by emulsification/internal gelation. In *Bioartificial organs III: tissue sourcing immunoisolation and clinical trials*. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 944:74-82.
- Razmovski, R. and Vučurović, V. 2011. Ethanol production from sugar beet molasses by *S. cerevisiae* entrapped in an alginate-maize stem ground tissue matrix. *Enzyme and Microbial Technology*. 48(4-5):378-385.
- Reddy-K, Ravindra and Reddy-P., Sabitha. 2010. Effect of different co-polymers on sodium alginate microcapsules containing isoniazid. *International Journal of PharmTech Research*. 2(4):2198-2203.
- Roy, Ipsita and Gupta, Munishwar Nath. 2004. Hydrolysis of starch by a mixture of glucoamylase and pullulanase entrapped individually in calcium alginate beads. *Enzyme and Microbial Technology*. 34(1):26-32.
- Saez, Vivian; Hernández, José Ramón y Peniche, Carlos. 2007. Las microesferas como sistemas de liberación controlada de péptidos y proteínas. *Biotecnología Aplicada*. 24(2):98-107.
- Sanguansri, Luz and Augustin, Mary Ann. 2010. Microencapsulation in functional food product development. In *Functional food product development*. (pp. 1-23). United Kingdom: Wiley-Blackwell.
- Shah, N.P. and Ravula, R.R. 2000. Microencapsulation of probiotic bacteria and their survival in frozen fermented dairy desserts. *Australian Journal of Dairy Technology*. 55(3):139-144.
- Soares, J.P.; Santos, J.E.; Chierice, G.O. and Cavalheiro, E.T.G. 2004. Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt. *Eclética Química*. 29(2):57-63.
- Sohail, Asma; Turner, Mark S.; Coombes, Allan; Bostrom, Thor and Bhandari, Bhesh. 2011. Survivability of probiotics encapsulated in alginate gel microbeads using a novel impinging aerosols method. *International Journal of Food Microbiology*. 145(1):162-168.
- Somchue, W.; Sermsri, W.; Shiowatana, J. and Siripinyanond, A. 2009. Encapsulation of  $\alpha$ -tocopherol in protein-based delivery particles. *Food Research International*. 42(8):909-914.
- Talwalkar, A. and Kailasaphaty, K. 2003. Effect of microencapsulation on oxygen toxicity in probiotic bacteria. *Australian Journal of Dairy Technology*. 58(1):36-39.
- Tan, Lai Hui; Chan, Lai Wah and Heng, Paul Wang Sia. 2009. Alginate/starch

- composites as wall material to achieve microencapsulation with high oil loading. *Journal of Microencapsulation*. 26(3):263-271.
- Wang, Kang and He, Zhmin. 2002. Alginate–konjac glucomannan–chitosan beads as controlled release matrix. *International Journal of Pharmaceutics*. 244(1-2):117-126.
- Yoo, Sang Ho; Song, Young Bin; Chang, Pahn Shick and Lee, Hyeon Gyu. 2006. Microencapsulation of  $\alpha$ -tocopherol using sodium alginate and its controlled release properties. *International Journal of Biological Macromolecules*. 38(1):25-30.
- Zou, Qiang; Zhao, Jianxin; Liu, Xiaoming; Tian, Fengwei; Zhang, He ping; Zhang, Hao and Chen, Wei. 2011. Microencapsulation of *Bifidobacterium bifidum* F-35 in reinforced alginate microspheres prepared by emulsification/internal gelation. *International Journal of Food Science & Technology*. 46(8):1672-1678.
- Zuidam, Nicolaas Jan and Shimoni, Eyal. 2010. Overview of microencapsulates for use in food products or processes and methods to make them. In *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*. (pp. 3-29). New York, NY, USA: Springer Science+Business Media, LLC.