

Materiais de revestimento utilizados na microencapsulação de probióticos

Coating materials used in the microencapsulation of probiotics

Andressa Ribas Barreto¹, Luis Guillermo Ramírez-Mérida², Mariana de Araújo Etchepare³,
Eduardo Jacob-Lopes⁴, Cristiano Ragagnin de Menezes⁴

¹Graduanda em Tecnologia em Alimentos, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos,
Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, RS, Brasil

²Mestre em Biotecnologia Alimentária, Centro de Biotecnologia Aplicada, Departamento de Biología, Universidad
de Carabobo - UC, Valência, Venezuela

³Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos,
Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, RS, Brasil

⁴Doutorado em Ciência de Alimentos, Professor do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos,
Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, RS, Brasil

Resumo

Os microrganismos probióticos conferem inúmeros benefícios para a saúde de quem os consome, porém, há vários fatores que podem afetar a sua viabilidade. A partir disso, a microencapsulação tem como objetivo melhorar a preservação de microrganismos probióticos que podem ser expostos a condições adversas. Um dos fatores que podem contribuir para a manutenção da viabilidade, é o agente encapsulante utilizado em culturas probióticas, são elas: alginato, proteína de soro de leite, pectina, Proteína de Isolada de Soja (PSI), carragena, quitosana, goma arábica, maltodextrina e amido. Neste contexto, o objetivo deste trabalho é fornecer uma revisão sobre os agentes encapsulantes mais utilizados na microencapsulação de culturas probióticas.

Palavras-chave: Agentes encapsulantes. *Bifidobacterium*. *Lactobacillus*. Microencapsulação.

Abstract

Probiotics provide certain health benefits to the consumer. There are many factors that can affect its viability. Microencapsulation aims to improve the preservation of probiotic organisms that may be exposed to adverse conditions. Among the factors contributing to maintain viability of the probiotic, the kind of encapsulated element used is very important, the best known are alginate, whey protein, pectin, isolated soy protein, carrageenan and chitosan. For all this, the aim of this paper is to show a review of the encapsulated elements used in the microencapsulation of probiotic cultures.

Keywords: Encapsulated elements. *Bifidobacterium*. *Lactobacillus*. Microencapsulation.

1 Introdução

Atualmente, os alimentos não podem mais ser vistos apenas como uma fonte de nutrientes com apelo sensorial, mas como fontes de bem-estar e saúde. Buscando satisfazer esse novo mercado, as bactérias probióticas vêm sendo incorporadas em uma grande variedade de alimentos e bebidas como iogurtes, queijos, sorvetes, sucos, chocolates, cereais e produtos cárneos (ANAL & SINGH, 2007; MENEZES et al., 2013)

Os probióticos são descritos pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como "organismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios para a saúde do hospedeiro "(FAO/WHO, 2001). O micro-organismo que se mostrar metabolicamente estável no produto, sobreviver à passagem pelo trato digestivo com alta viabilidade poderá apresentar efeitos benéficos quando presente no intestino do hospedeiro (ANAL & SINGH, 2007).

Estes componentes ou substâncias podem estar presentes naturalmente nos alimentos ou podem ser adicionados aos produtos industrializados (MENEZES et al., 2008). Os microrganismos probióticos mais utilizados são *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (SOLANKI et al., 2013).

Porém há vários fatores relatados que podem afetar a viabilidade dos probióticos, como pH, peróxido de hidrogênio, oxigênio, temperatura de armazenamento, entre outros (SHAH et al., 1995), em vista disso, a microencapsulação é um processo no qual materiais bioativos são revestidos com outros materiais de proteção ou suas misturas (HUQ et al., 2013). Nos últimos anos, foram realizados muitos estudos sobre a microencapsulação com o objetivo de melhorar a preservação de microrganismos probióticos durante o armazenamento e processamento de alimentos (LAPSIRI et al., 2012).

A manutenção de células probióticas com alta viabilidade pode ser obtida pela adição de substâncias com o objetivo de proteger as células contra injúrias provocadas pelos

processamentos. Compostos como leite, nitrogênio não protéico, hidrolisado protéico de soro de leite, L-cisteína e alguns prebióticos ou carboidratos simples podem incrementar a sobrevivência de probióticos, além de melhorarem o processo digestivo (SAVINE et al., 2010; SARKAR, 2010).

Devido à importância desse assunto neste artigo de revisão, serão abordados os agentes encapsulantes mais utilizados na microencapsulação de culturas probióticas que são capazes de aumentar sua viabilidade durante a fermentação, processamento e armazenamento.

2 Microencapsulação

A microencapsulação é uma tecnologia de empacotamento que, com finas coberturas poliméricas aplicáveis em compostos sólidos ou líquidos formam partículas denominadas microcápsulas (SHAHIDI&HAN, 1993; GIBBS et al., 1999; JAFARI, et al., 2008). Há diversas técnicas utilizadas na elaboração de microcápsulas à escolha mais adequada depende do tipo de substância ativa, da aplicação e do mecanismo de liberação. A combinação entre a substância ativa e o agente encapsulante pode ser por diversos métodos:

- Físicos: spray drying, spray cooling, recobrimento em leite fluidizado, extrusão centrífuga e pulverização em banho térmico.
- Químicos: Inclusão molecular e polimerização interfacial.
- Físico-químicos: coacervação, envolvimento lipossômico e pulverização em agente formador de reticulação.

As microcápsulas têm a capacidade de modificar e melhorar a aparência e as propriedades de uma substância. Segundo Shahidi e Han (1993), os principais motivos para o uso da microencapsulação na indústria de alimentos são: reduzir a reatividade do material de núcleo com o ambiente; diminuir a velocidade de evaporação ou de transferência do material de núcleo para o meio; facilitar a manipulação do material encapsulado; mascarar sabores e odores desagradáveis; promover a diluição homogênea

do material encapsulado em uma formulação alimentícia.

O material encapsulado é denominado recheio ou núcleo e o material que forma a cápsula denominando-se encapsulante, cobertura ou parede, conforme a figura 1 (GIBBS, 1999).

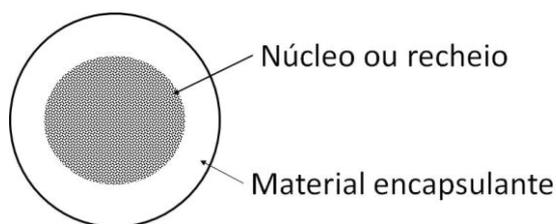


Figura 1- Representação gráfica da estrutura capsular

3 Probióticos

Segundo FOOKS et al., (1999), a palavra probiótico deriva de duas palavras gregas que significam “por vida”. O termo foi usado para significar a substância que estimula o crescimento de outro microrganismo ou extratos de tecido com os quais se promove o crescimento microbiano, porém esta denominação não recebeu aceitação geral na área científica.

A influência benéfica dos probióticos sobre a microbiota intestinal humana inclui fatores como efeitos antagônicos, competição e efeitos imunológicos, resultando em um aumento da resistência contra microrganismos patogênicos. Assim, a utilização de culturas bacterianas probióticas estimula a multiplicação de bactérias benéficas, em detrimento à proliferação de bactérias potencialmente prejudiciais, reforçando os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro (PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2002).

Os principais probióticos são pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, que fazem parte da microbiota do intestino humano, pois exercem efeitos benéficos para a saúde humana e melhoram as propriedades da microbiota nativa (MENEZES & DURRANT, 2008; COOK et al., 2012). Os microrganismos probióticos mostram esses efeitos benéficos quando um alimento contém

um número adequado (10^6 - 10^7 UFC/g) (LAPSIRI et al., 2012). A seguir na Tabela 1, os microrganismos probióticos regulamentados pela ANVISA.

Tabela 1- Microrganismos probióticos regulamentados pela ANVISA

Probióticos
<i>Lactobacillus casei shirota</i>
<i>Lactobacillus casei</i> variedade <i>rhamnosus</i>
<i>Lactobacillus casei</i> variedade <i>defensis</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i>
<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>
<i>Bifidobacterium animalis</i> (incluindo a subespécie <i>B. lactis</i>)
<i>Bifidobacterium longum</i>
<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Lactobacillus casei shirota</i>

Fonte: (BRASIL, 2008)

Os produtos lácteos são os mais comumente utilizados como veículos de bactérias probióticas, com apelo de alimento funcional, no entanto vários fatores que afetam a viabilidade dos probióticos têm sido relatados nesses produtos, incluindo concentração de açúcares, proteínas e gorduras, valor de pH, concentração de oxigênio, temperatura de armazenamento, interação com outros microrganismos contidos nos produtos e a atividade de água (CASTRO-CISLAGHI et al., 2012).

4 Agentes encapsulantes

Diversos polissacarídeos e proteínas podem ser utilizados na produção de microcápsulas. As matrizes encapsulantes mais utilizadas são alginato de cálcio, carragena, amido e amido resistente, quitosana, gelatina e

proteínas (COOK et al., 2012; BURGAIN et al., 2011).

Tabela 2- Agentes encapsulantes utilizados em microrganismos probióticos.

Microrganismos	Materiais encapsulantes
<i>B. bifidum</i>	Carragena, alginato
<i>B. infantis</i>	Alginato, xantana, amido solúvel
<i>B. lactis</i>	Alginato
<i>L. lactis</i>	Alginato
<i>L. acidophilus</i>	Alginato, alginato de cálcio, alginato + amido
<i>L. plantarum</i>	Alginato

Fonte: Adaptado de (SAKAR, 2010); (SOCOL et al., 2010).

4.1 Alginato de sódio

Na atualidade o alginato é extraído de algas marrons, e está constituído de até 40% de massa seca. O alginato de sódio é um dos polímeros mais empregados como material encapsulante, pois forma uma matriz altamente versátil, biocompatível e não tóxica para a proteção de componentes ativos, células e principalmente microrganismos probióticos, sensíveis ao calor, pH, oxigênio, entre outros fatores em que os alimentos são expostos durante seu processamento e armazenamento (PASIN et al., 2012).

Este polissacarídeo natural está constituído de unidades de ácido D-manurônico e L-gulurônico unidos linearmente unidos pela união (1-4)- glucosídico (MOKARRAM et al., 2009; KATOUSI et al., 2011; BURGAIN et al., 2011; SOHAIL et al.; 2011). A composição do alginato é um parâmetro importante na etapa da gelificação. O conteúdo do resíduo de ácido gulurônico e o peso molar do alginato variam proporcionalmente com a viscosidade. Assim, quanto maior o teor dos resíduos de ácido gulurônico, maior será a viscosidade e a rigidez do gel resultante (GOMBOTZ & WEE, 1998). Quando os teores de resíduo de ácido gulurônico são elevados, desencadeiam uma geleificação prematura do alginato, resultando em partículas de grande granulometria (PONCELET, 2001).

O alginato destaca-se por sua propriedade gelificante, formando géis pela

reação com cátions divalentes, principalmente o Ca^{2+} , que induz a um efeito cooperativo entre os blocos G (ácido gulurônico) formando uma estrutura tridimensional conhecido como “modelo caixa de ovo” (AMICI et al., 2008). Esse processo será dependente da disposição de cargas, pois em soluções acima do pH correspondente ao seu pKa (pH 3,38 – 3,65), está carregado negativamente e em baixos valores de pH a dissociação dos grupos carboxilas é suprimida (SIMSEK-EGE et al., 2003).

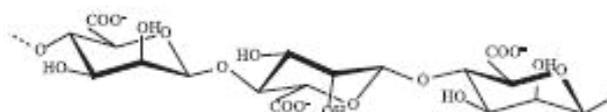


Figura 2- Estrutura química do alginato.

Fonte: (GARCIA-CRUZ et al., 2008).

4.2 Proteína de soro de leite

As proteínas do soro do leite apresentam-se como uma fonte nutricional versátil, sendo classificadas como ingredientes funcionais (SMITHERS, 2008). São de relativa importância pelo grande volume de matéria gerado, pois para cada 1 a 2 Kg de queijo produzido, são produzidos de 8 a 9 Kg de soro. Estima-se que 180 a 190 milhões de toneladas de soro de leite sejam produzidas por ano no mundo, sendo que apenas 50% são processadas (BALDASSO, et al., 2011). As principais formas de comercialização das proteínas do soro do leite são os concentrados ou isolados protéicos (PEREIRA, et al., 2002; PESIC et al., 2011).

Tendo em vista isso, as encapsulações com este material teriam grande potencialidade na produção de probióticos microencapsulados. Assim, Picot e Lacroix (2004), encapsularam cepas de *Bifidobacterium*, com proteínas de soro de leite utilizando método de emulsão e secado por aspersão, mostrando a sobrevivência e viabilidade no tempo em amostra de iogurte.

4.3 Pectina

Pode-se encontrar na parede celular de plantas e nas camadas intercelulares (lamela média) de células vegetais, conferindo rigidez estrutural às plantas (THAKUR et al., 1997). É um polissacarídeo composto por uma cadeia linear de unidades de ácido galacturônico unidas

por ligações α 1,4 em que os grupos carboxílicos do ácido galacturônico podem estar esterificados por grupamentos metil. Resíduos de açúcares neutros como ramnose, Darabinose e D-galactose estão presentes ao longo da cadeia da pectina e a fonte de extração da pectina vai determinar a quantidade e o tipo desses açúcares o que influencia suas características físico-químicas (THAKUR et al., 1997; RALET et al., 2003). A formação de géis de pectinas de baixo teor de metoxilação (<50% de grupos metil esterificados) é resultado de ligações cruzadas entre os íons bivalentes, como o cálcio, e os grupos carboxila do ácido D-galacturônico (BRACCINI & PÉREZ, 2001).

Sua capacidade de formação de complexos com outros polímeros, ocorre em função de seu balanço de cargas. Em pH acima de 2,9 encontra-se carregada negativamente, em pH abaixo deste valor, o polissacarídeo encontra-se não dissociado, portanto sem cargas, devido ao seu valor de pKa de 2,9. Mediante as suas características eletrostáticas e capacidade de formação de gel, a pectina intacta ou modificada, e pectina associada a outros polímeros naturais ou sintéticos tem sido estudada como material de revestimento em microcápsulas (RALET et al., 2001; CAMILO, 2007).

Segundo Gerez et al., (2012), foi possível encontrar uma melhora na sobrevivência de probióticos quando são microencapsulados em partículas revestidas com pectina e proteína de soro de leite após exposição às condições gástricas.

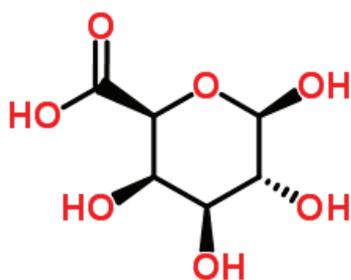


Figura 3- Estrutura química da pectina
Disponível em: <http://www.chemspider.com/>

4.4 Proteína de isolada de soja (PSI)

A (PSI) é produzida a partir do farelo de soja desengordurada por extração alcalina seguida de precipitação ácida e contém mais de 90% de proteínas (ORTIZ, et al., 2009). As principais aplicações do isolado protéico de soja

são para a formulação de produtos de panificação e confeitaria, produtos cárneos emulsionados e embutidos, e formulações de produtos lácteos como iogurtes e substitutivos de lácteos e farinhas (MORAIS et al., 1996).

Ainda são escassos os estudos visando à aplicação do isolado protéico como matriz em produtos microencapsulados, apesar de ser uma fonte barata e renovável, além de sua capacidade emulsificante, formadora de filme, e características nutricionais benéficas (CHEN et al., 2006; ORTIZ et al., 2009).

4.5 Carragena

A carragena é um polissacarídeo natural extraído a partir de algas vermelhas da classe das *Rhodophyceae*. Sua estrutura primária linear é formada por unidades alternadas de D-galactose e 3,6-anidro-D-galactose (3,6AG) com diferentes graus de sulfatação, unidas por ligações glicosídicas alternadas α -(1,3) e β -(1,4) (DE RUITER et al., 1997; IMESON, 2000).

Devido às suas propriedades de gelificação, a carragena pode ser utilizada como agente de encapsulamento (L.-E. SHI et al., 2013). Algumas pesquisas utilizaram carragena como agente encapsulante são conhecidas. Dinakar e Mistry (1994), encapsularam cepas de *Bifidobacterium bifidum* com κ -carragenina, as células se mantiveram viáveis, e não mostraram interferência na elaboração e maturação do queijo cheedar por 24 semanas.

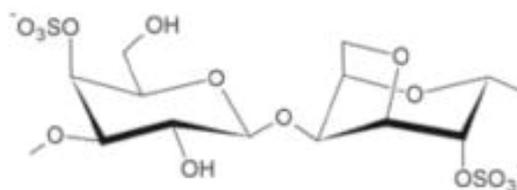


Figura 4- Estrutura química da carragena.
Fonte: (STADNIK et al., 2014).

4.6 Quitosana

A Quitosana é um polímero com caráter catiônico obtido a partir da quitina, sendo um polímero natural isolado de exoesqueleto de crustáceos aquáticos (DODANE et al., 1998; GEORGE et al., 2006). Devido às características, tais como: abundância, atoxicidade, hidro-

fobicidade, atividade antimicrobiana e, também, por sua configuração química, a quitosana vem sendo empregada na preparação de filmes, géis, microcápsulas e microesferas sendo designadas para diversos fins em áreas tecnológicas (FILHO et al., 2007).

Este polímero natural, é obtido por desacetilação da quitina (N-acetilglucosamina), possui uma alta biocompatibilidade com outros componentes, é biodegradável, solúvel em soluções ácidas comportando-se nesse meio como um polieletrólito catiônico(fácil de aderir-se a superfícies carregadas negativamente) o que faz com que tenha a capacidade de atuar como floculante, humectante e quelante (GEBELEIN & CARRAHER, 1994; KRASAEKOOPT et al., 2004; ANAL & SINGH, 2007; LI et al., 2009; HARRIS et al., 2011; ARZATE-VÁZQUEZ et al., 2012).

Ainda que a quitosana tenha sido utilizada em diversas áreas, seu uso como encapsulantes de probióticos é muito interessante, e sua mistura com outros polissacarídeos aumenta consideravelmente a potencialidade das cápsulas. Brusch e Záchia (2011), ao misturar biopolímeros de alginato-quitosana na encapsulação de *Lactobacillus plantarum* evidenciaram uma estabilidade e viabilidade por 38 dias em amostras de iogurte.

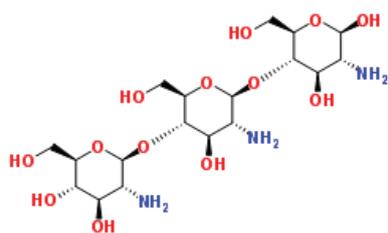


Figura 5- Estrutura química da quitosana.
Disponível em: <http://www.chemspider.com/>

4.7 Goma Arábica

A goma arábica é a mais antiga das gomas conhecidas (2.650 a.C.). Era utilizada como bandagem em mumificação e recentemente como adesivo nos selos postais (OSMAN et al., 1993). É utilizada, pois, apresenta baixa viscosidade em solução aquosa, favorece a estabilidade das emulsões, tem boa retenção de

compostos voláteis (acima de 85%) e confere proteção efetiva contra a oxidação conforme afirmam REINECCIUS, 1991; ROSENBERG et al., 1990; BHANDARI et al.,1992.

É um polissacarídeo ácido de estrutura ramificada, cuja cadeia principal é formada por unidades de D-galactopiranoose unidas por ligações glicosídicas β -D-(1-3). A esta cadeia principal, através de ligações β (1-6), estão ligadas as cadeias laterais com diferentes estruturas químicas, formadas de D-galactopiranoose, L-ramnose, L-arabinofuranose e ácido glucurônico (BOBBIO & BOBBIO, 1992).

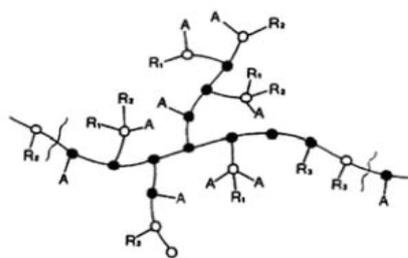


Figura 6- Estrutura química da goma arábica.
Fonte: Adaptado de: (ISLAM et al., 1997).

4.8 Maltodextrina

A maltodextrina, $[(C_6 H_{12} O_5)_n H_2O]$, polímero sacarídico nutritivo, que consiste de unidades D-glicose ligadas por cadeia α 1-4, é higroscópica e evita a aglomeração das partículas, tem efeito antioxidante e mostra retenção de voláteis na faixa de 65 a 80%, segundo(REINECCIUS et al.,1988; KENYON & ANDERSON, 1988; REINECCIUS et al., 1991; SHAHIDI & HAN, 1993).

No processo de microencapsulação de ingredientes alimentícios, maltodextrinas têm sido extensivamente utilizadas por apresentarem habilidade na proteção dos materiais encapsulados contra oxidação, sendo este fato atribuído à sua capacidade de formar filme, às suas propriedades plásticas e ao seu poder redutor (QI; XU, 1999; ELNAGGAR et al., 2010).

4.9 Amido

O amido é a substância de reserva predominante nas plantas e proporciona de 70 a 80% das calorias consumidas por humanos no mundo todo. Tanto o amido como os produtos

de sua hidrólise constituem a maior parte dos carboidratos digeríveis de uma dieta normal. O amido se diferencia de todos os demais carboidratos existentes na natureza por se apresentar como complexas partículas denominadas grânulos (FENNEMA, 1996).

O amido é um biopolímero, biocompatível, utilizado isolado ou em associação a outros polímeros, nos sistemas de liberação controlada (WANG et al., 2010; CHAN et al., 2011). É um excelente biomaterial, pois a amilopectina possui estrutura química similar ao glicogênio humano, facilitando sua utilização in vivo. O amido é também facilmente degradado a oligossacarídeos, maltose e glicose pela amilase sérica (BJÖRSES et al., 2011).

5 Conclusões

A microencapsulação representa uma metodologia importante para preservar a viabilidade dos microrganismos incorporados, os quais são necessários como elementos benéficos à microbiota intestinal.

A escolha de uma agente encapsulante faz-se importante do ponto de vista químico já que mudanças de fatores intrínsecos e extrínsecos podem afetar sua estrutura e, portanto, diminuir a ação dos probióticos.

Referências

- Amici, E.; Tetradis-Meris, G.; Torres, P.C.; Jousse, F. (2008). Alginate gelation in microfluidic channels. *Food Hydrocolloids*, 22, 97-104.
- Anal, A., Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotic for industrial applications and targeted delivery. *Food Science & Technology*, 18, 240-251.
- Arzate-Vázquez, I.; Chanona-Pérez, J.; Calderón-Domínguez, G.; Terres-Rojas, E.; Garubay-Febles, V.; Martínez-Rivas, A.; Gutiérrez-López, G. (2012). Microstructural characterization of chitosan and alginate films by microscopy techniques and texture image analysis. *Carbohydrate Polymers*, 142, 185-189.
- Baldasso, C.; Barros, T. C.; Tessaro, I. C. (2011). Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. *Desalination*, 278(1-3), 381-386.
- Bhandari, B.R.; Dumoulin, E.D.; Richard, H.M.J.; Noleau, I. & Lebert, A.M.(1992). Flavor encapsulation by spray drying: application to citral and linalyl acetate. *Journal of Food Science*, 57(1), p.217-221.
- Björse, K.; Faxälv, L.; Montan, C.; Wildt-Persson, K.; Fyhr, P.; Holst, J.; Lindahl, T. L.(2011). In vitro and in vivo evaluation of chemically modified degradable starch microspheres for topical haemostasis. *Acta Biomaterialia*, 7, 2558– 2565.
- Bobbio, F.O.; Bobbio, P.A. (1992). Introdução à química de alimentos. 2ª edição. São Paulo: Livraria Varela.
- Braccini, I.; Pérez S. (2001). Molecular basis of Ca²⁺-induced gelation in alginates and pectins: the egg-box model revisited. *Biomacromolecules*, 2(4), 1089-1096.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa, Resolução N° 18. Diário Oficial [Da] República Federativa do Brasil, Brasília, Abril de 1999. Anvisa. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ix-Lista de Alegações de Propriedade Funcional Aprovadas. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, Julho de 2008.
- Brusch, G.B.; Záchia, A.M.A. (2011). Effect of microencapsulation on survival of *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration and yogurt. *Journal of Food Engineering*, 103, 123-128.
- Burgain, J.; Gaiani, C.; Linder, M.; Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: from laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104, 467– 483.
- Camilo, K.F.B. (2007). Complexo pectina/caseína: aspectos básicos e aplicados. Tese, USP, Ribeirão Preto, São Paulo, 166.
- Castro-Cislaghi, F. P.; Silva, C. R. E.; Fritzen-Freire, C. B.; Lorenz, J. G.; Sant'Anna, E. S. (2012). *Bifidobacterium* Bb-12 microencapsulated

by spray drying with whey: survival under simulated gastrointestinal conditions, tolerance to nacl, and viability during storage. *Journal of Food Engineering*, 113, 186-193.

Chan, E. S.; Wong, S. L.; Lee, P. P.; Lee, J. S.; Ti, T. B.; Zhang, Z.; Poncelet, D.; Ravindra, P.; Phan, S. H.; Yim, Z. H. (2011). Effects of starch filler on the physical properties of lyophilized calcium–alginate beads and the viability of encapsulated cells. *Carbohydrate Polymers*, 83, 225-232.

Chen, L.; Remondetto, G. E.; Subirade, M. (2006). Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. *Trends In Food Science & Technology*, 17, 272–283.

Cook, M.T. (2012). Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *Journal of Controlled Release*, 162, 56-67.

De Ruitter, G. A.; Rudolph, B. (1997). Carrageenan biotechnology. *Trends in Food Science & Technology*, 8(12), 389-395.

Dinakar, P.; Mistry, V.V. (1994). Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 77(10), 2854-2864.

Dodande, V.; Vilivalan, D. V. (1998). Pharmaceutical Applications of chitosan. *Pstt*. 1(6).

Doherty, S. B., Gee, V. L., Ross, R. P., Stanton, C., Fitzgerald, G. F., & Brodtkorb, A. (2011). Development and characterisation of whey protein micro-beads as potential matrices for probiotic protection. *Food Hydrocolloids*, 25, 1604–1617.

E. Shi, L.; Li, Z.H.; Zhang, Z.L.; Zhang, T.T.; Yu, W.M.; Zhou, M.L.; Tang, Z.X. (2013). Encapsulation of lactobacillus bulgaricus in carrageenan-locust bean gum coated milk microspheres with double layer structure. *LWT-Food Science and Technology*, 54, 147-151.

Elnaggar, Y.S.R.; El-Massik, A.M.; Abdallah O.Y. Ebian, A.E.R. (2010). Maltodextrin: a novel excipient used in sugar-based orally

disintegrating tablets and phase transition process. *AAPSP PharmSciTech*, 11, 645-651.

FAO/WHO (2001). Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report (http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf).

Fennema, O. (1996). *Food Chemistry*. New York: Marcel Dekker Inc, 1069.

Filho, S.P.C.; Cardoso, M.B.; Signini, R. (2007). *Revista de Processos Químicos*, 2, 9.

Fooks, L.J.; Fuller, R.; Gibson, G.R. (1999). Prebiotics and human gut microbiology. *International Dairy Journal*, 9, 53-61.

García-Cruz, C. H.; Foggetti, U.; da SILVA, A. N. (2008). Alginato bacteriano: aspectos tecnológicos, características e produção. *Química Nova*, 31(7), 1800-1806.

Gebelein, C.G.; Carraher, C.E.Jr. (1994). *Biotechnology and bioactive polymers*. First edition. Plenum Press. Florida, EE.UU, 342 p.

George, M.; Abraham, E.T. (2006). Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of the protein drugs: alginate end chitosan – a review. *Journal of Controlled Release*, 114, 1-14.

Gerez, C. L.; Font De Valdez, G.; Gigante, M. L.; Grosso, C. R. F. (2012). Whey protein coating bead improves the survival of the probiotic lactobacillus rhammnous crl 1505 to low pH. *Letters in Applied Microbiology*, 54, 552–556.

Gibbs, S. (1999). Encapsulation in the food industry: a review. *International Journal of Food Sciences And Nutrition*, 50(3), 213-224.

Gombotz, W.R.; Wee, S.F. (1998). Protein release from alginate matrices. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 31(3), 267–285.

Harris, R.; Lecumberri, E.; Mateos-Aparicio, I.; Mengíbar, M.; Heras, A. (2011). Chitosan nanoparticles and microspheres for the encapsulation of natural antioxidants

- extracted from *Ilex paraguariensis*. *Carbohydrate Polymers*, 84, 803-806.
- Huq, T.; Khan, A.; Khan, R. A.; Riedl, B.; Lacroix, M. (2013). Encapsulation of probiotic bacteria in biopolymeric system. *Critical Reviews in Food Science And Nutrition*, 53(9), 909-916.
- Imeson, A. P. (2000) Carrageenan. In: *Handbook of hydrocolloids*. Phillips, G. O.; Williams, P. A. (Eds.), Crc Press: Boca Raton.
- Jafari, S. M.; Assadpoor, E.; He, Y.; Bhandari, B. (2008). Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technology*, 26(7), 816-835.
- Katouzi, S.; Majd, A.; Fallahian, F.; Bernard, F. (2011). Encapsulation of shoot tips in alginate beads containing salicylic acid for cold preservation and plant regeneration in sunflower (*Helianthus annuus L.*) *Australian Journal of Crop Science*, 5(11), 1469-1474.
- Kenyon, M.M. & Anderson, R.J. (1998). Maltodextrins and low-dextrose-equivalence with syrup solids. In: *Flavor encapsulation (RISCH & REINECCIUS)*, 7-11, ACS Symposium series nº 370, American Chemical Society.
- Krasaekoopt, W.; Bhandari, B.; Deeth, H.C. (2004). The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 14, 737-743.
- Lapsiri, W.; Bhandari, B.; Wanchaitanawong, P. (2012). Viability of *Lactobacillus plantarum* TISTR 2075 in different protectants during spray drying and storage. *Drying Technology*, 30(13), 1407-1412.
- Li, X.Y.; Jin, L.J.; Uzonna, J.E.; Li, S.Y.; Liu, J.J.; Li, H.Q.; Lu, Y.N.; Zhen, Y.H.; Xu, Y.P. (2009). Chitosan-alginate microcapsules for oral delivery of egg yolk immunoglobulin (IgY): In vivo evaluation in a pig model of *Enteric colibacillosis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 4(129), 132-136.
- Menezes, C. R. Barin, J.S.; Chicoski, A.L.; Zepka, L.Q.; Jacob-Lopes. E.; Fries, L.M.M.; Terra, N.N. (2013). Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. *Ciência Rural*, 43(7), 1309-1316.
- Menezes, C.R.; Durrant, L.R. (2008). Xilooligossacarídeos: Produção, aplicações e efeitos na saúde humana. *Ciência Rural*, 38, 587-592.
- Mokarran, R.R.; Mortazavi, S.A.; Najafi, M.B.H.; Shahidi, F. (2009). The influence of potencial probiotic bactéria in simulted gastric and intestinal juice. *Food Research International*, (42), 1040-1045.
- Morais, A.A.C.; Silva, A.L. (1996). Soja: Suas aplicações. Rio De Janeiro: Editora Médica E Científica, 259.
- Ortiz, S.E.M.O.; Mauri, A.; Monterrey-Quintero, E.S.; Trindade, M.A.; Santana, A.S.; Favaro-Trindade, C.S. (2009). Production and properties of casein microencapsulated by spray drying with soybean protein isolate. *LWT- Food Science And Technology*, 42, 919-923.
- Osman, M. E.; Williams, P. A.; Menzies, A. R.; Phillips, G. O. (1993). Characterization of commercial samples of gum Arabic. *J Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 71-77.
- Pasin, B. L.; Azón, C. G.; Garriga, A. M. (2012). Microencapsulación com alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología De Alimentos*, 3(1), 130-151.
- Pereira, C. D.; Diaz, O.; Cobos, A. (2002). Valorization of by-products from ovine cheese manufacture: clarification by thermocalcic precipitation/microfiltration before ultrafiltration. *International Dairy Journal*, 12(9), 773-783.
- Pesic, M. B.; Barac, M. B.; Vrvic, M. M.; Ristic, N. M.; Macej, O. D.; Stanojevic, S. P.; Kostic, A. Z. (2011). The distributions of major whey proteins in acid wheys obtained from caprine/bovine and ovine/bovine milk mixtures. *International Dairy Journal*, 21(10), 831-838.

- Picot, A.; Lacroix, C. (2004). Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Dairy Journal*, 14, 505-515.
- Poncelet, D. (2001). Production of alginate beads by emulsification/internal gelation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 944, 74-82.
- Puupponen-Pimiä, R.; Aura, A.M.; Oksmancaldentey, K.M.; Myllärinen, P.; Saarela, M.; Mattila-Sanholm, T.; Poutanen, K. (2002). Development of functional ingredients for gut health. *Trends in Food Science & Technology*, Amsterdam, 13, 3-11.
- Qi, Z.H. Xu, A. (1999). Starch-based ingredients for flavor encapsulation. *Cereal Foods World*, 44, 460-465.
- Ralet, M.-C.; Dronnet, V.; Buchholt, H. C.; Thibault, J.-F. (2001). Enzymatically and chemically de-esterified lime pectins: characterisation, polyelectrolyte behaviour and calcium binding properties. *Carbohydrate Research*, 336, (2), 117-125.
- Reineccius, G. A. (1988) Spray-drying of food flavors. In: RISCH, S. J.; REINECCIUS, G. A. *Flavor encapsulation*. Washington, DC: ACS, 55-66.
- Reineccius, G.A.(1991).Carbohydrates for flavor encapsulation. *Food Technology*, 144-146.
- Rosenberg, M.; Kopelman, I.J. & Talmon, Y.(1990). Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. *J. Agric. Food Chem.*, 36, 1288-1294.
- Sarkar, S. (2010). Approaches for enhancing the viability of probiotics: a review. *British Food Journal*, 112, (4), 329-349.
- Savini, M.; Cecchini, C.; Verdenelli, M.C.; Silvi, S.; Orpianesi, C.; Cresci, A. (2010). Pilot-scale production and viability analysis of freeze-dried probiotic bacteria using different protective agents. *Nutrients*, 2, 330-339.
- Shah, N. P., Lankaputhra, W. E. V., Britz, M. L., & Kyle, W. S. A. (1995). Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. *International Dairy Journal*, 5, 515–521.
- Shahidi, F. & Han, X.Q.(1993). Encapsulation of Food Ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(6), 501-547.
- Simsek-Ege, Fa; Gillian M. Bond, Gm; Stringer, J. Polyelectrolyte complex formation between alginate and chitosan as a function of pH. *Journal of Applied Polymer Science*, 88, 346-351.
- Smithers, G. W. (2008). Whey and whey proteins-from 'gutter-to-gold'. *International Dairy Journal*, 18(7), 695-704.
- Socol, C.R.; Vandenberghe, L.P.S.; Spier, M.R.; Medeiros, A.B.P.; Yamaguishi, C.T.; Lindner, J.D.; Pandey, A.; Soccol, V.T. (2010). The potential of probiotics. *Food Technology and Biotechnology*, 48(4), 413-434.
- Sohail, A.; Turner, N.S.; Coombes, A.; Bostrom, T.; Bhandari, B. (2011). Survivability of probiotics encapsulated in alginate gel microbeads using a novel impinging aerosols method. *International Journal of Food Microbiology*, 145, 162-168.
- Solanki, H. K.; Pawar, D. D.; Dushyant, A. S.; Prajapati, V. D.; Jani, G. K.; Mulla, A. M.; Thakar, P.M. (2013). Development of microencapsulation delivery system for long-term preservation of probiotics as biotherapeutics agent. *BioMed Research International*, 1–21.
- Stadnik, M. J.; de Freitas, M. B. (2014). Algal polysaccharides as source of plant resistance inducers. *Tropical Plant Pathology*, 39(2), 111-118.
- Thakur, B. R.; Singh, R. K.; Handa, A. K. (1997). Chemistry and uses of pectin - a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37(1), 47-73.

Wang, Q.; Hu, X.; Du, Y.; Kennedy, J.(2010).
Alginate/starch blend fibers and their
properties for drug controlled release.
Carbohydrate Polymers, 82, 842-847.