

Importancia de la encapsulación de probióticos: gelificación iónica y coacervación compleja como técnicas prometedoras para uso alimentario*

Importance of probiotic encapsulation: ionic gelation and complex coacervation as promising techniques for food use

MOSQUERA-VIVAS, ESMERALDA-STELLA¹; AYALA-APONTE, ALFREDO-ADOLFO²; SERNA-COCK, LILIANA³

Historial del artículo

Recibido para evaluación: 13 de febrero 2023

Aprobado para publicación: 19 de Junio 2023

* Proyecto de investigación de origen: "Encapsulación de bacterias probióticas y evaluación de su viabilidad en una matriz de fruta deshidratada". Financiación: Beca doctoral, MinCiencias (2015), Universidad del Valle. Finalización: diciembre de 2022.

- 1 Universidad del Valle, Facultad de Ingeniería, Grupo de investigación Ingeniería de los Procesos Agroalimentarios y Biotecnológicos (GIPAB). M.Sc. Ingeniería de Alimentos. Cali, Colombia. <https://orcid.org/my-orcid?orcid=0000-0001-7913-835X>
- 2 Universidad del Valle, Facultad de Ingeniería, Grupo de investigación Ingeniería de los Procesos Agroalimentarios y Biotecnológicos (GIPAB). M.Sc. Ingeniería de Alimentos. Cali, Colombia. <https://orcid.org/0000-0003-0310-3577>
- 3 Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería y Administración, Grupo de investigación Bacterias Acido Lácticas y sus Aplicaciones Biotecnológicas - Industriales (GIBALABI). Ph.D. En Ingeniería con Énfasis en Ingeniería de Alimentos. Palmira, Colombia. <https://orcid.org/0000-0003-2911-0871>

Correspondencia: esmeralda.mosquera@correounivalle.edu.co

Cómo citar este artículo

MOSQUERA-VIVAS, ESMERALDA-STELLA; AYALA-APONTE, ALFREDO-ADOLFO; SERNA-COCK, LILIANA. Importancia de la encapsulación de probióticos: gelificación iónica y coacervación compleja como técnicas prometedoras para uso alimentario. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, v. 22, n. 1, 2024, p. 105-123. Doi: <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v22.n1.2024.2223>

RESUMEN

La microflora intestinal cuenta con microorganismos vivos que promueven el bienestar y la salud del intestino y de manera indirecta de diferentes sistemas del cuerpo. Cuando se suministran microorganismos probióticos en dosis correctas y de manera adecuada, estos contribuyen a la disminución de adquirir ciertas enfermedades; los probióticos cuentan con numerosas propiedades que inciden sobre la microflora del organismo resultando beneficiosos principalmente en la salud intestinal y en el sistema inmunológico, que pueden ser suministrados por productos nutraceuticos o por alimentos funcionales. Sin embargo, existen limitaciones en su uso debido a que son sensibles bajo condiciones adversas del entorno, se degradan en matrices alimentarias en condiciones ácidas del tracto gastrointestinal, lugar donde deben ejercer su mecanismo de acción para generar los efectos benéficos en la salud del hospedero. Por lo tanto, es importante la implementación de estrategias que brinden protección a los probióticos frente a condiciones no favorables, para mantener significativamente la viabilidad durante el procesamiento y en el sistema digestivo. Existen diversas técnicas de encapsulación, entre ellas la gelificación iónica y la coacervación compleja, ambos métodos con grandes bondades para la protección de microorganismos probióticos y amplias ventajas para la aplicación en diferentes matrices alimentarias; estas técnicas, se realizan con materiales no tóxicos, naturales y aprobados para el consumo humano. La presente revisión tiene por objetivo presentar aspectos importantes sobre los microorganismos probióticos en la industria de alimentos, en la salud, y la necesidad de las barreras de protección con enfoque principalmente en el método de gelificación iónica y coacervación compleja como técnicas emergentes de encapsulación.

ABSTRACT

The intestinal microflora has living microorganisms that promote the well-being and health of the intestine and indirectly of different systems of the body. When probiotic microorganisms are supplied in the correct dose and in an adequate manner, they contribute to the reduction of acquiring certain diseases; Probiotics have numerous properties that affect the microflora of the body, resulting in benefits mainly for intestinal health and the immune system, which can be supplied by nutraceutical products or functional foods. However, there are limitations in their use because they are sensitive under adverse environmental conditions, they degrade in food matrices under acidic conditions of the gastrointestinal tract, where they must exert their mechanism of action to generate beneficial effects on the health of the host. Therefore, it is important to implement strategies that provide protection to probiotics against unfavorable conditions, to significantly maintain viability during processing and in the digestive system. There are various encapsulation techniques, including ionic gelation and complex coacervation, both methods with great benefits for the protection of probiotic microorganisms and broad advantages for application in different food matrices; These techniques are made with non-toxic, natural materials approved for human consumption. This review aims to present important aspects of probiotic microorganisms in the food industry and the need for protective barriers, focusing mainly on encapsulation techniques by ionic gelation and complex coacervation.

PALABRAS CLAVE:

Probióticos; *Lactobacillus*;
Encapsulación; Gelificación iónica;
Coacervación compleja; Alimentos
funcionales; Sistema digestivo;
Viabilidad; Sistema inmunológico;
Beneficio para la salud.

KEYWORDS:

Probiotics; *Lactobacillus*;
Encapsulation; Ionic gelation;
Complex coacervation;
Functional Foods; Digestive
system; Viability; Immune
system; Health benefit.

INTRODUCCIÓN

Los alimentos funcionales contienen componentes activos que con un consumo habitual favorecen la salud del consumidor. Dentro del concepto de funcional se encuentran los alimentos con microorganismos probióticos (Rodríguez *et al.*, 2016), los cuales se definen como microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren efectos benéficos en la salud del huésped (Farahmand *et al.*, 2022). Algunos de sus efectos positivos son: producción de sustancias inhibidoras de patógenos, prevención de la adhesión de ciertas células bacterianas, degradación de toxinas, modulación beneficiosa de la flora microbiana gastrointestinal y fortalecimiento del sistema inmunológico (Liu *et al.*, 2020). El buen funcionamiento del tracto gastrointestinal y, por lo tanto, la mejora del sistema inmunológico están estrechamente relacionados con la presencia de probióticos en la flora, la cual se puede incrementar con la inclusión de los mismos en la dieta normal (Zhou *et al.*, 2020).

En general, los probióticos se administran por vía oral y están disponibles comercialmente en forma de alimentos funcionales, suplementos dietéticos y fármacos (probióticos medicinales) (Plaza *et al.*, 2019; Yoha *et al.*, 2022). En las últimas décadas, la industria de los alimentos probióticos y funcionales ha ido creciendo debido al interés de los consumidores por la salud y la calidad de vida (Obradović *et al.*, 2022), ocasionando que el mercado mundial de los suplementos probióticos se proyecte que alcance los USD 76,85 mil millones para 2024 (Yoha *et al.*, 2022). Cada vez se encuentran más formulaciones con probióticos, el inconveniente está en que estos microorganismos libres, es decir sin ninguna barrera de protección, suelen ser muy sensibles tanto al procesamiento de los alimentos como en las condiciones gastrointestinales y mantener su supervivencia en el producto que se va a consumir es tan esencial como mantener su viabilidad al pasar por el tracto gastrointestinal (Farahmand *et al.*, 2022).

Varios intentos se han llevado a cabo para aumentar el recuento de cepas viables durante la producción de alimentos que contengan dichos microorganismos. Como resultado, la encapsulación ha sido considerada como una de las técnicas más exitosas para preservar la viabilidad y funcionalidad de los probióticos vivos en los alimentos y en el sistema digestivo por atrapamiento dentro de una matriz protectora de material biopolimérico (Reque and Brandelli, 2021). Actualmente, los métodos de encapsulación de probióticos más comunes son extrusión, emulsión, coacervación, liofilización y secado por aspersion (Mahmoud *et al.*, 2020); entre otras técnicas, se encuentra la gelificación iónica por su fácil preparación (Ortiz *et al.*, 2021), también con bondades prometedoras para la encapsulación de probióticos con aplicación en la industria de alimentos.

El principal objetivo de esta revisión es presentar una recopilación de información científica sobre la importancia de los probióticos en la industria de alimentos, y la necesidad de barreras de protección enfocada principalmente sobre el método de gelificación iónica y coacervación compleja como técnicas emergentes de encapsulación.

DESARROLLO DEL TEMA

Probióticos

Los probióticos, según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud (FAO and OMS, 2006), se definen como microorganismos vivos que, cuando se consumen en cantidades apropiadas como parte de un alimento, confieren al huésped un beneficio en la salud. Se ha recomendado que un producto probiótico debe contener al menos $10^6 - 10^7$ UFC/g de bacterias probióticas viables, o un total de $10^8 - 10^9$ UFC, para presentar un efecto terapéutico, basado en un consumo mínimo diario de 100 g o 100 mL de alimento probiótico (Min *et al.*, 2019; Liao *et al.*, 2021).

Con evidencia científica sólida que respalda su eficacia y seguridad, los probióticos se han convertido en ingredientes populares para desarrollar alimentos, cada vez es más habitual encontrar bebidas, postres y snacks fortificados con cepas probióticas comerciales, siendo las más utilizadas las pertenecientes a la familia *Lactobacillaceae*, así como el género *Bifidobacterium* (Azam *et al.*, 2020; Fiocco *et al.*, 2020; Cunningham *et al.*, 2021). Entre estas especies, *L. reuteri* y *B. animalis lactis* son los más sugeridos para ser utilizados en alimentos (Afzaal *et al.*, 2020), sin embargo, especies de *Bifidobacterias* son más susceptibles al deterioro por la presencia de oxígeno con respecto a las especies de *Lactobacillus* (Vasiljevic and Shah, 2008), lo cual es importante en la elección de las cepas, ya que la presencia de oxígeno en productos que contienen probióticos puede tener un efecto perjudicial sobre la viabilidad. Además, según Jiang *et al.* (2021), los probióticos, especialmente *Lactobacillus*, pueden inhibir el crecimiento de patógenos y mejorar la inmunología y las funciones metabólicas del huésped, lo cual puede inferir que el uso de especies de *Lactobacillus* sea prometedor para aplicaciones alimentarias.

Está comprobado por la evidencia científica que los probióticos aportan innumerables beneficios para la salud del huésped, brindan protección frente a una amplia gama de enfermedades, desde infecciones hasta enfermedades psicológicas e incluso degenerativas, lo que justifica el creciente interés por el consumo de alimentos que los incluyen en la formulación (Marques *et al.*, 2021).

Beneficios de los probióticos en la salud

Los probióticos promueven en las células epiteliales intestinales la secreción de más mucina, inhiben la expresión de citocinas proinflamatorias y de citocinas protectoras, al mismo tiempo, regulan otros órganos a través del eje microbioma-intestino-cerebro, eje microbioma-intestino-pulmón y eje microbioma-intestino-hígado (Spacova *et al.*, 2020). Los investigadores están tratando de entender los mecanismos por los cuales los probióticos combaten la inflamación intestinal, estos consisten en la competencia por nutrientes y sitios de inclusión, producción de metabolitos antimicrobianos, cambios en condiciones medioambientales, modulación de la respuesta inmune del huésped (Cook *et al.*, 2012; Saad *et al.*, 2013).

La figura 1 muestra un esquema donde se representan los principales mecanismos de acción de los probióticos para proporcionar respuestas positivas a la salud; estos mecanismos inducen a varias respuestas beneficiosas en el huésped, en general, los efectos consisten en: 1) Exclusión y competencia con la adhesión de patógenos a células epiteliales, 2) estimulación inmunitaria innata, 3) competencia por nutrientes y productos prebióticos, 4) producción de sustancias antimicrobianas y, por lo tanto, antagonismo de patógenos, 5) protección de la integridad de la barrera intestinal y 6) regulación de citoquinas antiinflamatorias e inhibición de la producción de citoquinas proinflamatorias (Saad *et al.*, 2013).

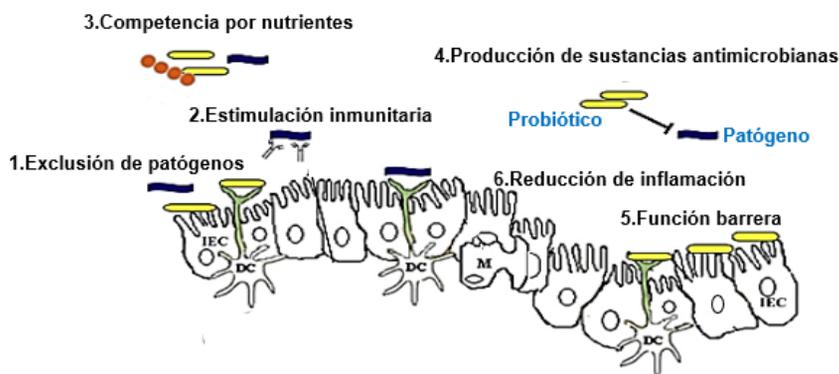


Figura 1. Mecanismos de acción de los probióticos.

IEC: Células epiteliales intestinales, DC: célula dendrítica, M: Células intestinales. Adaptado de Saad *et al.*, (2013).

Además de ser importantes para la digestión y absorción de nutrientes, el tracto gastrointestinal juega un papel importante en la desintoxicación de los alimentos ingeridos y en la inmunidad. Además, tienen una estrecha relación con otros órganos, lo que significa que sus funciones también son afectadas negativamente cuando el tracto gastrointestinal no funciona bien. Las características inmunitarias del tracto son determinadas por su estructura, funciones y microambiente único, los cuales están influenciados por la presencia de microorganismos en la flora intestinal (Zhou *et al.*, 2020). También juegan un papel importante en el alivio del estreñimiento, el alivio de la intolerancia a la lactosa, la mejora del sueño y la prevención de contagios de infecciones virales (West *et al.*, 2021), así como también la reducción del colesterol sérico, reducción de la presión arterial y efectos anticancerígenos (Yan *et al.*, 2020).

El consumo temprano de probióticos favorece la colonización de la flora intestinal, estimula la maduración de la mucosa intestinal del tejido linfoide y de las vellosidades en el intestino delgado (Phillips *et al.*, 2020). Diferentes especies de bacterias probióticas han sido incorporadas en una amplia gama de alimentos, principalmente en matrices no lácteas que han ganado importancia por los investigadores que buscan alternativas continuamente para aliviar problemas de los consumidores de matrices lácteas como la intolerancia a la lactosa y a los alérgenos lácteos; en paralelo con las inclinaciones hacia el veganismo, han estimulado el desarrollo de cereales, soya, frutas, verduras y chocolate como matrices innovadoras de alimentos probióticos (Fiocco *et al.*, 2020; Pimentel *et al.*, 2021). La inclusión de probióticos en matrices de alimentos abarca varios desafíos tecnológicos, entre ellos sobrevivir a una variedad de factores de estrés durante el procesamiento (por ejemplo, presión osmótica, altas temperaturas, bajo pH, actividad de agua reducida y agotamiento de nutrientes) (Bosnea *et al.*, 2017; Adilah *et al.*, 2022).

Entre los alimentos funcionales, están siendo tendencia de consumo aquellos que incluyen en su formulación microorganismos encapsulados, con el fin de brindar protección a los microorganismos y disminuir la pérdida de su carácter probiótico. Estudios recientes han demostrado que, durante la última década, se están realizando investigaciones en el desarrollo de nuevos métodos para proteger las bacterias probióticas de las tensiones ambientales. La aplicación de diferentes técnicas de microencapsulación ha demostrado ser un método prometedor para la protección y conservación de la viabilidad celular frente a diferentes situaciones ambientales durante la producción, procesos de fermentación y condiciones gastrointestinales (Krunić *et al.*, 2019).

Según Yao *et al.* (2020), los probióticos libres (no encapsulados) administrados por vía oral son fácilmente destruidos por las duras condiciones dentro del tracto gastrointestinal humano, incluida la presencia de lisozima antimicrobiana en la boca y, aún más, por las condiciones de bajo pH en el estómago, las sales biliares y enzimas digestivas en el intestino delgado. Como resultado, solo una pequeña fracción de los probióticos ingeridos llega al gran intestino, por lo que es importante construir sistemas de entrega que pueden proteger a los probióticos de las duras condiciones dentro del tracto gastrointestinal, para posteriormente ser liberarlos en el colon (Jiang *et al.*, 2022).

Durante las últimas décadas, el interés del consumidor por alimentos más saludables ha contribuido en gran medida al desarrollo de alimentos funcionales (Obradović *et al.*, 2022). Esta situación, ha generado un creciente interés en los fabricantes de alimentos con propiedades probióticas (Guiné *et al.*, 2021).

Mercado de alimentos probióticos

Según La Corporación Británica de Radiodifusión (BBC, 2020), el mercado global de probióticos debería alcanzar los USD 90,7 mil millones de dólares para 2027 desde USD 61,2 mil millones en 2022 a una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR, por sus siglas en inglés) del 8,2 % para el período de pronóstico de 2022 a 2027. El aumento de las preferencias de los consumidores por los productos naturales es un factor importante que influye en el crecimiento del mercado. Los crecientes requisitos de los consumidores para la atención médica preventiva y la eficacia de las bacterias probióticas en la salud están impulsando su expansión: hoy en día,

hay muchas personas que sufren de obesidad, problemas digestivos, infecciones gastrointestinales y otras dolencias; considerando esto, los actores del mercado han desarrollado productos probióticos para ayudar en el tratamiento de estas enfermedades.

ENCAPSULACIÓN

La tecnología de encapsulación implica el proceso por el que pequeñas partículas, en su mayoría bioactivas, se rodean de una pared que consiste en un polímero formando un complejo de cubrimiento conocido como cápsula (Muhoza *et al.*, 2020), dicha matriz es semipermeable y fuerte, rodea un núcleo líquido o sólido (Harpeni *et al.*, 2021). Según Burgain *et al.* (2011) las cápsulas producidas pueden ser mononucleares con un solo núcleo cubierto por una capa y agregados con muchos núcleos incrustados en una matriz (figura 2).

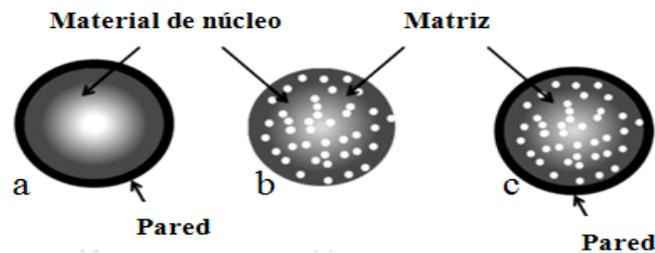


Figura 2. Esquema representativo de las cápsulas.

a) Tipo reservorio; b) Tipo matriz; c) Tipo matriz recubierta. Adaptado de Burgain *et al.* (2011)

Las técnicas de microencapsulación son ampliamente utilizadas en alimentos, cosméticos, textiles, agricultura, artes gráficas, impresión, industrias tecnológicas y farmacéuticas (Muhoza *et al.*, 2020). En la industria de alimentos, las microcápsulas pueden añadirse a la matriz alimentaria, y la elección de la técnica de microencapsulación y los polímeros para cubrir los compuestos bioactivos o probióticos son los que impulsan su liberación durante la digestión (Marluci *et al.*, 2022).

La encapsulación de probióticos es un enfoque para mejorar la viabilidad de los probióticos durante el procesamiento de alimentos y dentro del intestino (Guo *et al.*, 2022). Varias técnicas de encapsulación se utilizan para la protección de estas bacterias, entre ellas la extrusión, liofilización, gelificación, el secado por aspersión, la emulsificación, coacervación, entre otras (Mahdi *et al.*, 2020). Entre las tecnologías empleadas para encapsulación de probióticos, la emulsificación y el secado por pulverización son las más estudiadas y aplicadas, sin embargo, están emergiendo tecnologías como la coacervación compleja con resultados prometedores, con bondades en cuanto a morfología de las cápsulas y propiedades funcionales (Bosnea *et al.*, 2017; Marques *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2020; Sharifi *et al.*, 2021). Para mejorar las partículas, diferentes investigadores argumentan que una alternativa es utilizar métodos combinados y así asegurar un mayor efecto protector sobre los microorganismos (Beldarrain *et al.*, 2020).

Gelificación iónica

Esta técnica de encapsulación, que también se recomienda para agentes hidrofóbicos, se basa en interacciones iónicas entre un polímero y un polianión de bajo peso molecular o polication que produce un gel insoluble dentro de una sustancia activa, de esta manera, la sustancia a encapsular queda atrapada en la matriz de un polisacárido y su liberación posterior se realiza a través de cambios de fase de gel (Miranda *et al.*, 2020). La gelificación

iónica es un método de encapsulación que se puede realizar mediante procesos de atomización, extrusión y coextrusión, o pulverización electrostática (Colak *et al.*, 2016). Las cápsulas producidas por gelificación iónica son formadas a través reticulación; cuando se usa alginato, el hidrogel se puede formar a través de una reacción iónica, interactuando entre grupos COO^- (carboxilato) y cationes divalentes, es decir, bario (Ba^{2+}), calcio (Ca^{2+}) o iones de estroncio (Sr^{2+}) (Thanh *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2022).

Los mecanismos de gelificación iónica se clasifican en cinco grupos: gelificación interrumpida externa, interna, inversa, interfacial y de varios pasos (Alkhatib *et al.*, 2022). La gelificación iónica externa es la más utilizada para producir cápsulas y consiste en que el agente (aceites, probióticos, vitaminas, entre otros) se dispersa primero en una fase acuosa continua, que comúnmente se usa una solución de alginato, esta mezcla del agente y del alginato se atomiza en un baño de gelificación (figura 3). Al inicio del proceso, se forma una membrana semisólida que rodea la cápsula generada, en esta etapa, el núcleo todavía es líquido, posteriormente, de forma gradual el núcleo se transforma en sólido a medida que las gotas entran en contacto con un agente reticulante (solución de cloruro de calcio Ca^{2+}) hasta que la cápsula es completamente sólida (Thanh *et al.*, 2020).

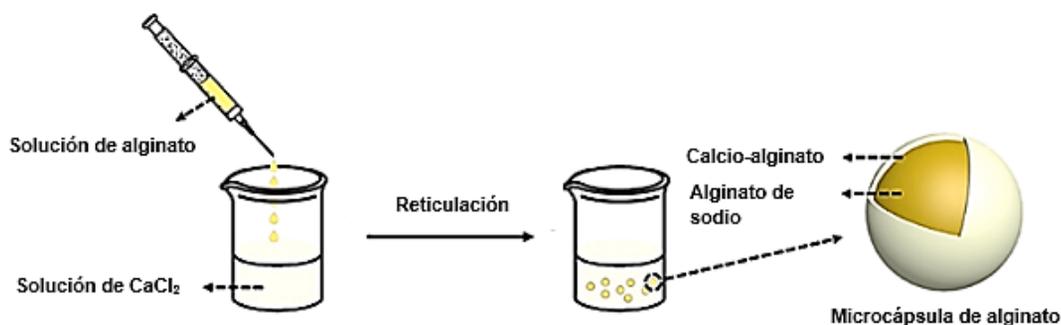


Figura 3. Técnica de gelificación iónica

Adaptado de Wang *et al.* (2022)

Ventajas de la gelificación iónica. La gelificación iónica es un método simple, de bajo costo, no requiere ningún equipo especial (Miranda *et al.*, 2020), emplea condiciones suaves, ya que no utiliza altas temperaturas, agitación vigorosa o disolventes orgánicos, lo que permite la encapsulación de sustancias que se degradarían en tales condiciones (Colak *et al.*, 2016). Este proceso tiene facilidad de gelificación lo que conlleva a la formación de cápsulas y apropiado comportamiento en la desintegración dependiente del pH para la liberación de los compuestos (Kim *et al.*, 2021), por tal razón, está siendo ampliamente utilizada para la encapsulación de probióticos con resultados favorables (Loyeau *et al.*, 2021; Farahmand *et al.*, 2022; Raddatz *et al.*, 2022).

Se ha reportado el uso de la gelificación iónica para la encapsulación de probióticos como el caso de *Bifidobacterium bifidum* en una matriz de alginato de sodio y k-carragenina. Estas cápsulas se adicionaron a queso cheddar con la finalidad de determinar la viabilidad del probiótico, en el queso adicionado con el probiótico encapsulado se encontró mayor supervivencia comparado con las que se encontraban en estado libre (Afzaal *et al.*, 2020); *Lactobacillus acidophilus* fueron encapsulados en alginato de sodio y proteína de soya, probióticos libres y encapsulados fueron adicionados a postres lácteos, encontrando mayor supervivencia de los probióticos encapsulados en condiciones gastrointestinales y térmicas simuladas (Zeashan *et al.*, 2020); *Lactobacillus casei* se encapsuló en alginato y las microcápsulas se adicionaron a pulpa de fresa, las características fisicoquímicas y microbiológicas de la pulpa del fruto se encontraron dentro de los estándares requeridos y se determinó adecuada supervivencia probiótica en condiciones gastrointestinales simuladas y de almacenamiento (Raddatz *et al.*, 2022). Los resultados de encapsulación con gelificación iónica han demostrado que estos procesos ayudan

a la protección de los probióticos y a una liberación controlada en condiciones gastrointestinales y que las cápsulas presentan características favorables para considerarlas como una opción de incorporación a los alimentos (Holkem *et al.*, 2016).

Al incluir probióticos por las diferentes técnicas de encapsulación en matrices alimentarias, es importante evaluar los materiales de pared considerando aspectos como grado alimenticio, costos y propiedades físico-químicas como la solubilidad, peso molecular, transición vítrea, cristalinidad, difusividad, formación de películas y propiedades emulsionantes biodegradabilidad y capacidad para formar una barrera entre el interior de la cápsula y sus alrededores, considerando además, las propiedades de la matriz alimenticia a la cual se incorporarán los encapsulados (Stoll *et al.*, 2016).

Materiales usados en el proceso de encapsulación por gelificación iónica. En la encapsulación por gelificación iónica, el alginato de sodio es el polisacárido más estudiado y el más utilizado debido a su excelente formación de geles en presencia de iones multivalentes (Fernando *et al.*, 2020); aunque una variedad de biopolímeros naturales menos estudiados como pectina cítrica también se puede utilizar para preparar partículas usando esta técnica (Barragán *et al.*, 2020). Las pectinas y los alginatos se han empleado en aplicaciones alimentarias debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad, no toxicidad y bajo costo (Miranda *et al.*, 2020). El alginato es un biopolímero ampliamente utilizado en numerosas aplicaciones, es biodegradable, mucoadhesivos biocompatibles, hemocompatibles y no se ha encontrado evidencia de que se acumule en los sistemas biológicos (Fernando *et al.*, 2020). Las pectinas son polisacáridos lineales hidrosolubles, aniónicos naturales, cuyo principal componente es el ácido galacturónico (Bannikova *et al.*, 2018), mientras que los alginatos están compuestos por dos estructuras monoméricas (ácido β -D-manurónico (M) y ácido α -L-glucurónico (G)) (Tan *et al.*, 2022). Ambos materiales tienen la capacidad de formar geles a través de enlaces iónicos con cationes polivalentes, como calcio y zinc, que actúan como agentes de entrecruzamiento para unir fuertemente sus grupos dentro de bloques de residuos de ácido galacturónico y glucurónico para generar películas poliméricas con los llamados complejos de “caja de huevo” (Bannikova *et al.*, 2018).

COACERVACIÓN COMPLEJA

La tecnología de coacervación compleja fue desarrollada por National Cash Register Company en los años 50 y fue la base del papel de copia sin carbón, el primer producto comercial con encapsulados (Manojlović *et al.*, 2010). Esta técnica se clasifica como un proceso de encapsulación químico y es considerado el original y el verdadero proceso de encapsulación puesto que el material de revestimiento rodea completamente el núcleo con una capa continua (Risch, 1995) que se basa en la formación de complejos de dos biopolímeros con cargas opuestas al formar una emulsión con uno de los polímeros y posteriormente el segundo biopolímero es introducido para inducir la formación de complejos. Una vez que el compuesto bioactivo está rodeado por estos biopolímeros (materiales de cubierta) en determinadas condiciones de pH en donde uno de los polímeros está cargado negativamente y el otro está cargado positivamente, da como resultado sistemas con alta eficiencia de encapsulación, propiedades de liberación controlada y protección mejorada de los materiales encapsulados (Gharanjig *et al.*, 2020).

La técnica de coacervación compleja también puede ser definida como separación de fases líquido-líquido promovida por interacciones electrostáticas, enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas e interacciones de polarización inducidas entre dos polímeros de cargas opuestas en solución acuosa (Timilsena *et al.*, 2019). El principal origen de la coacervación compleja es una separación de fases asociativa, fenómeno inducido principalmente por interacciones electrostáticas; la separación líquido-líquido genera una fase de polímero diluido y otra fase rica en polímero siendo esta el coacervado (Carpentier *et al.*, 2021). La fase rica en polímero es, principalmente, un gel transitorio de polímeros con cargas opuestas que forman temporalmente reticulados electrostáticos (Sing, 2017), en donde las interacciones entre proteínas y polisacáridos dan lugar a la formación de complejos que pueden mejorar las propiedades funcionales de los materiales en comparación con cada uno de sus polímeros constituyentes de manera independiente (Carpentier *et al.*, 2021).

La coacervación compleja es una técnica especialmente indicada para la encapsulación de compuestos termolábiles, debido a la ausencia de tratamiento térmico (Gomez *et al.*, 2016). Este sistema de entrega prometedor ofrece varias propiedades favorables que incluye la resistencia al calor ha atraído la atención de muchos investigadores (Carpentier *et al.*, 2021; Su *et al.*, 2021). En la figura 4 se representan los pasos generales para el proceso de coacervación compleja.

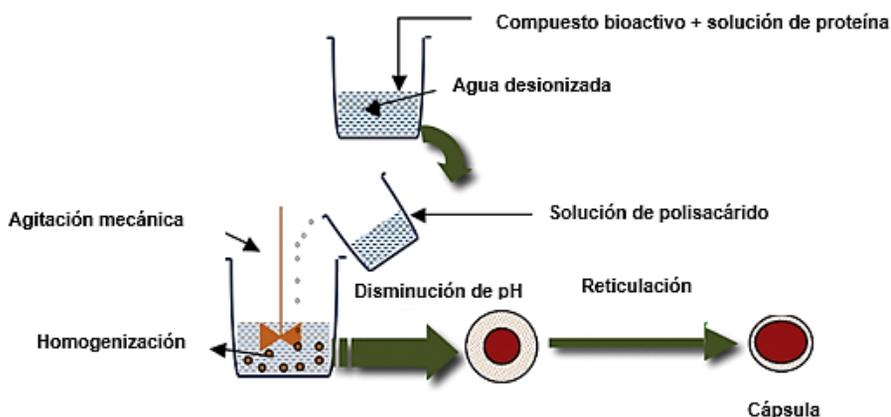


Figura 4. Técnica de coacervación compleja

Adaptado de Jain *et al.*, (2016)

En comparación con las técnicas convencionales de encapsulación, el proceso de coacervación compleja alcanza altas cargas útiles, una capa más gruesa, alta estabilidad térmica y liberación controlada de compuestos bioactivos (Muhoza *et al.*, 2020). La figura 5 muestra la formación de la pared alrededor del compuesto bioactivo dando lugar a la cápsula generada por la técnica de coacervación compleja.

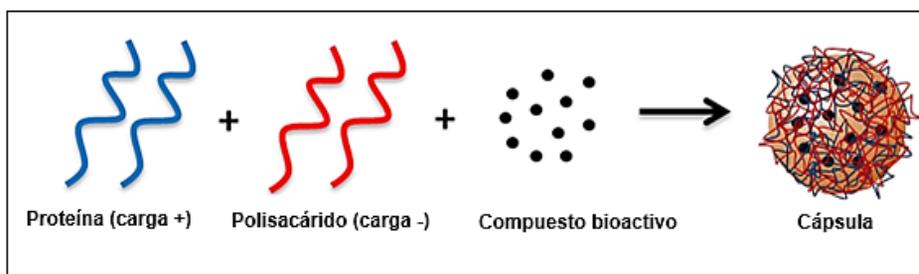


Figura 5. Cubrimiento de microcápsulas

Adaptado de Hu *et al.*, (2015)

Las interacciones generadas en la coacervación compleja dependen de muchos factores, incluido el pH, la proporción de biopolímeros y su concentración, fuerza iónica, composición molecular y cambios conformacionales en estructuras secundarias y terciarias, además de la densidad de carga (Vargas *et al.*, 2021), por lo que el estudio en las interacciones moleculares entre dos polímeros de carga opuesta y su comportamiento termodinámico es fundamental para entender la organización estructural y las fuerzas involucradas en la coacervación compleja (Comunian *et al.*, 2020).

El potencial zeta (ξ) es uno de los análisis comúnmente utilizados para determinar condiciones apropiadas para la formación de coacervados (Comunian *et al.*, 2020). El análisis del potencial zeta permite comprender la formación y la estabilidad de los coacervados formados por interacciones electrostáticas entre proteínas y polisacáridos (Carpentier *et al.*, 2021).

Se han realizado diferentes investigaciones en encapsulación de probióticos por coacervación compleja con aplicación en alimentos, como *Lactobacillus acidophilus* que fue microencapsulado por coacervación compleja seguida de liofilización para ser aplicado en yogur de leche de búfala, utilizando pectina y caseína como materiales de pared, los resultados mostraron que la técnica de microencapsulación utilizada en este trabajo preservó los recuentos de bacterias probióticas superiores a 10^7 UFC/g en condiciones de refrigeración (Shoji *et al.*, 2013); *Lactobacillus plantarum* fue encapsulado utilizando goma arábica y proteína aislada de suero y las cápsulas fueron adicionadas a queso blanco iraní, la viabilidad del probiótico encapsulado fue mayor que en estado libre (Sharifi *et al.*, 2021); *Lactobacillus acidophilus* fue encapsulado con gelatina y goma arábica, este proceso proporcionó protección al probiótico en diferentes jugos de frutas, mostrando una metodología adecuada para agregar probióticos a esta matriz alimentaria adversa, garantizando la supervivencia y generando productos con atractivo probiótico innovador y prometedor (Marques *et al.*, 2021).

Materiales de encapsulación comúnmente utilizados en coacervación compleja. Las proteínas y los polisacáridos son biopolímeros naturales ampliamente aplicados en los productos alimenticios como agentes gelificantes, espesantes y estabilizadores de superficie: éstos biopolímeros, solos o combinados, también son utilizados para producir complejos con propiedades fisicoquímicas mejoradas (Jridi *et al.*, 2020).

Los principales biopolímeros utilizados como materiales de cubierta en la coacervación compleja son proteínas como gelatina, proteína de soya, proteína de suero, entre otras, y polisacáridos como alginato, goma arábica y pectina (Brito *et al.*, 2020; Gharanjig *et al.*, 2020; Pillai *et al.*, 2020). Las proteínas y los polisacáridos se pueden combinar mediante atracción electrostática en el rango de pH en el que ambos tienen cargas opuestas; estos biopolímeros han mostrado excelentes propiedades funcionales; impulsado por propiedades mejoradas, los complejos de proteína-polisacárido han mostrado aplicaciones potenciales en las industrias alimentaria, agrícola, cosmética y farmacéutica (Muhoza *et al.*, 2022).

Los materiales de pared, la técnica de encapsulación, el tipo de microorganismo, la matriz alimentaria, entre otros, son aspectos importantes a tener en cuenta en la elaboración de alimentos funcionales, los cuales influyen en cada etapa que atraviesan para proporcionar efectos beneficiosos en la salud del consumidor, además de sobrevivir durante el procesamiento y almacenamiento, estos deben sobrevivir a través del tracto gastrointestinal, tolerando condiciones ácidas, bilis y enzimas gástricas, y posteriormente adherirse, colonizar y actuar en el epitelio intestinal (Yuan *et al.*, 2022).

RESISTENCIA DE LOS PROBIÓTICOS FRENTE A CONDICIONES DEL TRACTO GASTROINTESTINAL

Al diseñar sistemas encapsulados para la administración de probióticos, es importante considerar la fisiología compleja del tracto gastrointestinal (figura 6): a lo largo del tracto gastrointestinal existen varios métodos posibles para la liberación, basados en el pH, el tiempo, las presiones peristálticas y la fermentación bacteriana (Cook *et al.*, 2012).

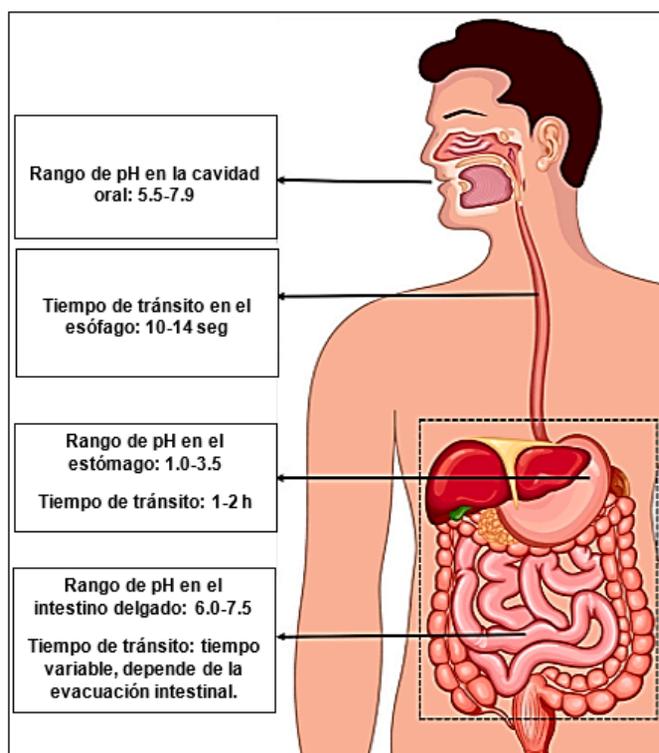


Figura 6. Tracto gastrointestinal humano

Adaptado de Cook et al., (2012) y Xu et al., (2022)

Los probióticos deben pasar por la boca, el estómago y el intestino delgado antes de llegar al colon, cada una de las regiones del tracto gastrointestinal contiene factores que amenazan la viabilidad de los probióticos, como resultado, la bioactividad de los probióticos se reduce considerablemente (Jiang *et al.*, 2022).

Los fluidos gástricos contienen varios componentes, incluyendo agua, ácido clorhídrico, pepsinógeno, lipasa gástrica, gastrina, factores endógenos y varios otros componentes (Ni *et al.*, 2019). La presencia de enzimas digestivas en los fluidos gástricos también puede aumentar la permeabilidad de las paredes y membranas celulares de los probióticos, lo que aumenta su susceptibilidad al daño (Yuan *et al.*, 2022).

Tendencias

Hasta hace unos años los probióticos se encontraban principalmente en lácteos como yogur, leche y quesos: actualmente, hay diversas opciones que los sitúan como ingredientes de una gran variedad de alimentos que van desde cereales, harinas y complementos de repostería, hasta bebidas como jugos, chocolate, té y café; e incluso en carne y pescado. El desarrollo tecnológico de la industria alimentaria no tiene límites, su expansión los convierte en un nicho de oportunidad para la comercialización de alimentos funcionales. Durante las últimas décadas, el interés del consumidor por alimentos más saludables ha contribuido en gran medida al desarrollo de alimentos funcionales (Obradović *et al.*, 2022), situación que ha generado un creciente interés en los fabricantes de alimentos con propiedades probióticas (Guiné *et al.*, 2021).

Mordor Intelligence (2021) menciona que debido a la pandemia de COVID-19, el mercado fue testigo de un aumento en la demanda de productos que brindan inmunidad, lo que probablemente tenga un impacto positivo en el mercado de los probióticos. Por esta razón, se están produciendo importantes lanzamientos de productos

para satisfacer la creciente demanda y la microencapsulación de probióticos puede ser una estrategia prometedora de innovación para mejorar su estabilidad en las matrices alimentarias (Marques *et al.*, 2021). Una de las técnicas prometedoras para encapsular probióticos con alta barrera a condiciones externas es el método de gelificación iónica y coacervación compleja, que pueden ser aplicadas a diversos alimentos que se sometan a altas temperaturas de procesamiento como la obtención de productos secados por diversos métodos, como snacks de frutas, carnes, entre otros alimentos.

CONCLUSIONES

Los probióticos son microorganismos que ofrecen beneficios en la salud no solo en los procesos digestivos sino también en la inmunidad intestinal y en la prevención de diferentes enfermedades, pueden ser suministrados en medicamentos o en alimentos funcionales. Los probióticos administrados como células libres en las diferentes matrices alimentarias son sensibles al deterioro por las abrasivas etapas durante el procesamiento y, al ser consumidos son afectados por las adversas condiciones del tracto gastrointestinal, ocasionando una disminución significativa de su viabilidad probiótica. Por lo tanto, se ha incrementado el interés de los investigadores y empresas de manufactura en implementar técnicas de protección y sistemas de entrega para proteger a los probióticos de las condiciones que resultan perjudiciales como bajo pH, oxígeno, presión, temperatura, humedad, entre otras. Actualmente, se están implementando técnicas de encapsulación de probióticos como las técnicas emergentes gelificación iónica y coacervación compleja con resultados favorables para disminuir la pérdida de viabilidad y lograr su estabilidad para que actúen en el intestino ejerciendo sus mecanismos de acción en el lugar apropiado y de esta manera se presenten los beneficios en la salud del consumidor.

REFERENCIAS

- ADILAH, RUSYDA-NUR; CHIU, SHIEH-TSUNG; HU, SHAO-YANG; BALLANTYNE, ROLISSA; HAPPY, NURSYAM; CHENG, ANN-CHANG; LIU, CHUN-HUNG. Improvement in the probiotic efficacy of *Bacillus subtilis* E20-stimulates growth and health status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* via encapsulation in alginate and coated with chitosan. *Fish and Shellfish Immunology*, v. 125, 2022, p. 74-83.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.05.002>
- AFZAAL, MUHAMMAD; SAEED, FARHAN; AHMAD, AWAIS; TUFAIL, TABUSSAM; ATEEQ, HUDA; AHMED, AFTAB; ISMAIL, ZORIA; MUHAMMAD, FAQIR. Encapsulation of *Bifidobacterium bifidum* by internal gelation method to access the viability in cheddar cheese and under simulated gastrointestinal conditions. *Food Science and Nutrition*, v. 8, n. 6, 2020, p. 2739-2747.
<https://doi.org/10.1002/fsn3.1562>
- ALKHATIB, HAMZEH; DOOLAANEA, ABD-ALMONEM; ASSADPOUR, ELHAM; MOHMAD-SABERE, AWIS-SUKARNI; MOHAMED, FARAHIDAH; JAFARI, SEID-MAHDI. Optimizing the encapsulation of black seed oil into alginate beads by ionic gelation. *Journal of Food Engineering*, v. 328, 2022, e111065.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.e111065>
- AZAM, MUHAMMAD; SAEED, MUHAMMAD; PASHA, IMRAN; SHAHID, MUHAMMAD. A prebiotic-based biopolymeric encapsulation system for improved survival of *Lactobacillus rhamnosus*. In *Food Bioscience*, v. 37, 2020, e100679.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100679>
- BANNIKOVA, ANNA; EVTEEV, ALEKSANDR; PANKIN, KIRILL; EVDOKIMOV, IVAN; KASAPIS, STEFAN. Microencapsulation of fish oil with alginate: In-vitro evaluation and controlled release. *LWT - Food Science and Technology*, v. 90, 2018, p. 310-315.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.08.009>

- BARRAGÁN, LUIS; TOTOSAUS, ALFONSO; DE LOURDES, MARÍA. Probiotication of cooked sausages employing agroindustrial coproducts as prebiotic co-encapsulant in ionotropic alginate-pectin gels. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 55, n. 3, 2020, p. 1088–1096.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.14259>
- BELDARRAIN, TATIANA; VILLALONOS, RICARDO; LEIVA, JAVIER; SEVILLANO, EVA. Influence of multilayer microencapsulation on the viability of *Lactobacillus casei* using a combined double emulsion and ionic gelation approach. *Food and Bioprocess Processing*, v. 124, 2020, p. 57-71.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.045>
- BOSNEA, LOULOUDA; MOSCHAKIS, TOMAS; NIGAM, POONAM; BILIADERIS, COSTAS. Growth adaptation of probiotics in biopolymer-based coacervate structures to enhance cell viability. *LWT - Food Science and Technology*, v. 77, 2017, p. 282-289.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.056>
- BRITISH BROADCASTING CORPORATION (BBC). Probiotics in Food, Beverages, Dietary Supplements and Animal Feed, 2020.
<https://www.bccresearch.com/market-research/food-and-beverage/probiotics-market-ingredients-supplements-foods-report.html> [consultado septiembre 04 de 2022].
- BRITO DE SOUZA, VOLNEI; THOMAZINI, MARCELO; CHAVES, ISABELA-ELIAS; FERRO-FURTADO, ROSELAYNE; FAVARO-TRINDADE, CARMEN-SÍLVIA. Microencapsulation by complex coacervation as a tool to protect bioactive compounds and to reduce astringency and strong flavor of vegetable extracts. *Food Hydrocolloids*, v. 98, 2020, e105244.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105244>
- BURGAIN, JENNIFER; GAIANI, CLAIRE; LINDER, MICHEL; SCHER, JOEL. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, v. 104, n. 4, 2011, p. 467-483.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.12.031>
- CARPENTIER, JÉRÉMY; CONFORTO, EGGLE; CHAIGNEAU, CARINE; VENDEVILLE, JEAN-EUDES; MAUGARD, THIERRY. Complex coacervation of pea protein isolate and tragacanth gum: Comparative study with commercial polysaccharides. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 69, 2021, e102641.
<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102641>
- COLAK, NESRIN; TORUN, HÜLYA; GRUZ, JIRI; STRNAD, MIROSLAV; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, ISIDRO; HAYIRLIOGLU-AYAZ, SEMA; AYAZ, FAIK-AHMET. Bog bilberry phenolics, antioxidant capacity and nutrient profile. In *Food Chemistry*, v. 201, 2016, p. 339-349.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.062>
- COMUNIAN, TALITA; ARTWIN-ARCHUT, LAURA; GOMEZ- MASCARAQUE, ANDRÉ-BRODKORB; DRUSCH-STEPHAN. The type of gum arabic affects interactions with soluble pea protein in complex coacervation. *Journal of Marine Systems*, 2020, e103608.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119851>
- COOK, MICHAEL; TZORTZIS, GEORGE; CHARALAMPOPOULOS, DIMITRIS; KHUTORYANSKIY, VITALIY. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *Journal of Controlled Release*, v. 162, n. 1, 2012, p. 56-67.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.06.003>
- CUNNINGHAM, MARLA; AZCARATE-PERIL, M. ANDREA; BARNARD, ALAN; BENOIT, VALERIE; GRIMALDI, ROBERTA; GUYONNET, DENIS; HOLSCHER, HANNAH; HUNTER, KIRSTY; MANURUNG, SARMAULI; OBIS, DAVID; PETROVA, MARIYA; STEINERT, ROBERT; SWANSON, KELLY; VAN SINDEREN, DOUWE; VULEVIC, JELENA; GIBSON, GLENN. Shaping the Future of Probiotics and Prebiotics. *Trends in Microbiology*, v. 29, n. 8, 2021, p. 667-685.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.01.003>
- FARAHMAND, ATEFEH; GHORANI, BEHROUZ; EMADZADEH, BAHAREH. Millifluidic-assisted ionic gelation technique for encapsulation of probiotics in double-layered polysaccharide structure. *Food Research International*, vol. 160, 2022, e111699.

- <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111699>
FERNANDO, ILEKUTTIGE-PRIYAN-SHANURA; LEE, WON-WOO; HAN, EUI-JEONG; AHN, GINNAE. Alginate-based nanomaterials: Fabrication techniques, properties, and applications. *Chemical Engineering Journal*, v. 391, 2020, e123823.
- <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123823>
FIOCCO, DANIELA; LONGO, ANGELA; ARENA, MATTIA-PIA; RUSSO, PASQUALE; SPANO, GIUSEPPE; CAPOZZI, VITTORIO. How probiotics face food stress: They get by with a little help. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol, 60, n. 9, 2020, p. 1552-1580.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1580673>
- GHARANJIG, HAMID; GHARANJIG, KAMALADIN; HOSSEINNEZHAD, MOZHGAN; JAFARI, SEID MAHDI. Development and optimization of complex coacervates based on zedo gum, cress seed gum and gelatin. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 148, 2020, p. 31-40.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.115>
- GOMEZ-ESTACA, JOAQUÍN; COMUNIANO, TALITA-ANINE; MONTERO, PILAR; FERRO-FURTADO, ROSELAYNE; FAVARO-TRINDADE, CARMEN-SÍLVIA. Encapsulation of an astaxanthin-containing lipid extract from shrimp waste by complex coacervation using a novel gelatin-cashew gum complex. *Food Hydrocolloids*, v. 61, 2016, p. 155-162.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.05.005>
- GUINÉ, RAQUEL; FLORENÇA, SOFIA; BARROCA, MARIA-JOÃO; ANJOS, OFÉLIA. The duality of innovation and food development versus purely traditional foods. *Trends in Food Science and Technology*, v. 109, 2021, p. 16-24.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.010>
- GUO, QI; LI, SHIDONG; TANG, JIAXIN; CHANG, SHUAIDAN; QIANG, LIYUE; DU, GENGAN; YUE, TIANLI; YUAN, YAHONG. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* by spray drying: Protective effects during simulated food processing, gastrointestinal conditions, and in kefir. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 194, 2022, p. 539-545.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.11.096>
- HARPENI, ESTI; FIRANTI; GHANI, ABDEL; WARDIYANTO, WARDIYANTO. Effects of encapsulated *Bacillus* sp. D2.2 on gut bacterial composition and immune system in brown-marbled grouper *Epinephelus fuscoguttatus*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, vol, 919, n. 1, 2021.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/919/1/012061>
- HOLKEM, AUGUSTO; RADDATZ, GREICE; BARIN, JULIANO; MORAES, ERICO; MULLER, EDSON; CODEVILLA, CRISTIANE; LOPES, EDUARDO; FERREIRA, CARLOS; DE MENEZES, CRISTIANO. Production of microcapsules containing Bifidobacterium BB-12 by emulsification/internal gelation. *Food Science and Technology*, v. 76, 2016, p. 216-221.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.11.096>
- HU, LIANDONG; GAO, NA; LI, JIANLI; SUN, YONGBING; YANG, XIAONING. Development and evaluation of novel microcapsules containing poppy-seed oil using complex coacervation. *Journal of Food Engineering*, vol, 161, 2015, p. 87-93.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.03.027>
- JAIN, ASHAY; THAKUR, DEEPIKA; GHOSHAL, GARGI; KATARE, OM-PRAKASH; SHIVHARE, UMASHANKER. Characterization of microcapsulated β -carotene formed by complex coacervation using casein and gum tragacanth. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 87, 2016, p. 101-113.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.117>
- JIANG, HUIYONG; YAN, REN; WANG, KAICEN; WANG, QIANGQIANG; CHEN, XIAOXIAO; CHEN, LIFENG; LI, LANJUAN; LV, LONGXIAN. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 alleviates D-galactosamine-induced liver failure in rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, v, 133, 2021, e111000.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111000>

- JIANG, ZHAOWEI; LI, MOTING; MCCLEMENTS, DAVID-JULIAN; LIU, XUEBO; LIU, FUGUO. Recent advances in the design and fabrication of probiotic delivery systems to target intestinal inflammation. *Food Hydrocolloids*, v. 125, 2022, e107438.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107438>
- JRIDI, MOURAD; ABDELHEDI, OLA; SALEM, ALI; KECHAOU, HELA; NASRI, MONCEF; MENCHARI, YOSRA. Physicochemical, antioxidant and antibacterial properties of fish gelatin-based edible films enriched with orange peel pectin: Wrapping application. *Food Hydrocolloids*, v. 103, 2020, e105688.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105688>
- KIM, JIHYUN; HLAING, SHWE-PHYU; LEE, JUHO; SAPARBAYEVA, ARUZHAN; KIM, SANGSIK; HWANG, DONG-SOO; LEE, EUN-HEE; YOON, IN-SOO; YUN, HWAYOUNG; KIM, MIN-SOO; MOON, HYUNG-RYONG; JUNG, YUNJIN; YOO, JIN-WOOK. Exfoliated bentonite/alginate nanocomposite hydrogel enhances intestinal delivery of probiotics by resistance to gastric pH and on-demand disintegration. *Carbohydrate Polymers*, v. 272, 2021, e118462.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118462>
- KRUNIĆ, TANJA; OBRADOVIĆ, NATAŠA; RAKIN, MARICA. Application of whey protein and whey protein hydrolysate as protein based carrier for probiotic starter culture. *Food Chemistry*, v. 293, 2019, p. 74-82.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.062>
- LIAO, YANG; HU, YU; FU, NAN; HU, JUWU; XIONG, HUA; CHEN, XIAO-DONG; ZHAO, QIANG. Maillard conjugates of whey protein isolate-xylooligosaccharides for the microencapsulation of: *Lactobacillus rhamnosus*: Protective effects and stability during spray drying, storage and gastrointestinal digestion. *Food and Function*, v. 12, n. 9, 2021, p. 4034-4045.
<https://doi.org/10.1039/d0fo03439h>
- LIU, ZHIJING; LIU, FEI; WANG, WAN; SUN, CHANGBAO; GAO, DA; MA, JIAGE; HUSSAIN, MUHAMMAD-ALTAF; XU, CONG; JIANG, ZHANMEI; HOU, JUNCAI. Study of the alleviation effects of a combination of: *Lactobacillus rhamnosus* and inulin on mice with colitis. *Food and Function*, v. 11, n. 5, 2020, p. 3823-3837.
<https://doi.org/10.1039/c9fo02992c>
- LOYEAU, PAULA; SPOTTI, MARIA; VINDEROLA, GABRIEL; CARRARA, CARLOS. Encapsulation of potential probiotic and canola oil through emulsification and ionotropic gelation, using protein/polysaccharides Maillard conjugates as emulsifiers. *Food Science and Technology*, v. 150, 2021, e111980.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111980>
- MAHDI, AMER-ALI; MOHAMMED, JALALELDEEN-KHALEEL; AL-ANSI, WALEED; GHALEB, ABDULJALIL; AL-MAQTARI, QAIS-ALI; MA, MENGJIAO; AHMED, MOHAMED-ISMAEL; WANG, HONGXIN. Microencapsulation of fingered citron extract with gum arabic, modified starch, whey protein, and maltodextrin using spray drying. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 152, 2020, p. 1125-1134.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.201>
- MAHMOUD, MONA; ABDALLAH, NAGWA; EL-SHAFAEI, KAWTHER; TAWFIK, NABIL; EL-SAYED, HODA. Survivability of alginate-microencapsulated *Lactobacillus plantarum* during storage, simulated food processing and gastrointestinal conditions. *Heliyon*, v. 6, n. 3, 2020, e03541.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03541>
- MANOJLOVIĆ, VERICA; NEDOVI, VIKTOR; KILASAPATHY, KASIPATHY; ZUIDAM, NICOLAAS-JAN. Encapsulación de probióticos para su uso en productos alimenticios. En *Tecnologías de encapsulación para ingredientes alimentarios activos y procesamiento de alimentos*, Springer, Nueva York, 2010, 269p.
https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1008-0_10
- MARLUCI-PALAZZOLLI, SILVA; MARTELLI-TOSI, MILENA; MASSARIOLI, ADNA-PRADO; MELO, PRISCILLA-SIQUEIRA; ALENCAR, SEVERINO-MATIAS; FAVARO-TRINDADE, CARMEN. Co-encapsulation of guaraná extracts and probiotics increases probiotic survivability and simultaneously delivers bioactive compounds in simulated gastrointestinal fluids, *Food Science and Technology*, v. 161, 2022, e113351.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113351>

- MARQUES-DA SILVA, THAIANE; SONZA-PINTO, VANDRÉ; RAMIRES-FONSECA-SOARES, VÍTOR; MAROTZ, DÉBORA; CICHOSKI, ALEXANDRE-JOSÉ; QUEIROZ-ZEPKA, LEILA; JACOB-LOPES, EDUARDO; DE BONA-DA SILVA, CRISTIANE; DE MENEZES, CRISTIANO-RAGAGNIN. Viability of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* by complex coacervation associated with enzymatic crosslinking under application in different fruit juices. *Food Research International*, v. 141, 2021, e 110190.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110190>
- MIN, MIN; BUNT, CRAIG; MASON, SUSAN; HUSSAIN, MALIK. Non-dairy probiotic food products: An emerging group of functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 59, n. 16, 2019, p. 2626-2641.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1462760>
- MIRANDA-LINARES; QUINTANAR-GUERRERO; DEL REAL, ALICIA; ZAMBRANO-ZARAGOZA, MARÍA. Spray-drying method for the encapsulation of a functionalized ingredient in alginate-pectin nano- and microparticles loaded with distinct natural actives: Stability and antioxidant effect. *Food Hydrocolloids*, v. 101, 2020, e105560.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105560>
- MORDOR INTELLIGENCE. Mercado de probióticos: crecimiento, tendencias, impacto de covid-19 y pronósticos (2022 - 2027), 2021. <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/probiotics-market>. [consultado agosto 25 de 2022].
- MUHOZA, BERTRAND; QI, BAOKUN; HARINDINTWALI, JEAN-DAMASCENE; FARAG-KOKO, MARWA-YAGOUB; ZHANG, SHUANG; LI, YANG. Combined plant protein modification and complex coacervation as a sustainable strategy to produce coacervates encapsulating bioactives. *Food Hydrocolloids*, v. 124, 2022, e107239.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107239>
- MUHOZA, BERTRAND; XIA, SHUQIN; WANG, XUEJIAO; ZHANG, XIAOMING; LI, YANG; ZHANG, SHUANG. Microencapsulation of essential oils by complex coacervation method: preparation, thermal stability, release properties and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 62, n. 5, 2020, p. 1363-382.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1843132>
- NI, XIAOTIAN; TAN, ZHAOLI; DING, CHEN; ZHANG, CHUNCHAO; SONG, LAN; YANG, SHUAI; LIU, MINGWEI; JIA, RU; ZHAO, CHUANHUA; SONG, LEI; LIU, WANLIN; ZHOU, QUAN; GONG, TONGQING; LI, XIANJU; TAI, YANHONG; ZHU, WEIMIN; SHI, TIELIU; WANG, YI; XU, JIANMING; ZHEN, BEI; QIN, JUN. A region-resolved mucosa proteome of the human stomach. *Nature Communications*, v. 10, n. 1, 2019, p. 1-11.
<https://doi.org/10.1038/s41467-018-07960-x>
- OBRADOVIĆ, NATAŠA; VOLIĆ, MINA; NEDOVIĆ, VIKTOR; RAKIN, MARICA; BUGARSKI, BRANKO. Microencapsulation of probiotic starter culture in protein-carbohydrate carriers using spray and freeze-drying processes: Implementation in whey-based beverages. *Journal of Food Engineering*, v. 321, 2022, e110948.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.110948>
- ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN Y LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (FAO y OMS). Probióticos en los alimentos Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. In *Estudios FAO alimentación y nutrición*, v. 85, 2006.
- ORTIZ-ROMERO, NALLELY; OCHOA-MARTINEZ, LUZ-ARACELI; GONZÁLEZ-HERRERA, SILVIA-MARINA; RUTIAGA-QUIÑONES, OLGA-MIRIAM; GALLEGOS-INFANTE, JOSÉ ALBERTO. Avances en las investigaciones sobre la encapsulación mediante gelación iónica: una revisión sistemática. *Tecnológicas*, v. 24, n. 52, 2021, e1962.
<https://doi.org/10.22430/22565337.1962>
- PHILLIPS, CHARLES; WELCH, BRADLEY; GARRETT, MICHAEL; GRAYSON, BERNADETTE. Regional heterogeneity in rat Peyer's patches through whole transcriptome analysis. *Experimental Biology and Medicine*, v. 246, n. 5, 2020, p. 513-522.
<https://doi.org/10.1177/1535370220973014>

- PILLAI, PRASANTH; MORALES-CONTRERAS, BLANCA; WICKER, LOUISE; NICKERSON, MICHAEL. Effect of enzyme de-esterified pectin on the electrostatic complexation with pea protein isolate under different mixing conditions. *Food Chemistry*, v. 305, 2020, e125433.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125433>
- PIMENTEL, TATIANA-COLOMBO; COSTA, WHYARA-KAROLINE-ALMEIDA-DA; BARÃO, CARLOS-EDUARDO; ROSSET, MICHELE; MAGNANI, MARCIANE. Vegan probiotic products: A modern tendency or the newest challenge in functional foods. *Food Research International*, v. 140, 2021, e110033.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110033>
- PLAZA-DIAZ, JULIO; RUIZ-OJEDA, FRANCISCO-JAVIER; GIL-CAMPOS, MERCEDES; GIL, ANGEL. Mechanisms of Action of Probiotics. *Advances in Nutrition*, v. 10, 2019, p. 49-S66.
<https://doi.org/10.1093/advances/nmy063>
- RADDATZ, GREICE-CARINE; PINTO, VANDRÉ-SONZA; ZEPKA, LEILA-QUEIROZ; BARIN, SMANIOTO; CICHOSKI, ALEXANDRE-JOSÉ; BONA, CRISTIANE-DE. Use of red onion (*Allium cepa* L.) residue extract in the co-microencapsulation of probiotics added to a vegan product. *Food Research International*, 2022, e111854.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111854>
- REQUE, PRISCILLA-MAGRO; BRANDELLI, ADRIANO. Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Applications in functional food industry. *Trends in Food Science and Technology*, v. 114, 2021, p. 1-10.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.022>
- RISCH, SARA. Encapsulación: descripción general de usos y técnicas. En: Risch, SJ y Reineccius, G., Eds., *Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients*, ACS Symposium Series, Publicaciones de la AEC, Washington DC, v. 590, 1995, 2-7 p.
<https://doi.org/10.1021/bk-1995-0590.ch001>
- RODRÍGUEZ, YEIMY-ALEJANDRA; ROJAS, ANDRÉS-FELIPE. Encapsulación de probióticos para aplicaciones alimenticias. *Biosalud*, v. 15, 2016, p.106-115.
<https://doi.org/10.17151/biosa.2016.15.2.10>
- SAAD, NAIMA; DELATTRE, CÉDRIC; URDACI, MARÍA., SCHMITTER, JEAN-MARIE; BRESSOLLIER, PHILIPPE. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *Food Science and Technology*, v. 50, n. 1, 2013, p. 1-16.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.014>
- SHARIFI, SOHRAB; REZAZAD-BARI, MAHMOUD; ALIZADEH, MOHAMMAD; ALMASI, HADI; AMIRI, SABER. Use of whey protein isolate and gum Arabic for the co-encapsulation of probiotic *Lactobacillus plantarum* and phytosterols by complex coacervation: Enhanced viability of probiotic in Iranian white cheese. *Food Hydrocolloids*, v. 113, 2021, e106496.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106496>
- SHOJI, A; OLIVEIRA, A; BALIEIRO, J; FREITAS, O; THOMAZINI, M; HEINEMANN, R; OKURO, P; FAVARO-TRINDADE, C. Viability of *L. acidophilus* microcapsules and their application to buffalo milk yoghurt. *Food and Bioproducts Processing*, v. 91, n. 2, 2013, p 83-88.
<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2012.08.009>
- SING, CHARLES. Development of the modern theory of polymeric complex coacervation. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 239, 2017, p. 2-16.
<https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.04.004>
- SPACOVA, IRINA; VAN-BEECK, WANNES; SEYS, SVEN; DEVOS, FIEN; VANOIRBEEK, JEROEN; VANDERLEYDEN, JOZEF; CEUPPENS, JAN; PETROVA, MARIYA; LEBEER, SARAH. *Lactobacillus rhamnosus* probiotic prevents airway function deterioration and promotes gut microbiome resilience in a murine asthma model. *Gut Microbes*, v. 11, n. 6, 2020, p. 1729-1744.
<https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1766345>
- SU, CHUN-RU; HUANG, YU-YAN; CHEN, QI-HUI; LI, MENG-FAN; WANG, HAO; LI, GUO-YAN; YUAN, YANG. A novel complex coacervate formed by gliadin and sodium alginate: Relationship to encapsulation and controlled release properties. *Food Science and Technology*, v. 139, 2021, e110591.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110591>

- STOLL, LIANA; COSTA, TANIA; JABLONSKI, ANDRÉ; FLÔRES, SIMONE; OLIVEIRA, ALESSANDRO. Microencapsulation of Anthocyanins with Different Wall Materials and Its Application in Active Biodegradable. *Food and Bioprocess Technology*, v. 9, n. 1, 2016, p 172-181.
<https://doi.org/10.1007/s11947-015-1610-0>
- TAN, LI-LING; MAHOTRA, MANISH; CHAN, SI-YE; LOO, SAY-CHYE-JOACHIM. In situ alginate crosslinking during spray-drying of lactobacilli probiotics promotes gastrointestinal-targeted delivery. *Carbohydrate Polymers*, v. 286, 2022, e119279.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119279>
- THANH-UYEN, NGUYEN-THI; ABDUL-HAMID, ZURATUL-AIN; THI, LE-ANH; AHMAD, NURAZREENA-BINTI. Synthesis and characterization of curcumin loaded alginate microspheres for drug delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, v. 58, 2020, e101796.
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101796>
- TIMILSENA, YAKINDRA-PRASAD; AKANBI, TAIWO; KHALID, NAUMAN; ADHIKARI, BENU; BARROW, COLIN. Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 121, 2019, p. 1276-1286.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.144>
- VARGAS, SARA; DELGADO-MACUIL, RAÚL-JACOBO; RUIZ-ESPINOSA, HÉCTOR; ROJAS-LÓPEZ, MARLON; AMADOR-ESPEJO, GENARO-GUSTAVO. High-intensity ultrasound pretreatment influence on whey protein isolate and its use on complex coacervation with kappa carrageenan: Evaluation of selected functional properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 70, 2021, e105340.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105340>
- VASILJEVIC, TODOR; SHAH, NAGENDRA. Probiotics-From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, v. 18, n. 7, 2008, p. 714-728.
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.004>
- WANG, LI; ZHANG, BO-BO; YANG, XIAO-YU; SU, BAO-LIAN. Alginate@polydopamine@SiO₂ microcapsules with controlled porosity for whole-cell based enantioselective biosynthesis of (S)-1-phenylethanol. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 214, 2022, e112454.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112454>
- WEST, NICHOLAS; HUGHES, LILY; RAMSEY, REBECCA; ZHANG, PING; MARTONI, CHRISTOPHER; LEYER, GREGORY; CRIPPS, ALLAN; COX, AMANDA. Probiotics, Anticipation Stress, and the Acute Immune Response to Night Shift. *Frontiers in Immunology*, v. 11, 2021, p. 1-10.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.599547>
- XU, CONG; BAN, QINGFENG; WANG, WAN; HOU, JUNCAI; JIANG, ZHANMEI. Novel nano-encapsulated probiotic agents: Encapsulate materials, delivery, and encapsulation systems. *Journal of Controlled Release*, v. 349, n. 600, 2022, p. 184-205.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.06.061>
- YAN, XUEFANG; JIN, JIAJIA; SU, XINHUAN; YIN, XIANLUN; GAO, JING; WANG, XIAOWEI; ZHANG, SHUCUI; BU, PEILI; WANG, MANSEN; ZHANG, YUN; WANG, ZHE; ZHANG, QUNYE. Intestinal flora modulates blood pressure by regulating the synthesis of intestinal-derived corticosterone in high salt-induced hypertension. *Circulation Research*, 2020, p. 839-853.
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.119.316394>
- YAO, MINGFEI; XIE, JIAOJIAO; DU, HENGJUN; MCCLEMENTS, DAVID-JULIAN; XIAO, HANG; LI, LANJUAN. Progress in microencapsulation of probiotics: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 19, n. 2, 2020, p. 857-874.
<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12532>
- YOHA, KANDASAMY-SUPPIRAMANIAM; NIDA, SUNDUS; DUTTA, SAYANTANI; MOSES, JA; ANANDHARAMAKRISHNAN. Targeted Delivery of Probiotics: Perspectives on Research and Commercialization. In *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, v. 14, n. 1, 2022, p. 15-48.
<https://doi.org/10.1007/s12602-021-09791-7>

- YUAN, YONGKAI; YIN, MING; CHEN, LING; LIU, FEI; CHEN, MAOSHEN; ZHONG, FANG. Effect of calcium ions on the freeze-drying survival of probiotic encapsulated in sodium alginate. *Food Hydrocolloids*, v. 130, 2022, e107668.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107668>
- ZEASHAN, MUHAMMAD; AFZAAL, MUHAMMAD; SAEED, FARHAN; AHMED, AFTAB; TUFAIL, TABUSSAM; AHMED, AWAIS; MUHAMMAD, FAQIR ANJUM. Survival and behavior of free and encapsulated probiotic bacteria under simulated human gastrointestinal and technological conditions. *Food Science and Nutrition*, v. 8, n. 5, 2020, p. 2419-2426.
<https://doi.org/10.1002/fsn3.1531>
- ZHAO, MENG; HUANG, XUE; ZHANG, HUI; ZHANG, YANZHEN; GÄNZLE, MICHAEL; YANG, NAN; NISHINARI, KATSUYOSHI; FANG, YAPENG. Probiotic encapsulation in water-in-water emulsion via heteroprotein complex coacervation of type-A gelatin/sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, v. 105, 2020, e105790.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105790>
- ZHOU, BOLUN; YUAN, YUTONG; ZHANG, SHANSHAN; GUO, CAN; LI, XIAOLING; LI, GUIYUAN; XIONG, WEI; ZENG, ZHAOYANG. Intestinal Flora and Disease Mutually Shape the Regional Immune System in the Intestinal Tract. *Frontiers in Immunology*, v. 11, 2020, p. 1-14.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00575>