

Microencapsulación de Probióticos mediante Secado por Aspersión

Alfaro-Galarza Ofelia*, Chavarría-Hernández N, Vargas-Torres A, Zaragoza-Bastida A, Palma-Rodríguez H M

Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo¹, Av. Universidad Km 1, Ex Hacienda de Aquetzalpa, 43600 Tulancingo, Hgo. México. *ofeliaalfaro38@gmail.com

RESUMEN:

En los últimos años los microorganismos probióticos han cobrado importancia, su consumo presenta beneficios en la salud, principalmente del sistema digestivo. Por esto, la industria se encuentra en constante búsqueda de procesos para que estos microorganismos no pierdan su viabilidad y cumplan su función, debido a lo cual se ha recurrido a la microencapsulación como método de protección frente a las condiciones ambientales internas y externas que puedan disminuir su viabilidad. En este mismo sentido, los probióticos necesitan de sustancias prebióticas, como lo son los almidones de arroz y malanga, para mantener su viabilidad y cumplir las funciones benéficas dentro del huésped. El objetivo de este trabajo fue evaluar dos prebióticos (almidón de arroz y malanga) como material pared en la viabilidad de un microorganismo *Lactobacillus casei* subs. *Paracasei* encapsulado mediante secado por aspersión. Los almidones de arroz y malanga aislados, obtuvieron 82.60 y 86.68% de almidón total respectivamente, en el contenido de amilosa arroz presentó 17.34% y malanga 9.44%, la fase exponencial del microorganismo se presentó a las 14 h, morfológicamente presentaron forma poliédrica y superficie lisa, se lograron formar agregados con forma de palomita de maíz y finalmente la eficiencia de encapsulación quedó en el orden de 10^8 .

ABSTRACT:

The probiotic microorganisms have gained importance in recent years because their consumption has benefits on health mainly of the digestive system. For this reason, the industry is in a constant search of processes for these micro-organisms don't lose their viability and they do their function. Because of that, the microencapsulation has been used as method of protection in the internal and external climate conditions. In this same vein, probiotics need prebiotic substances, such as malanga and rice starches, to stay viable and perform beneficial functions inside the host. The objective of this work was assess two prebiotics (malanga and rice starches) as Wall material in the viability of a microorganism *Lactobacillus casei* subs. *Paracasei* encapsulated through spray dried. The isolated malanga and rice starches, got 82.60 and 86.68% of starch overall respectively, in the amylose content rice presented 17.34% and malanga 9.44%, the exponential phase of microorganisms was presented at 14 h, morphologically showed multi-faceted shape and smooth Surface, aggregates with a popcorn shape were accomplished and finally the encapsulation efficiency stayed in the order of 10^8 .

Palabras clave:

Secado por aspersión, probióticos, prebióticos, almidón, microencapsulación, gránulo pequeño

Key words:

Spray dried, probiotics, prebiotics, starch, microencapsulation, small size granule

Área: Microbiología y biotecnología

INTRODUCCIÓN

Actualmente en la industria alimentaria, existe un gran problema con respecto a la adición de probióticos en los alimentos, el cual es garantizar que dichos microorganismos lleguen vivos y en óptimas condiciones al intestino grueso, no contaminados y sin variación o mutación, es decir; mantener el cultivo funcional, para poder llevar a cabo esto es necesario tener una concentración de 1×10^7 UFC/mL al momento del consumo Ding & Shah (2007), entre las diferentes alternativas para evitar la pérdida y el deterioro de los probióticos, así como su protección existe la encapsulación, el secado por aspersión se utiliza para la conservación de cultivos de bacterias ácido lácticas y es uno de los métodos que mejores resultados ha dado para lograr este propósito Ávila-Reyes *et al* (2014) consiste en introducir a los microorganismos vivos en una matriz o material pared en las cantidades adecuadas para que su estabilidad metabólica y actividad funcional sea conservada (Kun-Nan *et al*, 2005). Por otra parte los prebióticos, ayudan a establecer una flora nativa apropiada que mejore las funciones de defensa inmunológica del intestino del huésped así como otras (Gibson & Roberfroid, 1994), tanto el almidón nativo de arroz y de malanga, están constituidos por gránulos pequeños, en presencia de proteína tienden a formar microcápsulas de aglomerados, por lo que al llegar al colon son fermentados por la microbiota presente. Se consideran prebióticos por la resistencia a la digestión, que puede ser causada por las limitaciones de accesibilidad física, por la estructura granular del almidón nativo o la modificación física de los almidones en el proceso de secado, debido a lo anterior el objetivo de este trabajo fue evaluar dos prebióticos (almidón de arroz y malanga) como material pared en la viabilidad de un microorganismo *Lactobacillus casei subs. Paracasei* encapsulado mediante secado por aspersión

MATERIALES Y MÉTODOS

El almidón de arroz fue aislado de acuerdo con la metodología reportada por Patindol *et al.* (2007) y el almidón de malanga se obtuvo siguiendo el proceso reportado por Flores-Gorosquera *et al.* (2004). Para la determinación de almidón se usó un kit de ensayo Megazyme para almidón total y el contenido de amilosa se cuantificó siguiendo la metodología de Hoover y Ratnayake (2001). La caracterización morfológica se realizó a través de microscopía electrónica de barrido. La fase exponencial de *Lactobacillus casei subs paracasei* se determinó de acuerdo a la metodología de Alvarez *et al.* (2010). Previa a la micro encapsulación se llevó a cabo la reactivación del microorganismo, tomando la alícuota a encapsular en la fase exponencial, de acuerdo a lo determinado anteriormente. Las condiciones de secado empleadas fueron: temperatura entrada 70°C, temperatura de salida: 42.5°C flujo de alimentación de 10 mL/min. Posteriormente se caracterizaron morfológicamente las microcápsulas a través de microscopía electrónica de barrido siguiendo la metodología Paredes-López *et al.* (1989), y se caracterizaron fisicoquímicamente determinando Aw, % humedad y la densidad de bulto y por último se determinó la eficiencia de encapsulación para ambos encapsulados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de almidón total

El contenido de almidón total para la muestra de malanga (AM) fue del 86.68%, presentando una mayor pureza en comparación con el almidón de arroz (AA) (82.60%). Posterior al proceso de extracción no se obtiene un 100% debido a la eficiencia de aislamiento, así como también a las fuentes botánicas, por lo cual el almidón obtenido presenta una cierta cantidad remanente de lípidos o proteínas que fueron arrastrados con el proceso de aislamiento.

Contenido de amilosa

Por otra parte el contenido de amilosa nos ayuda a clasificar el almidón, los resultados mostraron que AA contiene un 17.34%, de acuerdo a la clasificación propuesta por Juliano (1992) para el almidón de arroz es ceroso si contiene de 0-2% amilosa, muy bajo en amilosa del 5-12%, bajo en amilosa 12-20%, intermedio amilosa del 20-25% y alto en amilosa del 25-33%, de acuerdo a lo reportado es de bajo en amilosa. Los resultados son similares a los reportados por Palma-Rodríguez *et al.* (2013) y Patindol *et al.* (2007) quienes reportan valores similares en el contenido de amilosa, ~13 y 17-20 % respectivamente, por otra parte Tari *et al.* (2003) reporta valores de 39% siendo significativamente más altos a los obtenidos, estas diferencias son debidas a la variedad de

arroz que se utilizó. Para el AM se cuantificó un contenido de amilosa del 9.44%, al ser un tubérculo se puede clasificar como almidón ceroso, ya que se ha reportado que estos contienen menos del 20% de amilosa (Tester *et al.*, 2004). Tari *et al.* (2003) obtuvo valores de 17.5% de amilosa en malanga, sin embargo Ting-Jang *et al.* (2008) caracterizó el almidón de tres variedades de malanga, donde se obtuvieron resultados similares en la variedad KS01 con resultados de 9.1 ± 0.1 , mencionan que las diferencias en el contenido de amilosa en las diferentes variedades se deben a la temporada de siembra y la temperatura ambiente, donde establecen una relación, donde a menor temperatura atmosférica menor contenido de amilosa.

Caracterización de los almidones de arroz y malanga

La microscopía electrónica de barrido es una técnica que ayuda a dar una amplia perspectiva de la superficie del gránulo, así como de la morfología de los almidones. El AA y AM (Fig. 1), se observaron con un aumento de 1000x.

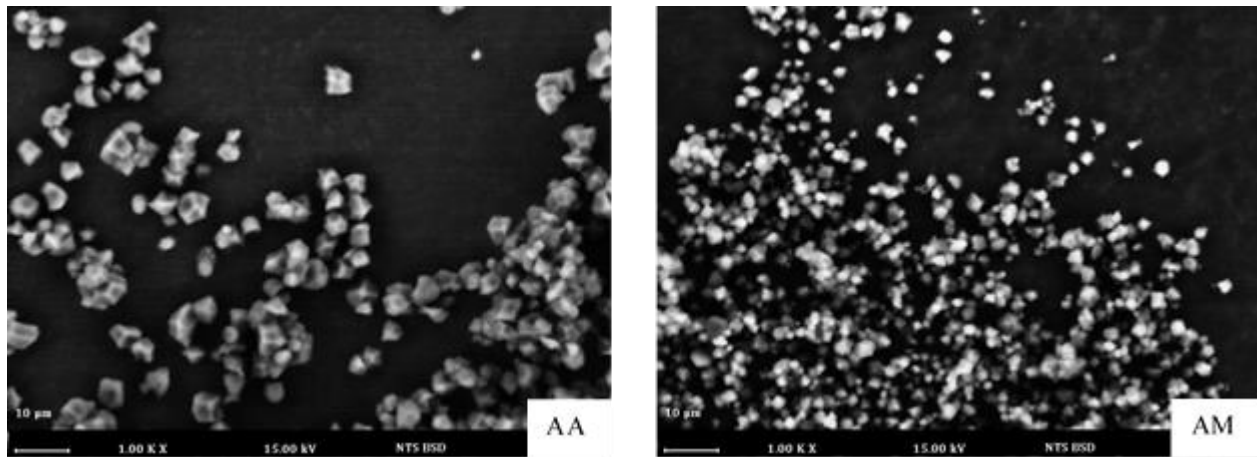


Figura 1. Microscopía de almidón de arroz (AA) y de almidón de malanga (AM).

Los almidones de gránulo pequeño pueden ser utilizados como matrices encapsulantes, donde el almidón es disuelto en una solución de agua, que contiene el material a encapsular (González-Soto *et al.*, 2011). Los resultados mostraron que AA tiene una forma poligonal y una superficie lisa, de acuerdo a lo reportado por Tari *et al.* (2003) y Wang *et al.* (2007), la forma que presenta el AA es poligonal similar a la que se observa en la Fig. 1.

Por otra parte el AM (Fig. 1), presenta forma poliédrica, similar a la que reporta González-Soto *et al.* (2011), donde menciona que la forma del almidón de malanga es irregular y poligonal, sin embargo; Tari *et al.* (2003), al caracterizar almidones de gránulo pequeño reporta que la malanga tiene una forma ovalada, contrario a lo reportado por Lindeboom *et al.* (2004) los cuales reportan que la forma del almidón está relacionada a la fuente botánica e igualmente menciona que los gránulos de almidones con tamaño de gránulo pequeño presentan una forma poliédrica similar a la obtenida en el presente trabajo.

Cinética de crecimiento de *Lactobacillus casei* subs. *Paracasei*

La cinética de crecimiento de *Lactobacillus casei* subs. *Paracasei* (Fig. 2) se realizó durante 25 h, tomándose la medición cada 5 h. De acuerdo con los resultados obtenidos se observó que la fase exponencial se encontraba a las 15 h con una población aproximada de 2.43×10^9 UFC/mL, estos resultados son similares con los reportados por Jurado-Gómez *et al.* (2014) quienes realizaron la cinética de crecimiento de *Lactobacillus casei*, obteniéndose la fase exponencial a las 16:48 h, con una población de 7.3×10^8 UFC/mL.

En este mismo sentido, Pankasemsuk *et al.* (2016) realizó una curva de crecimiento para este microorganismo y encuentra la mayor población cerca de las 16 h en el mismo orden de magnitud al que se obtuvo (10^9), se muestran resultados similares a los obtenidos por Alvarez *et al.* (2010), donde realizó cinética de crecimiento basada en la biomasa producida por *Lactobacillus casei* y menciona que la fase logarítmica finaliza a las 20 h

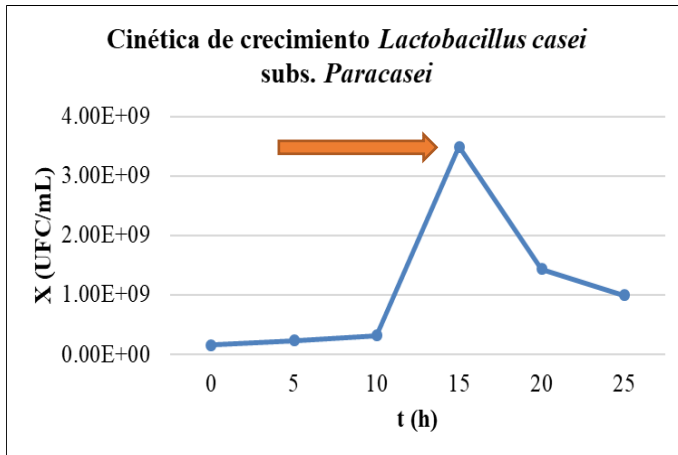


Figura 2. Cinética de crecimiento de *Lactobacillus casei* subs. *Paracasei* tomada cada 5 horas.

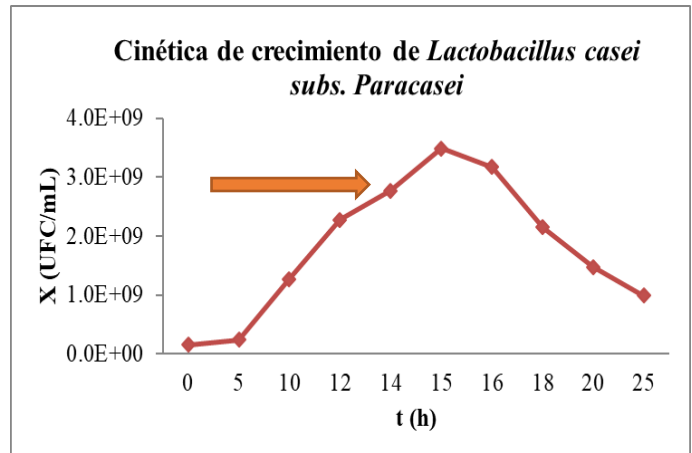


Figura 3. Cinética de crecimiento de *Lactobacillus casei* subs. *Paracasei*, para determinar la población óptima

Por otra parte, se buscó que los microorganismos se encontraran en la última etapa de la fase exponencial (Fig. 3), para que de esta manera *Lactobacillus casei* subs. *Paracasei* se adicionará en óptimas condiciones previo al secado por aspersión. Para ello se realizó una segunda curva de crecimiento, tomando como referencia la anterior, las mediciones que se realizaron entre las 10-20 h fueron en un intervalo de tiempo cada 2 h, los resultados mostraron una cantidad de población óptima a las 14 h manteniéndose en el mismo orden de magnitud que a las 15 h (10^9 UFC/mL) siendo este el tiempo que se tomó para el posterior proceso

Caracterización morfológica de las microcápsulas

En la microencapsulación la formación de las cápsulas depende de varios factores entre ellas las propiedades fisicoquímicas del material pared, en las micrografías obtenidas de las microcápsulas junto con el microorganismo (Fig. 4) mediante secado por aspersión, con los diferentes materiales pared, fueron observadas por microscopía electrónica de barrido (MEB), para evaluar la forma, apariencia de la superficie así como la integridad de las cápsulas y cualquier evidencia de daño o ruptura

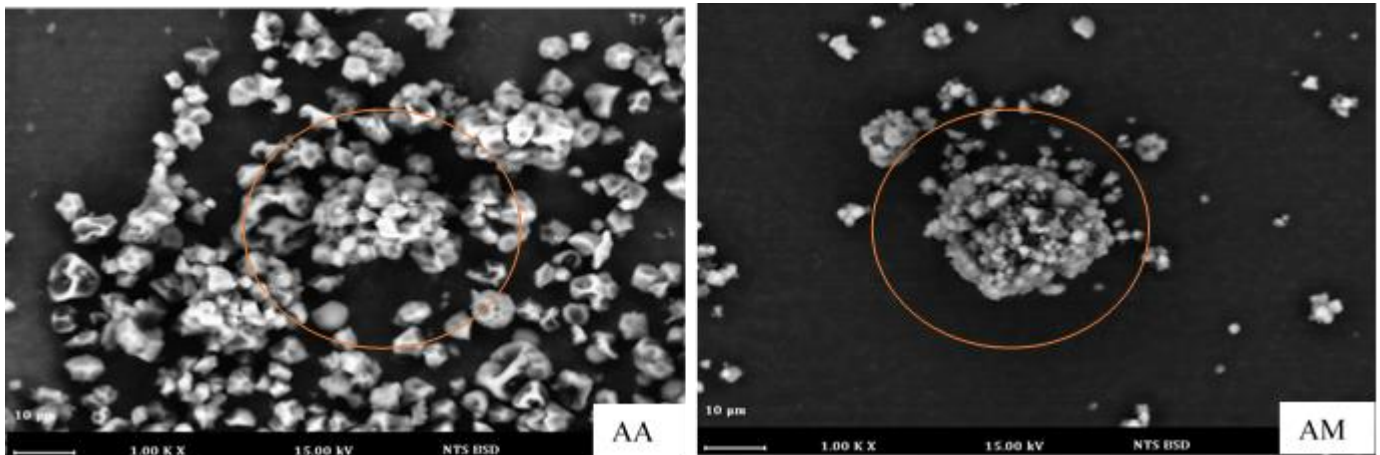


Figura 4. Micrografías de las microcápsulas obtenidas de almidón de arroz (AA) y almidón de malanga (AM).

Para la micrografía realizada a AA se observa que los gránulos de almidón sufrieron algún cambio debido a que se muestran “desinflados”, esto pudo suceder durante el secado por aspersión ya que el almidón pudo haber sufrido algún tipo de modificación lo cual sería provocado por la temperatura, sin embargo Gonzalez-Soto *et al.* (2011) reportaron que las microcápsulas obtenidas para almidón nativo de arroz obtenidas a través del secado por aspersión no tienen una forma esférica, semejante a la obtenida, para el caso de malanga el agregado esférico se ve más uniforme mostrándose poca porosidad y forma de “palomita de maíz” esto se debe a su bajo contenido de amilosa así como a la proteína endógena Zhao & Whistler (1994), resultados similares son obtenidos por Gonzalez-Soto *et al.* (2011), donde evaluaron los agregados esféricos de malanga formados en el secador por aspersión utilizando temperaturas de entrada elevadas (135-150°C) y 3 veces más contenido de sólidos a los ocupados para este trabajo. Tari *et al.* (2003), encapsularon vainillina utilizando gránulos de almidón pequeño entre ellos arroz y malanga con 1% de goma arábica, sin embargo en cuanto al AM se obtiene una forma similar a la presentada en la Fig. 4. Por otra parte se puede decir que malanga forma mejores agregados esféricos (mas uniformes) por ser de gránulo muy pequeño (2-3 μm) en comparación del de arroz que es considerado pequeño (2-10 μm) (Lindeboom *et al.*, 2004).

Caracterización fisicoquímica de las microcápsulas

Algunos autores como Gardiner *et al.* (2000) relacionan el porcentaje de sobrevivencia de los microorganismos probióticos encapsulados con el porcentaje de humedad final y temperatura de salida del secador encontrando que mientras esta última disminuía el contenido de humedad de los productos aumentaba, los valores presentados de humedad son 6.60% para almidón de arroz y 6.27% para almidón de malanga. Ananta *et al.* (2005) determino valores del 7% de humedad encapsulando *L. rhamnosus* con proteína de leche en polvo y polidextrosa encontraron que a valores mayores de este se comprometía la calidad del producto durante su almacenamiento por sufrir una recristalización.

Tabla I. Características fisicoquímicas de las microcápsulas obtenidas para almidón de arroz y de malanga.

	Arroz	Malanga
Humedad (%)	6.60 ^a	6.27 ^b
Aw	0.308 ^a	0.290 ^a
Densidad de bulto (g/cm ³)	0.365 ^a	0.362 ^a

Las pruebas se realizaron por triplicado. Valores en la fila y con diferente letra son significativamente diferentes (P<0.05).

La actividad de agua, ayuda a saber la cantidad de agua disponible para reacciones bioquímicas, y junto con la humedad son parámetros importantes en la calidad de todos los alimentos e igualmente influyen en su vida de anaquel, los valores obtenidos de Aw son de 0.308 y 0.290 para almidón de arroz y almidón de malanga respectivamente, Ávila-Reyes *et al.* (2014) consideran que debe tener entre un 0.15 y 0.3 de Aw para considerarse un polvo de alta calidad, los obtenidos en este trabajo se encuentran en ese intervalo, y se encuentran proporcionalmente relacionados con la humedad pueden existir dos motivos por los cuales el almidón de arroz presente mayor porcentaje de humedad, probablemente porque hay más disponibilidad de grupos OH⁻ en el almidón lo cual puede hacer que más grupos H⁺ pertenecientes al agua se unan en mayor proporción, o por que al momento del secado del almidón no se obtuvo la humedad deseada por lo tanto esté retuvo mayor porcentaje de esta.

Por otra parte autores como Fusch *et al.* (2006) mencionan que la densidad de bulto se encuentra directamente relacionada con el tamaño de partícula, por lo tanto el valor de densidad será menor mientras más pequeño sea el tamaño de partícula, en su trabajo reportaron valores de 0.333 g/cm³, los que se obtuvieron fueron ligeramente mayores (almidón de arroz 0.365 y almidón de malanga 0.362 g/cm³) indicando que el tamaño de la partícula es mayor sobre todo para el almidón de arroz.

Eficiencia de encapsulación

Los resultados obtenidos para la viabilidad de los microorganismos muestran que ambos (almidón de arroz y malanga) pertenecen al mismo orden de magnitud (10^8), sin embargo malanga aumenta ligeramente la viabilidad de *Lactobacillus casei* subs. *Paracasei* con una población de 9.62×10^8 UFC/g en comparación con arroz (5.23×10^8 UFC/g), sin embargo se puede decir que el almidón de malanga forma mejores agregados esféricos por ser de gránulo muy pequeño (2-3 μm) lo cual ofrece mayor protección a los microorganismos en comparación del de arroz que es considerado pequeño (2-10 μm) (Lindeboom *et al.*, 2004).

CONCLUSIÓN

Tanto el almidón de arroz y malanga ofrecen una excelente opción para el probiótico *Lactobacillus casei* subs. *Paracasei*, debido a que su fuente de carbono es la glucosa, sin embargo la viabilidad del microorganismo se ve menos afectada en el almidón de malanga ya que los microorganismos se encuentran dentro de la cápsula y con menos porosidad entre el aglomerado, al contrario de lo que ocurre con el almidón de arroz, que al tener los aglomerados con pequeños huecos puede suceder que los microorganismos emigren al exterior de la micrcápsula lo que los dejaría más expuestos al ambiente y por lo tanto afectando su viabilidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez, M. M., Aguirre-Ezkauriatza, E. J., Ramírez-Medrano., & Rodríguez-Sánchez, A. (2010). Kinetic analysis and mathematical modeling of growth and lactic acid production of *Lactobacillus casei* var. *rhamnosus* in milk whey. *American Dairy Science Association*, 93, 5552-5560.
- Ananta, E., Volkert, M., & Knorr, D. (2005). Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. *International Dairy Journal*, 15(4), 399-409.
- Avila-Reyes, S. V., Garcia-Suarez, F. J., Jimenez, M. T., San Martin-Gonzalez, M. F., & Bello-Perez, L. A. (2014). Protection of *L. rhamnosus* by spray-drying using two prebiotics colloids to enhance the viability. *Carbohydrates Polymers*, 102, 423-430.
- Ding, W. K., & Shah, N. P. (2007). Acid, bile, and heat tolerance of free and microencapsulated probiotic bacteria. *Journal Food Science*, 72(9), M446-450.
- Flores-Gorosquera, E., García-Suárez, F. J., Flores-Huicochea, F., Núñez-Santiago, M. C., Gonzalez-Soto, R. A., & Bello-Pérez, L. A. (2004). Rendimiento del proceso de extracción de almidón a partir de frutos de plátano (*Musa paradisiaca*) estudio en planta piloto. *Acta Científica Venezolana*, 55, 86-90.
- Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M. E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M. N., & Dumoulin, E. (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 75(1), 27-35.
- Gardiner, G. E., O'Sullivan, E., Kelly, J., Auty, M. A. E., Fitzgerald, G. F., Collins, J. K., Ross, R. P. y Stanton C. (2000). Comparative survival rates of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* strains during Heat Treatment and Spray Drying. *Applied and Environmental Microbiology*. 2605-2612.
- Gibson, R. G., & Roberfroid, M. B. (1994). Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
- Gonzalez-Soto, R. A., de la Vega, B., García-Suarez, F. J., Agama-Acevedo, E., & Bello-Pérez, L. A. (2011). Preparation of spherical aggregates of taro starch granules. *LWT - Food Science and Technology*, 44(10), 2064-2069.
- Hoover, R., and T. Vasanthan. 1994. The effect of annealing on the physicochemical properties of wheat, oat, potato and lentil starches. *Journal of Food Biochemistry*, 17: 303-325.

- Juliano, B. O. (1992). Structure, Chemistry, and Function of the Rice Grain and Its Fractions. *Cereal Foods World*, 37, 772-779.
- Jurado-Gómez, H., Calpa-Yamá, F., & Chaspuengal-Tulcán, A. (2014). Determinación de parámetros cinéticos de *Lactobacillus casei* en dos medios probióticos. *Veterinaria y Zootecnia*, 8(2), 15-35.
- Kun-Nan, C., Ming-Ju, C., Je-Rui, L., Chin-Wen, L., & Hsin-Ye, C. (2005). Optimization of Incorporated Prebiotics as Coating Materials for Probiotic Microencapsulation. *Journal Food Science*, 70, 260-266.
- Lindeboom, N., Chang, P. R., & Tyler, R. T. (2004). Analytical, Biochemical and Physicochemical Aspects of Starch Granule Size, with Emphasis on Small Granule Starches: A Review. *Starch - Stärke*, 56(34), 89-99.
- Palma-Rodríguez, H. M., Agama-Acevedo, E., Gonzalez-Soto, R. A., Vernon-Carter, E. J., Alvarez-Ramirez, J., & Bello-Perez, L. A. (2013). Ascorbic acid microencapsulation by spray-drying in native and acid-modified starches from different botanical sources. *Starch - Stärke*, 65(7-8), 584-592.
- Pankasemsuk, T., Apichartsrangkoom, A., Worametrachanom, S., & Techarang, J. (2016). Encapsulation of *Lactobacillus casei* 01 by alginate along with hi-maize starch for exposure to a simulated gut model. *Food Bioscience*, 16, 32-36.
- Paredes-López, O., Schevenin, M. L., Hernández-López, D., & Cárabez-Trejo, A. (1989). Amaranth Starch-Isolation and Partial Characterization. *Starch - Stärke*, 41, 205-207.
- Patindol, J. A., Gonzalez, B. C., Wang, Y.-J., & McClung, A. M. (2007). Starch fine structure and physicochemical properties of specialty rice for canning. *Journal of Cereal Science*, 45(2), 209-218.
- Tari, T. A., Annapure, U. S., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2003). Starch-based spherical aggregates: screening of small granule sized starches for entrapment of a model flavouring compound, vainillin. *Carbohydrate Polymers*, 53, 45-51.
- Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004). Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 151-165.
- Ting-Jang, L. J.-H., Lin; Jia-Ci, Chen; Yung-Ho, Chang. (2008). Characteristics of taro (*Colocasia esculenta*) Starches Planted in Different Seasons and their Relations to the Molecular Structure of Starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2208-2215.
- Wang, Y.-J., Kuo, M.-I., Wang, L., & Patindol, J. (2007). Chemical Composition and Structure of Granule Periphery and Envelope Remnant of Rice Starches as Revealed by Chemical Surface Gelatinization. *Starch - Stärke*, 59(9), 445-453. Alvarez, M. M., Aguirre-Ezkauriatza, E. J., Ramírez-Medrano., & Rodríguez-Sánchez, A. (2010). Kinetic analysis and mathematical modeling of growth and lactic acid production of *Lactobacillus casei* var. *rhamnosus* in milk whey. *American Dairy Science Association*, 93, 5552-5560.
- Ananta, E., Volkert, M., & Knorr, D. (2005). Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. *International Dairy Journal*, 15(4), 399-409.
- Avila-Reyes, S. V., Garcia-Suarez, F. J., Jimenez, M. T., San Martin-Gonzalez, M. F., & Bello-Perez, L. A. (2014). Protection of *L. rhamnosus* by spray-drying using two prebiotics colloids to enhance the viability. *Carbohydrates Polymers*, 102, 423-430.
- Ding, W. K., & Shah, N. P. (2007). Acid, bile, and heat tolerance of free and microencapsulated probiotic bacteria. *Journal Food Science*, 72(9), M446-450.
- Flores-Gorosquera, E., García-Suárez, F. J., Flores-Huicochea, F., Núñez-Santiago, M. C., Gonzalez-Soto, R. A., & Bello-Pérez, L. A. (2004). Rendimiento del proceso de extracción de almidón a partir de frutos de plátano (*Musa paradisiaca*) estudio en planta piloto. *Acta Científica Venezolana*, 55, 86-90.

- Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M. E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M. N., & Dumoulin, E. (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 75(1), 27-35.
- Gardiner, G. E., O'Sullivan, E., Kelly, J., Auty, M. A. E., Fitzgerald, G. F., Collins, J. K., Ross, R. P. y Stanton C. 2000. Comparative survival rates of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* strains during Heat Treatment and Spray Drying. *Applied and Environmental Microbiology*. 2605-2612.
- Gibson, R. G., & Roberfroid, M. B. (1994). Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
- Gonzalez-Soto, R. A., de la Vega, B., García-Suarez, F. J., Agama-Acevedo, E., & Bello-Pérez, L. A. (2011). Preparation of spherical aggregates of taro starch granules. *LWT - Food Science and Technology*, 44(10), 2064-2069.
- Hoover, R., and T. Vasanthan. 1994. The effect of annealing on the physicochemical properties of wheat, oat, potato and lentil starches. *Journal of Food Biochemistry*, 17: 303-325.
- Juliano, B. O. (1992). Structure, Chemistry, and Function of the Rice Grain and Its Fractions. *Cereal Foods World*, 37, 772-779.
- Jurado-Gómez, H., Calpa-Yamá, F., & Chaspuengal-Tulcán, A. (2014). Determinación de parámetros cinéticos de *Lactobacillus casei* en dos medios probióticos. *Veterinaria y Zootecnia*, 8(2), 15-35.
- Kun-Nan, C., Ming-Ju, C., Je-Rui, L., Chin-Wen, L., & Hsin-Ye, C. (2005). Optimization of Incorporated Prebiotics as Coating Materials for Probiotic Microencapsulation. *Journal Food Science*, 70, 260-266.
- Lindeboom, N., Chang, P. R., & Tyler, R. T. (2004). Analytical, Biochemical and Physicochemical Aspects of Starch Granule Size, with Emphasis on Small Granule Starches: A Review. *Starch - Stärke*, 56(34), 89-99.
- Palma-Rodríguez, H. M., Agama-Acevedo, E., Gonzalez-Soto, R. A., Vernon-Carter, E. J., Alvarez-Ramirez, J., & Bello-Perez, L. A. (2013). Ascorbic acid microencapsulation by spray-drying in native and acid-modified starches from different botanical sources. *Starch - Stärke*, 65(7-8), 584-592.
- Pankasemsuk, T., Apichartsrangkoom, A., Worametrachanom, S., & Techarang, J. (2016). Encapsulation of *Lactobacillus casei* 01 by alginate along with hi-maize starch for exposure to a simulated gut model. *Food Bioscience*, 16, 32-36.
- Paredes-López, O., Schevenin, M. L., Hernández-López, D., & Cárabez-Trejo, A. (1989). Amaranth Starch-Isolation and Partial Characterization. *Starch - Stärke*, 41, 205-207.
- Patindol, J. A., Gonzalez, B. C., Wang, Y.-J., & McClung, A. M. (2007). Starch fine structure and physicochemical properties of specialty rice for canning. *Journal of Cereal Science*, 45(2), 209-218.
- Tari, T. A., Annapure, U. S., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2003). Starch-based spherical aggregates: screening of small granule sized starches for entrapment of a model flavouring compound, vanillin. *Carbohydrate Polymers*, 53, 45-51.
- Tester, R. F., Karkalas, J., & Qi, X. (2004). Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39(2), 151-165.
- Ting-Jang, L. J.-H., Lin; Jia-Ci, Chen; Yung-Ho, Chang. (2008). Characteristics of taro (*Colocasia esculenta*) Starches Planted in Different Seasons and their Relations to the Molecular Structure of Starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 2208-2215.
- Wang, Y.-J., Kuo, M.-I., Wang, L., & Patindol, J. (2007). Chemical Composition and Structure of Granule Periphery and Envelope Remnant of Rice Starches as Revealed by Chemical Surface Gelatinization. *Starch - Stärke*, 59(9), 445-453.

Zhao, J., & Whistler, R.L. (1994). Spherical aggregates of starch granules as flavor carriers. *Food Technology*, 48, 104-105