

Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los Procesos para la Microencapsulación de Alimentos para Larvas de Especies Acuícolas

Ruth Pedroza Islas

Universidad Iberoamericana. Departamento de Ingenierías (Tecnología de Alimentos)
Prol. Reforma 880 Lomas de Santa Fe. 01210 México D.F.
Tel. 5267 4000 Ext. 4587
e-mail: ruth.pedroza@uia.mx

RESUMEN

La microencapsulación se ha utilizado desde hace algunos años en la elaboración de dietas para especies acuícolas, en la búsqueda de obtener alimentos que provean una calidad nutritiva adecuada y controlable con el propósito último de sustituir el alimento vivo y de favorecer el desarrollo de las fases larvarias. Se presenta una breve revisión de los procesos más comunes y que se han aplicado en la elaboración de dietas así como las consideraciones más importantes respecto de la funcionalidad de los ingredientes de las dietas y los materiales que conforman la pared de las micro cápsulas.

ANTECEDENTES

La microencapsulación puede ser considerada como una forma especial de empaquetar, en la que un material en particular puede ser cubierto de manera individual para protegerlo del ambiente y de influencias deletéreas. En un sentido amplio, la microencapsulación provee un medio de envasar, separar y almacenar materiales en escala microscópica para su liberación posterior bajo condiciones controladas. Dentro del término de microencapsulación, se incluyen las microcápsulas, las micropartículas, nanocápsulas y sustancias activas atrapadas o embebidas, aunque existe una terminología específica dependiendo de la industria de aplicación, por ejemplo la farmacéutica hace una distinción entre microcápsulas y microesferas dependiendo de cómo se encuentre distribuido el material encapsulado dentro de la partícula (Re, 1998).

La microencapsulación hoy en día se aplica para preservar y/o proteger numerosos ingredientes comerciales (Pszczola, 1998; Brazel, 1999; Gibbs *et al.*, 1999). El material que es cubierto se refiere como fase interna y el material que recubre es llamado pared y generalmente no reacciona con el material a encapsular (Balassa & Brody, 1968)

Las microcápsulas presentan una variedad amplia de estructuras, algunas son de geometría esférica con una fase interna continua rodeada por una pared también continua (estructura

de partícula simple), mientras que otras pueden tener una geometría irregular y pueden tener la fase interna distribuida en una matriz de material de pared (estructuras agregadas) (Shahidi & Han, 1993; Thies, 1996), y aunque hay diversas opiniones del intervalo de tamaño al que pertenecen, puede decirse que van desde 0.2 a 5000 μm (Luzzi, 1970; Bakan, 1973; King, 1995; Re, 1998).

Para preparar las microcápsulas hay numerosas técnicas, y se ha sugerido que podrían identificarse más de 200 métodos en la literatura de patentes (Magdassi & Vinetsky, 1996; Brazel, 1999). No obstante algunos autores clasifican a los métodos de encapsulación en: Físicos o mecánicos y químicos.

Como métodos químicos pueden citarse: Coacervación compleja, polimerización interfacial, gelificación iónica, incompatibilidad polimérica y atrapamiento en liposomas (Thies, 1996; Gibbs *et al.*, 1999).

Entre los métodos físicos se encuentran: El secado por aspersión y la encapsulación por lecho fluidificado como los más comunes (Shahidi & Han, 1993; Magdassi & Vinetsky, 1996; Thies, 1996; Gibbs, Kermasha, Alli & Mulligan, 1999).

La selección del método estará en función del presupuesto, los costos, las propiedades del material a encapsular, el tamaño deseado de las microcápsulas, la aplicación y de los mecanismos de liberación (Re, 1998; Brazel, 1999; Popplewell, 2001).

PROCESOS DE MICROENCAPSULACIÓN

Coacervación

Es un método químico de separación de fases. El término coacervación fue introducido para describir la separación de fase líquido/líquido espontánea que puede ocurrir cuando se mezclan polielectrolitos de cargas opuestas en un medio acuoso. El soluto polimérico separado en forma de pequeñas gotas líquidas, constituye el coacervado. La deposición de este coacervado alrededor de partículas insolubles dispersas en un líquido forma cápsulas incipientes que, por una gelificación apropiada da las cápsulas finales. Usualmente se utiliza una proteína, la gelatina, como encapsulante (policación) y gomas como la arábica que actúan como polímero de carga opuesta para que la coacervación ocurra (Takenaka, Kawashima & Lin, 1980).

En general el proceso de coacervación consiste de tres pasos: 1) Formación de un sistema de tres fases químicamente inmiscibles (una fase líquida o fase continua, un material a recubrir y un material de cobertura o de pared); 2) Deposición del material polimérico líquido que formará la cubierta, sobre el material a cubrir y 3) Solidificación de la cubierta.

Tiene como ventajas que pueden elaborarse microcápsulas tan pequeñas como de 4 μm , su forma es esférica, pueden tener una carga de material a encapsular de alrededor de 90%.

Proporciona buena protección contra pérdidas por volatilización y contra la oxidación. El material encapsulado puede liberarse por presión mecánica o en agua caliente.

Este proceso se ha utilizado para producir dietas para acuicultura (Langdon & Waldock, 1981; Langdon, Levine & Jones, 1985; Knauer & Southgate, 1997).

Polimerización interfacial

Es un proceso donde se hace polimerizar a un monómero en la interfase de dos sustancias inmiscibles, formando una membrana que dará lugar a la pared de la microcápsula. Se distinguen tres pasos en su preparación: 1) Dispersión de una solución acuosa de un reactante soluble en agua en una fase orgánica (aceite) para producir una emulsión agua en aceite (W/O); 2) Formación de una membrana polimérica en la superficie de las gotas de agua iniciada por la adición de un reactante soluble en aceite a la emulsión W/O; 3) Separación de las microcápsulas de la fase orgánica y su transferencia en agua para dar una suspensión acuosa (Kondo, 1990). La separación de las microcápsulas puede hacerse por centrifugación.

Este proceso ha sido utilizado para encapsular proteínas, enzimas, anticuerpos y células (Watheley, 1996). También ha sido el más utilizado para encapsular dietas para larvas de especies acuícolas utilizando proteínas como encapsulantes (Jones, Kanazawa & Rahman, 1979; Kanazawa *et al.*, 1982; Jones, Kurmaly & Arshard, 1987; Jones, Holland & Jaborrie, 1984).

Gelación iónica

Es un proceso que se desarrolló para inmovilizar células, donde se utiliza principalmente alginato como componente de la membrana y la combinación con iones divalentes como el calcio, para inducir la gelificación. En esta interacción tiene lugar un entrecruzamiento iónico entre los iones de calcio y las unidades de ácido gulurónico del alginato, dando lugar a un gel conocido como “modelo de caja de huevo”. Estequiométricamente se requiere de 7.2% de Calcio (basado en el peso del alginato de sodio) para una sustitución completa, sin embargo con sólo 2.2% de calcio se logra la formación del gel.

Al entrar en contacto con los iones calcio, el alginato forma un gel instantáneamente. Los iones se siguen difundiendo en el alginato, logrando que el gel se vaya endureciendo con el tiempo. Cabe mencionar que es posible manipular la dureza del gel formado modificando las condiciones de elaboración (pH, concentración de iones, concentración de alginato, etc.) (King, 1988).

Los geles de alginato/calcio son permeables a moléculas solubles en agua cuyos pesos moleculares sean menores de 5000 Daltons. Moléculas mayores también pueden difundir a través del gel, pero si el peso molecular excede los 10 000 Daltons, la difusión no ocurre. La excepción a esto la constituyen los lípidos, los cuales permanecen en la matriz aún cuando sean de peso molecular bajo.

Las microcápsulas de alginato se han utilizado en larvicultura (Levine, Sulkin & Van-Heukelem, 1983) y actualmente se informa de una aplicación novedosa en la producción de microalgas como *Dunaliella bardawil* y *Chlorella* sp entre otras, como método efectivo para el cultivo con alta densidad celular, lográndose densidades hasta cinco veces mayor que en cultivo libre (Joo *et al.*, 2001).

Incompatibilidad polimérica

En este método se utiliza el fenómeno de separación de fases en una mezcla de dos polímeros químicamente diferentes e incompatibles en un mismo solvente. La incompatibilidad polimérica es el mecanismo que induce la separación de fases. El material a encapsular interaccionará sólo con uno de los dos polímeros el cual se adsorbe en la superficie del material a encapsular formando una película que lo engloba. De manera general este proceso se lleva a cabo en solventes orgánicos y cuando el material a encapsular es sólido (Thies, 1996).

Liposomas

Los liposomas son partículas microscópicas hechas de lípidos y agua principalmente. Su mayor aplicación se ha encontrado en la industria farmacéutica como sistemas de liberación de fármacos para el organismo. Son estructuras compuestas de una bicapa de lípidos que engloba un volumen acuoso, es decir, encapsula (King, 1995).

Se elaboran con moléculas anfifílicas que poseen sitios hidrofóbicos (ácidos grasos, fosfolípidos, etc) y sitios hidrofílicos (colina, serina, inositol, etc). Por ejemplo cuando los fosfolípidos como la lecitina se colocan en agua, forman vesículas hechas de varias bicapas concéntricas divididas por compartimentos acuosos. En la fase acuosa se coloca en material a encapsular cuando es hidrofílico o bien se agrega en el solvente orgánico donde se disuelven los fosfolípidos, si es lipofílico (Benita, Martini & Seiller, 1996).

La técnica de elaboración de referencia emplea un evaporador rotatorio sin embargo existen otras técnicas como la diálisis y el secado por aspersión (Redziniak & Perrier, 1996).

Las vesículas lipídicas o liposomas se han probado para la alimentación de larvas como parte de un tipo de cápsula denominada compleja (Villamar & Langdon, 1993), como liposomas solos en la alimentación de bivalvos (Langdon y Waldock, 1981) y de nauplios de *Artemia* (Hontoria *et al.*, 1994) y para encapsular aminoácidos en dietas para larvas (López-Alvarado *et al.*, 1994).

Secado por aspersión

Este método es el más ampliamente usado para encapsular ingredientes alimenticios y es el más económico (Risch, 1995; Re, 1998). También se ha utilizado para la elaboración de

dietas microencapsuladas para acuicultura (Amjad & Jones, 1992), aunque no de manera intensiva.

Este proceso es en sí uno de deshidratación, pero se considera también de encapsulación ya que puede producir partículas que atrapan el material a cubrir. Por definición, corresponde a la transformación de un fluido en un material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas en un medio de secado en caliente. La distribución del tamaño de las partículas obtenidas por este método es en general menor a 100 μm , aunque hay que destacar que ello depende de las condiciones del proceso.

El proceso consiste de la preparación de la emulsión o suspensión del material a encapsular en una solución de encapsulante, la atomización y la deshidratación de las partículas atomizadas. La adecuada selección del atomizador y el agente encapsulante, son factores críticos. Una de las grandes ventajas de este proceso, además de su simplicidad, es que es apropiado para materiales sensibles al calor, ya que el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto (5 a 30 s) (Deasy, 1983).

Los encapsulantes o materiales formadores de pared más utilizados para este método han sido: Carbohidratos (almidón y derivados, maltodextrinas, jarabes de maíz, ciclodextrinas, carboximetilcelulosa y derivados) ; gomas (arábiga, mezquite, alginato de sodio); lípidos (ceras, parafinas, grasas) y proteínas (gelatina, proteína de soya, caseinatos, suero de leche, zeína). Desde luego que el tipo de material encapsulante tendrá influencia en la estabilidad de la emulsión antes de secar, en el tamaño de partícula, en las propiedades de flujo, en las mecánicas y en la vida útil del material deshidratado (Risch, 1995; Re, 1998; Pedroza-Islas *et al.*, 1999).

Es importante mencionar que el proceso de secado por aspersión se utiliza como auxiliar para la recuperación de microcápsulas producidas por otros procesos como los de coacervación o polimerización (Deasy, 1983).

FUNCIONALIDAD DE LOS INGREDIENTES E INTERACCIONES

Independientemente del método para preparar las microcápsulas, el primer paso para encapsular un ingrediente es la selección de una matriz de encapsulación adecuada. A continuación se presentarán algunas consideraciones importantes.

Entre los agentes encapsulantes utilizados destacan las proteínas (gelatina, caseinatos, suero de leche, zeína, etc.) que son biopolímeros muy complejos y de gran diversidad funcional debido a su naturaleza química. Su conformación espacial se ve fuertemente afectada por el pH del ambiente y la fuerza iónica, por ejemplo en procesos de encapsulación por coacervación, el tamaño de las microcápsulas puede variarse con cambios en el pH que modifiquen las densidades de carga de la gelatina (carga positiva, neutra o negativa) (Takenaka *et al.*, 1980), dando lugar a moléculas expandidas o contraídas en función de las fuerzas de repulsión intramoleculares. Ello afecta también propiedades como la solubilidad, siendo mínima en el denominado punto isoeléctrico (PI).

Otro tipo de proteínas como las aisladas del suero de leche, se han venido usando para formar las paredes de las microcápsulas cuando se encapsula por secado por aspersión. Son adecuadas para este proceso donde una de las restricciones es usar sólo materiales que aún en alta concentración sean de baja viscosidad, condición que cumplen (Young, Sarda & Rosenberg, 1993). Poseen alta capacidad emulsificante y generan microcápsulas de tamaño tan pequeño como $< 2 \mu\text{m}$ (Young, Sarda & Rosenberg, 1992; Espinoza-Herrera, 2002). Pueden utilizarse solas o combinadas con carbohidratos para modificar las propiedades de la pared y el tamaño de las partículas. El uso de proteínas de suero de leche tiene efecto sobre la morfología de las microcápsulas haciéndolas más esféricas y de superficie tersa en comparación con las de polisacáridos (Espinoza-Herrera, 2002).

Recientemente se evaluó el uso de este tipo de proteínas como encapsulantes de alimentos para larvas de *Litopenaeus vannamei* en combinación con goma de mezquite, poniendo en evidencia que el suero de leche es una fuente proteínica con gran potencial de uso en la larvicultura (Espinoza-Herrera *et al.*, 2002).

Cuando las proteínas se combinan con polisacáridos como las gomas, en función del método para elaborar microcápsulas, debe atenderse la estequiometría de la reacción ya que no necesariamente corresponde con los resultados que se dan en la práctica. Por ejemplo en la coacervación compleja entre gelatina (que actúa como polianión) y goma arábiga (polianión), la relación estequiométrica es de 0.92:1 y en la práctica debe tenerse 1:1 (Planas *et al.*, 1990). Si se elige como polianión al alginato, la relación estequiométrica es de 5.4:1 y en la práctica cambia a 3.7:1. Es decir, para cada combinación debe buscarse la relación adecuada, experimentalmente.

Cuando se usan polisacáridos como agentes encapsulantes, como en el secado por aspersión, también deben revisarse detalladamente sus propiedades funcionales. Por ejemplo, las maltodextrinas se usan en combinación con goma arábiga para contribuir en la continuidad estructural durante la formación de la película encapsulante, al combinar dos compuestos de muy diferente peso molecular (aproximadamente 1800 y 1700000 respectivamente) mejorando con ello la eficiencia de encapsulación de aceites, aún de bajo peso molecular. Sin embargo, el grado de hidrólisis de las maltodextrinas también es un factor a considerar, ya que muy bajos equivalentes de dextrosa no tienen el efecto positivo mencionado (Lumdubwong, 2001).

Recientemente se ha demostrado que por la interacción existente entre la goma arábiga y los lípidos se previene su oxidación. El mecanismo propuesto está relacionado con las propiedades de la goma arábiga de adsorberse en la interfase aceite/agua formando una película viscoelástica, donde los lípidos contribuyen con la coherencia de la estructura a través de la formación de empalmes o uniones por medio de gotitas de aceite en los anclajes de las cadenas de la goma arábiga (Matsumara *et al.*, 2000)

El pH es un factor que puede afectar a los polisacáridos que se comportan como electrolitos (goma arábiga, goma de mezquite, alginato, carragenina), alterando su conformación

debido a las cargas intramoleculares, lo que da como resultado diferentes tamaños de partícula de las microcápsulas, modificaciones en la permeabilidad de las películas que forman y en la eficiencia de encapsulación y de retención de los aceites. La naturaleza del polímero también tiene efecto sobre estas propiedades (Pedroza-Islas *et al.*, 1999). Amjad & Jones (1992) evaluaron dietas secadas por aspersión e informan pérdidas por lavado de más de 34% durante las primeras 4 horas de rehidratación, aunque no mencionan el tipo de encapsulante utilizado, esta situación podría ser modificada de acuerdo a lo discutido anteriormente.

Continuando con las propiedades de las paredes, ya se mencionó que el alginato no es adecuado si se busca retener moléculas no lipídicas de bajo peso molecular, lo mismo ocurre cuando se usa carragenina o zeína (López-Alvarado *et al.*, 1994), no siendo así para cápsulas de pared lipídica, donde pueden retenerse moléculas pequeñas solubles en agua como la tiamina, riboflavina y la glucosa (Villamar & Langdon, 1993).

Resulta evidente que las propiedades de las películas encapsulantes formadas dependen en gran medida de la naturaleza del polímero. Una propiedad importante a considerar en un polímero, es su temperatura de transición vítrea (T_g) ya que determinará la cohesividad que puede lograrse al formar la película. Calentando por encima de la T_g las capas de la película se vuelven más cohesivas debido a una mayor movilidad molecular por efecto de la temperatura, lo cual ayuda a la adhesión de la película en el material a cubrir (Deasy, 1983). Debajo de esta temperatura el polímero tiene un comportamiento como de un cristal. La T_g puede disminuirse con la adición de un plastificante, que además reducirá la fragilidad de la película y modificará su permeabilidad.

Los ingredientes de la dieta también juegan un papel importante en la formación de un sistema estable para elaborar las microcápsulas. De manera general, una dieta para larvas contiene diversas fuentes proteínicas y lipídicas además de otros ingredientes como vitaminas, minerales, lecitina y colesterol (Cruz-Terán, 2000).

Las fuentes proteínicas contribuyen con sus propiedades funcionales a la estabilización y formación del sistema alimenticio a ser encapsulado. Es decir, poseen propiedades de hidratación, de retención de agua, pueden gelificar, presentan fuerzas de cohesión y adhesión, propiedades emulsificantes, espumantes y de retención de grasas y aromas. Todo ello dependiendo del origen de la proteína. Si se piensa que en las dietas para larvas las fuentes de lípidos son indispensables y su proporción es de alrededor de 10%, la mayor o menor capacidad emulsificante de las proteínas presentes será importante para determinar el orden de adición de los ingredientes o bien para seleccionar un encapsulante que cubra la función emulsificante. Si la grasa no se encuentra bien distribuida en la mezcla y estabilizada (es decir que las gotitas de grasa no se junten entre sí) al momento de deshidratar la emulsión, ésta se romperá formando dos fases y en el mejor de los casos se tendrán microcápsulas con un alto contenido de aceite superficial, susceptible de oxidación.

Se ha reconocido el efecto benéfico de protección de los ácidos grasos polinsaturados contra la oxidación utilizando diversos métodos de encapsulación, por ejemplo en

complejos de inclusión (Kim *et al.*, 2000), por secado por aspersión usando polisacáridos (Minemoto *et al.*, 2002; Pedroza-Islas, Macías-Bravo & Vernon-Carter, 2002) o proteínas como encapsulantes (Xiaomei & Shiyin, 2000; Keogh, *et al.*, 2001), por liofilización (Heinzelmann *et al.*, 2000; Márquez-Ruiz, Velasco & Dobarganez, 2000).

Las propiedades funcionales de las proteínas se verán modificadas por efecto del proceso, aún utilizando tratamientos térmicos de corta exposición como el secado por aspersión. La causa fundamental en las propiedades de la proteína nativa es sin duda la desnaturalización, durante la cual, bajo condiciones de secado, se forma una estructura de gel por la agregación entre proteínas debido a la exposición de sus grupos hidrofóbicos (Miranda *et al.*, 2002).

Otro de los ingredientes de la dieta es la lecitina, principalmente aquella obtenida de las semillas oleaginosas. Ha sido utilizada ampliamente como emulsificante en la preparación de los alimentos por sus propiedades de reducción de la tensión interfacial, y como encapsulante y antioxidante (Nieuwenhuyzen, 1999). Regularmente se trata de una mezcla de fosfolípidos, glicéridos, ácidos grasos, pigmentos y esteroides. En las formulaciones de dietas para larvas acuícolas, su presencia obedece a necesidades nutritivas, así que cubriría una doble función: Nutritiva y estabilizadora de sistemas aceite/agua. Por sí misma la lecitina (fosfatidilcolina) no forma complejos con el almidón, pero sus componentes glicéridos, como los monoglicéridos sí, produciendo un complejo de inclusión insoluble que induce la formación de un gel de almidón (Conde-Petit & Escher, 1992). Otro ingrediente de la dieta con propiedades emulsificantes es el colesterol.

Con lo hasta aquí planteado, se tiene un panorama de la complejidad tan alta para elaborar dietas artificiales con buenas propiedades. Una de las tareas pendientes es estudiar las interacciones entre los ingredientes de la dieta para identificar la formación de complejos indigeribles, el uso de compuestos que incrementen la temperatura de inicio de la desnaturalización de proteínas o bien que reduzcan la intensidad de la desnaturalización, la evaluación de la funcionalidad de los ingredientes previo a su utilización y la determinación del orden de adición de los ingredientes. Todo ello sin perder de vista el comportamiento de los productos en el agua.

Por último, cabe mencionar que en un alimento para larvas acuícolas donde están presentes proteínas, lípidos, hidratos de carbono y electrolitos, las interacciones entre estos constituyentes deben estar bien balanceadas a fin de lograr un sistema estable en un sentido amplio y de acuerdo a las necesidades.

BIBLIOGRAFÍA

- Amjad, S., Jones D. A., 1992. An evaluation of artificial larval diets used in the culture of penaeid shrimp larvae *Penaeus monodon* (Fabricius). *Pakistan J. Zoology* 24(2): 135-142
- Bakan, J., 1973. Microencapsulation of foods and related products. *Food Technology* November. Pp. 34-44.
- Balassa, L., Brody, J., 1968. Microencapsulation. *Food Engineering* November, 88-91.
- Brazel, C. S., 1999. Microencapsulation: Offering solutions for the food industry. *Cereal Foods World* 44(6): 388-393.

- Conde-Petit, B., Escher, F., 1992. Gelation of low concentration starch systems induced by starch emulsifier. *Food Hydrocolloids* 6(2):223-229
- Cruz-Terán, E. M., 2000. Efecto de la fuente de lípidos dietarios en la sobrevivencia, crecimiento y metamorfosis de larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Tesis. Universidad del Mar. Oaxaca, México.
- Deasy, P., 1983. *Microencapsulation and Related Drug Process*. Pp. 21-59. Marcel Dekker Inc. N.Y.
- Espinoza-Herrera, N., 2002. Elaboración y caracterización de microcápsulas de pared compuesta (proteína-polisacárido) como alimento para acuicultura. Tesis M.C. Universidad Iberoamericana.
- Espinoza-Herrera, N., Pedroza-Islas, R., Vernon-Carter, E. J., Medina-Reyna, C. E., Santiago-Morales, I., Gaxiola-Cortés, G., 2002. Composite wall microencapsulated diets (Whey protein concentrate-Mesquite gum) for marine shrimp larvae. En: *World Aquaculture 2002. Book of Abstracts*. Pp. 591. Beijing, China.
- Gibas, B. F., Kermasha, S., Alli, I., Mulligan, C. N., 1999. Encapsulation in the food industry: A review. *International J. Food Sciences and Nutrition* 50(3): 213-224.
- Heinzlmann, K., Franke, K., Velasco, J., Márquez-Ruiz, G., 2000. Microencapsulation of fish oil by freeze drying techniques and influence of process parameters on oxidative stability during storage. *European Food Research and Technology* 211(4): 234-239.
- Hontoria, F., Crowe, J., Crowe, L., Amat, F., 1994. Potential use of liposomes in larviculture as a delivery system through *Artemia* nauplii. *Aquaculture* 127: 255-264.
- Jones, D. A., Kanazawa, A., Arman, S. A., 1979. Studies on the presentation of artificial diets for rearing the larvae of *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture* 17: 33-43
- Jones, D. A., Kurmaly, K., Rasad, A., 1987. Penaeid shrimp hatchery trials using microencapsulated diets. *Aquaculture* 64: 133-146.
- Jones, D. A., Holland, D. L., Jabborie, S., 1984. Current status of microencapsulated diets for aquaculture. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 10: 275-288.
- Joo, D. S., Cho, M. G., Lee, J. S., Park, J. H., Kwak, J. K., Ha, Y. H., Bucholz., 2001. New strategy for the cultivation of microalgae using microencapsulation. *J. Microencapsulation* 18(5): 567-576.
- Kanazawa, A., Teshima, S., Inamori, S., Sumida, S., Iwashita, T., 1982. Rearing of larval red seabream and ayu with artificial diets. *Mem. Fac. Fish, Kagoshima Univ* 31: 185-192
- Keogh, M. K., O'Kennedy, B. T., Kelly, J., Auty, M. A., Kelly, P. M., Fureby, A., Haahr, A. M., 2001. Stability to oxidation of spray-dried fish oil powder microencapsulated using milk ingredients. *J. Food Science* 66(2): 217-224.
- Kim, S. J., Park, G. B., Kang, C. B., Park, S. D., Jung, M. J., Kim, J. O., Ha, Y. L., 2000. Improvement of oxidative stability of conjugated linoleic acid (CLA) by microencapsulation in cyclodextrins. *J. Agricultural and Food Chemistry* 48(9): 3922-3929.
- King, A., 1988. Flavor encapsulation with alginates. En: *Flavor encapsulation* (ed. por S. Risch and G. Reynecius), pp. 122-125. ACS Symposium Series 370, American Chemical Society, Washington D.C.
- King, A., 1995. Encapsulation of food ingredients. En: *Encapsulation and controlled release of food ingredients* (ed. por S. Risch and G. Reynecius), pp. 26-39. ACS Symposium Series 590, American Chemical Society, Washington D.C.
- Kondo, T., 1990. Preparation and permeability characteristics of microcapsule membranes. *J. Controlled Release* 11: 215-224.
- Knauer, J., Southgate, P. C., 1997. Assimilation of gelatin-acacia microencapsulated lipid by Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) spat. *Aquaculture* 153: 291-300
- Langdon, C. J., Waldock, M. J., 1981. The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. *J. Marine Biological Association of the United Kingdom* 61: 431-448.
- Langdon, C. J., Levine, D. M., Jones, D. A., 1985. Microparticulate feeds for marine suspension-feeders. *J. Microencapsulation* 2(1): 1-11
- Levine, D. M., Sulkin, S. D., van-Heukelen, I., 1983. The design and development of microencapsulated diets for the study of nutritional requirements of brachyuran crab larval. En: *The Culture of Marine Invertebrates. Selecting Readings* (ed. por C.J. Berg), pp. 193-203. Hutchinson Ross Pub. Co. Stroudsburg, Pennsylvania.

- López-Alvarado, J., Langdon, C. J., Teshima, S., Kanazawa, A., 1994. Effects of coating and encapsulation of crystalline amino acids on leaching in larval feeds. *Aquaculture* 122: 335-346.
- Lumdubwong, N., 2001. Low and medium-DE maltodextrins from waxy wheat starch: preparation and properties. *Starch/Staerke* 53(12): 605-615.
- Luzzi, L., 1970. Microencapsulation. *J. Pharmaceutical Sci.* 59(10): 1367-1376.
- Magdassi, S., Vinetsky, Y., 1996. Microencapsulation of oil-in-water emulsions by proteins. En: *Microencapsulation*. (ed. por S. Benita), pp. 21-34. Marcel Dekker, Inc. N.Y., EUA.
- Márquez-Ruiz, G., Velasco, J., Dobarganes, C., 2000. Evaluation of oxidation in dried microencapsulated fish Oil by a combination of adsorption and size exclusion chromatography. *European Food Research and Technology* 211(1): 13-18.
- Matsumara, Y., Satake, C., Egami, M., Mori, T., 2000. Interaction of gum arabic, maltodextrin and pullulan with lipids in emulsions. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 64(9), 1827-1835.
- Minemoto, Y., Hakamata, K., Adachi, S., Matsuno, R., 2002. Oxidation of linoleic acid encapsulated with gum arabic or maltodextrin by spray-drying. *J. Microencapsulation* 19(2): 181-189
- Miranda, J., Partal, P., Cordobes, F., Guerrero, A., 2002. Rheological characterization of egg yolk processed by spray-drying and lipid-cholesterol extraction with carbon dioxide. *J American Oil Chemists'Society* 79 (2): 183-190.
- Nieuwenhuysen, W. V., 1999. Lecithins, functional emulsifiers in food and non-food applications. *Agro Food Industry Hi-Tech* 10(1): 11-14.
- Pedroza-Islas, R., Vernon-Carter, E. J., Durán-Domínguez, C., Trejo, S., 1999. Using biopolymer blends for shrimp feedstuff microencapsulation. I. Microcapsule particle size, morphology and microstructure. *Food Research International* 32: 367-374.
- Pedroza-Islas, R., Macías-Bravo, S., Vernon-Carter, E. J., 2002. Oil termo-oxidative stability and surface oil determination of biopolymer microcapsules. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 1 (1) (en prensa).
- Planas, M., Fernández-Reiriz, M. J., Ferreira, M. J., Labarta, U., 1990. Effect of selected variables on the preparation of gelatin-acacia microcapsules for the aquaculture. *Aquacultural Engineering* 9: 329-341.
- Popplewell, L. M., 2001. Evaluating encapsulation economics. *Perfumer & Flavorist* 26(2): 2-6.
- Pszczola, D. E., 1998. Encapsulated ingredients: providing the right fit. *Food Technology* 52(12): 70-77.
- Redziniak, G., Perrier, P., 1996. Cosmetic applications of liposomes. En: *Microencapsulation*. (ed. por S. Benita), pp. 577-585. Marcel Dekker, Inc. N.Y., EUA.
- Shahidi, F., Han, X., 1993. Encapsulation of Food Ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 33 (6): 501-547
- Takenaka, H., Kawashima, Y., Lin, S. Y., 1980. Micrometric properties of Sulfamethoxazole Microcapsules prepared by Gelatin-Acacia Coacervation. *J. Pharmaceutical Sciences* 69(5): 513-516.
- Thies, C., 1996. A survey of Microencapsulation processes. En: *Microencapsulation*. (ed. por S. Benita), pp. 1-20. Marcel Dekker, Inc. N.Y., EUA.
- Villamar, D. F., Langdon, C. J., 1993. Delivery of dietary components to larval shrimp (*Penaeus vannamei*) by mean of complex microcapsules. *Marine Biology* 115: 635-642
- Watheley, T., 1996. Microcapsules: Preparation by interfacial polymerization and interfacial complexation and their applications. In: *Microencapsulation*. (ed. By S. Benita), pp. 349-376. Marcel Dekker, Inc. N.Y., USA.
- Xiaomei, Y., Shiyin, X., 2000. Microencapsulation of EPA and DHA: wall material selection. *Food & Fermentation Industries* 26(1): 33-36.
- Young, S. L., Sarda, X., Rosenberg, M., 1992. Microencapsulating properties of whey proteins. 2. Combination of whey proteins with carbohydrates. *J. Dairy Science* 76: 2878-2885.