

**Encapsulación de *Lactobacillus Rhamnosus* utilizando alginato de sodio y almidón de
yuca para la alimentación de pollos de engorde**

María Angélica Correa Graciano

Rubén Darío Valencia Hernández

Asesores

Dra. Andrea Vásquez García

Dra. Liliana Londoño Hernández

Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD

Escuela de Ciencias Básicas Tecnología e Ingeniería ECBTI

Programa de Tecnología en Calidad Alimentaria

2025

Dedicatoria

Dedico este proyecto primeramente a Dios por sus bendiciones y llenarme de fuerza para seguir adelante.

A mi padre, Benhur Correa que ya no está físicamente, pero su presencia aun la siento en mi vida, a ti papá, te debo el ejemplo de esfuerzo, perseverancia y amor. Aunque no puedas verme en este final del camino y tampoco puedas leer estas palabras sé que estarías orgulloso, eres mi más grande inspiración. Te extraño y llevaré tus consejos en mi corazón.

A mi madre, Matilde Graciano por su sacrificio, sus palabras de aliento y su amor han sido el motor más grande para terminar este proceso. Tu bendición a lo largo de mi vida me protege y me lleva por el camino del bien.

A mi hermano, Alejandro Correa por nunca dudar de mí, por sus palabras de ánimo, aliento y motivación, por apoyarme en cada etapa de mi vida.

A mi hijo, Cristian Correa quien ha sido mi mayor motivación para nunca rendirme en mi carrera profesional y llegar a ser un gran ejemplo para él.

A mi amiga, Verónica Barandica por estar siempre pendiente de mí en este proceso universitario, por motivarme y no dejarme renunciar, por aguantar mis dramas académicos, por ser ese apoyo incondicional cuando más lo necesito.

Angélica Correa

Dedicatoria

Dedico este proyecto a mi madre, porque tus oraciones, tus consejos y tu amor han sido el motor que me impulsó a dar lo mejor de mí en cada paso de este proceso.

A mi hija, por creer en mí, tu afecto y cariño son detonantes de mi felicidad, de mi esfuerzo de mis ganas de buscar lo mejor de mí.

A Laura Marcela Sánchez, tu ayuda ha sido algo fundamental, has estado conmigo incluso en los momentos más turbulentos, todo este proceso de mi carrera no ha sido fácil. Pero estuviste ahí ayudándome y sobre todo motivándome hasta donde tus alcances así lo permitieron, te lo agradezco mucho. Un cariño inmenso para ti.

Rubén Valencia

Agradecimientos

Primeramente, a Dios por darnos la fuerza y la sabiduría, ser nuestra guía iluminando cada paso hacia la culminación de esta importante etapa de nuestras vidas.

Agradecer de manera especial a nuestra tutora de proyecto, Dra. Andrea Vásquez García, porque gracias a su experiencia, paciencia y apoyo constante nos proporcionó claridad académica, nos dedicó tiempo y motivación en el aprendizaje obtenido, su confianza en nosotros nos impulsó a seguir adelante con el proyecto y superar desafíos que se presentaron a lo largo del proceso.

Nuestros más sinceros agradecimientos también a nuestra tutora de proyecto Dra. Liliana Londoño Hernández por su importante apoyo, disponibilidad, participación y paciencia en el proceso, los cuales ha sido fundamentales para beneficiarnos a nivel científico y personal.

Resumen

Los probióticos son microorganismos vivos, como bacterias o levaduras, que al ser consumidos aportan beneficios a la salud, actuando principalmente en el sistema digestivo. Estos microorganismos se clasifican por su género, especie y cepa; por ejemplo, en *Lacticaseibacillus rhamnosus*. El uso de probióticos se ha planteado como una alternativa al uso de antibióticos en la avicultura, donde tradicionalmente se emplean como promotores del crecimiento. Los probióticos pueden ser una estrategia eficaz para el control de microorganismos patógenos en las granjas avícolas, proporcionando beneficios a la salud de las aves. En la alimentación de pollos de engorde, se ha comprobado que los probióticos mejoran la flora intestinal, modulan el sistema inmunológico, aumentan la digestión y absorción de nutrientes, y reducen la incidencia de enfermedades, entre otros efectos positivos. El objetivo de este proyecto de investigación fue encapsular la bacteria *Lacticaseibacillus rhamnosus* utilizando alginato de sodio y almidón de yuca como materiales de pared, que arrojaron resultados positivos para la continuación del proceso. Las perlas obtenidas fueron evaluadas mediante recuento microbiano para verificar la viabilidad del microorganismo, caracterización morfológica y pruebas de resistencia en condiciones simuladas de jugos gástricos donde se logró la protección de la bacteria encapsulada. Esto permitió determinar la efectividad de la encapsulación en la conservación de la viabilidad del probiótico, la viabilidad del método por extrusión.

Palabras Clave: Nutrición, Ingestión, Bacilo, Aviar, Salud Animal, Alginato.

Abstract

Probiotics are live microorganisms, such as bacteria or yeast, that when consumed provide health benefits, acting mainly in the digestive system. These microorganisms are classified by their genus, species and strain; for example, in *Lacticaseibacillus rhamnosus*. The use of probiotics has been proposed as an alternative to the use of antibiotics in poultry farming, where they are traditionally used as growth promoters. Probiotics can be an effective strategy for the control of pathogenic microorganisms in poultry farms, providing benefits to the health of birds. When feeding broilers, it has been proven that probiotics improve the intestinal flora, modulate the immune system, increase the digestion and absorption of nutrients, and reduce the incidence of diseases, among other positive effects. The objective of this research project was to encapsulate the bacteria *Lacticaseibacillus rhamnosus* using sodium alginate and cassava starch as wall materials, which yielded positive results for the continuation of the process. The capsules obtained were evaluated by microbial counting to verify the viability of the microorganism, morphological characterization and resistance tests in simulated conditions of gastric juices where the protection of the encapsulated bacteria was achieved. This allowed determining the effectiveness of encapsulation in preserving the viability of the probiotic, the viability of the extrusion method.

Keywords: Nutrition, Ingestion, Bacillus, Avian, Animal Health, Alginate.

Tabla de Contenido

Introducción	13
Planteamiento del Problema	14
Justificación	16
Objetivos.....	17
Objetivo General.....	17
Objetivos Específicos.....	17
Marco Teórico.....	18
Probióticos	18
Probióticos en la Alimentación Avícola	18
Bacterias Ácido-Lácticas	19
Requisitos de los Probióticos	20
Beneficios de la Encapsulación de la Bacteria	21
Encapsulación	21
Encapsulación por Extrusión	22
Alginato de Sodio para la Encapsulación	23
Almidón de Yuca	24
Gelatinización	25
Cloruro de Calcio (CaCl ₂)	25
Metodología	26

Activación y Centrifugación de la Cepa <i>Lacticaseibacillus Rhamnosus</i>	26
Desarrollo de la Encapsulación de <i>Lacticaseibacillus Rhamnosus</i> utilizando Alginato de Sodio y Almidón de Yuca	27
Preparación de la Solución de Alginato de Sodio y Almidón de Yuca	27
Encapsulación de Bacteria <i>Lacticaseibacillus Rhamnosus</i> por Extrusión	29
Prueba de la Forma y Tamaño	31
Evaluación del Comportamiento de las Cápsulas de <i>Lacticaseibacillus Rhamnosus</i> bajo Condiciones Gástricas, Analizando su Integridad Física y Viabilidad Celular	31
Pruebas de Viabilidad	31
Incubación y Conteo	31
Caracterización de las Perlas	32
Evaluación del Comportamiento de las Cápsulas de <i>Lacticaseibacillus Rhamnosus</i> Bajo Condiciones Gástricas, Analizando su Integridad Física y Viabilidad Celular	33
Preparación del Jugo Gástrico Simulado	33
Resultados y Discusión.....	34
Encapsulación de <i>Lacticaseibacillus Rhamnosus</i> utilizando Alginato de Sodio y Almidón de Yuca	36
Cápsulas de <i>Lacticaseibacillus Rhamnosus</i> bajo Condiciones Gástricas, analizando su Integridad Física y Viabilidad Celular	38
Prueba de Viabilidad.....	38
Caracterización de las Perlas	40

Comportamiento de las Perlas de Lacticaseibacillus Rhamnosus Bajo Condiciones Gástricas ...	43
Conclusiones	46
Referencias Bibliográficas	47

Lista de Tablas

Tabla 1 <i>Resultados de la Supervivencia de la Bacteria en Jugos Gástricos Simulados</i>	45
--	----

Lista de Figuras

Figura 1 <i>Bacteria Acido Láctica en forma de Bacilos (BAL)</i>	19
Figura 2 <i>Encapsulación por Extrusión</i>	23
Figura 3 <i>Encapsulación utilizando el Método por Extrusión</i>	23
Figura 4 <i>Pesaje de Medios de Cultivo MRS Broth para Activación de Cepa Lacticaseibacillus Rhamnosus</i>	27
Figura 5 <i>Disolución de Almidón- Alginato para Encapsulación de Bacteria Lacticaseibacillus Rhamnosus</i>	28
Figura 6 <i>Solución de Cloruro de Calcio CaCl₂ para Endurecer Perlas Formadas con Alginato</i>	28
Figura 7 <i>Formación de Perlas de Alginato con la Bacteria Lacticaseibacillus Rhamnosus Encapsulada</i>	29
Figura 8 <i>Perlas de Alginato-Almidón de Yuca después del Lavado</i>	30
Figura 9 <i>Maceración de 1 g de Perlas de Alginato con Bacteria Encapsuladas</i>	32
Figura 10 <i>Solución Ácido Clorhídrico HCL al 0,1 M para Gúgos Gástricos Simulados</i>	33
Figura 11 <i>Crecimiento de Bacteria después de 24 horas de Incubación a 37°C</i>	34
Figura 12 <i>Resultados de la Viabilidad en las Tres Concentraciones (Conteo de Colonias)</i>	35
Figura 13 <i>Conteo de Colonias Concentración 3.000</i>	36
Figura 14 <i>Perla de Alginato y Almidón de Yuca con Bacteria Encapsulada, Observada en Microscopio</i>	37
Figura 15 <i>Resultados del Conteo en la Prueba de Viabilidad de la Bacteria Encapsulada 10⁽⁻¹⁾ hasta 10⁽⁻⁴⁾</i>	38
Figura 16 <i>Resultados Conteo de Colonias en Prueba de Viabilidad con Bacteria Encapsulada</i>	

10^{-5} y 10^{-6}	39
Figura 17 <i>Peso de 100 Perlas en la Balanza de Precisión que determinó el Valor Promedio de cada Perla.....</i>	40
Figura 18 <i>Forma de una Perla observada en Microscopio Óptico.....</i>	41
Figura 19 <i>Color de las Perlas utilizando la Gama de Colores.....</i>	41
Figura 20 <i>Medición de la Perla con Pie de Rey.....</i>	42
Figura 21 <i>Perlas de Alginato-Almidón de Yuca Almacenadas a 4°C. A) Alginato 1%-Almidón 5% B) Alginato 1%- Almidón 15%</i>	43
Figura 22 <i>Lectura de pH de los Jugos Gástricos Simulados.....</i>	44
Figura 23 <i>Resultados del Conteo de Colonias en Jugos Gástricos Simulados 10^{-5} y 10^{-6}.....</i>	45

Introducción

Los pollos de engorde están sujetos a disbacteriosis intestinales que dan lugar a grandes patologías afectando su desarrollo y una deficiencia en la producción como la desuniformidad de crecimiento, huevos frágiles entre otros. En la actualidad se han realizado estudios buscando microorganismos benéficos (probióticos) que reemplacen los antibióticos, ya que estos generan problemas en la salud pública. (Díez, 2024)

La encapsulación de probióticos es un proceso mediante el cual se busca salvaguardar por medio de un material de recubrimiento la conservación, la viabilidad y estabilidad de un microorganismo vivo, los cuales pueden estar protegidos con las diferentes técnicas de encapsulación que existen secado por aspersion, recubrimiento por aspersion, extrusión, emulsión y tecnología de gel-partículas, los polímeros son los más utilizados en los métodos de encapsulación, entre los polímeros naturales se encuentran carboximetil celulosa, carragenina, la goma arábica, el quitosano y el alginato. (Rodríguez et al., 2016)

Este proyecto de investigación se realizó con la finalidad de encapsular una bacteria llamada *Lactocaseibacillus rhamnosus* utilizando alginato y almidón de yuca por el método de extrusión que consiste en preparar una solución hidrocoloidal, a la que se añaden microorganismos, y extruir la suspensión celular mediante una jeringa en forma de gotas que caen en una solución de endurecimiento en este proyecto también se evaluó bajo condiciones gástricas simuladas su integridad física y viabilidad celular. (Corral et al., 2012)

Planteamiento del Problema

El consumo de alimentos saludables es un factor clave para garantizar que los pollos de engorde reciban los nutrientes necesarios. Los ingredientes de su dieta determinan el valor nutritivo del alimento que consumen, y los productores tienen la responsabilidad de asegurar el bienestar de estos animales, fomentando un adecuado consumo alimenticio. Tradicionalmente, se han utilizado antibióticos en la alimentación de los pollos para incrementar la rentabilidad y maximizar las ganancias. Sin embargo, este enfoque ha tenido consecuencias negativas, ya que ha dificultado el tratamiento de muchas enfermedades tanto en humanos como en aves. Numerosos estudios han demostrado que los antibióticos son mal absorbidos a nivel intestinal, lo que provoca su excreción sin metabolizarse. Al ser liberados en el medio ambiente, se acumulan y pueden entrar en la cadena alimentaria humana, generando riesgos para la salud pública.

(Polianciuc et al., 2020)

En respuesta a estos problemas, los probióticos se han convertido en una alternativa viable para la producción avícola, ofreciendo múltiples beneficios (Rafiq et al., 2023). Sin embargo, se ha observado que factores como el estrés, la acidez gástrica, el pH y la temperatura de almacenamiento afectan negativamente la viabilidad y supervivencia de los microorganismos probióticos. Por ello, la encapsulación ha surgido como una estrategia eficaz para aumentar la resistencia de las cepas probióticas, ya que esta técnica protege a los microorganismos de la degradación en el estómago y permite una liberación controlada en el intestino. De esta manera, se mejora su estabilidad durante el almacenamiento y se mantienen sus cualidades funcionales.

(Pérez et al., 2013)

En los métodos de encapsulación por extrusión y emulsión, el alginato de sodio se utiliza como material de soporte. Este ácido hidrocoloidal, extraído de algas, es clave para la formación

de cápsulas, cuyo tamaño y esfericidad dependen principalmente de la viscosidad del alginato (Romero, 2004). Además, el alginato presenta importantes ventajas como agente encapsulante: No es tóxico y forma matrices estables al interactuar con sustancias cálcicas como el cloruro de calcio (Kailasapathy como se citó en Ortiz, 2016). La encapsulación mejora la estabilidad de los probióticos frente a factores adversos.

Con base en lo anterior, surge la siguiente pregunta: ¿Cuál es la eficiencia del alginato de sodio y el almidón de yuca en la protección de microorganismos mediante la encapsulación?

Justificación

El uso de probióticos en la avicultura es una estrategia eficaz, ya que estos microorganismos favorecen la protección intestinal, manteniendo un equilibrio adecuado que contribuye a la eliminación de patógenos y reduce pérdidas productivas. Además, el uso de bacterias ácido-lácticas ofrece múltiples beneficios, entre ellos, la ventaja de no dejar residuos en los huevos ni en la carne de las aves. (Díaz et al., 2017)

La encapsulación de microorganismos es una herramienta valiosa para protegerlos de condiciones ambientales adversas. En particular, el almidón de yuca, con su capacidad de gelificación, permite desarrollar materiales biodegradables moldeables que pueden formar películas protectoras (Amador, 2021). Esto es fundamental para asegurar que los microorganismos se mantengan protegidos durante su almacenamiento y transporte, evitando su exposición a condiciones desfavorables.

Con el desarrollo de este proyecto, se busca contribuir al fortalecimiento de la línea de investigación de la UNAD, así como garantizar la estabilidad de los probióticos mediante su encapsulación en materiales de recubrimiento. Esta técnica se empleará para proteger la bacteria *Lacticaseibacillus rhamnosus* de factores que podrían comprometer su viabilidad. Se espera que el uso de estos probióticos mejore la nutrición de los pollos de engorde, contribuyendo además a la seguridad alimentaria para los consumidores.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar la encapsulación de la bacteria *Lacticaseibacillus rhamnosus* utilizando almidón de yuca y alginato de sodio.

Objetivos Específicos

Desarrollar una metodología de encapsulación de *Lacticaseibacillus rhamnosus* utilizando alginato de sodio y almidón de yuca.

Evaluar el comportamiento de las cápsulas de *Lacticaseibacillus rhamnosus* bajo condiciones gástricas, analizando su integridad física y viabilidad celular.

Marco Teórico

Probióticos

Los probióticos son organismos vivos, como bacterias y levaduras, que, al ser administrados en cantidades adecuadas, otorgan beneficios para la salud del hospedador (Guillén, 2022; Organización Mundial de la Salud [OMS] como se citó en Reyes y Lourdes, 2011). Estos microorganismos son sensibles a factores como el calor, la humedad, el oxígeno y las condiciones ácidas (San Juan Meza et al., s.f.). Es importante no confundir probióticos con prebióticos, ya que los prebióticos son ingredientes alimenticios no digeribles que promueven el crecimiento de bacterias ácido-lácticas, potenciando sus efectos benéficos en la salud del consumidor. (Lotfipour et al., 2012)

Para poder considerar y utilizar a un microorganismo como probiótico es necesario que presente algunas características de seguridad, funcionales y tecnológicas. Como por ejemplo sobrevivir a las condiciones del ambiente gastrointestinal, actividad antagonista contra patógenos, contener el número adecuado de cepas viables que conduzcan al efecto beneficioso, viabilidad durante el procesado. (Rondón et al, 2015)

Probióticos en la Alimentación Avícola

En la avicultura, los probióticos se utilizan como estrategia para controlar la excreción de patógenos en las granjas y mantener un microbioma equilibrado, beneficioso para la salud general de las aves. Las bacterias productoras de ácido láctico son uno de los grupos más utilizados como probióticos en esta industria (Cabrera, 2016). Entre ellas, *Lacticaseibacillus rhamnosus* es una de las más comunes. Para ser eficaz en pollos de engorde, esta bacteria debe ser parte de la microbiota normal del ave, capaz de resistir condiciones ambientales adversas

como la alta acidez estomacal, las sales biliares y la competencia con otros microorganismos. (García, 2019)

Las aves se encuentran constantemente expuestas a patógenos que pueden ingresar por el tracto intestinal mediante el alimento, que pueden causar enfermedades gastrointestinales y afectan directamente los resultados productivos, los probióticos que se administran ayudan a mantener la salud digestiva, estimulan una mejor absorción de los nutrientes suministrados en el alimento ya que producen una mejor producción de enzimas digestivas, controlando la población de bacterias patógenas y estimulando el sistema inmune de las aves. (Navarrete, 2023)

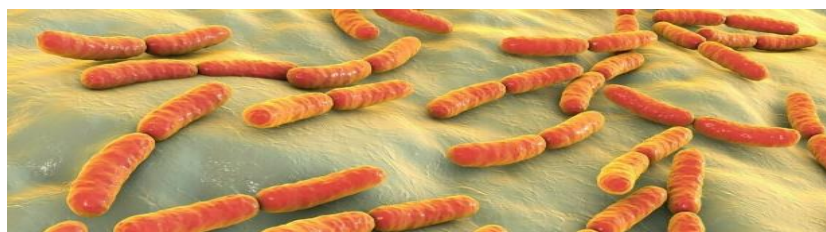
Bacterias Ácido-Lácticas

Las bacterias ácido-lácticas son organismos Gram positivos, no esporulados y anaerobios facultativos (Makarova et al., 2006). Estas bacterias son las más utilizadas como probióticos debido a su capacidad para adaptarse y proliferar en el ambiente intestinal, lo que resulta en múltiples efectos positivos sobre la salud de las aves. (Díaz et al., 2017)

Las bacterias ácido-lácticas se presentan en forma de cocos o bacilos (Figura 1), con una longitud variable y un grosor de 0.5 a 0.8 μm . Son anaerobias facultativas y carecen de la enzima catalasa, lo que las hace catalasas negativas. Estas bacterias se clasifican en dos grupos según su metabolismo: hetero y homo fermentativas. (Parra, 2010)

Figura 1

Bacteria Acido Láctica en forma de Bacilos (BAL)



Nota. Tomado de Worms (2020)

Estas bacterias carecen de actividad respiratoria debido a la ausencia de la enzima citocromo catalasa. Su crecimiento en un medio de fermentación puede verse afectado por varios factores, siendo la temperatura uno de los más relevantes, además de sus requerimientos nutricionales (Parra, 2010). Las bacterias ácido-lácticas, un grupo de microorganismos beneficiosos, producen ácido láctico como producto final de la fermentación de la glucosa en un metabolismo anaeróbico. Esto disminuye el pH intestinal, creando un ambiente menos favorable para la proliferación de bacterias patógenas. (Parra, 2010)

Un ejemplo destacado es *Lactobacillus acidophilus*, un lactobacilo probiótico aislado del intestino del pollo. Esta bacteria ofrece una solución natural para la prevención de enfermedades en pollos de engorde, mejorando su salud y productividad. Entre los beneficios observados están la mayor resistencia de la cáscara de los huevos, una mayor viscosidad de la clara y una mejora en las funciones digestivas. Además, su uso contribuye a reducir la necesidad de antibióticos. (Sacco System, s.f.)

Requisitos de los Probióticos

Si bien está instaurado el concepto de reemplazar las bacterias patógenas del intestino con bacterias benéficas, aún persisten dudas sobre la eficacia de los probióticos disponibles, muchas de ellas derivadas de experiencias sin éxito con este tipo de productos, ya que algunos no dieron los resultados esperados. La variabilidad en los resultados puede deberse a que los probióticos proceden de otras regiones geográficas o incluso de otras especies animales, a las cepas usadas, a las dosis, a la composición de la dieta, a las estrategias de alimentación y a la interacción con otros aditivos alimenticios en la ración diaria. A su vez, el comportamiento animal en respuesta a la adición de probióticos está influenciado por múltiples factores, entre los cuales se encuentran la edad, la raza, el tipo de explotación, el uso de antibióticos, el estrés y el

ambiente de la crianza, por lo que considerar estos factores es un punto crítico antes de utilizar estos productos. (Blajman, 2017)

Beneficios de la Encapsulación de la Bacteria

Lactobacillus rhamnosus ofrece muchos beneficios para la salud. Esta bacteria es conocida por su capacidad para ayudar a prevenir y tratar los síntomas de la diarrea, la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) y la enfermedad de Crohn. También se ha demostrado que puede ayudar a mejorar la función inmune, reducir la incidencia de infecciones, mejorar el metabolismo y la digestión, y ayudar en el tratamiento de la obesidad. Además, algunos estudios han demostrado que el *Lactobacillus rhamnosus* puede ayudar a reducir la ansiedad y la depresión. Esto se debe a que esta bacteria contribuye a regular los niveles de cortisol, una hormona producida en respuesta al estrés. (Lazarraga Healthy Life, 2023)

Encapsulación

La encapsulación es un proceso que protege un componente bioactivo de factores ambientales, envolviéndolo en una matriz protectora. Esto permite preservarlo mediante diversas técnicas hasta su liberación en el momento adecuado (Rodríguez, 2016). Los materiales de recubrimiento más empleados para la encapsulación de microorganismos son los lípidos, polisacáridos (almidón y sus derivados amilosa, celulosa y dextrinas maltodextrinas). extractos de plantas, proteínas como el suero lácteo y alginatos. Se conoce, que los polisacáridos presentan una alta facilidad para formar macropartículas esféricas Da Silva (como se citó en Blajman, 2017). El objetivo principal de la encapsulación de probióticos es proteger a los microorganismos de condiciones adversas, garantizando su llegada al intestino en la concentración necesaria para ejercer sus efectos beneficiosos (Kailasapathy como se citó en Ortiz, 2016). Actualmente, la tecnología de encapsulación se utiliza en industrias como la

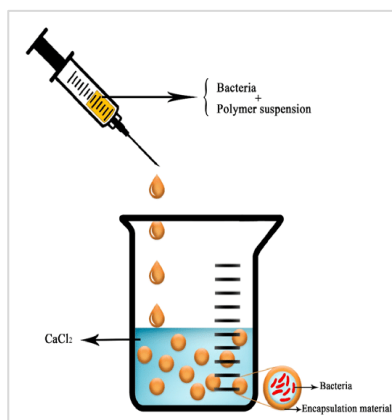
farmacéutica, química, cosmética, alimentaria y de pinturas Parzanese (como se citó en Ortiz, 2016). Dentro de los polímeros utilizados se destaca el alginato ya que proporciona un entorno amigable para las células inmovilizadas, Jen (como se citó en Amador, 2021). El almidón es un polímero de importancia, porque es empleado en estas técnicas asegurando la viabilidad de la población de microorganismos inmovilizados ofreciendo una superficie ideal para la adherencia de ellos durante la metodología. (Kumar como se citó en Amador, 2021)

Un estudio realizado por Chávez et al. (2015) en pollos de un día de vida mostró que el uso de probióticos en el agua de bebida favoreció el crecimiento de microorganismos digestivos y redujo la morbilidad en las aves.

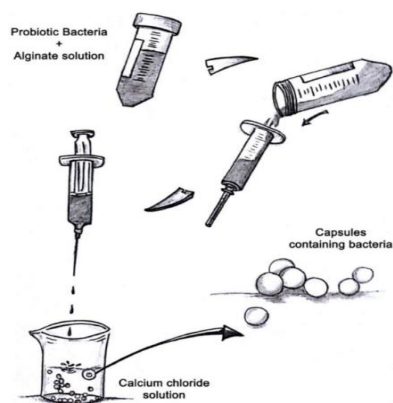
Encapsulación por Extrusión

La encapsulación por extrusión es el segundo método más empleado, después del secado por aspersion, para encapsular probióticos. Este método consiste en preparar una solución hidrocoloidal, a la que se añaden microorganismos, y extruir la suspensión celular mediante una jeringa en forma de gotas que caen en una solución de endurecimiento (Figura 2). El tamaño y la forma de las cápsulas dependen del diámetro del orificio de la jeringa y de la altura de la caída, respectivamente (Figura 3). Este método es popular por su simplicidad, bajo costo y alta retención de viabilidad celular. (Romero, 2004)

Esta técnica es apropiada para la encapsulación de microorganismos ya que, no es agresiva y no se emplean disolventes perjudiciales para las bacterias, igualmente se puede realizar en condiciones aeróbicas como anaeróbicas. (Chandramouli como se citó en Amador, 2021)

Figura 2*Encapsulación por Extrusión*

Nota. Tomado de Saberi et al. (2021)

Figura 3*Encapsulación utilizando el Método por Extrusión*

Nota. Tomado de Serna y Vallejo (2013)

Alginato de Sodio para la Encapsulación

Es una sal sódica derivada del ácido alginico, es decir un polisacárido de forma natural extraído de las algas marinas (Regemat, 2021). Comprende hasta un 40% de su peso seco y también puede ser producidos por bacterias no patógenas y fijadoras de nitrógeno como

Azotobacter vineladii Hernández (como se citó en Amador, 2021), este polisacárido debe su carácter poli aniónico a los grupos carboxilos que aparecen a lo largo de la cadena. La composición y extensión de las secuencias y el peso molecular determinan las propiedades físicas de los alginatos (Lupo como se citó en Amador, 2021). Para la preparación de microcápsulas de alginato de calcio con aplicaciones alimentarias, se tienen las técnicas por extrusión, en emulsión y secado por atomización. Aunque el secado por atomización ha sido para la industria un proceso práctico y económico, su aplicación con alginato se ha visto limitada por la viscosidad y velocidad de gelificación. Por el contrario, la técnica por extrusión ha sido la técnica tradicional empleada en las últimas décadas, debido a la uniformidad de las microcápsulas en su forma y tamaño. (Oliveira como se citó en Amador, 2021)

El alginato de sodio es el material de soporte empleado en el proceso de extrusión para la encapsulación. Este polisacárido es un ácido hidrocoloidal que reacciona con iones de calcio para formar geles estables. La viscosidad del alginato y la distancia entre la jeringa y la solución de cloruro de calcio influyen en el tamaño y la esfericidad de las perlas formadas. (Romero, 2004)

Almidón de Yuca

Es un polisacárido natural, obtenido de la raíz de la yuca. Este almidón se clasifica como agrio y nativo (dulce). En los gránulos de almidón de yuca, su tamaño puede variar entre 5 a 35 micrómetros, conteniendo un 17% de amilosa (Trujillo como se citó en Amador, 2021). Una de las principales propiedades del almidón es su semi cristalinidad, donde la amilopectina es el componente dominante de la cristalización en la mayoría de los almidones. La proporción cristalina está compuesta por estructuras de doble hélice formadas por puentes de hidrogeno entre los grupos hidroxilo en las cadenas lineales de la molécula de amilopectina unidas con proporciones de amilosa (Aristizábal como se citó en Amador, 2021). Los gránulos de almidón

son insolubles en agua fría, se rompe sus membranas al ser molidos, estos gránulos cambian su forma en agua y forman un gel. El almidón tiene un 20% de solubilidad en el agua, la cual es la amilosa y un 80% de insolubilidad, conocida como amilopectina. Ellas están constituidas por unidades de D- (+)-glucosa (Bertolini, 2010).

Gelatinización

Los polímeros del almidón forman gránulos gelatinizados donde se incrementan la rigidez entre y dentro de los gránulos hinchados. La amilosa normalmente gelifica fuera del gránulo después de la gelatinización, la amilopectina permanece dentro del gránulo hinchado donde se cristaliza y forman una matriz (Draget como se citó en Amador, 2021). El almidón varía en su textura y viscosidad partir de las temperaturas a las cuales están sometidas. El gel se forma en función del contenido de amilosa ya que, está presente en un 80% en el almidón.

(Martínez como se citó en Amador, 2021)

Cloruro de Calcio (CaCl₂)

El cloruro de calcio es un sólido cristalino blanco compuesto por un átomo de calcio y dos átomos de cloro. Una notable propiedad del cloruro de calcio es que es un compuesto químico muy higroscópico, es decir, en un ambiente seco permanece sólido, pero al exponerse a la humedad del medio ambiente comienza a atraer moléculas de agua, conforme pasa el tiempo expuesto a la humedad se disuelve formando una solución saturada, a esto se le conoce como deliquesencia (Pochteca El Salvador, s.f). Se utiliza en el proceso de esferificación, ya que es el agente que, en combinación con el alginato, permite la formación de esferas gelatinosas. (El panificador, 2024).

Metodología

El proyecto de investigación se realizó en dos fases: en la primera se realizaron varios procedimientos: Activación de la bacteria en tubos de ensayo que fue utilizada para la encapsulación, luego se realizó la solución de alginato de sodio y almidón de yuca, posteriormente se realizó la encapsulación de la bacteria donde se utilizó el método de extrusión y por ultimo las pruebas de viabilidad; estos procedimientos se realizaron en 3 concentraciones de la bacteria los cuales fueron 1,500 μL , 2,000 μL y 3,000 μL . Con estos resultados en diferentes concentraciones se buscaba observar, determinar y escoger la más viable, es decir la que obtuviera el mayor número de colonias vivas en el conteo.

En la fase 2 se escogió la concentración donde se obtuvo mayor viabilidad, es decir, la que presentó mayor número de colonias bacterianas vivas la cual fue 3,000 μL con la que se continuo el proyecto, con esta concentración se realizaron nuevamente los procesos mencionados anteriormente, pero también se realizó la supervivencia de la bacteria *Lacticaseibacillus rhamnosus* en jugos gástricos simulados, igualmente se realizó la caracterización de las perlas observando sus medidas, peso, color y forma.

Activación y Centrifugación de la Cepa *Lacticaseibacillus Rhamnosus*

Para activar la cepa, se descongeló un criovial a temperatura ambiente y también con agitación manual. Cuando se descongeló la suspensión celular, se sembró una muestra de la suspensión en el medio de cultivo caldo MRS (figura 4) en la que se utilizó un asa redonda. Los tubos de ensayo inoculados se incubaron a 37 °C durante 24 horas para verificar el crecimiento microbiano. Después de la activación, se trasladaron a un medio de cultivo con 250 ml de agua destilada y 13,06 g de agar MRS broth en un Erlenmeyer de 500 ml.

Figura 4

Pesaje de Medios de Cultivo MRS Broth para Activación de Cepa Lacticaseibacillus Rhamnosus



Fuente. Autoría propia.

Cuando pasaron las 24 horas y se obtuvo un buen crecimiento de la bacteria, se trasladó el medio con la bacteria, previamente agitada, a cada tubo falcón en los que se agregaron 13 ml del medio de cultivo con bacteria, se llevaron a centrifugar a 4.000 RPM por 15 minutos, donde se obtuvo la biomasa necesaria para la encapsulación.

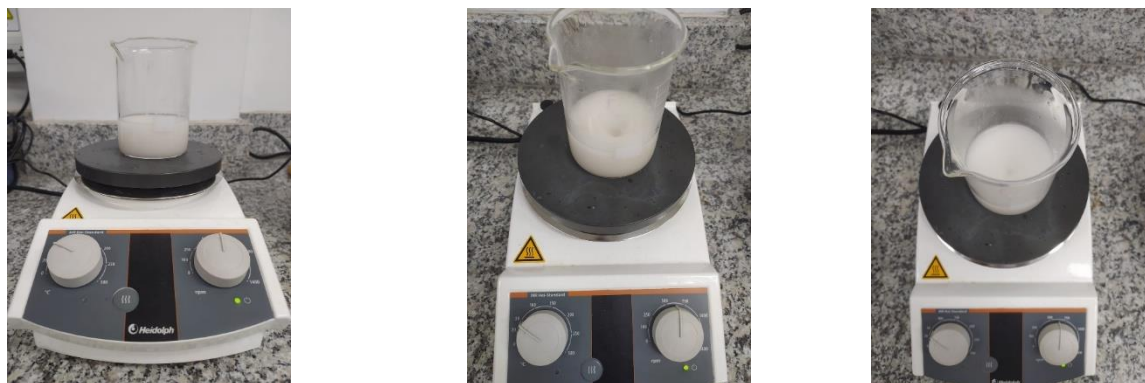
Desarrollo de la Encapsulación de *Lacticaseibacillus Rhamnosus* utilizando Alginato de Sodio y Almidón de Yuca

Preparación de la Solución de Alginato de Sodio y Almidón de Yuca

La disolución del almidón de yuca se realizó en 50 ml de agua destilada, se disolvió en 2g de almidón de yuca (4% p/v), los cuales fueron macerados previamente. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 1 hora (figura 5), Posteriormente, se adicionó el alginato de sodio para lo cual se agregó 0,25 g de alginato de sodio (0,25% p/v) a la solución de almidón de yuca.

Figura 5

Disolución de Almidón- Alginato para Encapsulación de Bacteria Lacticaseibacillus Rhamnosus

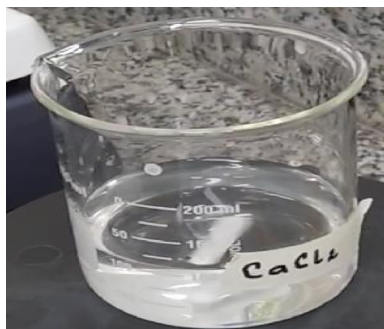


Fuente. Autoría propia.

Continuó en agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. Mientras se realiza la agitación de la solución de alginato-almidón de yuca, se realizó la solución de cloruro de calcio CaCl_2 (figura 6), en 75 ml de agua destilada, se disolvieron 4,16 g de cloruro de calcio (CaCl_2). Esta solución fue la utilizada en el proceso de encapsulación para endurecer las perlas formadas con el alginato de sodio y almidón de yuca.

Figura 6

Solución de Cloruro de Calcio CaCl_2 para Endurecer Perlas Formadas con Alginato y Almidón



Fuente. Autoría propia.

Encapsulación de Bacteria Lacticaseibacillus Rhamnosus por Extrusión

En 50 ml de la solución de alginato de sodio y almidón de yuca, se agregó, la concentración de bacteria que resulto más viable en la fase 1 (3,000 μ L). La mezcla se agitó a 100 rpm. Para la formación de perlas la mezcla fue goteada sobre la solución de cloruro de calcio (CaCl_2) previamente preparada, se utilizó una jeringa de 1 mm. La solución se mantuvo en agitación constante a 50 rpm durante 30 minutos lo que permitió que el alginato de sodio se entrecruzara completamente con el cloruro de calcio y se formaran las perlas (figura 7).

Figura 7

Formación de Perlas de Alginato con la Bacteria Lacticaseibacillus Rhamnosus Encapsulada



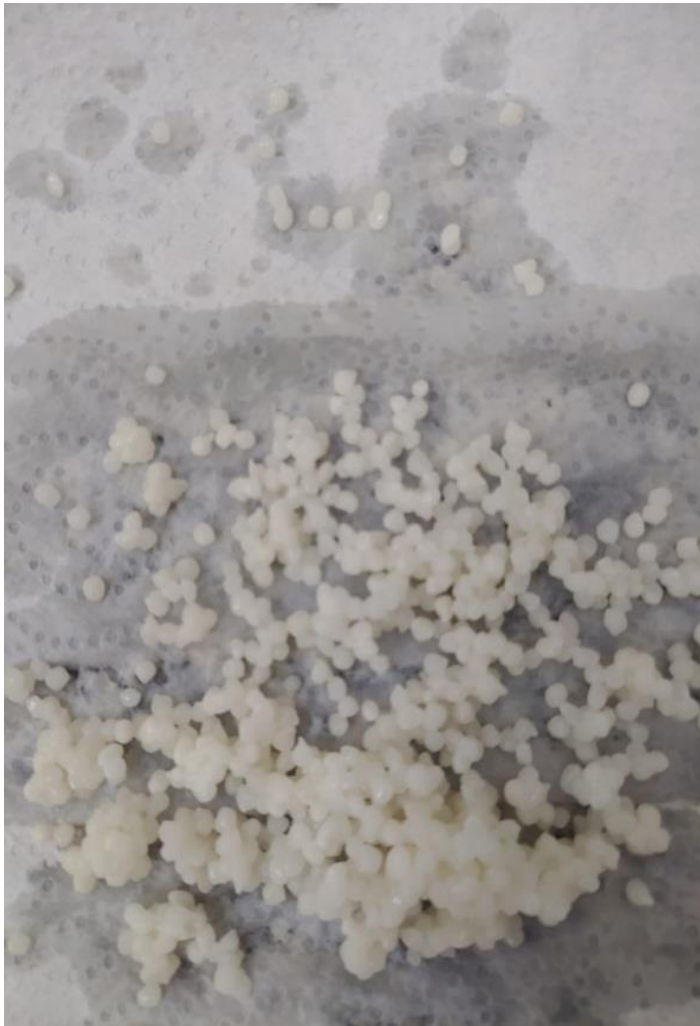
Fuente. Autoría propia.

Luego, las perlas se lavaron y se secaron con agua destilada para eliminar el exceso de soluciones (figura 8). Finalmente, se dejaron secar a temperatura ambiente durante 24 horas.

Después de finalizada la encapsulación de la bacteria, se tomó 1 perla la cual se trituro aprovechando que aún no había tomado su estado sólido completamente, lo que permitió que por medio del microscopio óptico se observara la presencia bacteriana utilizando la técnica de tinción de Gram.

Figura 8

Perlas de Alginato-Almidón de Yuca después del Lavado



Fuente. Autoría propia.

Prueba de la Forma y Tamaño

Se seleccionaron aleatoriamente 15 perlas de cada una de la matriz de Alginato 1% - Almidón yuca al 5% y Alginato 1% -Almidón yuca al 5% previamente preparadas realizando una comparación entre cada una de ellas por su forma y el tamaño que presentaron después de ser almacenadas. Como criterio se realizó una matriz control de Alginato-Almidón en las cuales presentaron homogeneidad en su forma, peso y tamaño en ensayos anteriores.

Evaluación del Comportamiento de las Cápsulas de *Lactocaseibacillus Rhamnosus* bajo Condiciones Gástricas, Analizando su Integridad Física y Viabilidad Celular

Pruebas de Viabilidad

Se preparó el medio para realizar las diluciones, se disolvió 1,62 g de peptona en 108 ml de agua destilada y se agitó para homogeneizar. Se procedió a distribuir la solución en 12 tubos de ensayo, cada uno con 9 ml de agua peptonada para realizar las diluciones las cuales se realizarán de la siguiente manera. Un gramo de las perlas obtenidas fue macerado (figura 9). Luego, se realizó la respectiva siembra en placa: se tomaron 1.000 μ l de cada tubo de dilución y se sembró en cajas Petri. Luego se añadió de 20 a 30 perlas de vidrio en cada caja para facilitar la siembra al agitar en movimientos horizontales y verticales.

Incubación y Conteo

Se procedió a incubar las cajas Petri a 36°C durante 24 horas. Luego, se realizó el conteo de las colonias (Figura 13) para confirmar la viabilidad de las bacterias encapsuladas utilizando la siguiente fórmula:

UFC: unidades formadoras de colonias

D: dilución

N: número de colonias

$$\text{UFC/ml} = \text{NxDx10}$$

Figura 9

Maceración de 1 g de Perlas de Alginato con Bacteria Encapsuladas



Fuente. Autoría propia.

Caracterización de las Perlas

A las perlas formadas mediante el proceso de encapsulación, se les observó su morfología con la ayuda de microscopio óptico y elementos necesarios en la que se detectaría posibles agresiones de las partículas.

Medición. Las mediciones se realizaron con un pie de rey, obteniendo medidas verticales y horizontales.

Peso. Se tomaron 100 perlas, las cuales fueron pesadas en la balanza de precisión, el total se dividió por 100 y así se obtuvo el promedio de cada perla.

Forma. Se observó detalladamente en el microscopio óptico su forma, para determinar si era totalmente esférica u ovalada.

Color. Se utilizó la tabla llamada gama de blancos en la cual se determinó su color.

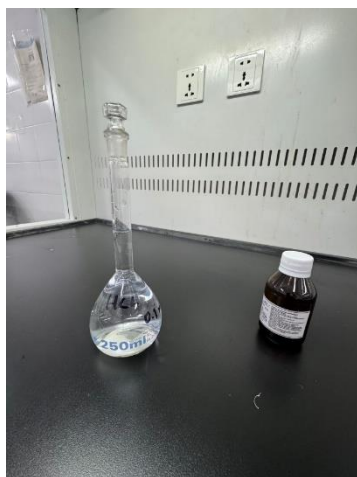
Evaluación del Comportamiento de las Cápsulas de *Lactocaseibacillus Rhamnosus* Bajo Condiciones Gástricas, Analizando su Integridad Física y Viabilidad Celular

Preparación del Jugo Gástrico Simulado

De una solución de ácido clorhídrico HCL al 0,1 M (figura 10) se tomaron 00,50 μ l, se trasladaron a un balón aforado de 250 ml, se aforaron con agua destilada y se agitó manualmente la solución, luego traslado a un beaker de 100 ml. Se realizó la lectura de pH.

Figura 10

Solución Ácido Clorhídrico HCL al 0,1 M para jugos Gástricos Simulados



Fuente. Autoría propia.

Como descrito en el numeral 26, para la fase 2 del proyecto se tomaron 100 perlas con bacteria encapsulada divididas en seis tubos de ensayo con tapa, las cuales contenían 10 ml de jugos gástricos simulados los cuales se realizaron con ácido clorhídrico, se incubaron anaeróticamente a 37°C durante 3 horas con un intervalo de 30 minutos durante la incubación.

Luego se procedió a centrifugar 10 minutos a 3,000 RPM, después se tomaron las perlas de una muestra de tubo de ensayo y se lavaron con solución salina fisiológica y por último se analizaron para el recuento de colonias.

Resultados y Discusión

Siguiendo la metodología propuesta, primeramente, se realizó la activación de la bacteria *Lactocaseibacillus Rhamnosus* de acuerdo con el protocolo escrito en la metodología, proceso en el que se obtuvo un buen crecimiento de la bacteria en los Erlenmeyer de 250 mL (Figura 11).

Figura 11

Crecimiento de Bacteria después de 24 horas de Incubación a 37°C



Fuente. Autoría propia.

Posteriormente se realizó el procedimiento de la fase 1, se realizaron los tres tratamientos a diferentes concentraciones 1,500, 2,000 y 3,000 μL ; al comparar estas evidencias se determinó

que la más viable fue la concentración 3,000 μL de bacteria *Lacticaseibacillus Rhamnosus* para encapsulación (figura 12), con la que se continuo el proceso de jugos gástricos simulados y caracterización de perlas, ya que fue la que presento un mejor resultado, es decir donde se obtuvo mayor número de bacterias vivas en el conteo.

Figura 12

Resultados de la Viabilidad en las Tres Concentraciones (Conteo de Colonias)

Viabilidad de las tres concentraciones												
[]	10^{-1}	10^{-1}	Promedio	Desviacion estandar	10^{-2}	10^{-2}	Promedio	Desviacion estandar	10^{-3}	10^{-3}	Promedio	Desviacion estandar
1,5ml	9	8	8,5	0,70711	3	5	4	1,4142	0	0	0	0,0000
2,0ml	12	15	13,5	2,12132	10	12	11	1,4142	1	0	0,5	0,7071
3,0ml	26	25	25,5	0,70711	20	25	22,5	3,5355	19	18	18,5	0,7071

Fuente. Autoría propia.

Existen muchos métodos para realizar la encapsulación de microorganismos en este caso se realizó el método de extrusión (Figura 2), el cual fue efectivo para el procedimiento realizado así como en las pruebas realizadas por Caicedo (2010) donde se determinó que el método de extrusión fue el adecuado para encapsulación, presentando unas buenas formas en las perlas, fuertes, y con tamaños adecuados y su reacción fue inmediata, al momento de terminar la técnica las perlas estaban separadas, nadando en la solución de cloruro de calcio CaCl_2 . El alginato tiene propiedades de intercambio iónico y una capacidad de formar geles al tener contacto con el cloruro de calcio CaCl_2 , al contener también almidón de yuca facilita la forma y la estructura de las perlas, conclusión que se llevó a cabo en las pruebas realizadas por Amador (2021).

Encapsulación de *Lacticaseibacillus Rhamnosus* utilizando Alginato de Sodio y Almidón de Yuca

A la solución de alginato y almidón de yuca se agregó la concentración escogida en la fase 1 la cual fue 3.000 μL , la cual resulto muy viable ya que al conteo de colonias se evidencia el crecimiento de las bacterias como se observa en la figura 13. Young et al. (2006) indica que se ha demostrado que las perlas de alginato tienen la capacidad de retener una buena cantidad de bacterias en el proceso de encapsulación.

Figura 13

Conteo de Colonias Concentración 3.000

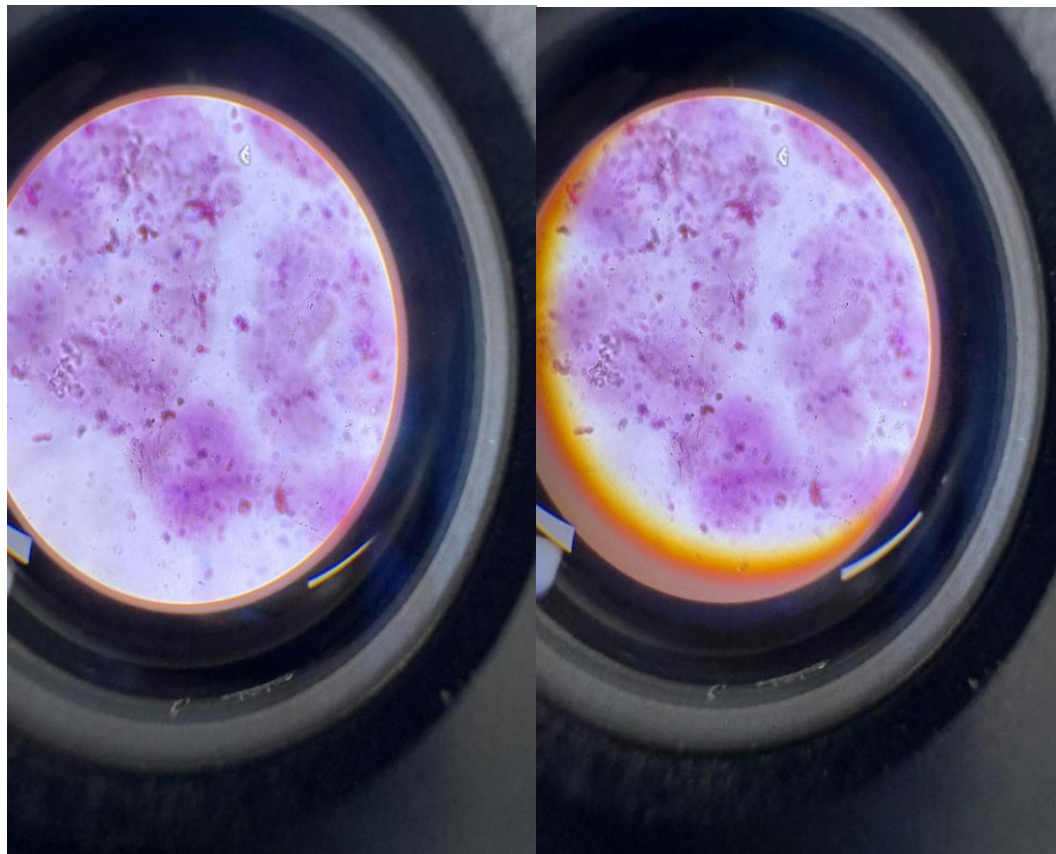
Conteo de colonias concentración 3.000 μL									
\square	10^{-1} hasta 10^{-4}	10^{-5}	Duplicado 10^{-5}	Promedio	Desviación estandar (s)	10^{-6}	Duplicado 10^{-6}	Promedio	Desviación estandar (s)
3.000 μL	incontables	31	73	52	21	25	25	2	0

Fuente. Autoría propia.

La mezcla de alginato 0,5 % y almidón de yuca 4%, permitieron que se formaran las perlas como se tenía planteado en la metodología, dejarlas a temperatura ambiente por 24 horas, permitió el secado, la conservación y estructura física deseada para la continuación del proceso de manera satisfactoria. Se tomó una perla la cual fue triturada antes del secado para aprovechar que aún no estaba en su estado sólido y sería fácil para su ruptura, fue observada en el microscopio utilizando la técnica de tinción de Gram (figura 14). Donde se puede observar una eficiencia en la encapsulación de la bacteria en las perlas de alginato y almidón de yuca.

Figura 14

Perla de Alginato y Almidón de Yuca con Bacteria Encapsulada, Observada en Microscopio



Fuente. Autoría propia.

De la misma manera se logró evidenciar que es una bacteria Gram positiva por su forma de bacilos y por el color en su tinción. Se evidencio que el procedimiento de encapsulación fue eficiente, ya que aun después de 24 horas a temperatura ambiente, los microorganismos continuaban viables.

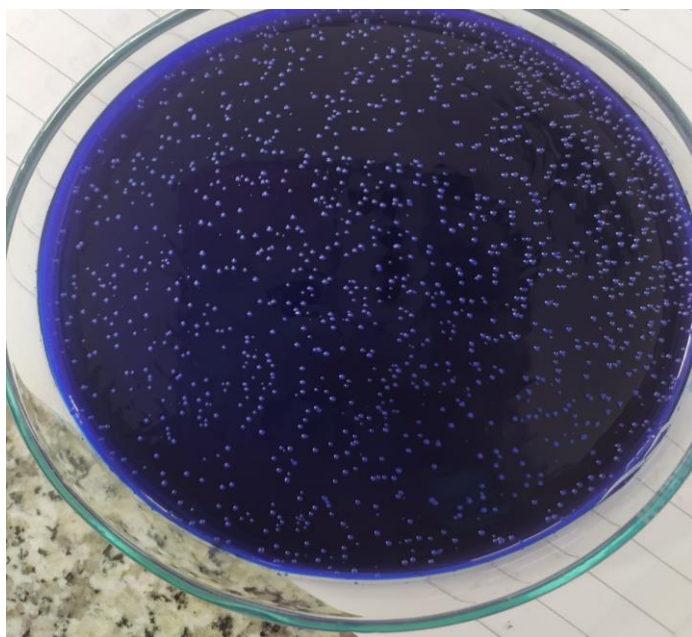
Cápsulas de *Lacticaseibacillus Rhamnosus* bajo Condiciones Gástricas, analizando su Integridad Física y Viabilidad Celular

Prueba de Viabilidad

Se continuo con la prueba de viabilidad, donde se observó que la bacteria logro un crecimiento favorable indicando que es efectivo el método y todo el proceso de encapsulación, en la figura 13 se observan los resultados del conteo de colonias, desde 10^{-1} hasta 10^{-4} fue un crecimiento tan amplio que fueron incontables las colonias (figura 15). Igualmente, en 10^{-5} y 10^{-6} se puede evidenciar el conteo de las colonias, las cuales fueron favorables por su multiplicación y capacidad de formar las colonias (figura 16).

Figura 15

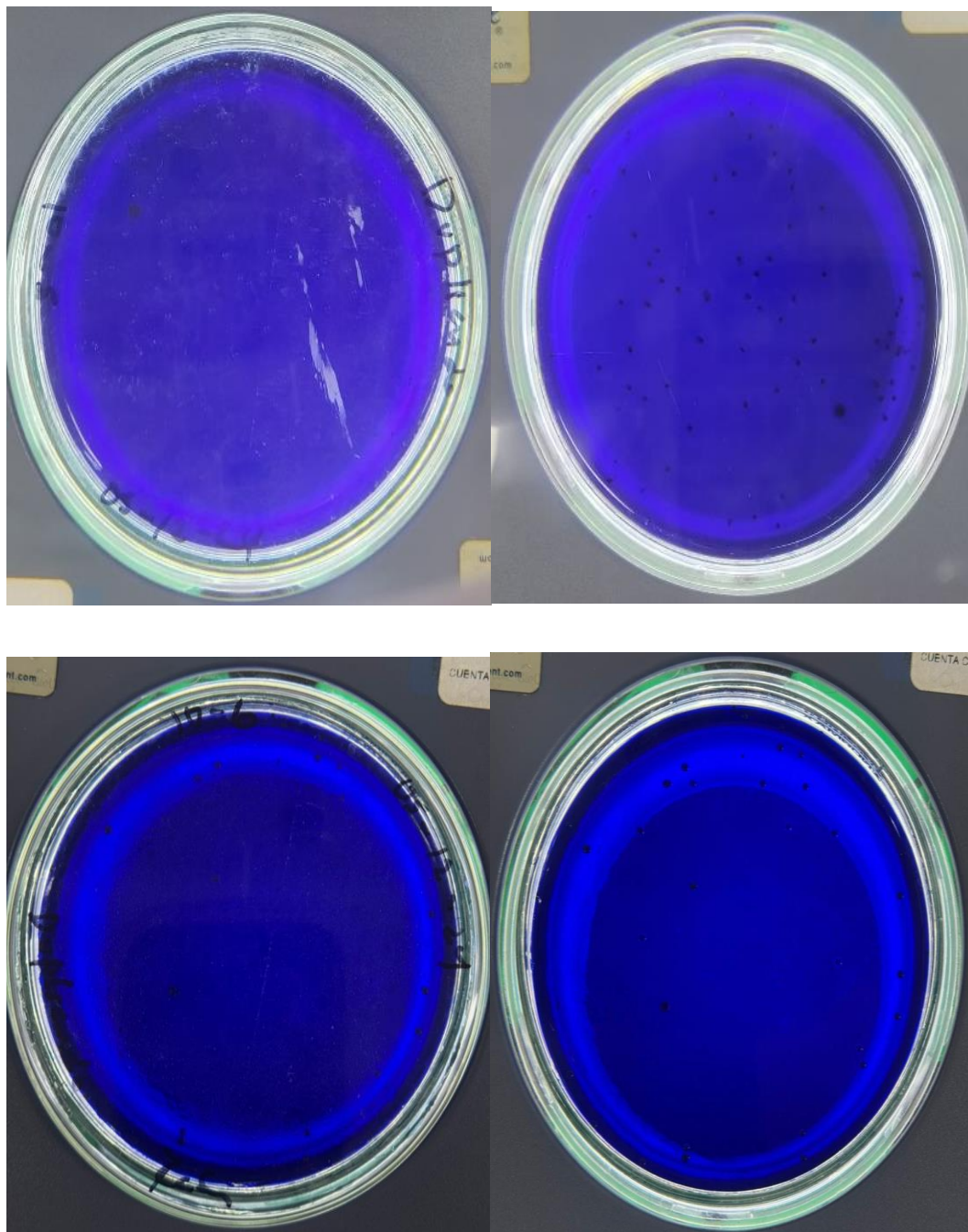
Resultados del Conteo en la Prueba de Viabilidad de la Bacteria Encapsulada 10^{-1} hasta 10^{-4}



Fuente. Autoría propia.

Figura 16

Resultados Conteo de Colonias en Prueba de Viabilidad con Bacteria Encapsulada 10^{-5} y 10^{-6}



Fuente. Autoría propia.

Caracterización de las Perlas

A las perlas formadas se les realizó la respectiva morfología en donde se determinó su peso, forma, color y medida arrojando los siguientes resultados.

Peso. Se pesaron 100 perlas en la balanza de precisión (figura 15), que pesaron 0.0858 gr este resultado se dividió por 100, dando como resultado 0.00858 gr que sería el peso promedio de cada perla. En un estudio realizado por (Amador, 2021) se encontró que el peso de las perlas va a depender de la concentración de almidón que se haya utilizado, y que el peso de cada perla es diferente ya que depende de la velocidad de goteo y la concentración de la solución endurecedora de cloruro de calcio que se utilice.

Figura 17

Peso de 100 Perlas en la Balanza de Precisión que determinó el Valor Promedio de cada Perla



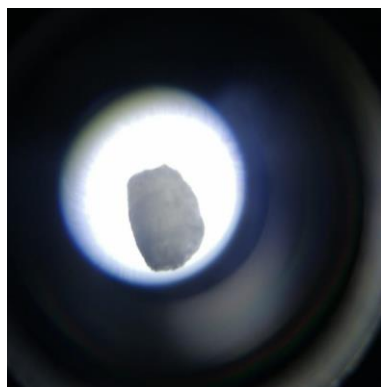
Fuente. Autoría propia.

Forma. Se tomaron algunas perlas aleatoriamente y se observaron en el microscopio (figura 16), determinando que su forma es ovalada, no son totalmente esféricas esto influye en el

tamaño de jeringa que se utilice y la concentración del almidón de yuca según estudio de Amador (2021).

Figura 18

Forma de una Perla observada en Microscopio Óptico

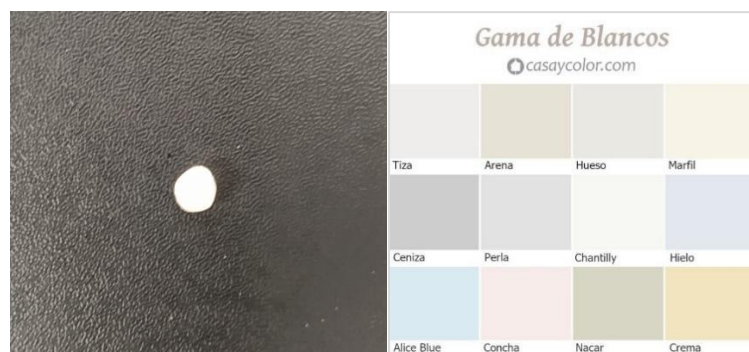


Fuente. Autoría propia.

Color. Utilizando la gama de colores blanco, se determinó que el color de las perlas es marfil (figura 19).

Figura 19

Color de las Perlas utilizando la Gama de Colores



Nota. Determinación del color según la gama de colores blanco, la que más dio exactitud fue el color marfil. Tomado de Casa y Color (2025).

Tamaño de Partículas. Un desafío importante para la encapsulación celular es el tamaño relativamente grande de los microorganismos (1-4 μ m), esta característica limita la carga de células probióticas. Un método para proteger a los probióticos es su inclusión en emulsiones dobles, ya que estas funcionan como envoltura adecuada para encapsular y proteger las bacterias probióticas en el tracto gastrointestinal. (Pimentel et al., como se citó en Lozano 2019)

Medición. todas las mediciones fueron tomadas con un pie de rey (figura 20) obteniendo los siguientes resultados su medición vertical fue entre 1mm a 1,1 mm y horizontal fue entre 1,3 mm y 1,5 mm por su forma ovalada.

Figura 20

Medición de la Perla con Pie de Rey



Fuente. Autoría propia.

Figura 21

Perlas de Alginato-Almidón de Yuca Almacenadas a 4°C. A) Alginato 1%-Almidón 5% B) Alginato 1%- Almidón 15%



Nota. Perlas de Alginato- Almidón de yuca almacenadas a 4°C durante 8 días donde posterior a este tiempo se realizaron los diferentes ensayos metodológicos para evaluar los microorganismos PGPM encapsulados.

Se evidencia que a mayor concentración del polímero las perlas estructuralmente son más grandes, siendo esto uno de los parámetros más relevantes porque este puede influir en la eficiencia de la encapsulación y la dispersión del polímero a la hora de realizar la perla. Se considera que el tamaño y la forma de las perlas están influenciados por factores como la concentración del almidón de yuca y el tamaño del poro de la jeringa utilizada. El peso de las perlas no es homogéneo en todas y este está influenciado por la velocidad de goteo y la concentración de la solución endurecedora de cloruro de calcio utilizada. (Amorós como se citó en Amador, 2021)

Comportamiento de las Perlas de *Lacticaseibacillus Rhamnosus* Bajo Condiciones Gástricas

Finalmente se evaluó la sobrevivencia de la bacteria en jugos gástricos simulados, tal y como lo indica en su estudio, Amorós (como se citó en Amador, 2021), existen muchos proyectos de diversos autores donde utilizan solamente cloruro de sodio NaCl, ajustando el pH

con ácido clorhídrico HCl, otros utilizan NaCl con diversas concentraciones de sales biliares, por lo que es difícil comparar estos estudios ya que la viabilidad varía o puede afectarse por causa de la ausencia o presencia de estos componentes, como por ejemplo la pepsina.

Uno de los objetivos de la encapsulación es preservar o proteger los microorganismos al pasar por el estómago de los pollos de engorde, es por este motivo que se realizó este procedimiento con ácido clorhídrico HCl al 0.1 M ajustando su pH para acercarse a él de los pollos de engorde, y determinar la resistencia de la bacteria *Lacticaseibacillus rhamnosus* a condiciones gástricas simuladas, y así comprobar los efectos de protección que tienen los materiales y el método de encapsulación aplicado, como en el proyecto realizado por. (Amorós como se citó en Amador, 2021)

Con el procedimiento de la preparación de jugos gástricos simulados utilizando ácido clorhídrico, se buscaba que, al realizar la lectura del pH, este fuera igual al de los jugos gástricos en los pollos de engorde que es 4.5 y 5.0, el resultado de la lectura fue 4.64 como se observa en la (figura 22) por lo que fue viable para ser utilizado en el procedimiento.

Figura 22

Lectura de pH de los Jugos Gástricos Simulados

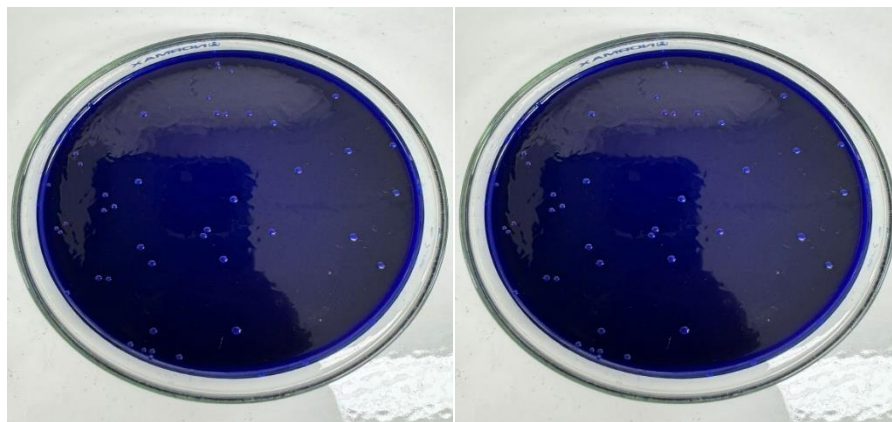


Fuente. Autoría propia.

Después de realizar todo el procedimiento de las perlas en los jugos gástricos simulados, se puede observar en la figura 23 un crecimiento de colonias, las cuales sobrevivieron a estos jugos gástricos simulados, igualmente en la tabla 1 se observa el conteo de colonias las cuales fueron más de 25 colonias en las placas 10^{-5} y 10^{-6} . al igual que el estudio y proyecto de (González et al., 2015) se logró evidenciar que el material de defensa o cobertura sí realiza su función de protección sobre la viabilidad de la bacteria encapsulada.

Figura 23

Resultados del Conteo de Colonias en Jugos Gástricos Simulados 10^{-5} y 10^{-6}



Fuente. Autoría propia.

Tabla 1

Resultados de la Sobrevivencia de la Bacteria en Jugos Gástricos Simulados

Sobrevivencia de la Bacteria a Jugos Gástricos Simulados (Conteo de Colonias)		
Jugo gástrico simulado	10^{-5}	10^{-6}
HCL	41	38

Fuente. Autoría propia.

Conclusiones

Se evidenció que el alginato permite realizar estructuras con el almidón de yuca, fue evidente que el método por extrusión es efectivo ya que aparte de proteger ayuda a conservar la bacteria y aumentar la supervivencia, en este método es importante tener en cuenta el diámetro o tamaño de la jeringa o dispositivo que se esté utilizando para la formación de las perlas, ya que en este caso las que mejor resultados dieron fue las de 1mm donde permitió una mejor encapsulación y una buena formación de perlas, también se logró evidenciar y comprobar en cada etapa del proyecto la eficiencia en la protección de la bacteria encapsulada aun estando en contacto con jugos gástricos simulados (JGS), lo que conlleva a la posibilidad de obtener resultados positivos al ser utilizado en un futuro para la alimentación en pollos de engorde ya que en el proyecto realizado se obtuvieron resultados favorables comprobando la supervivencia de la bacteria en JGS en este caso utilizando ácido clorhídrico.

Las perlas de alginato-almidón de yuca no perdieron su morfología (peso, forma, color y medida) a pesar del secado a temperatura ambiente por 24 horas. En general las perlas de alginato-almidón fueron eficientes y cumplieron con las expectativas propuestas en la metodología, dando buenos resultados en cuanto a la viabilidad arrojando buenos resultados en el conteo de colonias, logrando multiplicarse a pesar de estar condiciones de JGS, tuvieron una buena protección debido a la eficiencia de la concentración de las perlas formadas.

Referencias Bibliográficas

- Amador Lamus, I. S. (2021). *Encapsulación de un Consorcio Microbiano con Actividad Promotora de Crecimiento Vegetal (PGPM) en una Matriz de Almidón de Yuca y Alginato* [Tesis de pregrado]. Repositorio institucional Universidad de Santander. <https://repositorio.udes.edu.co/entities/publication/c3325bc8-2599-4a57-8c23-f861a7afdf42>
- Blajman, J. E. (2017). *Desarrollo de un inóculo probiótico para pollos parrilleros y monitoreo durante su tránsito intestinal y en órganos del medio interno* [Tesis de doctorado, Universidad Nacional de Litoral]. Biblioteca Virtual UNL. <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/bitstream/handle/11185/925/Tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cabrera, O. (2016, 28 febrero). *Probióticos, prebióticos y simbióticos*. aviNews, la Revista Global de Avicultura. <https://avinews.com/probioticos-prebioticos-y-simbioticos-en-la-nutricion-y-la-salud-de-las-aves/>
- Caicedo Cipagauta, Y. M. (2010). *Estudio de la viabilidad de la incorporación de bacterias probióticas micro encapsuladas en helados* [Tesis de especialización]. Repositorio Institucional Universidad Nacional de Colombia. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/70202?show=full>
- Casa y Color. (2025). *Gama de blancos, carta de colores para paredes interiores*. Casaycolor. https://casaycolor.com/gama-de-colores-blancos/#google_vignette
- Chávez Gómez, L. A., López Herrera, A., y Parra Suescún, JE. (2015). La inclusión de cepas probióticas mejora los parámetros inmunológicos en pollos de engorde. *Revista CES*

Medicina Veterinaria y Zootecnia, 10(2), 160-169.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1900-96072015000200008

Corral Lugo, A., Morales García, Y. E., Pazos Rojas, L. A., Ramírez Valverde, A., Martínez Contreras, R. D., y Muñoz Rojas, J. (2012). Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de “Goteo en Placa por Sellado (o estampado) Masivo”. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(2), 147–156.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752012000200016

Díaz López, E. A., Ángel Isaza, J., y Ángel, D. (2017). Probióticos en la avicultura: una revisión. *Revista de Medicina Veterinaria*, 1(35), 175-189. <https://doi.org/10.19052/mv.4400>

Díez Arias, D. (2024, 5 marzo). *Causas y prevención de disbiosis en pollo de engorde*.

Veterinaria Digital. <https://www.veterinariadigital.com/articulos/causas-y-prevencion-de-disbiosis-en-pollo-de-engorde/>

El Planificador. (2024, 1 de noviembre). *Esferas con Alginato de Sodio y Cloruro de calcio*.

Distribuidorapanificador. <https://www.distribuidorapanificador.com/post/esferas-con-alginato-de-sodio-y-cloruro-de-calcio>

García García, J. M. (2019). *Evaluación zootécnica del efecto de un aditivo probiótico sobre el sistema gastrointestinal en pollo de engorde en la genética ross ap* [Tesis de pregrado, Universidad Cooperativa de Colombia]. Repositorio Institucional UCC.

<https://repository.ucc.edu.co/server/api/core/bitstreams/2b9f23b4-4fae-4d2c-8a0b-592760ed67bf/content>

González Cuello, R. E., Pérez Mendoza, J., y Morón Alcázar, L. B. (2015). Efecto de la Microencapsulación sobre la Viabilidad de *Lactobacillus delbrueckii* sometido a Jugos

Gástricos Simulados. Revista *Información tecnológica*, 26(5), 11-16.

<https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642015000500003>

Guillén Valera, J. (2022, 7 de diciembre). *Probióticos: qué son, para qué se usan y cuándo hay que tomarlos*. Cuidateplus.

<https://cuidateplus.marca.com/bienestar/2020/12/30/probioticos-son-hay-tomarlos-176079.html>

Lazarraga Healthy Life (2023, 23 de enero). *Lo que necesitas saber sobre Lactobacillus*

Rhamnosus y el Bifidobacterium bifidum. drlazarraga. <https://drlazarraga.com/blog/lo-que-necesitas-saber-sobre-lactobacillus-rhamnosus-y-el-bifidobacterium-bifidum/#:~:text=El%20Lactobacillus%20rhamnosus%20se%20puede,forma%20de%20c%C3%A1psulas%20o%20polvo.>

Lotfipour, F., Mirzaeei, S., y Maghsoodi, M. (2012). Evaluation of the effect of CaCl₂ and alginate concentrations and hardening time on the characteristics of Lactobacillus acidophilus loaded alginate beads using response surface analysis. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2(1), 71-78.

https://www.researchgate.net/publication/259209111_Evaluation_of_the_effect_of_CaCl2_and_alginate_concentrations_and_hardening_time_on_the_characteristics_of_Lactobacillus_acidophilus_loaded_alginate_beads_using_response_surface_analysis

Lozano Coavichi, L. I. (2019). “*Microencapsulación de lactobacillus rhamnosus en emulsiones dobles de aceite de krill y estudio de su estabilidad*” [Tesis de maestría, Universidad Veracruzana]. Repositorio Institucional Universidad Veracruzana.

<https://cdigital.uv.mx/server/api/core/bitstreams/3b949873-5690-4016-bd66-df519ca8e4aa/content>

Makarova, K., Slesarev, U., Lobo, Y., Sorokin, U., Mirkin, B., Koonin, E., Pavlov, U., Pavlova, N., Karamychev V., Polouchine N., Shakhova V., Grigoriev Y., Lou, Y., Rohksar, D., Lucas, S., Huang, K., Goodstein, D., Hawkins, T., Plengvidhya, V., Welker, D., Hughes, J., Vaya, Benson, U., Baldwin, K., Lee, J., Díaz Muñiz. Y., Dosti, B., Smeianov, V., Wechter, W., Barabote, R., Lorca, G., Altermann, E., Barrangou, R., Ganesan, B., Xie, Y., Rawsthorne, H., Tamir, D., Parker, C., Breidt F., Broadbent, J., Hutkins. R., O'Sullivan, D., Steele, J., Unlu, G., Saier, M., Klaenhammer, T., Richardson, P., Kozyavkin, S., Weimer, B., y Mills, D. (2006). Genómica comparativa de las bacterias del ácido láctico. *Revista PubMed*, 103(42), 15611 – 15616.

<https://doi.org/10.1073/pnas.0607117103>

Navarrete Erazo, J. D. (2023). *Evaluar el efecto de un probiótico (Lactobacillus spp) administrado en pollos camperos (Gallus gallus domesticus) de 15 días de edad* [Tesis de pregrado]. Repositorio Institucional Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

<https://repositorio.puce.edu.ec/items/ead79bea-fa5a-4ee0-a933-28e636cb2ca8>

Ortiz Martin, F. D. M. (2016). *Encapsulación de Lactobacillus plantarum en Alginato de Calcio con Microestructura Modificada* [Tesis de maestría, Universidad Veracruzana]. Repositorio Institucional Universidad Veracruzana.

<https://www.uv.mx/mca/files/2018/01/Flor-de-Maria-Ortiz-Martin.pdf>

Parra Huertas, R. A. (2010). Review. Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 8(1), 94-105.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612010000100012

Pérez Leonard, H., Bueno García, G., Brizuela Herrada, M. A., Tortoló Cabañas, K., y Gastón Peña, C. (2013). Microencapsulación: una vía de protección para microorganismos

- probióticos. *Revista ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 47(1), 14-25.
<https://www.redalyc.org/pdf/2231/223126409003.pdf>
- Pochteca El Salvador. (s.f). *Cloruro de calcio*. Pochteca El Salvador.
<https://elsalvador.pochteca.net/cloruro-de-calcio/>
- Polianciuc, S. L., Gurzău, A. E., Kiss, B., Stefan, M. G., y Loghin, F. (2020). Antibiotics in the environment: causes and consequences. *Revista Medicine and Pharmacy Reports*, 93(3), 231-240. <https://medpharmareports.com/index.php/mpr/article/view/1742/2639>
- Rafiq, K., Hossain, M. T., Ahmed, R., Hasan, M., Islam, R., Hossen, I., Shaha, S. N., e Islam, M. R. (2023, 14 de octubre). *Potenciadores del crecimiento como alternativa a los antibióticos en el pienso en la industria avícola*. Axoncomunicacion.
<https://axoncomunicacion.net/potenciadores-del-crecimiento-como-alternativa-a-los-antibioticos-en-el-pienso-en-la-industria-avicola/>
- REGEMAT. (2021, 27 septiembre). *¿Qué es el alginato de sodio?* Regemat3d.
<https://www.regemat3d.com/que-es-el-alginato-de-sodio>
- Reyes Esparza, J. A., y Lourdes Rodríguez, F. (2011). Los probióticos: ¿cómo una mezcla de microorganismos hacen un gran trabajo? *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 43(1), 7-17. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000100002#:~:text=Los%20probi%C3%B3ticos%2C%20son%20definidos%20por,a%20la%20salud%20del%20hu%C3%A9sped
- Rodríguez, Y. A., Rojas, A. F., y Rodríguez, S. (2016). Encapsulación de probióticos para aplicaciones alimenticias. *Revista Biosalud*, 15(2), 106-115.
<https://doi.org/10.17151/biosa.2016.15.2.10>

- Romero Díaz, M. A. (2004). *Microencapsulación de probióticos para concentrados animales* [Tesis de pregrado]. Repositorio Institucional Universidad de los Andes.
<https://repositorio.uniandes.edu.co/entities/publication/95f8137d-ec93-4e32-a1d4-0f87c125f27e>
- Rondon, L., Añez Zavala, M., Salvatierra Hidalgo, A., Meneses Barrios, R. T., y Heredia Rodriguez, M. T. (2015). Probióticos: generalidades. *Revista de Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*, 78(4), 123-128.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06492015000400006&lng=es&tlng=es.
- Saberi Riseh, R., Skorik, Y. A., Kumar Thakur, V., Moradi Pour, M., Tamanadar, D., y Shahidi Noghabi, S. (2021). Encapsulación de bacterias de biocontrol vegetal con alginato como material polimérico principal. *Revista International Journal of Molecular Science*, 22(20), 2-20. <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/20/11165>
- Sacco System. (s.f). *Probióticos para aves de corral*. Saccosystem.
<https://saccosystem.com/es/active-ingredients/probioticos-para-aves-de-corral/>
- San Juan Meza, P. X., Barrón Vilchis, D., Zabala Martínez, L. G., y Reyes Escogido, M. (s.f.). *Encapsulación del Lactobacillus*. Upto.
https://www.ugto.mx/investigacionyposgrado/veranos/images/infografia_2022/26-Infografa_Maria_de_Lourdes_Reyes_Escogido.pdf
- Serna Cock, L., y Vallejo Castillo, V. (2013). Probiotic encapsulation. *Revista African Journal of Microbiology Research*, 4744-4753. https://www.researchgate.net/figure/Schematic-diagram-of-the-extrusion-encapsulation-method_fig3_264551740

Worms, B. (2020, 18 de septiembre). *Beneficios de las bacterias de ácido láctico (BAL)*.

Dinafem. <https://www.dinafem.org/es/blog/beneficios-bacterias-acido-lactico-bal/>