

**Cuantificación de bacterias ácidas lácticas (*Lactobacillus sp.*)
encapsuladas en alginato de sodio para la supervivencia en el
ambiente y alimento balanceado de cuy Ayacucho 2024.**

**Quantification of lactic acid bacteria (*Lactobacillus sp.*) encapsulated in
sodium alginate for survival in the environment and balanced feed of guinea
pigs Ayacucho 2024**

Wilber Samuel Quijano Pacheco¹
Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho
<https://orcid.org/0000-0001-78897928>
Wilber.quijano@unsch.edu.pe

Sulma Soledad Hinostroza Palomino
Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho
<https://orcid.org/0000-0003-2453-3912>
sulma.hinostroza@unsch.edu.pe

Jenine Pineda Tello
Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho
<https://orcid.org/0000-0003-4129-0238>
jenine.pineda@unsch.edu.pe

Instituto de instigación: Unidad de Investigación e Innovación de la Facultad de
Ciencias Agrarias
Grupo de investigación: Alimentos para una Producción Limpia (APROLIM).
Área de investigación: Ingeniería y Ciencias Básicas.
Linea de investigación: Ciencias de la Tierra y el Ambiente

Resumen

Con el objetivo de evaluar la dosis de bacterias ácido lácticas (BAL) encapsulado en un medio estándar de alginato de sodio en la supervivencia en el ambiente y en alimento balanceado de cuy, se determinó la dosis de alginato de sodio para obtener cápsulas adecuadas, usando diferentes dosis (0, 100, 200 y 250 ml de BAL), los microorganismos se adquirieron de una casa comercial, se activaron según la dosis recomendada para el número adecuado de bacterias (10^6 /ml). Los tratamientos fueron: D1 - dosis de 0, D2 - dosis de 50 mL y D3 - Dosis de 100 mL de bacterias ácido lácticas encapsuladas respectivamente. El trabajo se realizó en laboratorio de Parasitología Veterinaria, utilizando 12 placas Petri. Los resultados mostraron que la concentración estándar de alginato para obtener cápsulas adecuadas fue del 2%. La cantidad de BAL para la dosis de 200 mL fueron de 5×10^6 bacterias. En la supervivencia de los microorganismos se encontró diferencia significativa a favor del ambiente en incubación y alimento. En conclusión, para obtener una supervivencia de las BAL encapsuladas, se recomienda usar un alginato al 2% dentro del alimento balanceado para cuyes, permitiendo su correcta incorporación y viabilidad.

Palabras claves: encapsulado con alginato de sodio, cuyes, supervivencia

Abstract

In order to evaluate the dose of lactic acid bacteria (LAB) encapsulated in a standard sodium alginate medium on the survival in the environment and in balanced guinea pig feed, the dose of sodium alginate to obtain adequate capsules was determined, using different doses (0, 100, 200 and 250 ml of LAB), the microorganisms were acquired from a commercial house, they were activated according to the recommended dose for the adequate number of bacteria (106 / ml). The treatments were: D1 - dose of 0, D2 - dose of 50 mL and D3 - Doses of 100 mL of encapsulated lactic acid bacteria respectively. The work was carried out in the Veterinary Parasitology laboratory, using 12 Petri dishes. The results showed that the standard concentration of alginate to obtain adequate capsules was 2%. The amount of LAB for the 200 mL dose was 5×10^6 bacteria. A significant difference in microorganism survival was found in favor of the incubation environment and the feed. In conclusion, to ensure the survival of encapsulated LAB, it is recommended to use 2% alginate in the guinea pig feed, ensuring proper incorporation and viability.

Keywords: encapsulated with sodium alginate, guinea pigs, survival

I. Introducción

En la alimentación de cuyes, últimamente se están utilizando los probióticos como sustituto de los antibióticos. Con ello, se está previniendo la aparición de enfermedades intestinales, ya que regulan el microbiota intestinal, además de producir vitaminas naturales y activar la inmunidad (Gaggia et al., 2010; Roberfroid et al., 2010). Así mismo, se procura incrementar el peso, el rendimiento de carcasa y evitar la mortandad de los animales destetados (Kritas et al., 2009). Andía y Ángeles. (2018) suplementaron el alimento de cuyes con bacterias ácido lácticas, cuyos resultados mostraron que no existió diferencias significativas tanto en el peso vivo como en el consumo. Por otro lado, y Marín et al.; (2007) adicionaron como probióticos de *Lactobacillus acidophilus* a través de la boca en crías de porcinos, encontrando mejoras en la salud, pero no sin mejoras el rendimiento. Se han realizado diferentes estudios, aunque realmente no se conoce con certeza si los microorganismos llegan al intestino en cantidad y con la viabilidad necesaria para que su acción sea efectiva (Fuller, 1989). Además, al no existir procedimientos que garanticen la cantidad y calidad que permitan suplementar los microorganismos en los alimentos de cuyes de manera adecuada para su función probiótica, el presente trabajo evaluará el encapsulado y la supervivencia de

los microorganismos tanto en el ambiente, en el alimento balanceado de los cuyes.

De lo anterior, se puede concluir que es posible que las bacterias no lleguen al intestino para realizar su función, por ello el objetivo esta investigación fue evaluar la dosis de microorganismos ácido lácticas encapsulado en medio estándar de alginato de sodio en la supervivencia en el ambiente y alimento balanceado de cuy.

II. Materiales y métodos

Obtención del Probiótico

Se utilizó la especie de *Lactobacillus sp.* de origen comercial.

Activación de las cepas de *Lactobacillus sp.*

Las cepas de *Lactobacillus sp.* se cultivó en caldo Lactobacilli MRS (Man, Rogosa y Sharpe), utilizando una incubadora a 37°C con cámara anaerobia durante 24 horas. Para la preparación del medio se utilizaron 5,22 g de caldo Lactobacilli MRS por cada 100 mL de agua, siguiendo protocolos reportados en trabajos previos para esta especie.

Curva de Crecimiento de *Lactobacillus sp.*

La obtención de la curva de crecimiento del *Lactobacillus sp.* se realizó siguiendo el protocolo planteado por JenWay (Portugal, 2015):

- Se preparon 405 mL de caldo

Lactobacilli MRS, los cuales se distribuyeron en tubos Falcón con 15 mL en cada uno, y posteriormente fueron autoclavados.

- Se inocularon 100 µl del pellet del microorganismo en cada tubo. Luego tubos se incubaron a 37 °C en cámara de anaerobiosis.
- Se utilizaron tres tubos para realizar las lecturas, midiendo la absorbancia cada 4 horas por un periodo de 32 horas a través de un Espectrofotómetro. El objetivo fue observar el crecimiento bacteriano y determinar el tiempo óptimo de incubación para la encapsulación.

Formación de las Microcápsulas

- Se incubaron 500 mL de caldo MRS a 37°C durante 24 horas.
- Se prepararon 900 mL de agua de peptona en 8 matraces de 1000 mL para realizar las diluciones, se midieron 100 mL de *Lactobacillus sp.* en caldo MRS para realizar diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-8} , las cuales fueron utilizadas respectivamente.
- Se prepararon 300 mL de alginato de sodio al 3% (100 mL para cada dilución) y 500 mL de Cloruro de calcio al 2%, ambos esterilizados mediante autoclave.
- Para determinar el valor de las unidades formadoras de colonias (UFC) por cápsula y por gramo de cada dilución, se utilizó citrato de sodio para disolverlas y agar MRS como medio de cultivo. Las lecturas se realizaron mediante contador de UFC.

Método de Microencapsulación

Para realizar el encapsulado, se procedió de manera inocua, evitando la contaminación de la cepa utilizada en la investigación.

Se sembraron las cepas de *Lactobacillus sp.*, las cuales fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas en condiciones de anaerobiosis.

Posteriormente, el caldo MRS se distribuyó en tubos de centrifuga de 50 mL, los cuales fueron centrifugados a 10,000 RPM (revoluciones por minutos) durante 5 minutos. Después, se descartó el sobrenadante y el pellet se suspendió en 100 mL de caldo peptona.

Finalmente, esta suspensión se mezcló en un matraz con 900 mL de caldo peptona. Para ajustar la concentración, se realizaron diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-8} , utilizándose las tres últimas diluciones para la encapsulación.

De la suspensión bacteriana de dichas diluciones, se tomaron 20 mL y se mezclaron con 80 mL de los agentes encapsulantes, alginato de sodio, sometándose a agitación por 15 minutos.

Mediante una jeringa se realizó un goteo continuo de la emulsión final sobre la solución del cloruro de calcio, lo que permitió la gelificación homogénea de las gotas .

Tratamientos

Dosis de microorganismos:

- D1: dosis de 0
- D2: dosis de 50 ml de bacterias ácido lácticas
- D3: Dosis de 100 ml de bacterias ácido lácticas

Porcentaje de alginato

1, 2 y 3 % de alginato en dilución

Parámetros a evaluar.

- Supervivencia de microorganismos ácidos lácticos en UFC (1;2;3 en horas) en el intestino del cuy.
- Supervivencia de microorganismos ácidos lácticos en UFC (0;1;2;3 en semanas) en el ambiente.
- Supervivencia de microorganismos ácidos lácticos en UFC (1;2;3;4 en semanas) en el alimento balanceado de cuy

Diseño experimental

El trabajo se planteó bajo el diseño Experimental Completamente al azar (DCA)

con arreglo factorial de (3 dosis x 3 horas) con 3 repeticiones por cada combinación, siendo el Número Más Probable (NMP) de microorganismos la unidad experimental. Los datos fueron evaluados a través del software SAS. Para el análisis estadístico de la Supervivencia se utilizó la prueba de Kaplan-Meier (Calzada, 1982).

III. Resultados y discusión

Las bacterias ácido lácticas (BAL) han sido objeto de estudio debido a sus propiedades probióticas, las cuales son fundamentales para la mejora de la salud intestinal y la regulación del equilibrio de la microbiota (Hill et al., 2014). A través de su capacidad para fermentar carbohidratos y producir ácido láctico, estas bacterias no solo optimizan el sabor y la textura de los alimentos, sino que también ejercen un efecto conservante natural (Leroy & De Vuyst, 2004). Además, las BAL han demostrado ser beneficiosas para el crecimiento y la salud intestinal de los animales al mejorar la digestión y reducir la incidencia de enfermedades intestinales (Sanders & Merenstein, 2019). La encapsulación de BAL en encapsulados como el alginato de sodio es una técnica que permite mejorar su estabilidad y supervivencia en diferentes ambientes, lo que las hace más efectivas y sencillas como suplementos nutricionales (Burgain et al., 2011). En este contexto, el presente estudio evalúa las de diferentes dosis (%) de alginato de sodio para BAL y determinar la supervivencia en medio ambiente, alimento y refrigeración, explorando su potencial como protector de las BAL y su uso como suplemento nutricional para mejorar la productividad y salud de estos animales.

Preparación y activación de microorganismos para encapsulación de bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei*) en alginato de sodio.

a. Preparación del medio de cultivo

Se llevó a cabo el proceso de activación de bacterias ácido lácticas mediante el cultivo

en medio MRS (Man, Rogosa y Sharpe), específico para este tipo de microorganismo, siguiendo rigurosamente las instrucciones del fabricante.

La concentración estimada de bacterias en la preparación fue de aproximadamente 5×10^6 Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Las muestras fueron incubadas a una temperatura de 37°C durante 48 horas en condiciones anaeróbicas, con el objetivo de favorecer el crecimiento y la activación óptima de las bacterias.

b. Evaluación del Crecimiento

El crecimiento y la activación de las bacterias fueron evaluadas mediante la observación de cambios macroscópicos en el medio de cultivo. Se identificó un cambio de color del medio, de amarillo ámbar a marrón (Foto 1), lo cual evidenciaba la producción de ácido láctico como resultado del metabolismo bacteriano. Asimismo, se observó la presencia de sedimentos en el fondo del medio (Foto 2), lo que evidenció un crecimiento bacteriano significativo. Complementariamente, se realizó una tinción de Gram con el propósito de identificar morfológicamente a las bacterias. Este procedimiento permitió reconocer microscópicamente que las bacterias eran Gram negativas (Foto 3), lo que confirma una característica distintiva de las cepas utilizadas.



Foto 1. Con inóculo de bacterias



Foto 2. Medio MRS con bacterias activadas

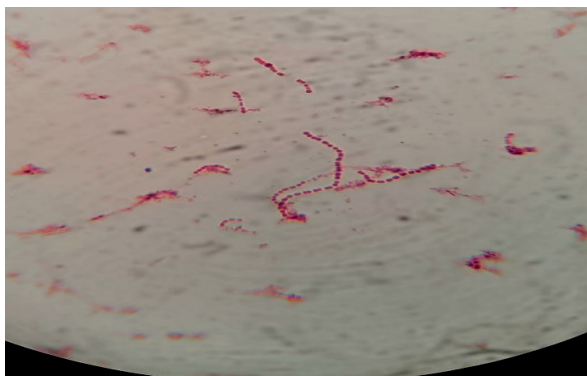


Foto 3. Bacterias ácido láctica Gram- Preparación y dosis de alginato de sodio.

Se emplearon diferentes dosis/concentraciones de alginato de sodio con el propósito de lograr la encapsulación eficiente de las BAL. Las variables evaluadas para determinar la mejor dosis (%) de alginato de sodio fueron: estado de conservación a 1, 2 y 3 semanas en condiciones de medio ambiente y refrigeración.

c. Preparación del Alginato de Sodio para Encapsulado

Para el encapsulado de las bacterias ácido lácticas, se prepararon soluciones de alginato de sodio en tres concentraciones: 1%, 2% y 3%.

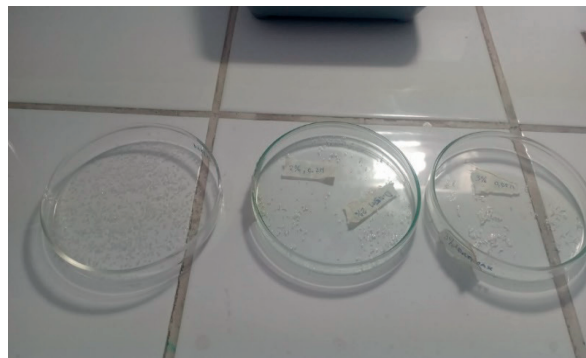


Foto 4. Cápsulas de alginato de sodio al 1%, 2% y 3%, respectivamente

Para la gelificación del alginato, se preparó una solución de gluconato de calcio a una concentración de 0.2 M. para 20 mL de la mezcla de alginato de sodio que contenía a las bacterias, se utilizaron 30 mL de gluconato de calcio al 0.2 M. como agente gelificante.

El encapsulado consistió en la adición gota a gota de la mezcla de alginato de sodio con bacterias sobre la solución de gluconato de calcio, desde una altura de 7 a 10 cm. Una vez completada la adición, se dejó reposar la mezcla durante 30 minutos, manteniendo una homogeneización constante para asegurar la completa gelificación de las gotas.

Finalmente, las partículas encapsuladas fueron recuperadas mediante filtración con papel filtro y lavadas al menos tres veces con agua destilada para eliminar cualquier exceso de gluconato de calcio residual.

Entre las concentraciones evaluadas (Foto 4), la formulación al 2% de alginato de sodio presentó los mejores resultados en términos de tiempo de conservación y consistencia del encapsulado. La concentración del 1% resultó ser demasiado líquida, mientras que la del 3% produjo gotas demasiado gruesas.

Tabla 1.*Concentraciones de alginato de sodio, estado y tiempo de Conservación*

Concentración de Alginato (%)	Condición de Almacenamiento	Tiempo de Conservación en semanas	Estado de las Cápsulas
1%	Ambiente (25°C)	2 semana	Líquido, inestable
1%	Refrigeración (4°C)	1 semanas	Líquido, estable
2%	Ambiente (25°C)	4 semanas	Estable, uniforme
2%	Refrigeración (4°C)	3 semanas	Estable, uniforme
3%	Ambiente (25°C)	1 semana	Gruesas, inestables
3%	Refrigeración (4°C)	0 semanas	Gruesas, estables

La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos al evaluar el efecto de diferentes concentraciones de alginato de sodio afectan la estabilidad y estado de conservación de las cápsulas, tanto bajo condiciones ambientales como de refrigeración. Las concentraciones del 2% proporcionó los mejores resultados

en términos de estabilidad estructural y viabilidad. Las cápsulas formadas con esta concentración mostraron una morfología uniforme, consistente y adecuada para el proceso de encapsulación de BAL, por lo que se considera como la concentración óptima para este estudio.

Tabla 2.*Concentraciones de alginato de sodio, estado y número de cápsulas según tiempo de conservación*

Concentración de Alginato (%)	Condición de Almacenamiento	N.º de cápsulas conservadas según semanas					Estado de las Cápsulas
		0	1	2	3	4	
1%	Ambiente (25°C)	150	91	42	32	17	Líquido, inestable
1%	Refrigeración (4°C)	150	60	10	0	0	Líquido, estable
2%	Ambiente (25°C)	150	138	126	98	88	Estable, uniforme
2%	Refrigeración (4°C)	150	120	95	79	51	Estable, uniforme
3%	Ambiente (25°C)	150	75	48	36	15	Gruesas, inestables
3%	Refrigeración (4°C)	150	45	42	15	8	Gruesas, inestables

La Tabla 2 presenta los resultados en cuanto a cantidad y calidad de las cápsulas de probióticos obtenidas bajo distintas condiciones de almacenamiento, se observó que la temperatura tiene un efecto significativo, ya que influye directamente en la humedad, afectando finalmente en la estabilidad del producto final. A temperaturas bajas, la humedad en las cápsulas tiende a disminuir, lo que puede favorecer su conservación al reducir el riesgo de degradación microbiana y mantener la viabilidad de las BAL (Burgain et al., 2011). Sin embargo,

temperaturas demasiado bajas pueden afectar negativamente la textura y la integridad de las cápsulas, especialmente en materiales como la gelatina (alginato), que se vuelve quebradizo y/o inestable cuando la actividad del agua es muy baja (Patente ES2731816T3, 2015). Por ello, es crucial encontrar un equilibrio óptimo entre temperatura y humedad para mantener la calidad y la viabilidad de los probióticos encapsulados.

Las bacterias ácido lácticas fueron encapsuladas en alginato de sodio a una concentración de 5×10^6 UFC, y sometidas

a diferentes condiciones de conservación: medio ambiente, refrigeración e incubación. Los periodos de evaluación fueron de 1, 2, 3 y 4 semanas.

La supervivencia se determinó mediante la observación del estado físico de las cápsulas y la inoculación en medio MRS

al término de cada período. Se consideró que las bacterias habían sobrevivido cuando se evidenció un cambio de color en el medio de cultivo y la presencia de sedimentación en el medio (Foto 5), indicadores de crecimiento bacteriano.

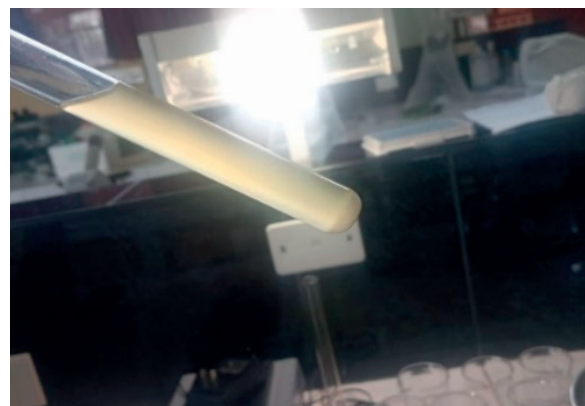
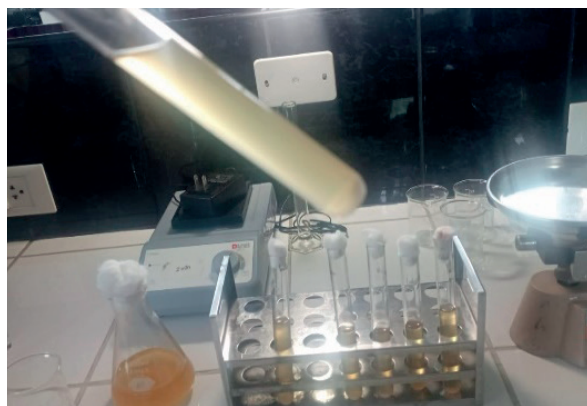


Foto 5. Cultivo de bacterias luego de la prueba de supervivencia

Los mejores resultados se obtuvieron bajo condiciones de incubación, donde se alcanzó un período óptimo de supervivencia de 3 semanas. En este tiempo, las cápsulas conservaron su integridad física y las bacterias

encapsuladas mostraron un crecimiento significativo al ser cultivadas en el medio MRS, lo que indica una alta viabilidad y efectividad de encapsulación empleado.

Tabla 3.

Supervivencia de bacterias ácido lácticas encapsuladas en alginato de sodio

Condición de Conservación	Semanas de Evaluación	Supervivencia (%)
Medio Ambiente	1	60
Medio Ambiente	2	30
Medio Ambiente	3	25
Medio Ambiente	4	20
Refrigeración	1	50
Refrigeración	2	30
Refrigeración	3	20
Refrigeración	4	20
Incubación	1	80
Incubación	2	70
Incubación	3	50
Incubación	4	60

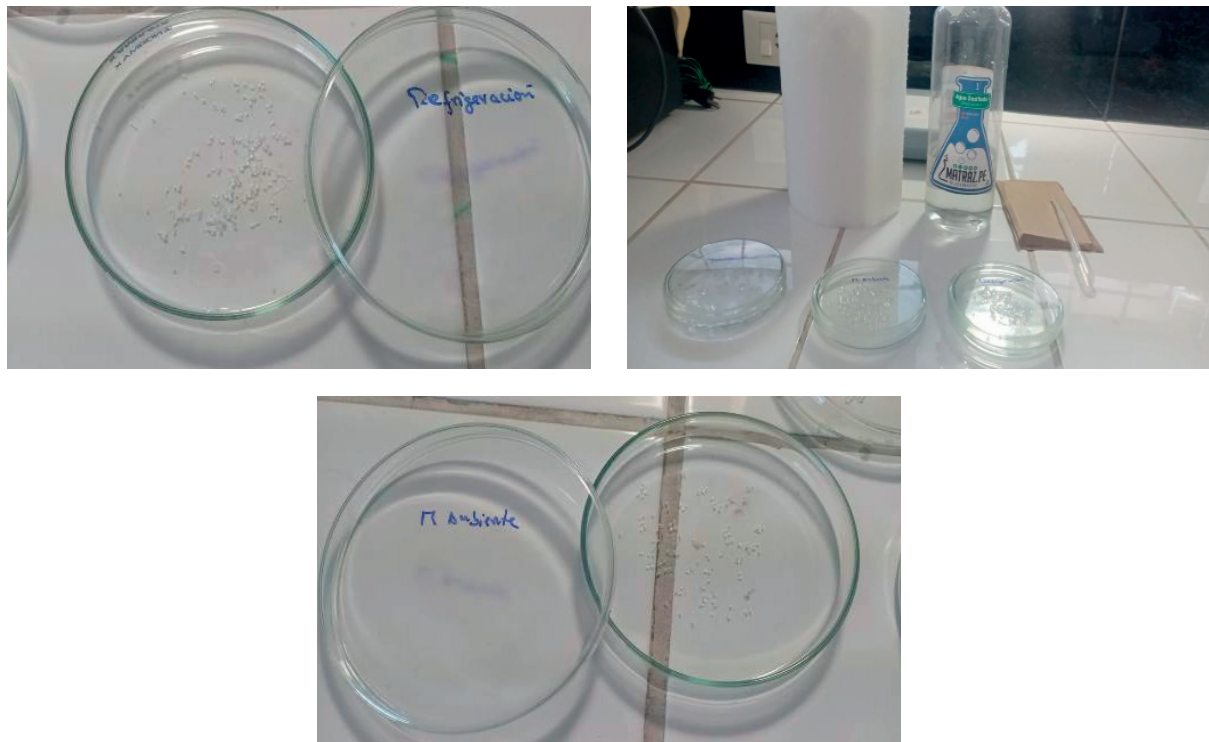


Foto 6. Conteo de las cápsulas en cada ambiente evaluado

La Tabla 3 se observa la supervivencia de bacterias ácido lácticas encapsuladas en alginato de sodio, en función al tipo de ambiente de conservación propuesto. Para cada condición experimental, se realizó la observación directa y el conteo respectivo en

placas Petri, tras un proceso de lavado que permitió aislar y contabilizar las cápsulas variables (Foto 6). Esta metodología permitió evaluar de manera precisa la integridad física de las cápsulas y la viabilidad bacteriana en cada tratamiento.

Tabla 4.

Análisis estadístico de la supervivencia de las cápsulas por tipo de ambiente

FUENTE DE VARIABILIDAD	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADO MEDIO	F VALOR	Pr > F
Entre tratamientos	2	3629.166667	1814.583333	16.43	0.001
Error	9	993.75	110.416667		
SUMA TOTAL	11	4622.916667			
CV= 25.99%					

El análisis estadístico presentado en la Tabla 4 evidencia la existencia de diferencias significativas ($p < 0.05$) en la supervivencia de las cápsulas, en función del tipo de ambiente de conservación. Estos resultados indican que

la viabilidad de las bacterias encapsuladas no es uniforme entre las distintas condiciones evaluadas, lo que confirma que el entorno de almacenamiento influye de manera determinante en la estabilidad de las cápsulas.

Tabla 5.

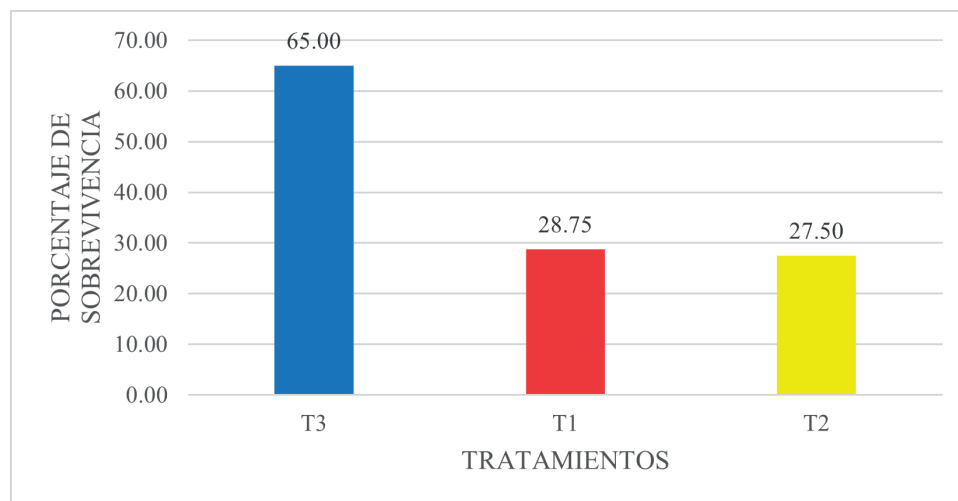
Prueba de contraste de Tukey para la supervivencia

SIGNIFICANCIA	PROMEDIO	TRATAMIENTOS
A	65.00	T3
B	28.75	T1
B	27.50	T2

La Tabla 5 muestra que existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, según tipo de ambiente al que fueron expuestas las cápsulas ($p < 0.05$), se destaca que el tratamiento 3, correspondiente al ambiente propuesto de alimento balanceado, presentó la mayor supervivencia. Estos resultados sugieren que la incorporación de

las cápsulas en el alimento podría actuar como un vehículo efectivo para transportar las BAL hacia el intestino delgado. Una vez allí, estos microorganismos podrían ejercer su función probiótica, favoreciendo la degradación de la materia orgánica y, en consecuencia, mejorar la digestibilidad del alimento balanceado.

Figura 1. *Efecto del ambiente en la supervivencia de las cápsulas*



La figura 1 corrobora lo indicado en el análisis estadístico y la prueba de comparación múltiple de Tukey, evidenciando que el tratamiento 3 presentó una diferencia significativa respecto a los tratamientos 1 y 2 ($p < 0.05$). Asimismo, se observa que no existe

diferencia estadística entre los tiramientos 1 y 2, indicando que el ambiente de conservación del tratamiento 3 (alimento balanceado) favorece significativamente la supervivencia de las capsulas en comparación con los otros ambientes evaluados.

Tabla 6.

Supervivencia de bacterias ácido lácticas encapsuladas en alginato de sodio según tiempo de conservación

Condición de conservación	N.º de cápsulas conservadas según semanas					Estado de las Cápsulas
	0	1	2	3	4	
Medio Ambiente	150	90	45	37	0	Deshidratado e inestable
Refrigeración	150	75	45	30	12	Deshidratado e inestable
Incubación/alimento	150	120	126	75	63	Hidratado, Estable y uniforme

La tabla 6 muestra que las BAL encapsuladas en alginato de sodio al 2%, presentaron una mayor supervivencia bajo condiciones de incubación o de alimento balanceado, alcanzando un 70% de supervivencia durante las 3 semanas semana de evaluación. Esto sugiere que la incubación a temperatura controlada representa la condición más favorable para preservar la viabilidad de las BAL encapsuladas.

Este hallazgo es consistente con estudios previos que han demostrado que la encapsulación en alginato de sodio mejora significativamente la supervivencia de probióticos en condiciones que simulan el ambiente del tracto gastrointestinal (González et al., 2012; Leroy & De Vuyst, 2004). Además, se ha reportado que este método de encapsulación permite proteger eficazmente a las bacterias de factores ambientales adversos, tales como la temperatura, el pH y la exposición de la luz, lo que es crucial para mantener su viabilidad durante el almacenamiento y el procesamiento del producto (Burgain et al., 2011; Yanniotis et al., 2013).

IV. Conclusiones

De acuerdo a las condiciones experimentales establecidas y los resultados obtenidos, se concluye los siguientes:

1. La concentración adecuada de alginato de sodio para obtener mejores resultados de encapsulado de BAL fue el 2%, lo que permitió obtener cápsulas de mejor calidad y consistencia adecuada. La dosis utilizada fue de 200 mL de BAL, con una concentración aproximada de 5×10^{-6} .
2. El encapsulado de las BAL con alginato de sodio al 2% mostró un resultado significativamente superior ($p < 0.05$) en condiciones de incubación o alimento balanceado, lo que sugiere su viabilidad como aditivo funcional en la formulación de alimentos, permitiéndonos incorporar microorganismos probióticos dentro del alimento.

V. Agradecimiento

Agradecer a la UNSCH por contribuir en las instalaciones y los laboratorios pertinentes para realizar dicho trabajo de investigación y a la colaboración económica a través de Exfedu, así mismo al Bach. Juan Carlos Barzola Ramos por el compromiso y predisposición de apoyo constante en el desarrollo del presente trabajo.

VI. Contribuciones de los autores

Los autores desde su especialidad aportaron en su totalidad para que se llegue a un término satisfactorio de la investigación, El MSc. Wilber Quijano Pacheco en la dirección del proyecto, La Mtra. Sulma Hinostroza participó en la ejecución y análisis microbiológicos, La Mtra. Jenine Pineda Tello, en la diagramación y corrección de estilo, el aporte fue solidario desde el proyecto, en la ejecución hasta la redacción del informe.

VII. Referencias

- Andía, V & Ángeles, A. (2018) Efecto de alimento suplementado con una mezcla probiótica sobre los parámetros productivos de *Cavia porcellus* "cuy". Ayacu-

- cho, 2018. [Tesis de doctorado, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. https://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13084/5768/UNFV_EUPG_Andia_Ayme_Vidalina_Doc-torado_2021.pdf?sequence=3&isAllowed=y.
- Bach, Jheyson. (2017) “Aplicación de bacterias ácido lácticas para acelerar la descomposición de residuos sólidos orgánicos domiciliarios en el centro de compostaje y encala boggiano. Tesis para obtener título. Universidad Cesar Vallejo, Lambayeque.2017[consultado 10 de mayo 2019] disponible en: <http://crai.ucvlima.edu.pe/Biblioteca/sin-session.aspx?ReturnUrl=%2fbiblioteca%2fmodulos%2fCampus%2fBibliotecas Virtuales%2fRecursosDigitales.aspx>
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 467–483. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2010.12.017
- Cano, J., Carcelén, F., Ara, M., Quevedo, W., Alvarado, A., Jiménez, R. (2016). Efecto de la suplementación con una mezcla probiótica sobre el comportamiento productivo de cuyes (*Cavia Porcellus*) durante la fase de crecimiento y acabado. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 27(1), 51-58.
- Diarra, M. S., & Malouin, F. (2014). Antibiotics in Canadian poultry productions and anticipated alternatives. *Frontiers in Microbiology*, 5, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00282>.
- Fuller, R., 1989, “Probiotics in Man and Animals”, en *Journal of Applied Bacteriology* 66: 365-378.
- Gaggia, F. et al., 2010, “Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production”, en *International Journal of Food Microbiology* 141 Suppl 1: S15-28
- Gásquez A, Blanco R. (2004). *Tratado de Histología veterinaria*. Barcelona: Masson. 462 p.
- González, J. A., & otros. (2012). Evaluación de alginato de sodio en la encapsulación de probióticos.
- Guevara Vásquez, J., Carcelén Cáceres, F., García Zapata, T., Bravo Aranibar, N., Núñez Venegas, O., Reyna Mariñas, L., Erazo Erazo, R., y Vilchez Perales, C. (2022). Efecto de la suplementación de probióticos naturales y comerciales sobre el rendimiento productivo de cuyes en crecimiento. *Agroindustrial Science*, 12(2), 215–220.
- Hurtado, A., Selgas Sanchis, R., & Serrano Aroca, Á. (2020). El alginato y sus inmensas aplicaciones industriales. *Nereis*, (12), 137-149.
- Junqueira LC, Carneiro J. (2006). *Histología básica*. 6ª ed. España: Editorial Masson S.A. 640 p.
- Jurado Gámez, H., Zambrano Mora, E., & Chávez Velásquez, C. (2020). Efecto del suministro in vivo de *Lactobacillus casei* en la alimentación de *Cavia porcellus*. *Revista Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustria*, 18(2), 156–165.
- Kritas, K. et al., 2009, “The effect of probiotics on microbiology, health and performance of fattening rabbits”, en *Journal of Animal Science* 21: 1312-1317.
- Leeson TS, Leeson CR, Paparo AA. 1990. *Texto atlas de histología*. 1 ed. México: Editorial Interamericana Mc Graw – Hill. 741 p.
- Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15(2), 67–78. doi: 10.1016/j.tifs.2003.09.004

- Marin, A. et al., 2007, “Estudio del efecto en lechones lactantes del probiótico de la biomasa proteica obtenida por la tecnología de cultivo de *Lactobacilli* y levaduras en miel ‘B’”, en *Livestock Research for Rural Development* 19: 230-235.
- Mero A. y Muñoz J. (2019) Evaluación de la incorporación de *Lactobacillus brevis* encapsulado en el alimento sobre los parámetros productivos, salud de pollos Cobb 500. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López
- Pacheco Martínez, C. K., Saucedo Castañeda, G., Rodríguez Durán, L. V., & Pérez Chabela, M. de L. (2023). Características de microorganismos utilizados como probióticos tradicionales y nuevos probióticos. *Actualidades Biológicas*, 45(119), 1–12. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi/v45n119a05>.
- Patente ES2731816T3. (2015). Un proceso mejorado para producir una cápsula de gelatina blanda que comprende bacterias probióticas. Oficina Española de Patentes y Marcas.
- Pérez Leonard, H., Bueno García, G., Brizuela Herrada, M. A., Tortoló Cabañas, K., & Gastón Peña, C. (2013). Microencapsulación: una vía de protección para microorganismos probióticos. *Icidca*, 47(1), 14–25.
- Puente V., J., Carcelén, C., F., Ara, G., M., Bezada, Q., S., Huamán, C., A., Santillán, G., Perales, R., Guevara V., J., & Asencios M., A. (2019). Efecto de la suplementación con niveles crecientes de probióticos sobre la histomorfometría del intestino delgado del cuy (*Cavia porcellus*). *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 30(2), 624–633. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i2.16086>.
- Rivera Yoplac, K. (2018). Efectos del uso de probióticos (*Saccharomyces cerevisiae* y *Lactobacillus sporogenes*) en la alimentación de cuyes en la etapa de crecimiento - engorde. Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional De San Martín, Tapapoto, Perú.
- Roberfroid, M. et al., 2010, “Prebiotic effects: metabolic and health benefits”, en *British Journal of Nutrition* 104: S1-S63.
- Serrano, C., Jara, L. M., Chauca, L., & Shiva, C. (2021). Evaluación In Vitro de la capacidad probiótica de bacterias ácido lácticas aisladas de heces de cuyes (*Cavia porcellus*) de un Centro Experimental. *Salud y Tecnología Veterinaria*, 8(2), 40–46. <https://doi.org/10.20453/stv.v8i2.3871>.
- Yanniotis, S., & otros. (2013). Evaluación de la encapsulación de probióticos.
- Zihler, A., Gagnon, M., Chassard, C., & Lacroix, C. Protective effect of probiotics on *Salmonella* infectivity assessed with combined in vitro gut fermentation-cellular models. *BMC microbiology*, 2011; 11(1), 1-13