



CIENCIAS AGRARIAS Y DE LA PESCA

Artículo original de investigación

Obtención de un aditivo probiótico con *Lactobacillus pentosus* *Lactobacillus pentosus* LB-31 destinado a la producción animal

Dailyn Sosa Cossio ^{1,4*} <https://orcid.org/0000-0003-3933-1176>

Yaneisy García Hernández ¹ <https://orcid.org/0000-0002-7055-4880>

Julio César Dustet Mendoza ² <https://orcid.org/0000-0002-2044-0383>

Mauricio Alberto Trujillo Roldán ³ <https://orcid.org/0000-0002-7497-4452>

Areadne Sosa Ceijas ¹ <https://orcid.org/0000-0001-5426-9660>

Nereyda Albelo Dorta ¹ <https://orcid.org/0000-0003-4827-3991>

Abel Blancas Cabrera ³ <https://orcid.org/0000-0001-8358-6665>

Delfín Gutiérrez González ¹ <https://orcid.org/0000-0002-7386-5035>

¹ Instituto de Ciencia Animal. Mayabeque, Cuba

² Universidad Tecnológica de La Habana José Antonio Echeverría. La Habana, Cuba

³ Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad México, México

⁴ Academia de Ciencias de Cuba. La Habana, Cuba

*Autor para la correspondencia: dailyn.sosa@gmail.com

RESUMEN

Editor

Lisset González Navarro
Academia de Ciencias de Cuba.
La Habana, Cuba

Traductor

Darwin A. Arduengo García
Academia de Ciencias de Cuba.
La Habana, Cuba

Introducción: El cultivo de *Lactobacillus pentosus* LB-31 tiene actividad probiótica y no existe un proceso definido para su obtención a volúmenes superiores. **Objetivo:** Definir el proceso de obtención de un probiótico con LB-31 destinado a la producción animal. **Métodos:** Se diseñó un medio de cultivo económico y se seleccionaron las características del inóculo. Se evaluaron condiciones de operación en biorreactores de laboratorio y la estabilidad del cultivo. Se estudiaron diferentes criterios de escalado y se evaluó la actividad del probiótico en pollos de ceba y corderos. **Resultados:** Las mayores concentraciones de LB-31 se alcanzaron en el medio con melaza de caña, urea, acetato de sodio y citrato de amonio. El cultivo completo del inóculo no afectó el crecimiento de LB-31. Los mejores parámetros de crecimiento se alcanzaron al agitar el cultivo a 50 min⁻¹ cada 2 h a 37 °C y pH inicial de 6,5 ± 0,2. La capacidad del biorreactor afectó el tiempo de las fases de crecimiento de LB-31 y no fue necesario controlar el pH y oxígeno disuelto. Se obtuvo que el probiótico fue estable durante 14 días a temperatura ambiente y 60 días en refrigeración. El criterio de tiempo de mezclado constante fue adecuado para escalar la fermentación a 30 L. Se corroboró que LB-31 produce actividad probiótica en pollos de ceba, mejora el consumo voluntario de los corderos, reduce la glucosa y el fósforo sanguíneo. **Conclusiones:** El proceso de obtención del probiótico es simple, escalable, económicamente factible y mantiene su eficacia en animales.

Palabras clave: bacteria; fermentación; escalado; pollos de ceba, corderos

Obtention of probiotic additive with *Lactobacillus pentosus* LB-31 for animal production

ABSTRACT

Introduction: The culture of *Lactobacillus pentosus* LB-31 has activity as probiotic and there is no process for obtaining it at a large volume. **Objective:** To define the process for obtaining a probiotic with *Lactobacillus pentosus* LB-31 for animal production. **Methods:** It was designed an economical culture medium and there were selected the inoculum characteristics. There were evaluated the operating conditions in laboratory bioreactors and culture stability. Different scale-up criteria were studied, and probiotic activity was assessed in broilers and lambs. **Results:** The highest concentrations of LB-31 were obtained in the medium composed of sugar cane molasses, urea, sodium acetate and ammonium citrate. Complete inoculum culture did not affect LB-31 growth. The best growth parameters were achieved by shaking the culture at 50 min⁻¹ every 2 h at 37°C and an initial pH of 6.5 ± 0.2. The bioreactor capacity affected the timing of the LB-31 growth phases, and it was not necessary to control pH and dissolved oxygen. It was found that the probiotic was stable for 14 days at room temperature and 60 days in refrigeration. The constant mixing time criterion was adequate to scale the fermentation to 30 L. Animal studies confirmed that LB-31 produces probiotic activity in broilers, improves voluntary intake of lambs, and reduces blood glucose and phosphorus. **Conclusions:** The process of obtaining the probiotic is simple, scalable, economically feasible and maintains its efficacy in animals.

Keywords: bacterium; fermentation; scale-up; broiler chickens, lambs

INTRODUCCIÓN

Los probióticos son aditivos formados por microorganismos vivos que tienen un efecto benéfico en la salud del hospedero. ⁽¹⁾ En los estudios con animales se utilizan microorganismos cultivados en el laboratorio o probióticos comerciales. Sin embargo, el escalado desde el laboratorio a una etapa industrial no es un proceso trivial, por eso para la concepción de probióticos comerciales se deben diseñar tecnologías que garanticen su desarrollo y eficacia. ⁽²⁾

En Cuba el Instituto de Ciencia Animal desarrolló durante varios años un grupo de investigaciones para obtener y evaluar probióticos con efectos benéficos en la salud y comportamiento productivo de animales. Como principales resultados se seleccionaron cepas microbianas con potencialidades para el desarrollo de aditivos probióticos. El *Lactobacillus pentosus* LB-31 de origen aviar fue una de las cepas seleccionadas y se considera un microorganismo generalmente reconocido como seguro, con efecto comprobado a través de estudios de toxicidad aguda en ratas de laboratorio. ⁽³⁾ La acción benéfica del cultivo en caldo Man, Rogosa y Sharpe (MRS), se confirmó en pollos de ceba, truchas arco iris y cerdos en crecimiento. ^(3,4,5) Además, LB-31 se utilizó para mejorar el contenido proteico de ensilajes mixtos destinados a

rumiantes. ⁽⁶⁾ A pesar de las potencialidades del cultivo aún no se dispone de un proceso para su obtención a volúmenes superiores. De ahí que el objetivo de la presente investigación fue definir un proceso para la obtención del probiótico con *L. pentosus* LB-31 destinado a la producción animal.

MÉTODOS

Selección del medio de cultivo y las características del inóculo para el crecimiento de *L. pentosus* LB-31

Para la evaluación de medios de cultivo económicos se utilizó la cepa *L. pentosus* LB-31, GenBank: FR717464. ⁽³⁾ La cepa conservada a -70 °C se activó mediante 2 subcultivos en 30 mL de caldo MRS (Oxoid, UK) a 37 °C durante (18-24) h de incubación. Este procedimiento se realizó para todos los estudios experimentales con la bacteria. Se evaluaron 5 medios de cultivo, con diseño a partir de la composición del medio control MRS, donde se sustituyeron las fuentes de carbono y nitrógeno por melaza de caña de azúcar y urea, respectivamente. ⁽⁷⁾ Los componentes restantes se fueron eliminando en cada uno de los medios diseñados.

Se utilizó para el estudio un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 2 x 10 y 3 repeticiones. En cada

caso los factores fueron los medios de cultivo (medio diseñado y medio MRS) y el tiempo (0, 2, 3, 4, 8, 12, 16, 18, 20 y 24) h. Las variables respuesta fueron crecimiento microbiano (ufc/mL), concentración máxima de biomasa ($XM_{\text{máx}}$), la velocidad específica máxima de crecimiento ($\mu_{\text{máx}}$) y el tiempo de duplicación de la biomasa (td). Estas variables se monitorearon en todos los experimentos de fermentación. Adicionalmente se determinó el pH y las concentraciones de ácido láctico, fórmico y acético en el medio MRS y el medio donde LB-31 tuvo un crecimiento similar al control. En este último también se realizó un balance estequiométrico.

Características del inóculo

Se utilizó un diseño al azar con arreglo factorial 2^3 y 3 repeticiones por tratamiento. Los factores fueron las condiciones del inóculo (cultivo completo y biomasa), los medios de cultivo (MRS y M4) y el tiempo (0 y 24) h. El inóculo de LB-31 se preparó en caldo MRS y según tratamiento experimental (cultivo completo y biomasa). Para obtener la biomasa, se centrifugaron 90 mL del cultivo a 4000 min^{-1} por 10 min, posteriormente, se suspendieron en el mismo volumen de medio de cultivo fresco. Se tomaron muestras del cultivo a las (0 y 24) h para determinar las ufc/mL y el pH.

Análisis estadístico

Todos los datos experimentales se procesaron con el paquete Infostat y se utilizó la dócima de Duncan DE para discriminar diferencias entre medias a $p < 0,05$.^(8,9)

Evaluación de condiciones de operación para la obtención del probiótico a nivel de laboratorio

Para determinar el efecto de la velocidad de agitación se utilizó un biorreactor New Brunswick™ Bioflo® & CelliGen® 310 (Eppendorf Company, USA) de 14 L, con volumen efectivo de 5 L de medio M4. La fermentación discontinua se realizó en condiciones semiestáticas (50 min^{-1} cada 2 h) y con 10 % (v/v) de inoculación; 37°C y pH del medio a $6,5 \pm 0,2$. Se determinaron las variables relacionadas con el crecimiento microbiano, la concentración de azúcares reductores totales (ART) con hidrólisis ácida de la sacarosa y su velocidad de consumo se estimó con CurveExpert Professional 2.6.5.^(10,11) El pH y concentración de oxígeno disuelto (OD) se midieron con electrodos acoplados al controlador automático del biorreactor. Se estimó el coeficiente volumétrico de transferencia de masa (K/a) en el medio de cultivo sin células y se determinaron las velocidades de transferencia, consumo de oxígeno (OTR y OUR, por sus siglas en inglés) y consumo específico (qO_2) de la bacteria en las 2 condiciones de agitación. Para esto el diseño fue con arreglo factorial 2×10 y medidas repetidas en el tiempo

Efecto de diferentes capacidades de fermentación (VL/VT). Se siguió el mismo procedimiento que en el estudio anterior. Al inicio de la fermentación se ajustó la concentración de oxígeno disuelto a $20\% \pm 10\%$ (concentración aproximada de oxígeno disuelto consumida por LB-31 en el cultivo semiestático). Se evaluó la capacidad de fermentación de 35 % y 70 % y el volumen efectivo fue de 5 L y 10 L para cada una de las relaciones VL/VT, respectivamente.

Control de pH y oxígeno disuelto. Se trabajó con volumen efectivo de 10 L y se siguió la misma metodología descrita en los estudios anteriores. Según el tratamiento experimental la fermentación se realizó sin control y con control del pH a $6,5 \pm 0,2$ y del oxígeno disuelto a $20\% \pm 10\%$. En este último caso se realizó control en cascada por agitación ($50\text{-}300 \text{ min}^{-1}$).

Análisis estadístico

Se consideró como unidad experimental al biorreactor y se empleó un modelo lineal donde los efectos fijos fueron la variable de interés en cada estudio y el tiempo de fermentación (0, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 20 y 24) h, así como la interacción entre ellos. Todas las corridas en biorreactores se realizaron por duplicado. Los datos se procesaron con el procedimiento MIXED del SAS versión 9.3 y se utilizó la dócima de Tukey-Kramer para discriminar diferencias entre medias a $p < 0,05$.⁽¹²⁾

Estabilidad y conservación del probiótico

Se utilizaron diseños completamente aleatorizados con 6 repeticiones para evaluar la estabilidad y conservación del aditivo en condiciones ambientales ($24 \pm 2^\circ\text{C}$ por un mes (0, 7, 14, 21 y 30) días y de refrigeración ($4 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 6 meses (0, 30, 60, 90, 120 y 180) días. Para ello se utilizó un cultivo líquido de LB-31 con ($4,33 \times 10^7$) ufc/mL, que se obtuvo de 3 lotes de fermentación. El aditivo se envasó en frascos de cristal estériles de 100 mL con tapas plásticas y se colocaron a la temperatura de interés. Se determinó la viabilidad celular, pureza del cultivo y pH.

Escalado del proceso de fermentación a planta piloto

Se estudiaron 5 criterios para escalar el proceso de fermentación con LB-31: potencia por unidad de volumen (P/V) constante, velocidad de agitación constante, tiempo de mezclado constante, velocidad en la punta del impelente constante y número de Reynolds constante. El criterio que ofreció las mejores condiciones de operación, según las características de crecimiento de LB-31 se seleccionó para su evaluación a nivel de planta piloto. Los biorreactores utilizados en las 2 escalas no tuvieron similitud geométrica. El régimen de flujo se determinó según el número de Reynolds. Se utilizó la correlación de Doran que permite estimar el tiempo de mezclado

con 90 % de homogeneidad en tanques agitados con turbinas Rushton y baffles que tienen un régimen de flujo turbulento (ecuación 1): ⁽¹³⁾

$$t_m = \frac{1,54V_L}{nd_i^3} \quad (1)$$

Mientras que la potencia consumida se calculó por la ecuación 2:

$$P = N_p n^3 d_i^5 \rho f_c N_{impelentes} \quad (2)$$

Se demostró la factibilidad técnica de utilizar el criterio de escalado seleccionado para realizar la fermentación a niveles productivos. Se determinó la velocidad de agitación, potencia consumida y P/V en cada uno de los biorreactores. Se escalaron hasta nivel de planta piloto los resultados que se obtuvieron en el laboratorio con 70 % de capacidad de fermentación. Para ello se utilizó un biorreactor de 42 L de volumen total con 30 L de medio M4 y se realizó una fermentación discontinua con agitación constante de 50 min⁻¹. Las restantes condiciones fueron las mismas que a nivel de laboratorio, así como las variables respuestas, el diseño experimental y tratamiento de los datos.

Valoración económica

A partir de los resultados del proceso de escalado se demostró la factibilidad de producir, en Cuba el probiótico con *L. pentosus* LB-31. Para ello se utilizó como caso de estudio el total de pollos de ceba (68110 animales), cerdos en crecimiento (28891 animales) y corderos (26809 animales) de la provincia Mayabeque. La demanda calculada del producto fue de 1527516,64 L/año (4628,84 L/día). Se realizó análisis del valor actual neto (VAN), tasa interna de retorno (TIR) y período de recuperación de la inversión (PRI) para determinar el precio de venta del probiótico. Se determinó el costo de inversión total (ATC) a partir de la metodología recomendada por Peters y Timmerhaus, el costo de producción total (ATE) y el flujo de caja para el proceso de obtención del probiótico con LB-31. ⁽¹⁴⁾

Evaluación de la actividad probiótica del aditivo en pollos de ceba

Se emplearon 16 pollos de ceba (8 por tratamiento), machos del híbrido EB-34 de 1 día de edad con peso promedio inicial de (40 ± 2) g, que se alojaron en jaulas metálicas hasta los 42 días y distribuidos al azar, donde cada uno constituyó una unidad experimental. Los animales consumieron a voluntad, agua y una dieta con maíz y soya. Los grupos experimentales fueron: a) dieta basal sin antibióticos (control) y b)

dieta basal con la adición de *L. pentosus* LB-31 en dosis de 100 mL/kg de alimento, equivalente a 10⁷ ufc/g de alimento. El aditivo se mezcló diariamente de forma manual con la dieta basal. Se determinaron indicadores morfológicos, inmunológicos, hemoglobina, hematocritos y bioquímica sanguínea. Los indicadores morfométricos e inmunológicos se expresaron, para su análisis estadístico, como relativos al peso vivo (g/kg de peso vivo). Los datos se procesaron con el paquete estadístico Infostat. ⁽⁸⁾

Efecto de *L. pentosus* LB-31 como aditivo en la alimentación de corderos

Se utilizaron 4 corderos Pelibuey machos enteros, clínicamente sanos, con peso vivo (PV) promedio de 49,7 kg ± 2,87 kg y 3 años de edad, alojados en jaulas individuales y distribuidos según diseño cuadrado latino (4 x 4) con períodos experimentales de 21 días cada uno. Los tratamientos consistieron en un control (sin aditivos) y la oferta, a las 08:30 am, de 3 dosis (6, 12 y 24) mL/día del aditivo con 10⁹ ufc/mL junto al alimento concentrado (500 g/animal/d), más el forraje, agua y sales minerales a libre voluntad. El forraje (*Cenchrus purpureus*) contenía 33,2 % MS; 6,23 % PB (N x 6,25) y 79,7 % FDN, mientras que el concentrado contenía 88,0 % MS; 16 % PB y 8,5 % FDN. En cada período durante 5 días consecutivos se determinó el consumo voluntario (cantidad de alimento ofertado menos rechazado). Se pesaron los animales y se tomaron muestras de sangre, mediante punción yugular para determinar concentración de glucosa, colesterol, triglicéridos, proteínas totales, albúmina y fósforo. El tratamiento de los datos fue igual al experimento anterior.

RESULTADOS

Selección del medio de cultivo y las características del inóculo para el crecimiento de *L. pentosus* LB-31

En la evaluación de medios de cultivo no hubo interacción entre los factores estudiados y en los 5 medios se observaron las fases del crecimiento microbiano (figura 1), aunque estas variaron del control según el medio diseñado. En caldo MRS, la mayor concentración (6,47 x 10⁸ ufc/mL) se obtuvo a las 8 h (incremento de 2 ciclos exponenciales), mientras que para los medios M3 y M6 se obtuvo a las 6 h, 8 h para M2 y M5 y de 12 h para M4. A partir de estos tiempos comenzó la fase estacionaria en todos los medios y se extendió hasta las 24 h, excepto en M6 donde el crecimiento disminuyó a las 24 h.

En la tabla 1 se muestra que la cepa tuvo elevada velocidad específica máxima de crecimiento, aunque fue inferior en los medios diseñados respecto al control, excepto para el M3. Consecuentemente, el tiempo de duplicación de la biomasa fue

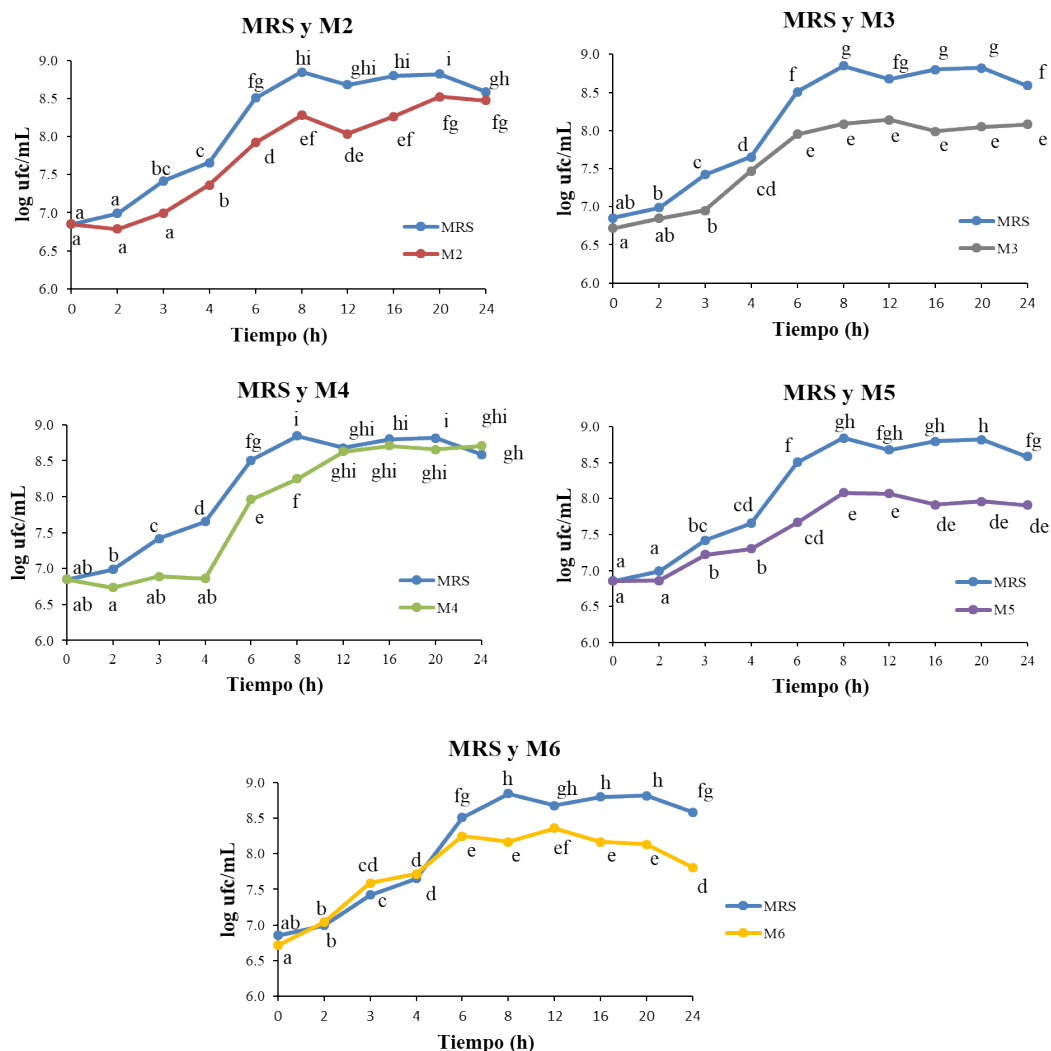


Fig. 1. Cinética de crecimiento de *L. pentosus* LB-31 en los medios M2 ($EE \pm 0,08$; $p = 0,0033$); M3 ($EE \pm 0,07$; $p < 0,0001$); M4 ($EE \pm 0,08$; $p < 0,0001$), M5 ($EE \pm 0,09$; $p < 0,0001$) y M6 ($EE \pm 0,08$; $p < 0,0001$), cada uno comparado con el medio control (MRS) a 37 °C durante 24 h. Nota: a, b, c, d, e, f, g, h, i, Letras distintas, por gráfico, difieren a $p < 0,05$ ⁽⁹⁾

superior en los medios diseñados. Por su parte, la concentración máxima de biomasa alcanzó valores superiores a 108 ufc/mL en todos los medios, sin diferencias entre el MRS y M4.

El comportamiento del pH después de la inoculación difirió entre tratamientos. Sus valores estuvieron por encima de 7,0 en los medios con urea, aunque a las 24 h de crecimiento del microorganismo disminuyeron hasta valores inferiores a 3,9. En este sentido, la bacteria produjo mayores concentraciones de ácido láctico, acético y fórmico en el medio MRS (11,77; 3,97 y 16,85) g/L, respectivamente, comparado con el medio M4 (6,61; 2,51 y 14,87) g/L, respectivamente. Este último medio se seleccionó para la realización de las siguientes investigaciones y su balance estequiométrico informó que un litro de medio de cultivo debe contener 6,26 g de ART (10,4 g/L de melaza de caña); 0,37 g de urea; 1 g de citrato de amonio

y 0,056 g de acetato de sodio para producir la mayor concentración de LB-31 alcanzada en el estudio ($5,22 \times 10^8$) ufc/mL, equivalente a 1,57 g biomasa seca/L.

En cuanto a las características del inóculo hubo interacción entre los factores estudiados ($p < 0,0001$) y en todos los casos al inicio de la fermentación la bacteria tuvo una concentración de 106 ufc/mL. A las 24 h se obtuvieron incrementos de 2 ciclos exponenciales y no hubo diferencias para un mismo medio de cultivo y diferentes condiciones del inóculo.

Evaluación de condiciones de operación para la obtención del probiótico a nivel de laboratorio

En el efecto de la velocidad de agitación no se encontró interacción entre los factores velocidad de agitación y tiempo para el crecimiento de LB-31. Similar al experimento anterior

Tabla 1. Parámetros de crecimiento de *L. pentosus* LB-31 en los medios diseñados

	MRS	M2	M3	M4	M5	M6	± EE <i>p</i> -valor
Fase exponencial (h)	2-8	3-8	2-6	4-12	2-8	0-6	---
$\mu_{m\acute{a}x}(h^{-1})$	0,73d	0,59bc	0,64cd	0,48ab	0,45a	0,59bc	0,04 <i>p</i> = 0,0015
<i>td</i> (h)	0,95a	1,19ab	1,10a	1,48bc	1,57c	1,18ab	0,10 <i>p</i> = 0,0070
log <i>X</i> _{máx}	8,80e	8,52cd	8,14ab	8,71de	8,08a	8,36bs445c	0,08
(<i>X</i> _{máx} · 10 ⁸ ufc/mL)	(6,47)	(4,52)	(1,45)	(5,22)	(1,25)	(2,33)	<i>p</i> = 0,0002

Nota: a, b, c, d, e, letras distintas, por filas, difieren a *p* < 0,05 ⁽⁹⁾

en las 2 curvas se definieron las fases de crecimiento del microorganismo, donde para el cultivo semiestático la etapa de adaptación fue de 3 h y la exponencial se extendió hasta las 12 h. A su vez, para el cultivo agitado a 300 min⁻¹ estas fases fueron más largas y se alcanzaron a las 4 h y 20 h.

Por otra parte, se encontró que la agitación no afectó la velocidad específica máxima de crecimiento (0,56 h vs 0,51 h⁻¹; *p* = 0,4578) y el tiempo de duplicación de la biomasa (1,27 h vs 1,41 h; *p* = 0,4519). Sin embargo, el rendimiento biomasa/sustrato fue superior para el cultivo semiestático (0,49 vs 0,26; *p* = 0,0064), así como la concentración máxima de LB-31 (1,23 x 10⁸ ufc/mL vs 0,79 x 10⁸ ufc/mL; *p* = 0,0069).

No se encontró interacción entre los factores para el oxígeno disuelto, pero sí se detectaron diferencias entre los 2 tratamientos (*p* < 0,0001). En el caso de la velocidad de consumo hubo interacción entre los factores, fundamentalmente, como consecuencia del comportamiento de LB-31 frente a las diferentes concentraciones de oxígeno disuelto en el medio. En cuanto al pH, no se detectaron diferencias entre tratamientos y se evidenció su disminución en el tiempo. Comportamiento similar presentaron los ART, mientras que su velocidad de consumo aumentó hasta las 12 h para las 2 condiciones de agitación.

Efecto de diferentes capacidades de fermentación (*V_L*/*V_T*). No se encontró interacción entre los factores evaluados, pero sí se detectaron diferencias para los efectos por separado. En ambas curvas de crecimiento, similares al experimento anterior, se definieron todas las fases del crecimiento y a partir de las 12 h no existieron diferencias en la concentración microbiana. Sin embargo, hubo diferencias entre las 2 condiciones para los tiempos en que se alcanzó cada una de las etapas de crecimiento.

Los parámetros de crecimiento de LB-31 no difirieron entre ambas capacidades de fermentación. Asimismo, no se en-

contró interacción entre los factores (capacidad y tiempo) para el oxígeno disuelto, pero sí se detectaron diferencias para las capacidades evaluadas (*p* < 0,0001). Este indicador disminuyó en ambos tratamientos durante el crecimiento de la cepa. Por otra parte, hubo interacción entre los factores para la velocidad de consumo de oxígeno disuelto. Se destaca que, con la capacidad de fermentación del 70 %, el mayor valor se registró durante las 2 primeras horas del proceso (4,85 x 10⁻⁴) gO₂/L.h y se detuvo completamente a las 6 h cuando LB-31 entró en su fase estacionaria. Para el cultivo en 5 L (35 % de capacidad de fermentación), los valores más elevados de velocidad se obtuvieron en la fase de adaptación e inicios de la exponencial (6,00-6,06 x 10⁻⁴) gO₂/L.h. Los comportamientos del pH y ART también se correspondieron con los resultados de las cinéticas de crecimiento, ya que disminuyeron en la medida que aumentó la concentración microbiana. En cuanto a el control de pH y oxígeno disuelto, se obtuvo que el crecimiento de LB-31 no difirió al controlar o no el proceso. Tampoco se detectaron diferencias en ninguno de los parámetros evaluados.

Estabilidad y conservación del probiótico

No hubo diferencias en la viabilidad de la bacteria para los primeros 14 días de conservación a temperatura ambiente. Después de este tiempo, su concentración disminuyó de 4,33 x 10⁷ a 1 x 10⁷ ufc/mL (7,64 a 7,02) log ufc/mL y se mantuvo en 91 % de viabilidad hasta los 30 días. En el caso del pH se observó una disminución a los 7 días y a partir de este momento se mantuvo estable.

La concentración del probiótico a (4 ± 2) °C se mantuvo durante los primeros 60 días de conservación con 4,33 x 10⁷ ufc/mL (7,64 log ufc/mL). Posteriormente disminuyó a 10⁶ ufc/mL (6,01 log ufc/mL) y alcanzó 78 % de viabilidad al finalizar el estudio. El pH, por su parte, disminuyó a los

30 días y se mantuvo estable hasta los 180 días. En ambas condiciones de conservación se comprobó que las colonias mantenían sus características morfológicas y culturales. Además, se descartó la presencia de contaminantes.

Escalado del proceso de fermentación a planta piloto

En la tabla 2 se muestran los resultados de cada uno de los criterios evaluados para las variables de operación. Se observa que al mantener constante el número de Reynolds se obtiene el valor más bajo de velocidad de agitación y potencia por unidad de volumen. De igual forma los criterios P/V y velocidad en la punta del impelente constante traen como consecuencia bajas velocidades de agitación que a escalas industriales no son técnicamente posibles. Mientras que mantener constante la velocidad de agitación o el tiempo de mezclado provoca los mayores incrementos de potencia, velocidad en la punta del impelente y régimen de turbulencia. Cuando se escala a tiempo de mezclado constante (46 s) la velocidad de agitación se mantiene en un valor bajo. Para este criterio, se obtuvo que la potencia aumentó 7 veces, la potencia por unidad de volumen 2 veces y la velocidad en la punta del impelente 1,48 veces, en el biorreactor a 30 L de volumen efectivo. Sin embargo, no fueron valores muy elevados porque la velocidad de agitación se mantuvo en un valor bajo. De igual forma al determinar la velocidad de agitación, potencia y relación P/V para biorreactores con volúmenes de fermentación de (10, 50, 500 y 5000) L (14, 70, 700 y 7000) L de volumen total respectivamente, se obtuvieron valores que son técnicamente posibles a escalas productivas.

Al evaluar el tiempo de mezclado constante, como criterio para escalar la fermentación con LB-31, se obtuvo que el rendimiento biomasa/sustrato y la concentración máxima de biomasa no tuvieron diferencias entre 10 L y 30 L de

fermentación. En ambas escalas la concentración máxima de biomasa fue de 10^8 ufc/mL (incremento de 2 ciclos exponenciales) y se alcanzó entre las 16 h y 20 h por lo que este tiempo sería el adecuado para detener el proceso. No obstante, la velocidad específica máxima de crecimiento fue menor en el biorreactor de 30 L de volumen efectivo (0,64 vs 0,45) h^{-1} y, consecuentemente, el tiempo de duplicación de la biomasa fue superior (1,08 vs 1,55) h.

No hubo diferencias entre las escalas de trabajo para el oxígeno disuelto y la velocidad de consumo de oxígeno. El oxígeno se agotó completamente en ambos tratamientos y los valores más elevados de su velocidad de consumo se registraron en las primeras horas del proceso. El pH y la concentración de ART tuvo un comportamiento similar tanto en los estudios de laboratorio como a nivel de planta piloto.

En la valoración económica se obtuvo que la mejor opción de venta del aditivo es de 45,60 \$/L equivalente al 95 % de descuento del precio de un probiótico similar en el mercado internacional (912 \$/L). A partir de este valor y la capacidad de producción los ingresos por ventas del aditivo ascienden a 75240 000 \$/año a partir del tercer año. El costo de inversión de la nueva planta sería de \$ 114141197,69 y el costo unitario de producción de LB-31 es de 14,47 \$/L a partir del tercer año de producción. De forma general se obtuvo un VAN positivo (\$ 86827820) y un plazo de recuperación de la inversión 4,51 años con TIR > 12 %, lo que demuestra que es económicamente factible.

Evaluación de la actividad probiótica del aditivo en pollos de ceba

La inclusión de *L. pentosus* LB-31 en la dieta de los pollos de ceba no tuvo efecto en los indicadores hematológicos. Sin embargo, se detectaron diferencias para algunos

Tabla 2. Efecto de algunos criterios de escalado en diferentes variables de operación

Criterio de escalado	Potencia (P)	Potencia por unidad de volumen (P/V)	Velocidad de agitación (n)	Tiempo de mezclado (tm)	Velocidad en la punta del impelente (ndi)	Número de Reynolds (Re)
$P/V = cte$	0,23 W	7,67 W/m ³	39 min ⁻¹	62 s	0,068 m/s	7,85 x 10 ³
$n = cte$	0,48 W	16 W/m ³	50 min ⁻¹	48 s	0,09 m/s	1 x 10 ⁴
$tm = cte$	0,56 W	18,7 W/m ³	52 min ⁻¹	46 s	0,09 m/s	1,06 x 10 ⁴
$ndi = cte$	0,17 W	5,56 W/m ³	35 min ⁻¹	69 s	0,061 m/s	7,1 x 10 ³
$Re = cte$	0,059 W	1,98 W/m ³	25 min ⁻¹	97 s	0,043 m/s	5 x 10 ³

de los indicadores de bioquímica sanguínea (tabla 3). Se encontró que la relación albúmina/globulina y las concentraciones de albúmina, colinesterasa y glutatión aumentaron ($p < 0,05$); mientras que los niveles de globulinas, ácido úrico, amilasa pancreática, fosfatasa alcalina, colesterol y triglicéridos disminuyeron ($p < 0,05$) al incluir LB-31 en la dieta. El resto de los indicadores (proteínas totales, glucosa y enzimas ALAT y ASAT) no mostraron diferencias entre tratamientos ($p > 0,05$).

En cuanto a los indicadores morfométricos de las aves solo se encontró que el intestino delgado disminuyó ($p < 0,05$) y la grasa abdominal aumentó ($p < 0,05$) con la inclusión de LB-31 en la dieta. Mientras que LB-31 no tuvo efecto en el peso relativo de la bolsa de Fabricio y el timo, órganos relacionados con el sistema inmune.

Efecto de *L. pentosus* LB-31 como aditivo en la alimentación de corderos

En la tabla 4 se aprecia que los animales que recibieron el aditivo microbiano incrementaron su consumo de MS. En cuanto a los indicadores sanguíneos, la glucosa y el fósforo difirieron con respecto al control, aunque los grupos que recibieron el aditivo microbiano alcanzaron el valor más bajo, sin diferencias entre dosis. Efecto contrario ocurrió con los triglicéridos, proteínas totales y albúmina que no difieren entre tratamientos. Sin embargo, el colesterol obtuvo el valor más elevado al aplicar 24 mL del aditivo microbiano.

DISCUSIÓN

Uno de los aspectos fundamentales para la producción de probióticos es el diseño de medios de cultivos. En la presente investigación se obtuvieron concentraciones de LB-31

en un medio diseñado con fuentes económicas (medio M4), similares al medio MRS. Se demostró que M4 cubre las necesidades nutricionales de la cepa al utilizar los nutrientes de la melaza, el nitrógeno de la urea y elementos del acetato de sodio y citrato de amonio. En este sentido, varios estudios informan el papel que juegan estas sustancias para el crecimiento de diferentes tipos de microorganismos probióticos. (15,16,17,18)

Otro resultado importante es que los metabolitos presentes en el cultivo del inóculo no afectan el crecimiento de la cepa, lo que ofrece ventajas al no ser necesaria la incorporación de otra etapa (centrifugación) para la obtención del aditivo que pueda hacerlo más complejo y costoso, así como aumentar el tiempo de proceso. Además, M4 tiene beneficios económicos para el proceso de obtención a escalas productivas al utilizar la melaza, subproducto de la industria azucarera, con un costo menor que la glucosa. A su vez, tiene una composición simple comparada con otras que se informan en la literatura para el crecimiento de *Lactobacillus*, lo que constituye un aspecto necesario en las fermentaciones industriales.

Al estudiar diferentes condiciones de operación en biorreactores de laboratorio se obtuvieron concentraciones de LB-31 con aumentos de 2 ciclos exponenciales, similares a los estudios de medios de cultivo. En este caso los mejores resultados se obtuvieron al trabajar a bajas velocidades de agitación, con la capacidad máxima del biorreactor y sin controlar el pH y OD. Resultados similares se obtuvieron para *Lactobacillus fermentum* K73 y *Lactobacillus rhamnosus* LS-8. (19,20) Sin embargo, existen en la literatura resultados incongruentes que varían según la cepa con la que se trabaja. (21, 22)

Respecto al OD, el comportamiento fue similar en los 3 estudios realizados. Este disminuyó durante las fases de adaptación y crecimiento exponencial, lo indica que la bacte-

Tabla 3. Efecto del aditivo con LB-31 en indicadores sanguíneos de pollos de ceba a los 42 días de edad

Indicador	Tratamientos		± EE	p-valor
	Control	Probiótico LB-31		
Albúmina/Globulinas	0,60	0,83	0,03	<0,0001
Albúmina (g/L)	11,05	12,93	0,23	0,0001
Globulinas (g/L)	20,37	15,93	0,88	0,0032
Ácido úrico (mmol/L)	535,17	335,33	25,76	0,0001
Amilasa pancreática (u/L)	593,00	498,33	20,81	0,0062
Fosfatasa alcalina (u/L)	3831,17	1762,00	193,33	<0,0001
Colinesterasa (u/L)	1704,67	1972,33	46,67	0,0012
Glutatión (u/L)	16,50	21,67	0,36	<0,0001
Colesterol (mmol/L)	3,53	3,05	0,12	0,0152
Triglicéridos (mmol/L)	1,49	1,05	0,07	0,0004

Tabla 4. Valores medios de consumo absoluto y relativo de materia seca (MS) y de algunos indicadores sanguíneos de corderos tratados con *L. pentosus* LB-31

Indicadores	Control	L. pentosus LB-31, 109 ufc/mL			SEM	p
		6 mL	12 mL	24 mL		
Consumo absoluto (kg/d) y relativo (% PV, g/kgPV 0,75) de MS						
CMS kg/d	1,85a	2,13b	2,14b	2,25b	0,04	0,0001
CMS % PV	3,56a	4,10b	4,33b	4,12b	0,09	0,0001
CMS g/kgPV075	95,6a	110,1b	116,2b	110,6b	2,38	0,0001
Indicadores sanguíneos (mmol/L)						
Glucosa	4,25b	2,68a	3,13a	2,63a	0,26	0,016
Colesterol	1,41a	1,31a	1,43a	1,68b	0,07	0,037
Fósforo	2,00b	1,68a	1,73a	1,63a	0,07	0,048

Nota: a,b, por fila, medias con letras distintas difieren a $p < 0,05$ (Duncan 1955)

ria asimila el oxígeno como nutriente. Característica que simplifica el modo de operación para su crecimiento y facilita los estudios posteriores de escalado.

Al tener en cuenta los resultados anteriores y que el oxígeno disuelto consumido por LB-31 en el cultivo semiestático es de $20 \% \pm 10 \%$, se consideran adecuadas estas condiciones para su crecimiento en biorreactores y que el metabolismo esté dirigido, fundamentalmente, a la producción de biomasa y la obtención de altos rendimientos biomasa/sustrato. A una conclusión similar se arribó para el cultivo de *Pediococcus acidilactici* donde los autores demostraron que solo era necesario suministrar oxígeno antes de la inoculación. ⁽²¹⁾ Además, el hecho de que no sea necesario controlar el pH y oxígeno disuelto durante la fermentación de LB-31 permite que el proceso sea simple y económico.

El estudio de estabilidad demuestra que el aditivo con LB-31 posee una concentración adecuada para ejercer su actividad probiótica y se mantiene hasta los 14 días a temperatura ambiente ($4,33 \times 10^7$ ufc/mL) y 60 días en condiciones refrigeradas ($3,74 \times 10^7$ ufc/mL). Otros autores también comprobaron que cepas probióticas mantenían su viabilidad durante 28 días en condiciones de refrigeración (4°C) y que la concentración era la recomendada para su uso como probiótico. ^(23,24) Los resultados del presente estudio son alentadores y comparables con otros productos probióticos conservados en refrigeración que tienen tiempos de estabilidad inferiores al aditivo con LB-31. ⁽²⁵⁾ Se debe destacar, además, que al cultivo no se le agregó ningún conservante que pudiera mejorar la supervivencia de la bacteria.

En la obtención de LB-31 a escala de laboratorio se demostró que la característica más importante del proceso es lograr un mezclado adecuado a bajas velocidades de agitación. Cuando se escala a tiempo de mezclado constante (46 s) la velocidad de agitación se mantiene en un valor bajo, lo que resulta favorable para el crecimiento de la cepa ya que permite evitar elevados gradientes de oxígeno disuelto debido a la transferencia de masa por la agitación. Además, este tiempo es inferior al tiempo de duplicación de la biomasa de LB-31 (1,08 h) y garantiza la homogeneidad del medio de cultivo antes de manifestarse la reacción biológica.

Como se demostró en los estudios con biorreactores de laboratorio una baja velocidad de agitación es la adecuada para que no se afecte el crecimiento de LB-31. Además, se ratificó el incremento de la potencia consumida y la relación P/V . Sin embargo, no son valores extremadamente altos y para el mayor volumen de fermentación la P/V se encuentra en el intervalo (1-10) kW/m³, que es informado por Doran para biorreactores industriales. ⁽²⁶⁾ De forma general, los resultados demuestran que, desde el punto de vista técnico, es factible utilizar el tiempo de mezclado constante para escalar a volúmenes de fermentación de 500 L y 5000 L en equipos de 700 L y 7000 L de volumen total, respectivamente, así mismo el diseño de la planta cubre la demanda prevista del aditivo y permite un 93 % de ahorro por concepto de sustitución de importaciones.

Al realizar el escalado a tiempo de mezclado contante, no se afectaron los parámetros de crecimiento de LB-31 y se lograron similares concentraciones microbianas y rendimientos biomasa/sustrato. Resultados similares obtuvo Brizuela

al mantener constante la velocidad de agitación para escalar a 20 L la obtención de biomasa probiótica de *Lactobacillus rhamnosus* LB/103-1-5. ⁽²⁷⁾

La evaluación del aditivo en pollos de ceba, demostró que LB-31 mantiene sus características probióticas cuando se obtiene en un nuevo medio de cultivo y diferentes condiciones de operación. ⁽²⁸⁾ Se obtuvo mayor eficiencia de utilización de la fracción proteica y, por ende, mejor estado nutricional. Asimismo, los animales tratados con LB-31 presentaron mejor estado de salud, reflejado en los niveles de ácido úrico, globulinas, amilasa pancreática, fosfatasa alcalina y glutatión.

En corderos Pelibuey se evidenciaron efectos beneficiosos en el consumo de materia seca, lo que pudiera estar asociado a un mejor aprovechamiento de la fibra, producto del incremento de la actividad enzimática de microorganismos ruminales. ⁽²⁹⁾ LB-31 también tuvo resultados positivos en la eficiencia del metabolismo energético animal, al considerar la concentración de glucosa como uno de los indicadores de mayor relevancia en este metabolismo. ^(30,31,32) Sin embargo, en el presente trabajo, a pesar de diferir los valores medios de glucosa y colesterol en los animales tratados con LB-31, estos fluctúan dentro del rango normal para la especie ovina. ^(33,34) Respecto a la albúmina se plantea que valores en el rango obtenido indican una nutrición proteica adecuada y mejoras en la condición corporal de los animales. ⁽³⁵⁾

Conclusiones

Se demuestra que el proceso de obtención del aditivo con *L. pentosus* LB-31 es simple, escalable, económicamente factible y mantiene su eficacia probiótica en animales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. April 30 and May 1. London Ontario, Canada. 2002. [Consultado 25 oct 2016]. Disponible en: http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Probiotics in animal nutrition-Production, impact and regulation by Yadav S. Bajagai, Athol V. Klieve, Peter J. Dart and Wayne L. Bryden. Editor Harinder P.S. Makkar. FAO Animal Production and Health Paper No. 179. 2016. Rome. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i5933e.pdf>
- García Y, Pérez T, Boucourt R, *et al.* Isolation, characterization and evaluation of probiotic lactic acid bacteria for potential use in animal production. Research in Veterinary Science. 2016;108:125-32. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.08.009>
- García Y, Pérez T. Obtención de microorganismos con actividad probiótica para animales monogástricos. Anales de la Academia de Ciencias de Cuba. 2015;5(3):1-19. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/download/225/225>
- Ayala, L, García, Y, Savón LL, *et al.* Evaluación de la actividad probiótica del *Lactobacillus pentosus* en indicadores de salud y productivos de cerditos destetados. Revista Computadorizada de Producción Porcina. 2014;21(3):130-3. Disponible en: http://www.iip.co.cu/RCPP/213/213_artLayala.pdf
- Rodríguez R, Ontivero Y, García Y, *et al.* Empleo del tubérculo de boniato (*Ipomoea batatas* L.) y la cepa *Lactobacillus pentosus* LB-31 como aditivos a ensilajes mixtos para rumiantes. Livestock Research for Rural Development. 2020;32 (7):117. Disponible en: <http://www.lrrd.org/lrrd32/7/rodri32117.html>
- De Man JC, Rogosa M, Sharpe ME. A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. Journal of Applied Microbiology. 1960;23(1):130-5. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x>
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, *et al.* InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>
- Duncan DE. Multiple range and multiple F. test. Biometrics. 1955;11:1-42.
- Miller G. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reduction sugar. Analytical Chemistry. 1959;31(3):426-8.
- Zapata, A.M. Efecto de la relación carbono/nitrógeno en la producción de alginatos por *azotobacter vinelandii*. Tesis presentada para optar al título de Ingeniero Químico. Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Colombia. 2005.
- Kramer CY. Extension of Multiple Range Tests to Group Means with Unequal Numbers of Replications. Biometrics. 1956;12(3):307-0. Disponible en: <https://doi.org/10.2307/3001469>
- Doran PM. Bioprocess engineering principles. 2nd Edition. Academic Press. London: Academic Press. 1995. ISBN: 0122208552
- Peters MS, Timmerhaus KD. Plant Design & Economics for Chemical Engineers. 4th ed., New York: McGraw-Hill. 1991. ISBN: 978-0-07-049613-2 [Consultado 14 oct 2020]. Disponible en: <https://www.amazon.com/Plant-Design-Economics-Chemical-Engineers/dp/B004H0TTK2>
- Amrane A, Prigent Y. Influence of yeast extract concentration on batch cultures of *Lactobacillus helveticus*: growth and production coupling. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 1998;14:529-34. Disponible en: <https://doi.org/10.1023/A:1008828415639>
- Chiang ML, Chen HC, Chen KN, *et al.* Optimizing production of two potential probiotic lactobacilli strains isolated from piglet feces as feed additives for weaned piglets. Asian Australasian Journal of Animal Sciences. 2015;28(8):1163-70. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.14.0780>
- Montes A, Santacruz A, Sañudo J, *et al.* Efecto *in vitro* de *Lactobacillus casei subsp rhamnosus* sobre el crecimiento de un aislado de *Helicobacter pylori*. Revista del Centro de Estudios en Salud. 2003;1(4):5-12. Disponible en: <https://revistas.udenar.edu.co/index.php/usalud/article/view/302/pdf>
- Ossa JA, Vanegas MC, Badillo AM. Evaluación de la melaza de caña como sustrato para el crecimiento de *Lactobacillus plantarum*. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica. 2010;13(1):97-104. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v13n1/v13n1a11.pdf>

19. Aragón-Rojas S, Ruiz-Pardo RY, Hernández-Sánchez H, *et al.* Optimization of the production and stress resistance of the probiotic *Lactobacillus fermentum* K73 in a submerged bioreactor using a whey-based culture medium. Journal of Food. 2018;16(1):1064-70. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1527785>
20. Wang T, Lu Y, Yan H, *et al.* Fermentation optimization and kinetic model for high cell density culture of a probiotic microorganism: *Lactobacillus rhamnosus* LS-8. Bioprocess and Biosystems Engineering. 2020;43(3):515-28. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00449-019-02246-y>
21. Othman M, Ariff AB, Wasoh H, *et al.* Strategies for improving production performance of probiotic *Pediococcus acidilactici* viable cell by overcoming lactic acid inhibition. AMB Express. 2017;7:215. Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0519-6>
22. Grattepanche F, Lacroix C. Production of viable probiotic cells. Woodhead Publishing Limited. 2013. ETH Zürich, Switzerland. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1533/9780857093547.2.321>
23. Tavares AG, Lacerda C, Ribeiro D, *et al.* Combination of probiotic yeast and lactic acid bacteria as starter culture to produce maize-based beverages. Food Research International. 2018;111:187-97. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.065>
24. dos Santos AL, Veloso H, Rodrigues S, *et al.* Production and stability of probiotic cocoa juice with sucralose as sugar substitute during refrigerated storage. LWT-Food Science and Technology. 2019;99:371-8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.007>
25. Sosa D, García Y, Dustet JC, *et al.* 2024. Stability and preservation of the probiotic additive with *Lactobacillus pentosus* LB-31 for animal production. Cuban Journal of Agricultural Science. 2024;58:1-6. Disponible en: <https://cjas.science.com/index.php/CJAS/article/view/1155/1716>
26. Doran, PM. Bioprocess engineering principles. 2nd Edition. Academic Press. London: Academic Press. 2013. ISBN: 978-0-12-220851-5
27. Brizuela MA. Selección de cepas de bacterias ácido lácticas para la obtención de un preparado con propiedades probióticas y su evaluación en cerdos. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. La Habana, Cuba. 2003.
28. Sosa D, García Y, Dustet JC, *et al.* Efecto del aditivo probiótico *Lactobacillus pentosus* LB-31 en pollos de ceba. Revista MVZ Córdoba. 2021;26(1):e2037. Disponible en: <https://doi.org/10.21897/rmvz.2037>
29. López Y, Arece J, Ojeda F, *et al.* Uso del probiótico Sorbifauna en el crecimiento de crías ovinas estabuladas. Revista de Pastos y Forrajes. 2014;37(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942014000100008
30. Varas M, Ricarte RA, Chagra EP. Concentraciones de metabolitos sanguíneos en cabras criollas con sistemas extensivos de producción en el SO de La Rioja, Argentina. APPA ALPA Cusco, Perú. 2007. http://www.produccionanimal.com.ar/produccion_caprina/produccion_caprina/102-Varas_Metabolismosanguineo.pdf
31. Rosales C, Chamba-Ochoa H, Chavez R, *et al.* Niveles de insulina y glucosa como indicadores de eficiencia reproductiva y productiva en vacas posparto. REDVET. 2017;18(3). <https://www.redalyc.org/html/636/63651263009/>
32. Gutiérrez D, García Y, Sosa D. El efecto de *Lactobacillus pentosus* LB-31 como aditivo microbiano en la alimentación de corderos. Livestock Research for Rural Development. 2020;32(3). <http://www.lrrd.org/lrrd32/3/yanei32043.html>
33. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical chemistry of domestic animals. Sixth Edition. Editorial Academic Press. New York. 2008. 928 p.
34. Aguilar EF. Variaciones en la enzima AST y colesterol en hembras ovinas de 3 sistemas de producción de ganadería tropical. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Veracruzana. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Veracruz. México. 2012. 26 p.
35. Healy PJ, Falk RH. Values of some biochemical constituents in the serum of clinically normal sheep. Australian Veterinary Journal. 1974;50(7):302-305.

Recibido: 16/10/2025

Aprobado: 6/11/2025

Agradecimientos

Se agradece el financiamiento aportado por el Programa Nacional del CITMA, Cuba, que permitió la ejecución de experimentos, publicación y divulgación de los principales resultados. Igualmente, al Programa de Movilidad de Investigadores y Profesores Cubanos en Instituciones Mexicanas de la Secretaría General Iberoamericana, la Asociación Nacional de Universidades e Instituciones de Educación Superior (ANUIES) y el Ministerio de Educación Superior (MES) con la colaboración de la Agencia Mexicana de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AMEXCID) que aprobó la realización de una beca de investigación doctoral. Asimismo, se agradece a investigadores, especialistas y colaboradores que contribuyeron con la obtención de los resultados.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses entre ellos, ni con la investigación presentada, ni con la institución que representa.

Contribuciones de los autores

- Conceptualización: Dailyn Sosa Cossio, Yaneisy García Hernández, Julio C. Dustet Mendoza
- Investigación: Dailyn Sosa Cossio, Yaneisy García Hernández, Julio C. Dustet Mendoza, Mauricio Alberto Trujillo Roldán, Areadne Sosa Ceijas, Nereyda Albelo Dorta, Abel Blancas Cabrera, Delfín Gutiérrez González
- Metodología: Dailyn Sosa Cossio, Yaneisy García Hernández, Julio C. Dustet Mendoza, Areadne Sosa Ceijas, Nereyda Albelo Dorta, Delfín Gutiérrez González
- Análisis formal: Mauricio Alberto Trujillo Roldán, Areadne Sosa Ceijas, Nereyda Albelo Dorta, Abel Blancas Cabrera, Delfín Gutiérrez González
- Redacción-revisión y edición: Dailyn Sosa Cossio, Yaneisy García Hernández, Julio C. Dustet Mendoza

Financiamientos

La investigación fue financiada con el proyecto Desarrollo de aditivos microbianos para animales de interés productivo, Código: P131-LH002-029 del Programa Nacional de Producción de Alimento Animal y recursos aportados por el Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

Cómo citar este artículo

Sosa Cossio D, García Hernández Y, Dustet Mendoza JC, Trujillo Roldán MA, Sosa Ceijas A, Albelo Dorta N, **et al.** Obtención de un aditivo probiótico con *Lactobacillus pentosus* LB-31 destinado a la producción animal. An Acad Cienc Cuba [Internet] 2025 [citado en día, mes y año];15(3):e3187. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/3187>

El artículo se difunde en acceso abierto según los términos de una licencia Creative Commons de Atribución/Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0), que le atribuye la libertad de copiar, compartir, distribuir, exhibir o implementar sin permiso, salvo con las siguientes condiciones: reconocer a sus autores (atribución), indicar los cambios que haya realizado y no usar el material con fines comerciales (no comercial). © Los autores, 2025.

