

ELABORACIÓN DE PROBIÓTICOS ARTESANALES PARA SU APLICACIÓN EN GANADO CAPRINO.

PRODUCTION OF HANDICRAFTED PROBIOTICS FOR HIS APPLICATION IN GOATS

Cristóbal Freire¹, John Saquicela¹, César Besantes²

¹ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Guayaquil, Guayaquil – Ecuador, correo electrónico: freireantonio51@hotmail.com.

² Colegio Técnico Agropecuario Pablo Weber Cubillo.

RESUMEN

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, la definición de probiótico es: Cualquier microorganismo vivo que son suministrados en cantidades adecuadas y promueven beneficios en la salud del organismo huésped. Es por esta razón que en la actualidad se están incentivando el uso de estos microorganismos en la producción de diferentes especies animales. Sin embargo, muchos de estos productos comerciales no contienen los microorganismos que mencionan en su etiqueta, posiblemente por una inadecuada elaboración y/o mala transportación, además, provienen de regiones o países diferentes, por lo que hay la posibilidad de infecciones. Con este antecedente, elaboramos probióticos artesanales con microorganismos de nuestras áreas de cultivo a un bajo costo y, se comprobó sus beneficios en el aumento de peso de los animales de experimentación.

Se probó tres medios para obtener *Lactobacillus sp.*: heces, leche recién extraída y líquido ruminal de ganado caprino. Se usó como medio de cultivo leche en polvo en diferentes cantidades con melaza, comprobándose que los microorganismos que fueron cultivados con el líquido ruminal, son los que se multiplicaron en mayor cantidad.

Seguidamente establecimos pares de cabras de acuerdo a su semejanza de peso, de los cuales a siete se les aplicó vía oral nuestro probiótico artesanal y obtuvimos una mayor ganancia de peso en comparación con la de seis ejemplares usados como controles.

Estos resultados obtenidos podrían beneficiar en costos de producción a la ganadería del litoral así como también a nivel nacional.

Palabras claves: Ganadería del litoral ecuatoriano, Ganado caprino, *Lactobacillus sp.*, probióticos.

SUMMARY

According with World Health Organization, the probiotics definition is any microorganism that is supplied in adequate quantities and promotes health benefits in the host organism. At the present is encouraging the use of microorganisms to produce various animal species. However, in many of these commercial products contain microorganisms that are not on the label, possibly because of inadequate elaboration and transportation, moreover, the products come from of different countries or regions to Ecuador, and is possible that these microorganism produce infection. For that reason, we elaborate artisanal probiotics with microorganism of Ecuadorian growing areas, at low cost; and we obtain evidences of weight gain in the experimentation animals.

We tested three media to obtain *Lactobacillus sp.*: feces, freshly drawn milk liquid from the rumen stomach of goats (Rumen Fluid). On the other hand as medium culture, was used medium whole milk powder in different quantities and it was mixed with melaza, and we obtained more quantity of microorganism in culture medium used with rumen fluid.

Then we established pairs of goats according their similar weight, to seven were orally applied our probiotics and founded greater weight gain compared with six especimens used as controls.

These results could benefit the weight gain of goats in the Ecuador.

Keywords: Goats, probiotics, *Lactobacillus sp.*, Rumen fluid zootechnical additive.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años la **industria ganadera del Litoral** ha sido afectada por los altos costos de producción, especialmente para combatir las enfermedades que frecuentemente atacan a sus hatos.

Las industrias transnacionales frecuentemente nos invaden con una serie de productos farmacéuticos como por ejemplo, los antibióticos, que por su mal uso, producen bacterias resistentes por lo que su tratamiento es nulo.

La mejor manera de combatir las enfermedades es la prevención y una de las alternativas modernas es el uso de probióticos tanto en salud humana como en salud animal.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS,2005), la definición de *probiótico* es: “Microorganismos vivos que, cuando son suministrados en cantidades adecuadas, promueven beneficios en la salud del organismo huésped.”, así también el concepto de probióticos, se puede definir como: “aquellos microorganismos vivos, principalmente bacterias y levaduras, que son agregados como suplemento en la dieta y que afectan en forma beneficiosa al desarrollo de la flora microbiana en el intestino” (FULLER,2012), tiene ya más de un siglo de antigüedad y una definición más adecuada es: “son cultivos simples o mezclados con microorganismos vivos que aplicados al hombre o a los animales, benefician al hospedador mejorando las propiedades de la microflora intestinal original” (HAVENAAR,1992). Algunos expertos indican que los probióticos, deben estar en una dosis suficiente para modificar (por implantación o colonización) la microflora de algún compartimiento del aparato digestivo del hospedador, lo cual impide que se establezcan los microorganismos patógenos, VAN EYS y DEN HARTOG, (2012). Otro autor indica que “los probióticos están constituidos por microorganismos capaces de inducir o mantener un equilibrio favorable de la flora presente” DIBNER y RICHARDS, (2005).

En la última década, debido a la resistencia que van adquiriendo los microorganismos patógenos a los antibióticos existentes, se desarrollan estudios de aplicación de probióticos en los diferentes animales de consumo y acompañamiento humano, para obtener ganancia de peso o como una alternativa para evitar enfermedades.

Investigadores que efectúan varias pesquisas sobre probióticos usados en tratamientos de enfermedades, encontraron que son varios “los efectos de mencionados productos incluyendo la modificación de la flora, evitando la colonización patógena, la prevención del desequilibrio de la flora intestinal, la reducción de la incidencia y duración de diarreas, el mantenimiento de la integridad de las mucosas, la modulación de la inmunidad al evitar la translocación bacteriana, la producción de vitaminas como la B2, B6 y biotina, la asimilación de oligoelementos y la actividad antitumoral” (GOMEZ,2006); “Una forma de actuar de los probióticos para lograr alcanzar un buen estado de salud del individuo, es a través de la resistencia otorgada contra la invasión de microorganismos patógenos, que se logra mediante la generación de sustancias antimicrobianas como el ácido láctico y otros ácidos de cadena corta: metabolitos como peróxido de hidrógeno, diacetilo y bacteriocinas.” GONZÁLEZ, GÓMEZ y JIMÉNEZ, (2003), así como también otro autor concuerda en que “obtuvieron incrementos del consumo voluntario y de la ganancia de peso vivo cuando suplementaron la dieta de los animales con un preparado biológico a base de bacterias lácticas” OJEDA, [et al.], (2008).

Por otro lado se realizó una investigación sobre tratamientos de mastitis bovina con el uso de probióticos, en donde su objetivo principal fue el de obtener un

medio de cultivo sencillo, económico y que a la vez permitiera el crecimiento y desarrollo de *Lactobacillus bulgaricus* y el *Bacillus subtilis* para ser utilizados como Probióticos en el tratamiento de la mastitis bovina. Fueron aisladas las cepas de *Lactobacillus bulgaricus* y *Bacillus subtilis*. Se comprobó la eficacia del probiótico sobre los microorganismos patógenos productores de mastitis y la recuperación de los animales tratados con Probióticos tuvo un tiempo promedio de 16 días GONZÁLEZ-SANCHEZ, (1995); en otro estudio se demostró la eficacia del Probiótico sobre los microorganismos patógenos productores de mastitis y la recuperación de los animales tratados con Probióticos (HAMER, 2013).

La Universidad Nacional del Litoral de Argentina en el 2010 tiene investigaciones sobre el uso de probióticos, considerando el uno de estos productos una alternativa natural para compensar los desbalances intestinales que sufren los terneros en crianza artificial. En esta línea, los especialistas diseñaron inóculos con bacterias ácidos lácticas beneficiosas de origen bovino para prevenir enfermedades en el crecimiento de terneros.

En nuestro medio, ya existen probióticos comerciales para el uso en vacunos, pero, provienen generalmente de otros países, por lo que ya tienen mutaciones, que de alguna forma pueden afectar el sistema inmunológico de nuestros animales, además estos probióticos comerciales son muy costosos y tienen un alto índice de contaminación y de pérdidas de efectividad durante su manejo, transporte y aplicación.

Por esta razón hemos elaborado técnicas sencillas que permitieron obtener los *Lactobacillus* que se encontraron en los animales de la zona de General Villamil “Playas”, en donde las bacterias acidolácticas fueron usadas posteriormente como probióticos y se los aplicó a un hato de ganado caprino con el fin de observar los beneficios en su producción.

Seleccionamos el ganado caprino, porque es una buena alternativa para la producción de leche y carne de exportación. Los países del primer mundo requieren con avidez la leche y productos lácteos de estos animales porque tiene una gran similitud con la leche materna humana.

Con nuestra investigación, estaremos produciendo artesanalmente probióticos que ayudarán en la ganancia de peso de los caprinos, con lo que estaremos aminorando costos en la producción ganadera. Además se estará dando una apertura para futuras investigaciones sobre la producción de probióticos artesanales y su aplicación en el desarrollo de las diferentes ganaderías y producción de pequeños animales de nuestro país.

MÉTODOS

Se conformaron dos grupos de estudiantes para que realicen la elaboración de probióticos en el laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnica. Un grupo formado por estudiantes de quinto año de la Facultad y el otro, por estudiantes del Colegio Técnico Agropecuario Pablo Weber Cubillo los cuales fueron capacitados. Los materiales que se utilizaron se detallan a continuación: matraces, piola, plástico, agua destilada, leche en polvo, melaza, leche recién extraída de cabras, heces de cabras, líquido ruminal de cabras, stock de tinción de gran, asa de platino. Entre los equipos que se utilizaron están: incubadora, microscopio, autoclave, balanza electrónica, balanza romana de 0-100 kg. Computadora, impresora, cámara fotográfica y medidor de Ph.

Elaboración de probióticos:

Se probó tres sustancias biológicas provenientes de cabras (leche, heces y líquido ruminal) para la obtención del *Lactobacillus sp.*

En la primera prueba se utilizó 5 ml de leche recién extraída con 300 ml de melaza; en el segundo experimento se empleó 5 g de heces frescas con 300 ml de melaza; y en el tercer testeo usamos 5 ml. de líquido ruminal de cabras recién muertas con 300 ml de melaza; además a cada testeo se añadió cinco variantes de leche en polvo de vaca (50, 100, 150, 200 y 250 gramos).

La melaza y las cinco variantes de leche en polvo de vaca se utilizaron como medio de cultivo para los tres diferentes experimentos. Estos quince medios de cultivo fueron colocados en diferentes matrices de 1000 ml y sellados herméticamente con plástico y piola. Posteriormente estos cultivos fueron incubados a 37°C por 72 horas. Cuando el plástico que sella el matraz comienza a dilatar y el pH mide 4.5, la fórmula podrá ser analizada por el método de tinción de Gram (figura 1).





Figura 1. (a) Se utilizaron matraces estériles de 1000 ml, se colocó leche recién extraída, heces o líquido ruminal de las cabras (b) Se pesó leche en polvo de vaca en diferentes cantidades (c) A continuación se añadió melaza (d) Los matraces con todo el contenido indicado con antelación, se los cubrió herméticamente con plástico (e) Se realizó la incubación. (f) Se evidenció la presencia de gas etano con un pH 4.5, la variación de colores se debe a las diferentes sustancias biológicas utilizadas: el color amarillento corresponde a leche de cabra; el color marrón a líquido ruminal y el color café oscuro es heces de cabras.

Método de tinción de Gram:

- Recogimos muestras de cada composición con el asa de platino.
- Hacemos el frotis sobre la lámina porta objeto.
- Dejamos secar a temperatura ambiente.
- Agregamos 2 ml del colorante de violeta de genciana y esperamos 1 minuto.
- Enjuagamos con agua.
- Agregamos 2 ml de colorante lugol por 1 minuto.
- Enjuagamos con agua.
- Agregamos alcohol acetona en forma rápida y enjuagamos con agua.
- Colocamos fucsina básica y esperamos 1 minuto.

- Observamos al microscopio óptico en 10(ocular) x100 (objetivo) con aceite de inmersión.
- Detectamos los *Lactobacillus* por su forma y tinción de color azulado. (figura 2)

Repiques:

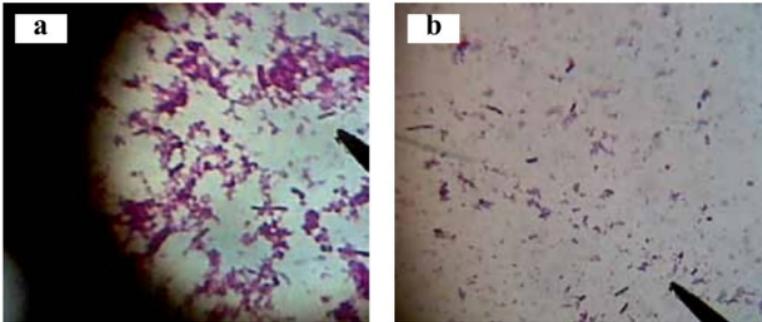


Figura 2. Observación de *Lactobacillus* con tinción de gram. (a) y (b) *Bacillus* gram positivos que se observan de color azulado

Se realizaron repiques con la combinación de líquido ruminal (5 ml.) con melaza (300 ml.) y leche en polvo (50 g.), manteniendo una constante producción de *Lactobacillus* sp. Cada cuatro días se realizaban los repiques para mantener las colonias de *Lactobacillus* en forma constante durante toda la prueba, porque después del cuarto día hay un exceso de colonias y tiende a disminuir la concentración de UFC por ml.

Análisis coproparasitarios:

Al inicio del proyecto se realizó un análisis coprológicos comprobándose la existencia de parásitos en todos los animales, por lo que se aplicó Ivermectina.

Aplicación en ganado caprino:

Se utilizaron 13 cabras, los mismos que fueron mantenidos en el Colegio Técnico Agropecuario Pablo Weber Cubillo en estado natural y en condiciones ambientales propias de la región, alimentándose de la vegetación nativa (no se dio alimento balanceado). Se conformó dos grupos de cabras considerando su peso:

- 1) A 7 cabras, se les aplicó el probiótico vía oral (durante 8 semanas), en dosis de 4 ml. en los adultos y de 1-2 ml. en cabritos recién nacidos
- 2) Los cabras restantes se los usó como testigos.
- 3) Se registró la fecha de aplicación del probiótico y el peso correspondiente de cada ejemplar.

RESULTADOS

1) Elaboración de probióticos

Se obtuvo una mayor multiplicación *Lactobacillus sp.*, en la fórmula de: líquido ruminal (5 ml.) con melaza (300 ml.) en las combinaciones de leche en polvo (50, 100 y 150 g.), en comparación con las fórmulas de heces y de leche de cabras recién extraída. La misma que fue comprobada con el método de tinción de Gram y observación al microscopio. Con esta mencionada fórmula logramos obtener probióticos elaborados artesanalmente para ser aplicados en la producción ganadera de caprinos. (figura 3).

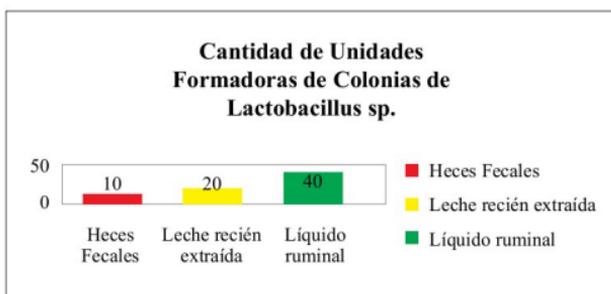


Figura 3. Cantidad de unidades formadoras de colonias de *Lactobacillus sp.* / campo, en las tres diferentes fuentes.

Repiques:

Con los repique se mantuvo una constante producción de *Lactobacillus* para la aplicación en los cabras durante el tiempo que duró la prueba.

2) Aplicación en ganado caprino:

Con la aplicación de estos *lactobacillus sp.* por vía oral, los ejemplares que los recibieron, tuvieron una buena ganancia de peso en comparación con los testigos pares, a los que en ningún momento se les dio los probióticos (figura 4). Cabe recalcar que todos los ejemplares recibieron los mismos cuidados médicos veterinarios, realizados por los estudiantes de quinto año de la facultad.

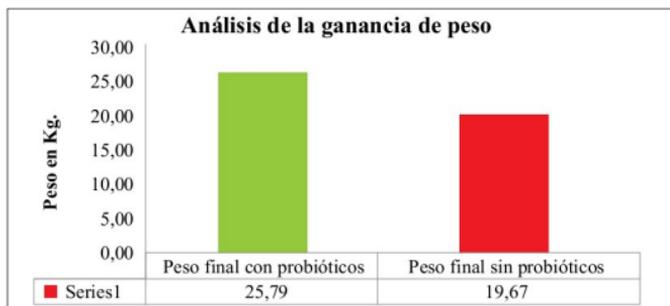


Figura 4. Ganancia de peso en parejas con y sin probióticos.

DISCUSIÓN

En el año 2010, investigadores de la Universidad del Litoral utilizaron los probióticos para el mejoramiento del crecimiento de los terneros, algo se realizó con ganado bovino, obteniendo ganancia de peso (MARTÍNEZ, 2011) en la presente investigación se obtuvo probióticos elaborados artesanalmente y al ser aplicados en los caprinos se comprobó una buena ganancia de peso en comparación a los caprinos de controles.

FREIRE y SAQUICELA(2010), realizaron la “**Elaboración de probióticos artesanales para el desarrollo de la ganadería del litoral ecuatoriano**”, con resultados positivos en la producción de *Lactobacillus*, lo que dio origen al trabajo de tesis realizado Martínez en el 2011. Con nuestra actual investigación pudimos elaborar probióticos para ganado caprino obteniendo además beneficios en ganancia de peso al ser aplicados en las cabras.

DÍAZ REYES, [et al], (2008), analizó el empleo de los *Lactobacillus* y *Bacillus* como probióticos en poligástricos. Se destaca el empleo de levaduras como activadores de la fermentación ruminal en terneros y otras categorías bovinos. En nuestro trabajo, la melaza es parte del medio de cultivo y al mismo tiempo en un activador de la fermentación ruminal.

Según CAJAS, [et al], (2013), entre las acciones emprendidas por la Unión Europea (UE) de la creación de la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) destaca la aprobación por el Concejo de Ministros de Agricultura de la UE-15, en su reunión del 22/7/2003, para la regularización del empleo de aditivos en la alimentación animal y la prohibición del uso de antibióticos como aditivos en los alimentos. Por tal razón el objetivo del presente trabajo, fue crear un probiótico artesanal, que permita obtener una ganancia de peso, y siguiendo

con las observaciones de la EFSA, se debe continuar durante siete años, con los estudios de evaluación de este nuevo aditivo zootécnico para determinar su eficacia y seguridad (ausencia de riesgos) respecto a la salud humana, animal y medio ambiente.

En el primer foro sobre ganadería lechera, de la zona alta de Veracruz (SILVA, 2010) se menciona que existe una población mundial de 720 millones de cabras (55,4% en Asia, 29,8% en África, 7,3% en Sur América, 4,4% en Europa, 3% en Norte y Centro América y 1% en Islas del Pacífico), en dicho foro promueven la elaboración de productos no tradicionales de la leche de cabra como helados y yogurt por ser alimentos lácteos de probada aceptación. Según la encuesta del Instituto Nacional Estadísticas y Censos (INEC, 2011), a nivel nacional, hay 112.331 cabezas de ganado caprino, mientras que en el año 2012, disminuyó la cifra a 108.714, las cuales están distribuidas en: región sierra 89.145; región costa 19.339; y región oriental 230. Siendo el Municipio de Zapotillo que produce la mayor cantidad de ganado caprino para la elaboración de quesos, yogurt, manjares y carne, estos productos son comercializados en Guayaquil, Quito, Riobamba y el vecino país del sur. En esta encuesta no se menciona la cantidad de animales de la provincia de Santa Elena. Con la existencia de estas estadísticas se debe dar importancia a estos tipos de proyectos, para respaldar a los ganaderos caprinos en lo que respecta a la producción y salud de sus animales.

Teniendo una gran extensión de zonas secas en las provincias como: Guayas, Santa Elena, Manabí, El Oro, Loja y otras, propicias para la cría del ganado caprino y proporcionando la tecnología apropiada para la obtención probióticos para su aplicación en la ganancia de peso, estaremos contribuyendo a la mejora de la economía del país, el mismo que en un futuro cercano debe mirar a la agro industria como su principal fuente de ingresos.

Hemos demostrado que podemos artesanalmente elaborar probióticos a bajo costo con resultados de ganancia de peso en los caprinos, pero es importante anotar que los microorganismos deben ser extraídos de la misma área de producción.

CONCLUSIONES

Mediante este proyecto, se pudo demostrar que es posible obtener probióticos en forma artesanal, para el uso en ganado caprino, lo que ayudaría a abaratar costos de producción, porque con la aplicación de esta técnica se puede alcanzar un mayor aumento de peso en las cabras. El líquido ruminal dio una mejor producción de *Lactobacillus* con respecto al uso de leche recién extraída o de heces de los animales del área en estudio.

La producción de probióticos artesanales es de menor costo en comparación con los que existen actualmente en el mercado y demostramos que el producto obtenido cumple satisfactoriamente lo propuesto.

BIBLIOGRAFÍA

- ARGENTINA. UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL. *Utilización de probióticos para mejorar el crecimiento de los terneros*. [en línea]. 2010. Argentina. [Fecha de consulta: 18 de enero de 2013]. Disponible en Web: <http://www.etsia.upm.es/fedma/capitulos/03cap_ix.pdf>
- CAJAS, G., E. GONZÁLEZ, FLORES, C. y E. ALBANELL. *Alternativas a los antibióticos de uso alimentario en rumiantes: Probióticos, enzimas y ácidos orgánicos*. [en línea] Universidad Autónoma de Barcelona. Departamento de Producción Animal. Universidad de León. España. 2013. [Fecha de consulta: 28 de agosto de 2013] Disponible en web: <http://www.engormix.com/MAGanaderia-carne/nutricion/articulos/alternativas-antibioticos-uso-alimentario-t4595/141-p0.htm>
- DÍAZ REYES, A.; M. LAURENCIO SILVA Y PÉREZ QUINTANA, M. *Los probióticos y su empleo en los rumiantes*. Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos. Facultad de Agronomía. Cuba. 2008, CP 44740.
- DIBNER, Julia y RICHARDS, Cumyn. 2005. *Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action*. *Poultry Sci.* 84:634
- ECUADOR. INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS Y CENSOS. Visualizador de Estadísticas Agropecuarias del Ecuador ESPAC. [Fecha de consulta: 28 de agosto de 2013] Disponible en web: <http://200.110.88.44/lcds-samples/testdrive-remoteobject/main.html#app=dbb7&9270-selectedIndex=1>
- FREIRE, Antonio y SAQUICELA, John. “*Elaboración de probióticos artesanales para el desarrollo de la ganadería del litoral ecuatoriano*”. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Guayaquil. 2010
- FULLER, Roy. *Los probióticos, prebióticos, simbióticos y ¿Que está realmente creciendo en su comida?* [en línea]. PRmod. 2012. [Fecha de consulta: 28 de enero de 2013] Disponible en Web: <<http://es.prmob.net/probiótico/roy-fuller/activia-1006520.html>>
- GÓMEZ, Gladys. 2006. *Los probióticos, una alternativa en el tratamiento de enfermedades*. [en línea]. Monografías. Disponible en Web: <<http://www.monografias.com/trabajos16/probioticos/probioticos.shtml>>
- GONZÁLEZ, Blanca, GÓMEZ, Marivel Y JIMÉNEZ, Zacarias. 2003. *Bacteriocinas de Probióticos*. Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición. Cuba. 4:2 Abril y Junio.
- GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, Ivanhoe. 1995. *Probióticos para el tratamiento de*

- Mastitis Bovina*. [en línea]. Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición. Cuba. Disponible en Web: <http://www.monografias.com/trabajos51/mastitis-bovina/mastitis-bovina.shtml>
- HAVENAAR, Robert y HUIS IN'T VELD, Bert. *Selection of strains for probiotic use.*, B. J. B. Amsterdam: Elsevier applied e hall. 1992. 209-224
- HAMER, Robert. *Tratamiento de Mastitis bovina con probióticos*. [en línea]. Actualvet 7.5. Culiacan Mexico. [Fecha de consulta: 20 de enero de 2013]. Disponible en web: <http://actualvet.blogspot.com/2010/08/tratamiento-de-mastitis-bovina-con.html>
- MARTÍNEZ, Galo. *Implantación de microorganismos ruminales de ganado Bos indicus (BRAHMAN), en terneros Bos taurus (HOLSTEIN), de 10 días a 6 meses de edad*. Tesis de Grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Guayaquil. 2011. 159 pg.
- OJEDA, F., CÁCERES, O., MONTEJO, I., MARTÍN, G.J. *Estudio de la acción del probiótico Sorbial en los indicadores nutricionales de hollejos de naranja conservados con diferentes materiales absorbentes Pastos y Forrajes* [en línea] 2008, 31 (Septiembre) : [Fecha de consulta: 28 de enero de 2013] Disponible en: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=269119697008>> ISSN 0864-0394
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, *Biología moderna de los alimentos, salud y desarrollo humano: estudio basado en evidencia*. [en línea]. 2005. [Fecha de consulta: 28 de enero de 2013]. Disponible en Web: <http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech/biotech_sp.pdf>
- SILVA HERNANDEZ. Eryck. [et al]. *Primer Foro sobre Ganadería Lechera de la zona alta de Veracruz*. Instituto de Ciencias Básicas y Facultad de Nutrición. Xalapa. Universidad Veracruzana. México. 2010. Fecha de consulta: 28 de agosto de 2013] Disponible en web: http://www.uv.mx/apps/agronomia/foro_lechero/Bienvenida_files/PRODUCTOSNOTRADICIONALESDELECHECABRA.pdf
- VAN EYS y DEN HARTOG, L. *International One Day Seminar: Role of Probiotics in animal nutrition and their link to the demands of Europeans consumers*. 2003