

Artículo de investigación tecnológica / <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v51n1.102721>

Estudio de un sistema microparticulado que contiene aceite de tomillo (*Thymus vulgaris*) y de su aplicación potencial como promotor de crecimiento en la producción de pollos de engorde

Sandra X. Ojeda¹, Gilda Bautista², María F. Acero¹, Jorge A. Martínez³, Germán E. Matiz¹, Marco E. Pachón², Yolima Baena^{1*}

¹Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia, Grupo de Investigación en Tecnología de Productos Naturales (Tecprona), Carrera 30 # 45-03, Bogotá D.C., (111311), Colombia. A. A. 14490.

²Universidad de Cundinamarca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Programa de Zootecnia, Grupo de investigación Bioguavio/Agroudec, Fusagasugá, Colombia.

³Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia, Grupo de investigación Aseguramiento de la Calidad, Carrera 30 # 45-03, Bogotá D.C., (111311), Colombia. A. A. 14490.

*Autor de correspondencia: ybaena@unal.edu.co

Recibido: 4 de junio de 2021

Revisado: 25 de julio de 2021

Aceptado: 29 de julio de 2021

RESUMEN

Introducción: es conocida la actividad del aceite esencial de tomillo como promotor de crecimiento en pollos de engorde, pero su aplicación directa en producción se dificulta debido a su inestabilidad asociada a su alta volatilización. **Objetivo:** desarrollar un microencapsulado que incluya al aceite esencial de tomillo y se evalúe su desempeño en campo. **Metodología:** la técnica empleada para la microencapsulación fue la de secado por aspersión, utilizando como biopolímeros goma arábica (GA), maltodextrina (M) o almidón de ñame succinatado (AÑS). Se establecieron las condiciones de emulsificación (paso previo a la microencapsulación), así como las condiciones para la obtención de las micropartículas, mediante la aplicación de un diseño estadístico experimental (DEE). Adicionalmente, se caracterizó la morfología, estabilidad, comportamiento de liberación y desempeño en campo de la formulación obtenida bajo las condiciones definidas. **Resultados:** se seleccionaron las matrices de los biopolímeros GA/M y GA/M/AÑS que conformaron el material de

recubrimiento de las micropartículas. La eficiencia de encapsulación fue de 87,5 %, su tamaño de partícula de 74,5 μm , su índice de dispersión de 2,4 y tuvo un rendimiento de 48,5%. El ensayo de estabilidad demostró que la cubierta polimérica ejerce cierta protección a la pérdida del aceite esencial. Los estudios de liberación evidenciaron la modulación de la liberación del activo. El estudio en campo demostró que el sistema microparticulado presenta un comportamiento estadísticamente similar al producto comercial que sirvió de comparador. **Conclusión:** este microencapsulado podría ser empleado como promotor de crecimiento en la producción de pollos de engorde.

Palabras clave: Promotores de crecimiento, microencapsulación, aceite de tomillo, pollos de engorde.

SUMMARY

Study of a microparticulate system containing thyme oil (*Thymus vulgaris*) and its potential application as a growth promoter in broiler production

Introduction: The biological activity of the thyme essential oil is known to work as growth promoter on broilers, but its direct applicability on production is difficult due to its instability associated to its volatilization. **Aim:** To develop a microencapsulated thyme essential oil and its performance in diets for broiler chickens. **Methodology:** The technique used for the microencapsulation was the spray drying process, using the Gum Arabic (GA), Maltodextrin (M) or Starch Yam succinate (SYS) as biopolymers. The emulsification conditions (previous step to the microencapsulation) and the conditions to obtain the microparticles were established, through the implementation of a statistical experimental design (SED) The formulation obtained under defined conditions is additionally characterized in terms of morphology, stability, release behavior and field performance. **Results:** The biopolymer matrixes GA/M and GA/M/SYS were selected for the covering material of the microparticles. The encapsulation efficacy was 87.5 %, its particle size was 74.5 μm , the dispersity index 2.4 and a yield of 48,5%. The stability test proved that polymeric cover exerts some protection to the loss of the essential oil. The release studies demonstrated the release modulation of the active ingredient. The field study proved that the microparticulate system presents a statistical behavior like the commercial product used as comparator. **Conclusion:** This approach suggests that

this microencapsulation method could be used as a growth promoter in the production of broiler chickens.

Keywords: Growth promoters, Microencapsulation, Thyme oil, Broiler chickens.

RESUMO

Estudo de um sistema microparticulado contendo óleo de tomilho (*Thymus vulgaris*) e sua potencial aplicação como promotor de crescimento na produção de frangos de corte

Introdução: a atividade do óleo essencial de tomilho como promotor de crescimento em frangos de corte é conhecida, mas sua aplicação direta na produção é difícil devido à sua instabilidade associada à sua alta volatilização. **Objetivo:** desenvolver um microencapsulado que inclua óleo essencial de tomilho e avaliar seu desempenho em campo. **Metodologia:** a técnica utilizada para microencapsulação foi a secagem por *spray dryer*, utilizando como biopolímeros goma arábica (GA), maltodextrina (M) ou amido succinato de inhame (ASI). As condições de emulsificação (etapa anterior à microencapsulação) foram estabelecidas, bem como as condições de obtenção das micropartículas, através da aplicação de um desenho estatístico experimental (DEE). Adicionalmente, foram caracterizados a morfologia, estabilidade, comportamento de liberação e desempenho em campo da formulação obtida nas condições definidas. **Resultados:** foram selecionadas as matrizes biopoliméricas GA/M e GA/M/AÑS que formaram o material de revestimento das micropartículas. A eficiência de encapsulamento foi de 87,5 %, seu tamanho de partícula foi de 74,5 µm, seu índice de dispersão foi de 2,4 e teve um rendimento de 48,5%. O teste de estabilidade mostrou que a cobertura polimérica exerce alguma proteção contra a perda de óleo essencial. Os estudos de liberação evidenciaram a modulação da liberação do princípio ativo. O estudo de campo mostrou que o sistema microparticulado apresenta comportamento estatisticamente semelhante ao produto comercial que serviu de comparador. **Conclusão:** este microencapsulado pode ser utilizado como promotor de crescimento na produção de frangos de corte.

Palavras-chave: Promotores de crescimento, microencapsulação, óleo de tomilho, frangos de corte.

INTRODUCCIÓN

La industria avícola es un sector de gran importancia en el país y en el mundo, gracias al cual disponemos de alimentos que son incluidos con alta frecuencia y proporción en nuestra nutrición, como la carne y los huevos de pollo. Desde 1950, la industria avícola ha utilizado aditivos promotores de crecimiento (APC), principalmente antibióticos, en la alimentación de pollos de engorde con el fin de incrementar la productividad y competitividad, dado que estos productos mejoran el estatus fisiológico y nutricional del ave [1-2]. Sin embargo, los países altamente regulados han prohibido o restringido su uso procurando reducir los riesgos de resistencia a los antibióticos [3, 4], la Organización Mundial de la Salud (OMS) apoyó esta posición [5], por lo que es necesario la buscar alternativas a los APC.

El aceite esencial de tomillo, proveniente de la especie *Thymus vulgaris*, es conocido por sus propiedades antimicrobianas [6], antifúngicas [7], antioxidantes, antiinflamatorias, entre otras; ha sido estudiado y propuesto como una interesante opción de APC para aves de corral [8]. No obstante, por su alta volatilidad, estas propiedades no pueden ser aprovechadas en todo su potencial si el estado del aceite esencial es natural [9]. La microencapsulación surge como una posibilidad de protección de dicho aceite ya que, a su vez, permite modular su liberación para ejercer el efecto deseado.

La microencapsulación es el proceso con el cual se rodea un componente o mezcla de componentes, que podría ser un ingrediente activo, con una pared (generalmente conformada por polímeros) y se obtienen partículas de aproximadamente 3 μm hasta 800 μm [10]. Se pueden microencapsular diferentes materiales biológicamente activos como enzimas, microorganismos, fármacos e ingredientes naturales, para protegerlos contra condiciones medioambientales, controlar su liberación, entre otros [11, 12]. Existen diferentes técnicas para microencapsular y, en algunos casos, nanoencapsular un activo, que se agrupan en métodos físicos, químicos y fisicoquímicos. Entre los físicos se destaca el secado por aspersión; la polimerización interfacial e inclusión molecular son ejemplo de los químicos; y la coacervación, la formación de liposomas y la gelificación iónica, de los fisicoquímicos [13].

El secado por aspersión, técnica empleada en este estudio, es un proceso en el que la fase líquida (emulsión, suspensión o solución) se ve forzada a formar gotas mediante un atomizador o una boquilla de pulverización. El equipo funciona utilizando una corriente de gas a presión a determinada temperatura, que arrastra por vacío la fase líquida a través de la boquilla de apertura fina (generalmente 1,5 mm), la cual integra también el gas comprimido expulsando el líquido en forma de gotitas, que son secadas instantáneamente en una cámara (cilindro) que se encuentra sobre los 100 °C. Poste-

riormente, las microcápsulas formadas son llevadas por el flujo del sistema hacia un ciclón en el cual se separan del aire y caen hacia un recipiente recolector [14].

El secado por aspersión elimina rápidamente el agua por vaporización de emulsiones de aceite en agua (O/W) que permite una alta retención de compuestos volátiles [15] y protege los compuestos microencapsulados contra la reacción con el ambiente [16]. En comparación con otros métodos, el secado por aspersión proporciona una eficiencia de encapsulación relativamente alta. La mayor eficiencia de encapsulación que se alcanza con el secado por aspersión se encuentra entre 96 y 100 %, valores superiores en comparación con otros métodos [17].

Se pueden emplear polímeros de origen natural como material de pared de las micro-partículas [18]. Algunos de los empleados son gomas, maltodextrina, carboximetilcelulosa, almidón, gelatina, quitosano, entre otros [17, 19]. Los materiales seleccionados deben ser de grado alimenticio, pues los pollos de engorde están destinados al consumo humano. Por lo tanto, se seleccionó como material de pared el almidón de ñame modificado con anhídrido octenil succínico (aprobado en el *Codex Alimentarius*), el cual se propuso en combinación con maltodextrina y goma arábiga, también empleados para este tipo de productos.

Las exigencias del mercado y de las regulaciones fomentan la investigación de alternativas a los productos existentes y de uso tradicional por los productores. En el caso de los antibióticos que han sido ampliamente utilizados como promotores de crecimiento en producción avícola, hoy se reconoce el potencial riesgo de esta práctica para la salud humana, como agravante se pronostica el crecimiento de la producción y consumo de la carne avícola a nivel mundial en los próximos años. Según informe de la FAO, la producción de carne de ave estuvo en 115,19 millones de toneladas en 2016 y se espera que llegue a 131,25 en 2025 [20]. Lo anterior denota la importancia de disponer de alternativas que apoyen la producción de aves de corral que no representen riesgos de salud pública. Por esta razón, partiendo de los estudios que se han realizado acerca del efecto de los aceites esenciales como promotores de crecimiento [8, 21-23], componentes que están respaldados como seguros por la Agencia de Drogas y Alimentos de Estados Unidos (FDA) y, además, tienen gran aceptación por la población en general debido a su origen natural y familiaridad en el uso tradicional, por ello, se buscó llegar a un producto que pudiera ser empleado por los productores avícolas.

El objetivo de este estudio fue desarrollar un microencapsulado que incluya al aceite esencial de tomillo como ingrediente natural activo, mediante la técnica de secado por aspersión utilizando como material de recubrimiento una mezcla de biopolímeros, con el propósito de disminuir la volatilización de sus componentes y controlar la liberación

del activo, para su empleo como promotor de crecimiento en la producción de pollos de engorde.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Obtención de los microencapsulados

Aceite esencial de tomillo (Green Andina, Lote: ATMGAC 1804-37, FV: 27/04/2019, Colombia). Goma arábica en polvo (grado farmacéutico, Ciacomeq S.A.S., Lote: PT16-2017, Colombia). Maltodextrina (grado farmacéutico, Ciacomeq S.A.S., Lote: M1628201, Colombia). Almidón de ñame modificado (lipofilizado con octenil sucínico). Reactivo OSA (grado alimenticio, Sigma-Aldrich®, EU, Lote: MKBJ5610V). Agua destilada.

Reactivos y demás material requerido para el estudio

Acetato de etilo (grado HPLC, PanReact AppliChem, Lote: 0000833239, Alemania). Alcohol etílico 96% (grado farmacéutico, Ciacomeq S.A.S., Colombia). Hipoclorito, HCl, AgNO₃ 0,1 N, polisorbato 40, acetato de sodio, tubos de membrana de acetato de celulosa con tamaño de poro de 12KDa (Sigma). Agua filtrada calidad HPLC (Milli-Q®, Millipore), búfer de acetato de sodio.

Ensayo en producción de pollos

Pollos de la raza Ross 308 AP, cascarilla de arroz, pienso sin promotor de crecimiento, alimento comercial con promotor de crecimiento, agua potable.

Equipos

Ultraturrax T18, IKA, Alemania. Estufa universal, UN 55, Memmert GmbH + Co. KG, Alemania. DV-E Viscometer, Modelo RVDVE, Brookfield Engineering, EU. Mini Spray Dryer Buchi B-290, con Inert Loop B-295 integrado, Suiza. Generador de nitrógeno, Proton on Site Nitrogen N341M. Ultrasonido, Cole-Parmer®, 90 Watts, 47 kHz ± 6%, EU. Ultracentrifuga, Megafuge 16 Thermo®, EU. Espectrofotómetro Shimadzu IRPrestige-21/ATR, Japón. Cromatógrafo de gases Thermo®, TRACE 1300 Mainframe MS, conectado a un ISQ QD espectrofotómetro de masas simple cuadrupolo y a un auto-muestreador AL1310 (Thermo Fischer), Massachusetts, EU, en modo de inyección líquida. Masterizer® 3000, Malvern Panalytical, UK. Microscopio electrónico de barrido Fei Quanta 200. Potenciómetro Hanna HI 2221, EU. Cámara climatizada Memmert® HPP750, Alemania. UV-Vis 1800, Shimadzu, Japón. Balanza analítica Ohaus® serie Pio-

neer PA214, EU. Plancha de agitación multipunto IKA® modelo RO 10 PS1 Werke, Alemania, báscula, nevera, termómetro, Soxhlet.

Obtención del microencapsulado

La obtención de las micropartículas se llevó a cabo mediante el proceso de secado por aspersión, que se describirá más adelante. Para ello fue necesario proveer una emulsión (que fue lo que se atomizó en el equipo) cuya fase oleosa se compone del aceite esencial a encapsular (aceite de tomillo) y la fase acuosa formada por una dispersión del polímero (o mezcla de polímeros) que constituyó la matriz de recubrimiento. Los polímeros evaluados fueron la maltodextrina (M), la goma acacia (GA) y el almidón de ñame succinatado (AÑS). A continuación, se presentan las fases previas requeridas para llegar a la obtención del aceite de tomillo microencapsulado.

Obtención, modificación y caracterización del almidón de ñame

El almidón de ñame (*Dioscorea rotundata*, var. espino) en su estado nativo se extrajo de tubérculos adquiridos en la plaza de mercado del municipio de Sabanalarga, departamento del Atlántico, Colombia, (10° 37 latitud norte y 74° 55 longitud oeste), a 41 km de la ciudad de Barranquilla vía Cordialidad. Se partió con 10 kg de material vegetal fresco, entero, con adecuado aspecto y madurez apto para consumo humano. Para la obtención del almidón nativo se siguió el método convencional de rallado y precipitación [24], se dejó en remojo durante 12 horas con solución de hipoclorito de sodio, posteriormente, fue licuado y el jugo obtenido se filtró empleando una tela con el propósito de retirar las fibras de celulosa. El filtrado se decantó y el sedimento se lavó con agua destilada varias veces; se filtró al vacío verificando la ausencia de cloruros con solución de AgNO₃ 0,1 N. El almidón obtenido se dejó secar a 50 °C durante 24 h, luego se empacó en bolsas plásticas herméticas para su posterior hidrólisis y lipofilización (succinación), lo que se realizó por triplicado, esto dió lugar a tres lotes diferentes del almidón modificado.

La hidrólisis se llevó a cabo siguiendo la metodología propuesta por Zambrano y Marúa con ciertas modificaciones [25, 26]. Se preparó una dispersión de 250 g del almidón nativo de ñame en 625 mL de agua destilada con agitación constante. Seguidamente se adicionó ácido clorhídrico en cantidad suficiente para obtener una concentración del 3% continuando la agitación por 24 h. Con el fin de neutralizar el sistema, se adicionó NaOH al 10% según la relación estequiométrica durante la agitación; se decantó, se lavó, se filtró al vacío y se dejó secar a 50 °C por 24 h. Finalmente, el almidón hidrolizado seco se almacenó en bolsas plásticas de sellado hermético.

La lipofilización del almidón se llevó a cabo con anhídrido octenil succínico (OSA) según el método de Chi con modificaciones [27]. Se pesaron 239 g del almidón hidrolizado y se suspendió en 597,5 mL de agua destilada con agitación magnética constante. Se ajustó el pH hasta 8,5 durante media hora empleando solución de NaOH al 3%. Se adicionaron 60 g de OSA disuelto en etanol. Se mantuvo el pH entre 8,5 y 9,0 con la misma solución de NaOH al 3% durante las 2 h de la reacción. Posteriormente, el pH de la solución se ajustó con HCl al valor de 7. Al sedimento obtenido se le hicieron lavados con agua destilada, se filtró al vacío y se secó en horno a 45 °C durante 24 h. Posteriormente, el almidón modificado se sometió a lavados con 300 mL de etanol al 96% en un equipo Soxhlet, haciendo 10 recirculaciones con el propósito de garantizar la remoción total del anhídrido octenil succínico libre. Finalmente, el almidón modificado se secó a 45 °C durante 48 h.

Determinación del grado de sustitución (GS)

Se determinó mediante titulación ácido-base, a los tres lotes de almidón modificado. Indica el número promedio de grupos hidroxilos sustituidos por mol de anhidroglucosa (AG) [28]. Se dispersaron 2 g de almidón lipofilizado en 40 mL de agua destilada. Se sometió a calentamiento hasta ebullición y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se adicionaron tres gotas de fenolftaleína al 1 % como indicador y se tituló con NaOH 0,01 N hasta coloración rosa leve. El GS se calculó mediante la ecuación 1:

$$DS = \frac{0,162 \times (C \times V) / W}{1 - [0,210 \times (C \times V) / W]} \quad (1)$$

Dónde:

C = normalidad de la solución de NaOH utilizado durante la titulación.

V = volumen (mL) consumido de la solución de NaOH.

W = peso (g) de la muestra analizada.

162 es el peso molecular de la unidad de glucosa.

210 es el peso molecular del OSA.

Caracterización por espectroscopía infrarroja

El AÑ y el AÑS se caracterizaron mediante espectroscopia infrarroja (infrarrojo, Shimadzu IRPrestige-21), en un rango de longitud de onda entre 4000 y 500 cm^{-1} , las mediciones fueron realizadas con el aditamento ATR, siguiendo la metodología descrita por la USP 42 [29].

Caracterización del aceite esencial de tomillo

La composición del aceite esencial de tomillo se analizó mediante la técnica instrumental de cromatografía de gases acoplada a detector de masas con impacto electrónico (GC-MS/EI), siguiendo la metodología de Fernandes *et al.* [30] con algunas modificaciones. Todos los análisis fueron llevados a cabo en un equipo Thermo Scientific™ Trace™ 1300, conectado a un ISQ QD espectrofotómetro de masas simple cuadrupolo y a un auto-muestreador AL1310 (Thermo Fischer, Massachusetts, EE.UU.) en modo de inyección líquida, bajo las siguientes condiciones: como muestra se tomaron 20 μL de aceite esencial que se disolvieron en 480 μL de acetato de etilo. De esta solución se inyectaron 2 μL en modo split 20:1 a una temperatura de 220 °C. Se empleó una columna capilar de polydimethylsiloxane, 5 % phenyl, 30 m \times 0,25 mm ID con un espesor fase estacionaria de 0,25 μm de Thermo (Massachusetts, EE.UU.), empleando helio como gas de arrastre ($\geq 99,99\%$ de pureza). El horno fue trabajado con gradiente de temperatura iniciando a 40 °C por un minuto, con una rampa de 4 °C por minuto hasta 180 °C, seguido de un incremento de 30 °C por minuto hasta alcanzar los 250 °C para un tiempo total de corrida de 38,3 min. El espectrofotómetro de masas fue trabajado en rango de escaneo de m/z 50-600 u.m.a. en modo de impacto electrónico y una energía de ionización de 70 eV. La temperatura de la línea de transferencia fue de 280 °C y la de la fuente de ionización de 230 °C.

La evaluación de los datos fue llevada a cabo mediante el *software* Chromeleon® 7-Chromatography versión 7.2.2.6394. La identificación de los componentes del aceite esencial se determinó por comparación entre los espectros de masas obtenidos de las muestras y los reportados en la librería NIST-2007 del programa.

Preparación de las emulsiones

Mediante ensayos preliminares se determinaron las condiciones de emulsificación para formar una emulsión con estabilidad aceptable y apropiada para llevar a cabo el proceso de microencapsulación. Esto comprendía la selección del agente o mezcla de agentes que conformarían la matriz biopolimérica GA, M o AÑS, la relación de las fases oleosa y acuosa, la velocidad y el tiempo de homogenización. A partir de las composiciones de las matrices definidas se evaluaron distintas relaciones de fases oleosa/acuosa tales como 1:4, 1:5 y 1:6. La velocidad de homogenización se probó entre 10 000-15 000 rpm y el tiempo entre 15 y 30 min. Los biopolímeros se dispersaron previamente en agua durante 12 h, a fin de asegurar su dispersión o hinchamiento, con contenidos totales de sólidos del 20 %. Para la matriz GA/M se definió una proporción 50:50 de cada dispersión y para la matriz GA/M/AÑS se definieron proporciones equivalentes de cada material (1/3: 1/3: 1/3).

Se prepararon las emulsiones de aceite esencial de tomillo con la matriz de recubrimiento seleccionada mediante un proceso convencional en caliente para emulsiones Pickering. Se siguió la técnica propuesta por Song *et al.* y Chevalier and Bolzinger [31, 32], que consiste en iniciar con la suspensión del sólido que cumplirá el papel de estabilizante de la emulsión en la fase acuosa, por lo cual se dispersó el almidón succinatado en agua, permitiendo su hidratación durante 12 h a 50 °C. Una vez disperso, el aceite esencial de tomillo se fue adicionando a la dispersión anterior, homogenizando con el equipo de dispersión Ultraturrax T18, IKA, bajo las condiciones establecidas en los ensayos preliminares.

Caracterización de las emulsiones

Para el éxito de la microencapsulación fue necesario asegurar una estabilidad idónea de las emulsiones, por lo cual se evaluó la viscosidad y apariencia. La viscosidad de la emulsión debía estar en un rango entre 100-300 cp para ser bombeable por el equipo de secado por atomización. Este parámetro se midió por triplicado a 100 g de la emulsión, utilizando un viscosímetro Brookfield modelo RVDV-E a 50 rpm, empleando la aguja 2 y a 18 ± 2 °C. Asimismo, se observó el aspecto visual de la emulsión a temperatura ambiente y de refrigeración en un lapso de 7 días, considerando la presencia o ausencia de separación de fases.

Elaboración de las micropartículas

La obtención de las micropartículas se llevó a cabo mediante el proceso de secado por atomización en un equipo Mini Spray Dryer Buchi B-290, con Inert Loop B-295 integrado, equipado con un generador de nitrógeno (Proton on Site Nitrogen N341M) que provee una atmósfera inerte durante el secado, para reducir la oxidación del aceite esencial, siguiendo la metodología de Kusonwiriawong [33]. La emulsión fue bombeada peristálticamente en el equipo y pasó a través de una boquilla (1,5 mm de diámetro interno), donde se atomizó en forma de finas gotas. Las condiciones de trabajo fueron: temperatura de inyección: 137-138 °C, flujo de nitrógeno: 414 L/h, tasa de aspiración de aproximadamente: 32 m³/h y velocidad de alimentación de aproximadamente: 3 mL/min.

Las condiciones de obtención y composición de los microencapsulados se definieron mediante un diseño estadístico experimental (DEE) fraccionado 2⁵, cuyas variables de ensayo fueron: tipo de matriz polimérica, temperatura de inyección, flujo de nitrógeno, flujo de alimentación y flujo de aspiración; mientras que las variables respuesta fueron: rendimiento, eficiencia de encapsulación, tamaño de partícula e índice de dispersión. Se realizaron ensayos previos con el propósito de encontrar las condiciones de partida para el DEE, evidenciando, por ejemplo, que la temperatura de inyección no podía

estar por debajo de 138 °C ya que no permitía el secado total del solvente. Finalmente, se establecieron las condiciones del DEE como se describe en las tablas 1 y 2.

Tabla 1. Variables de ensayo y niveles del diseño estadístico experimental.

Variable de ensayo a evaluar	Nivel bajo (-)	Nivel alto (+)
A: matriz polimérica	GA/M	GA/M/AÑS
B: flujo de nitrógeno	414 l/h	601 l/h
C: flujo de aspiración	32 m ³ /h	38 m ³ /h
D: flujo de alimentación	3 ml/min	6 ml/min
E: temperatura de inyección	138 °C	142 °c

GA: goma arábica, M: maltodextrina y AÑS: almidón de ñame succinado.

Tabla 2. Experimentos del diseño estadístico experimental fraccionado 2⁵.

Factores experimento	Matriz polimérica (A)	Flujo de nitrógeno (B)	Flujo aspiración (C)	Flujo alimentación (D)	Temperatura inyección (E)
1	-	-	-	+	+
2	-	-	+	-	+
3	-	+	-	+	-
4	-	+	+	-	-
5	+	-	-	-	+
6	+	-	+	+	+
7	+	+	-	-	-
8	+	+	+	+	-

(-) Nivel bajo; (+) nivel alto

Caracterización de las microcápsulas: variables respuesta del DEE

Los microencapsulados se caracterizaron mediante pruebas que permitieron evaluar las propiedades de mayor interés para el objetivo propuesto. Se evaluaron el rendimiento del proceso, la eficiencia de encapsulación, el tamaño de partícula y el índice de poli-dispersidad.

Rendimiento del proceso

Se calculó el rendimiento del proceso llevado a cabo por secado por aspersión de acuerdo con la ecuación 2:

$$\text{Rendimiento} = \frac{[\text{Peso microcápsulas obtenidas}]}{\text{Peso componentes emulsificados}} \times 100 \quad (2)$$

Donde el peso de los componentes emulsificados corresponde a la masa de los biopolímeros y el aceite esencial adicionado en la emulsión sin tener en cuenta la masa de agua utilizada para preparar la dispersión de sólidos [30].

Eficiencia de encapsulación

Para determinar la eficiencia de la encapsulación se realizó una extracción por ultrasonido (Ultrasonido, Cole-Parmer®) a muestras de 1 g de microencapsulados, exactamente pesadas, durante una hora en 5,0 mL de acetato de etilo, luego se centrifugaron por 10 minutos a 8000 rpm (Ultracentrifuga, Megafuge 16 Thermo®), posteriormente, se filtraron y completaron a volumen en balones aforados de 5,0 mL. Para su análisis, se preparó una dilución tomando 40 µL del filtrado y llevándolo a 1,0 mL en acetato de etilo; esta muestra se analizó mediante GC-MS/EI, según la metodología reportada previamente en la identificación del aceite esencial de tomillo.

Se realizó una semicuantificación siguiendo el método de estándar externo de único punto y normalización de áreas [34], preparando dilución del aceite esencial puro como estándar de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente. La eficiencia de la encapsulación (EE por sus siglas en inglés, *Encapsulation Efficiency*) se calculó de acuerdo con la ecuación 3, mientras que la eficiencia de carga (LC por sus siglas en inglés, *Loading Capacity*) con la ecuación 4 [35].

$$\% \text{ EE} = \frac{\text{Aceite total experimental en el microencapsulado}}{\text{Aceite total teórico en el microencapsulado}} \times 100 \quad (3)$$

$$\% \text{ LC} = \frac{[\text{Aceite total experimental en el microencapsulado} - \text{aceite superficial}]}{\text{Aceite total teórico en el microencapsulado}} \times 100 \quad (4)$$

Contenido de aceite superficial

Para la determinación del aceite superficial se tomaron muestras exactamente pesadas de 500 mg de microcápsulas, las cuales se lavaron 5 veces con 1 mL de acetato de etilo, se filtraron y recuperaron para llevar a volumen de 5,0 mL [30]. Para su análisis, se preparó una dilución tomando 40 µL del filtrado y llevándolo a 1,0 mL en acetato de etilo; esta muestra se analizó mediante cromatografía de gases acoplada a detector de masas, de igual forma que lo reportado previamente.

Tamaño de partícula e índice de dispersión

Para la determinación del tamaño de partícula de las microcápsulas obtenidas se empleó un equipo de dispersión de rayo láser Masterizer® 3000, Malvern Panalytical, equipado con una unidad de dispersión de muestra húmeda, con un índice de refracción de 1,0 y precisión de $\pm 1\%$, empleando agua como medio de transporte a 20 °C.

Las micropartículas se suspendieron en agua y se sometieron a la dispersión de luz empleando un láser de helio-neón a 633 nm y un ángulo de 173° utilizando una celda de alta concentración ZEN 1010. Se realizaron tres mediciones por muestra, en el mismo tiempo, con el fin de evitar el hinchamiento de los polímeros.

El índice de dispersión (Span) que indica la distribución del tamaño de las micropartículas y se calculó mediante la ecuación 5:

$$span = \frac{Dv90 - Dv10}{Dv50} \quad (5)$$

Donde:

Dv90= tamaño de partícula que poseen el 90% de las partículas.

Dv10= tamaño de partícula que poseen el 10% de las partículas.

Dv50= el tamaño del 50% de las partículas.

Análisis estadístico realizado a las variables cuantitativas derivadas del DEE

Se realizó un análisis de efectos principales y su significancia estadística ($p > 0,05$) a partir de los resultados de las variables respuesta evaluadas, con el fin de encontrar la influencia de las variables de ensayo. De esta manera se definieron las condiciones de operación para la obtención del microencapsulado.

Evaluaciones realizadas a la formulación elaborada bajo las condiciones seleccionadas

A la formulación obtenida bajo las condiciones establecidas se le realizó una caracterización organoléptica y morfológica, un estudio de estabilidad, su comportamiento de liberación y se llevó a cabo su evaluación como posible promotor de crecimiento en un estudio de campo empleando pollos de engorde.

Caracterización organoléptica

Para definir las características organolépticas de las microcápsulas se determinaron los parámetros: color y aspecto mediante determinación visual, por observación directa de las muestras y se evaluó el olor.

Morfología

Se identificó la morfología mediante microscopía electrónica de barrido en un equipo Fei Quanta 200. Las superficies de las microcápsulas fueron recubiertas con oro a un grosor de aproximadamente 20 nm utilizando un sistema combinado de recubrimiento por *sputter* y por evaporación de carbón, Quorum Technologies Q150R ES.

Estudio de estabilidad

Se evaluaron 3 lotes del microencapsulado elaborados bajo las condiciones definidas, incluidos en viales de vidrio inerte con cierre hermético, que fueron colocados en una cabina de estabilidad (Cámara climatizada Memmert® HPP750) a temperatura de 30 °C y 75 % de humedad relativa. Se realizaron muestreos en los siguientes tiempos: 0 h, 24 h, 72 h, 7 días y 20 días. Cada muestra fue procesada según la metodología descrita para el ensayo de eficiencia de encapsulación y se analizó mediante cromatografía de gases acoplada a detector de masas (Thermo®, Trace 1300 Mainframe MS), siguiendo lo planteado para la identificación del aceite esencial de tomillo, mediante semi-cuantificación por el método de estándar externo de único punto y normalización de áreas.

Evaluación del comportamiento de liberación

Se emplearon dos métodos, uno basado en la pérdida de peso en función del tiempo a una temperatura específica y el otro fue un ensayo empleando un medio de disolución, en el que se cuantificó el aceite de tomillo liberado en función del tiempo.

Evaluación basada en la pérdida de peso

Se siguió una metodología similar a la realizada en un trabajo previo [36]. Se pesaron aproximadamente 2,5 g de los microencapsulados por triplicado, los cuales se llevaron a una temperatura de 37 °C durante 3 h (Estufa universal, UN 55, Memmert GmbH + Co. KG), muestreando a los tiempos 0, 20, 40, 60, 90, 120 y 180 minutos. Se determinó el peso a cada tiempo evaluado y se calculó la diferencia del peso encontrado respecto al tiempo cero. Este valor corresponde a lo liberado de aceite de tomillo. Con los resultados se determinó la cinética de liberación, considerando el mejor ajuste al modelo, empleando las ecuaciones que se presentan en la tabla 3.

Tabla 3. Ecuaciones correspondientes a los modelos cinéticos de liberación.

Modelo	Ecuación	Características
Orden cero	$Q_t = Q_0 + k_0 t$	La liberación se da en función del tiempo a una velocidad constante, independiente de la concentración del activo.
Orden uno	$\ln Q_t = \ln Q_0 - k_1 t$	La cantidad liberada es proporcional a la cantidad de activo que permanece en el sistema matricial; por ello tiende a disminuir en función del tiempo.
Higuchi	$Q_t = k_H t^{1/2}$	La liberación es directamente proporcional a la raíz cuadrada del tiempo.
Korsmeyer-Peppas	$\frac{M_t}{M_\infty} = k_{kp} t^n$	Dependiendo del valor de n es posible establecer el mecanismo de liberación (para una esfera): Difusión fickiano: $n = 0,43$ Transporte anómalo: $0,43 < n < 0,85$ Orden cero: $n = 1,0$ Transporte tipo II: $n > 0,85$

Evaluación basada en la cuantificación del aceite esencial de tomillo en un medio de disolución

Se dispersaron 3,2 g de las micropartículas en 3 mL en un medio que contenía buffer de acetato de sodio a pH 5,0 y polisorbato 40 al 0,03 %. Esta dispersión se introdujo en una bolsa de diálisis (membrana de acetato de celulosa con tamaño de poro de 12 kDa (Sigma)) que se sumergió en un vaso de precipitados que contenía 100 mL del medio de liberación, manteniendo la temperatura a 37 °C. El muestreo se hizo durante 3 h, tomando alícuotas de 5 mL en el medio receptor a los mismos tiempos evaluados en el ensayo anterior: 0, 20, 40, 60, 90, 120 y 180 minutos. Las condiciones establecidas buscaron simular las condiciones digestivas del pollo [37, 38]. Para la cuantificación del aceite esencial de tomillo se realizó una curva de calibración, siguiendo una metodología analítica por UV a 274,2 nm (UV-Vis 1800, Shimadzu) y en ella se interpolaron los resultados obtenidos. Como blanco se emplearon las microcápsulas vacías, a las que se les aplicó el mismo procedimiento empleado para las microcápsulas con el aceite de tomillo. Se evaluó el modelo cinético a que mejor se ajustaban los datos, de manera similar a lo explicado previamente y considerando las ecuaciones de la tabla 3. El montaje del ensayo se muestra en la figura 1.



Figura 1. Fotografía del montaje del ensayo de liberación empleando bolsa de diálisis.

Evaluación del desempeño del microencapsulado de aceite esencial de tomillo en la producción de pollos de engorde

El estudio se realizó siguiendo una metodología similar a la reportada por [39-41], en el municipio de Fusagasugá, Cundinamarca, vereda Usatama, el cual cuenta con las siguientes características agroclimatológicas: ubicado entre los 1550 a los 3050 m s.n.m, temperatura promedio 20 °C y humedad relativa media: 85 %. Se evaluaron un número total de 45 pollos de la raza Ross 308 AP, empleando un diseño experimental aleatorizado, distribuidos en tres tratamientos que consistían en 5 repeticiones con 3 aves por repetición, para un total de 15 pollos por tratamiento. El tratamiento 1 correspondió al grupo control (dieta basal), a los pollos se les dio el pienso sin incluir ningún promotor de crecimiento; el tratamiento 2, correspondió al pienso al que se le adicionaron 32 mg del microencapsulado que contenía el aceite de tomillo, considerando estudios recomendados por la literatura científica [42, 43] y el porcentaje de encapsulación encontrado para el producto desarrollado; y el tratamiento 3 era el alimento comercial que contenía el promotor de crecimiento (control positivo). Los pollos (machos) de un día de edad se criaron hasta los 42 días y fueron alimentados con una dieta de iniciación (del día 1 al 21) y una de crecimiento (del día 22 al 42). Todas las aves se mantuvieron en condiciones similares de manejo durante todo el período experimental. Se proporcionó alimento y agua para consumo *ad libitum*. Durante los 42 días del estudio se determinó el peso y la ingesta de cada uno de los individuos. A partir de esta información se determinaron la ganancia de peso (GDP), el consumo de alimento acumulado (CAA) y la conversión alimenticia (CA). La mortalidad se registró diariamente para corregir los datos de conversión alimenticia.

La GDP se obtuvo por la diferencia entre los pesos iniciales y pesos finales. El CAA se calculó semanalmente a partir del peso del alimento sobrante de los comederos de cada tratamiento. Al peso del alimento inicial suministrado se le restó el peso final del alimento restante en comederos y a partir de eso se calculó el promedio acumulado semanal.

La CA se calculó mediante la ecuación 6 al cierre de cada semana.

$$CA = \frac{\text{Consumo total de alimento por tratamiento}}{\text{Peso total de los pollos por tratamiento}} \quad (6)$$

Los resultados de la distribución de peso del pollo fueron graficados en función del tiempo, incluyendo todas las réplicas para observar la variabilidad entre tratamientos. Basado en los resultados se estableció un análisis estadístico para los datos de la GDP correspondientes al último tiempo de estudio de los 3 tratamientos, aplicando la ecuación 7:

$$\text{Delta} = \text{Peso final (Día 42)} - \text{Peso inicial (Día 1)} \quad (7)$$

Con estos resultados, se estableció la significancia del modelo, se realizó un Anova de una vía con una significancia del 5 %, previamente, se demostró la normalidad y homocedasticidad del modelo mediante las pruebas de Shapiro y Breush-Pagan, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Obtención y caracterización de los almidones de ñame nativo y lipofilizado

El rendimiento del proceso de extracción del almidón de ñame nativo fue de aproximadamente 20 %, siguiendo la metodología descrita. El material obtenido fue de color blanco grisáceo, libre de material extraño, olor y textura parecida a la del almidón de maíz y mantuvo estas características organolépticas luego de su modificación como se muestra en la figura 2.



Figura 2. Aspecto del almidón de ñame succinatado.

Determinación del grado de sustitución (GS) en el almidón lipofilizado

Se realizó esta prueba para verificar la reacción de sustitución por parte del anhídrido octenil succínico. Los resultados se presentan en la tabla 4, cuyos valores están conforme a lo encontrado en estudios previos [25].

Tabla 4. Porcentajes de sustitución de los lotes de almidón lipofilizado con reactivo anhídrido octenil succínico.

Lote almidón de ñame modificado	Porcentaje de sustitución
1	0,35
2	0,42
3	0,35

Análisis por espectroscopia infrarroja (IR)

La modificación del almidón de ñame se confirmó mediante IR, comparando las diferencias entre los espectros del almidón nativo con el modificado, corroborando las interacciones entre el grupo OH de la glucosa y el grupo carboxilo del anhídrido tal como se presenta en la figura 3.

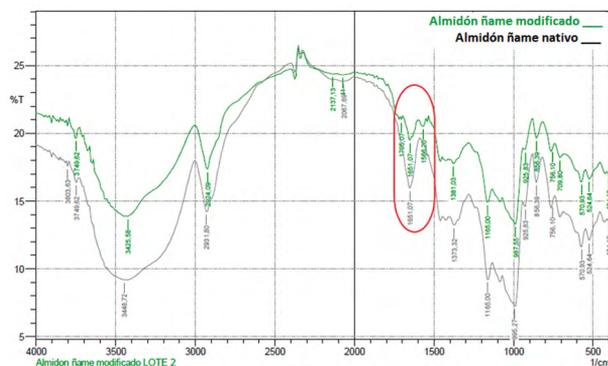


Figura 3. Espectro infrarrojo del almidón de ñame nativo y del almidón modificado (succinatado).

En el espectro infrarrojo se observa la señal característica del almidón modificado, que corresponde a la vibración del grupo carbonilo (C=O) en la región de 1705,07 cm⁻¹ perteneciente al carboxilo de la cabeza que queda libre del anhídrido succínico y que estaría ausente en el almidón nativo [44-47], así como la vibración del grupo (O-C=O) en la región de 1566,20 cm⁻¹, resultado similar a lo encontrado por Matiz [25].

Caracterización del aceite esencial de tomillo

Para efectos de control de calidad (y para la posterior cuantificación del aceite retenido en las microcápsulas) se realizó el análisis de cromatografía GC-MS/EI al aceite esencial de tomillo, que permitió identificar 24 componentes. El perfil de composición se presenta en la tabla 5, en el que se identifica como componente principal al d-limoneno, por lo cual fue seleccionado como marcador analítico. La figura 4 muestra el cromatograma correspondiente.

Tabla 5. Perfil de composición del aceite esencial de tomillo obtenido mediante cromatografía de gases con detector de masas.

#pico	Nombre compuesto	Proporción (%)
1	Triciclono	0,10
2	α -pineno	1,99
3	Canfeno	0,48
4	Sabineno	0,52
5	Pineno	0,19
6	β -pineno	1,71
7	3-careno	0,07
8	p-cimeno	15,30
9	D-limoneno	45,65
10	p-mentha-1,4(8)-diene	0,15
11	β -linalool	2,51
12	exo-Fenchol	0,07
13	Trans-p-mentha-2,8-dienol	0,07
14	Canfor	0,57
15	iso- β -terpineol	2,80
16	Isoborneol	1,56
17	Endo-borneol	3,01
18	2-isopropenyl-5-methylhex-4-enal	0,02
19	Terpinen-4-ol	0,15
20	α -terpineol	3,20
21	γ -terpineol	0,96
22	Timol	18,27
23	Cariofileno	0,39
24	Eremofileno	0,07

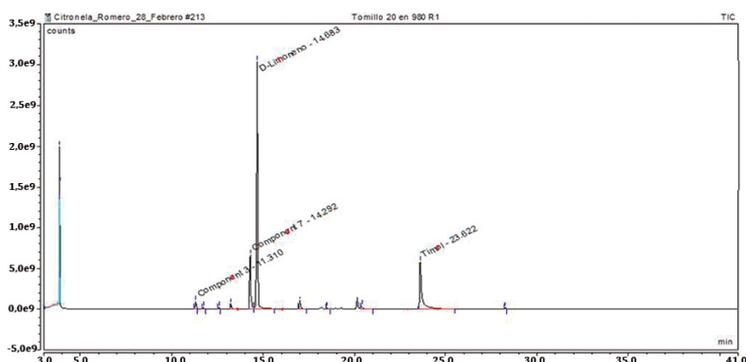


Figura 4. Cromatograma obtenido mediante GC/MS con impacto electrónico del análisis del aceite esencial de tomillo (20 μ L/980 μ L).

De acuerdo con estos resultados, la composición química identificada corresponde a un quimiotipo de *Thymus Vulgaris*, que hasta la fecha no ha sido reportado, al cual nombraremos quimiotipo D-limoneno, ya que es el monoterpeno dominante en este aceite esencial. Los diferentes quimiotipos de aceite esencial de tomillo se presentan dependiendo del suelo, del clima, de la época y tiempo de recolección, entre otros aspectos que inciden en la existencia de estos polimorfismos químicos [48]. Los quimiotipos más comunes que se han identificado previamente corresponden a geraniol, α -terpineol, tujanol-4, linalol, carvacrol, timol, 1,8-cineol [49-51], borneol, hidrato de sabineno y ciclocitral/verbenol [52].

Condiciones de preparación y caracterización de las emulsiones

Las condiciones de emulsificación determinadas se describen en la tabla 6. Los dos tipos de matriz definidos, GA/M y GA/M/AÑS, permitieron la emulsificación del aceite. La relación de fases oleosa/acuosa que emulsificó fue 1:6. La velocidad de homogenización adecuada fue de 13 000 rpm y el tiempo entre 15 y 20 min. La viscosidad de ambas emulsiones se encontraba muy por debajo del límite máximo permitido (300 Cp) para la alimentación en el equipo de secado por aspersión.

Tabla 6. Resultados de los ensayos que permitieron definir las condiciones de emulsificación.

Relación AET:matriz	Matriz de recubrimiento	Velocidad de homogenización (rpm)	Tiempo de homogenización (min)	Viscosidad (Cp)	Resultado
1:4	GA:M (50:50)	15 000	30	No medido	Separación de fases. No emulsificó.

Relación AET:matriz	Matriz de recubrimiento	Velocidad de homogenización (rpm)	Tiempo de homogenización (min)	Viscosidad (Cp)	Resultado
1:5	GA:M (50:50)	15 000	20	No medido	Separación de fases. No emulsificó.
1:6	GA:M (50:50)	13 000	20	200	Una sola fase. Emulsificó
1:6	GA:M:AÑS (1/3:1/3:1/3)	13 000	15	112,5	Una sola fase. Emulsificó

GA: goma arábica, M: maltodextrina, AÑS: almidón de ñame succinatado, AET: aceite esencial tomillo.

El aspecto visual observado de los sistemas en los que se obtuvo una emulsión fue adecuado, sin evidenciar separación de fases durante 24 h ni gotículas de aceite sin emulsificar. No obstante, al cabo de 7 días sí se evidenció la separación de fases durante el almacenamiento, a temperatura ambiente y de refrigeración, esto fue más evidente en la medida que transcurría más tiempo (resultados no mostrados). Cabe anotar que con la agitación mecánica se logró dispersar nuevamente las fases separadas. La elevada concentración de los biopolímeros lograda en los sistemas que emulsificaron con relación al aceite esencial de tomillo (relación 1:6) es una ventaja importante porque es uno de los factores que contribuyen a tener eficiencias de encapsulación más altas, debido a la mayor número de interacciones intermoleculares que se presentan entre los biopolímeros y el aceite esencial, de acuerdo con lo reportado por otros autores [53].

Microencapsulación y caracterización

De acuerdo con lo planteado en la metodología, aplicando el DEE 2³, se obtuvieron los resultados de las variables respuesta que se presentan en la tabla 7.

Tabla 7. Resultados de las variables respuesta asociadas al diseño estadístico experimental.

Exp.	Variables de ensayo o factores					Variables respuesta			
	Matriz (A)	Flujo de nitrógeno (B) (L/h)	Flujo de aspiración (C) (m ³ /h)	Flujo de alimentación (D) (ml/min)	Temp. de inyección (E)	Rend. (%)	EE (%)	DV90 (µm)	Span
1	GA/M	414	32	6	142	3,70	34,6	40,6	10,5
2	GA/M	414	38	3	142	5,40	34,2	36,7	9,1

Exp.	Variables de ensayo o factores					Variables respuesta			
	Matriz (A)	Flujo de nitrógeno (B) (L/h)	Flujo de aspiración (C) (m ³ /h)	Flujo de alimentación (D) (ml/min)	Temp. de inyección (E)	Rend. (%)	EE (%)	DV90 (µm)	Span
3	GA/M	601	32	6	138	4,15	45,7	47,7	13,1
4	GA/M	601	38	3	138	6,56	46,2	46,3	12,3
5	GA/M/AÑS	414	32	3	142	34,5	87,1	52,0	1,6
6	GA/M/AÑS	414	38	6	142	23,5	69,7	52,9	1,4
7	GA/M/AÑS	601	32	3	138	31,8	87,5	74,5	2,4
8	GA/M/AÑS	601	38	6	138	28,7	86,7	56,0	1,8

GA: goma arábica, M: maltodextrina, AÑS: almidón de ñame succinado, TEMP: temperatura, REND: rendimiento, EE: eficiencia de encapsulación, DV90: tamaño de partícula, Span: índice de dispersión.

El análisis estadístico realizado demostró que la variable de ensayo que tiene una influencia estadística significativa con un $p < 0,05$, es el tipo de matriz polimérica. Las demás variables de ensayo no tienen una influencia estadísticamente significativa en las variables respuesta, como se muestra en la figura 5.

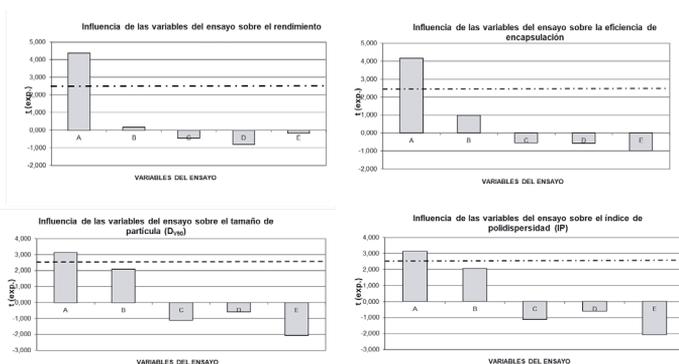


Figura 5. Diagramas de Pareto en los que se relaciona las variables del ensayo sobre cada una de las cuatro variables respuesta. A: matriz polimérica; B: flujo de nitrógeno; C: flujo de aspiración; D: flujo de alimentación y E: temperatura de inyección.

De esta manera, considerando el efecto deseado para cada variable respuesta, de acuerdo con el tipo de producto a desarrollar (tabla 8) y su significancia estadística (figura 5), se eligieron las condiciones señaladas por el DEE para la variable de ensayo A. Las demás no presentaron un efecto estadísticamente significativo, el nivel elegido dependió del efecto deseado. Así, la variable A quedó definida en su nivel superior que corresponde a la matriz GA/M/AÑS. La variable B cuando está en su nivel superior favorece el aumento del rendimiento (se busca que sea el más alto posible), la eficiencia de encapsulación (el interés es que sea alta) y el tamaño de partícula (que sea lo más grande posible). Las variables C y D, si están en un nivel inferior, favorecen el aumento de las variables-respuesta mencionadas. En cuanto a la variable E, se eligió en su valor inferior considerando que favorece el efecto deseado para tres de las cuatro variables respuesta. Este mismo criterio, de favorecer el mayor número de variables respuesta de acuerdo con el efecto deseado se consideró para el resto de las variables del ensayo.

Tabla 8. Resumen de la significancia estadística de cada variable de ensayo y del efecto deseado para cada variable respuesta.

Variable respuesta	Efecto deseado	A	B	C	D	E
Rendimiento	↑	+	No	No	No	No
Eficiencia de encapsulación	↑	+	No	No	No	No
Tamaño de partícula DV90	↑	+	No	No	No	No
Índice de dispersión	↓	+	No	No	No	No

↑: aumento de la variable; ↓: disminución de la variable; No: la variable de ensayo no tiene efecto estadísticamente significativo sobre la variable respuesta; +: la variable de ensayo tiene efecto estadísticamente significativo sobre la variable respuesta.

A partir del análisis estadístico se establecieron como condiciones de la formulación y del proceso las siguientes: matriz del microencapsulado G/M/AÑS (nivel +), flujo de nitrógeno 601 L/h (nivel +), flujo de aspiración 32 m³/h (nivel -), flujo de alimentación 3 mL/min (nivel -) y temperatura de inyección 138 °C (nivel -) que coincidieron con las del experimento 7 del DEE.

Los resultados correspondientes a las propiedades evaluadas para la formulación 7 muestran un rendimiento adecuado, una alta eficiencia de encapsulación, un tamaño de partícula grande y un índice de dispersión no tan alto. De acuerdo con lo discutido previamente, este comportamiento era el deseado. La alta eficiencia de encapsulación lograda (87,5%), refleja una muy buena interacción de los biopolímeros, dentro de los que se destaca al AÑS, que al incorporar una larga cadena hidrocarbonada en su estructura lo hace más lipofílico, haciendo posible que el aceite quede incluido en la micropartícula en una mayor proporción, al tener una naturaleza química similar entre ellos [54]. Porcentajes menores de encapsulación, señalados entre paréntesis, se encontraron con otro tipo de aceites y para diferentes condiciones de emulsificación y secado por aspersión, empleando como material de pared: a la GA-M (79 %) [15], GA-M (45,45 %) [18], valor que mejoraba si en vez de GA se incluía un almidón modificado lipofilizado (60,22 %) [18], GA (36,34 %) [30] y GA-M (75,5 %) [55]. Estos resultados son variados y dependen de la composición del tipo de aceite que se quiera encapsular, algunos resultados pueden ser parecidos [15] y [55] y otros muy diferentes [18], a pesar de emplear los mismos materiales de pared. De manera similar a la tendencia encontrada en el presente estudio, la inclusión de un almidón modificado lipofilizado mejora el porcentaje de encapsulación, lo que confirma la importancia de las interacciones intermoleculares entre el aceite a encapsular y él o los biopolímero(s) que haga(n) parte del material de la microcápsula.

Evaluaciones realizadas a la formulación elaborada bajo las condiciones seleccionadas

A continuación, se presentan los ensayos realizados a las micropartículas obtenidas bajo las condiciones definidas previamente, de acuerdo con lo planteado en la metodología.

Caracterización organoléptica y morfología

Los microencapsulados elaborados bajo las condiciones seleccionadas fueron de color blanco, textura de polvo suelto y olor característico a aceite de tomillo. En la figura 6 se pueden observar las imágenes tomadas mediante microscopía electrónica de barrido, en la que se define una morfología ovoide tendiente a esférica, como es lo esperado para la obtención de micropartículas por secado por aspersión [54]. Se evidencia la presencia de aceite en su interior.

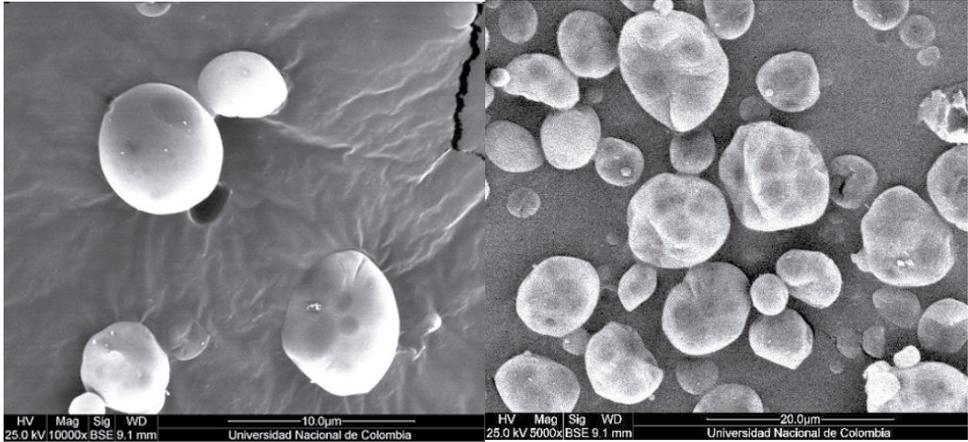


Figura 6. Aspecto de las micropartículas que contienen aceite esencial de tomillo visualizadas por microscopía electrónica de barrido.

Estudio de estabilidad

En la figura 7 se presentan los resultados de la variación de la concentración de D-limoneno, en los sistemas microparticulados en función del tiempo para los tres lotes evaluados.

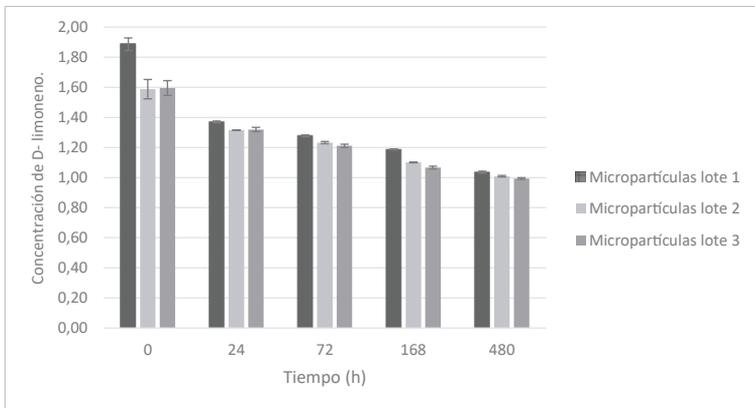


Figura 7. Resultados de la variación de la concentración de D-limoneno incluido en las micropartículas, en función del tiempo.

De acuerdo con los resultados del estudio, se estableció que el máximo porcentaje en el que se disminuyó la concentración fue de 45,1 %, que corresponde a lo ocurrido en el día 20 con el lote 3. Para los lotes 1 y 2, estos valores fueron de 36,5 % y 37,7 %, respectivamente. Los resultados mostraron que en los cromatogramas se mantiene la señal de los componentes principales del aceite esencial de tomillo y aparecen algunas otras señales posiblemente relacionadas con productos de degradación (en muy bajas proporciones), que no fueron identificadas (resultados no mostrados). La disminución en la concentración podría atribuirse a la degradación de los compuestos presentes en el aceite, aunque se presume que esto ocurrió en baja proporción de acuerdo con lo descrito anteriormente, mientras una gran parte del aceite esencial de tomillo posiblemente se volatilizó.

En la literatura científica se evidencian comportamientos similares con compuestos volátiles microencapsulados, que al incluirlos dentro de un sistema reservorio, hace que las paredes sólidas que se forman debida a los biopolímeros aumenten su estabilidad, regulando la liberación del aceite esencial y por lo tanto reduciendo la evaporación [55].

Evaluación del comportamiento de liberación

De acuerdo con lo planteado en la metodología se realizaron dos tipos de ensayos: uno basado en la pérdida de peso y el otro mediante cuantificación del aceite de tomillo empleando un medio de disolución.

Evaluación basada en la pérdida de peso

Este ensayo es una manera sencilla y de algún modo preliminar de mostrar que la liberación del aceite de tomillo se va dando paulatinamente en función del tiempo. Como se observa en la gráfica de la figura 8, se alcanza un máximo de pérdida de peso, que corresponde al aceite de tomillo volatilizado, de alrededor de 25 % en un lapso de 3 h, lo que indicaría que la pared de la microcápsula sí está ejerciendo una protección a la volatilización o en otras palabras sí se está dando una modulación de la liberación. Desde lo planteado existen dos miradas para analizar lo sucedido: una desde la óptica de la estabilidad física y la protección que está brindando el sistema al aceite de tomillo incluido en él, disminuyendo su velocidad de volatilización a pesar de que el microencapsulado se está sometiendo a 37 °C de temperatura (simulando una temperatura fisiológica) y sin envase alguno; y la otra mirada es desde su comportamiento de liberación, que como se mencionó se está presentando un control de este parámetro, que se refleja en la pérdida del 25 %; si no hubiera una modulación de la liberación se podría estar evidenciando un 100 % de pérdida de peso en un lapso de 30 min.

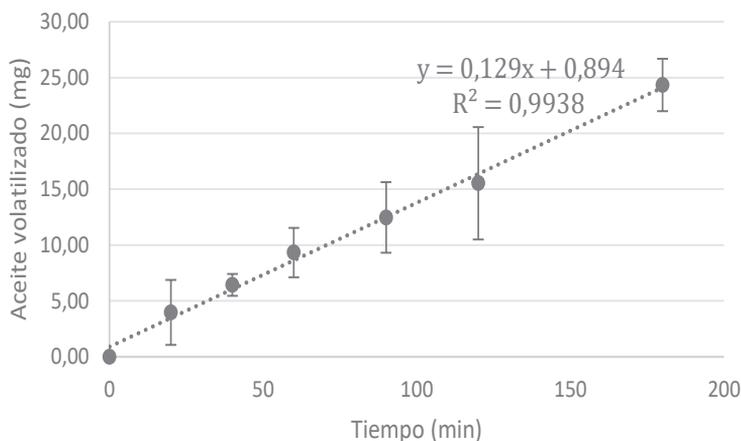


Figura 8. Comportamiento de la pérdida de peso de los sistemas (aceite volatilizado) en función del tiempo.

Los datos presentan un ajuste lineal, reflejando una cinética de orden cero con un R^2 de 0,9938 y una constante de velocidad de liberación de 0,129 mg/min. No se evaluaron los modelos de Higuchi y Korsmeyer-Peppas, debido al bajo porcentaje liberado. Estos parámetros son propios del sistema desarrollado y demuestran que la liberación se está dando independientemente de la cantidad de aceite esencial que vaya quedando dentro de la micropartícula, en otras palabras, que el control en la pérdida que se está dando depende de la barrera propia del sistema reservorio.

Evaluación basada en la cuantificación del aceite de tomillo en un medio de disolución

El comportamiento de la liberación del aceite de tomillo a partir del sistema microparticulado se muestra en la figura 9. A diferencia del estudio por pérdida de peso, en este caso las partículas entran en contacto con un medio de disolución, simulando las condiciones fisiológicas del ave, por lo que se alcanza cerca del 100% de aceite de tomillo liberado durante el tiempo de estudio.

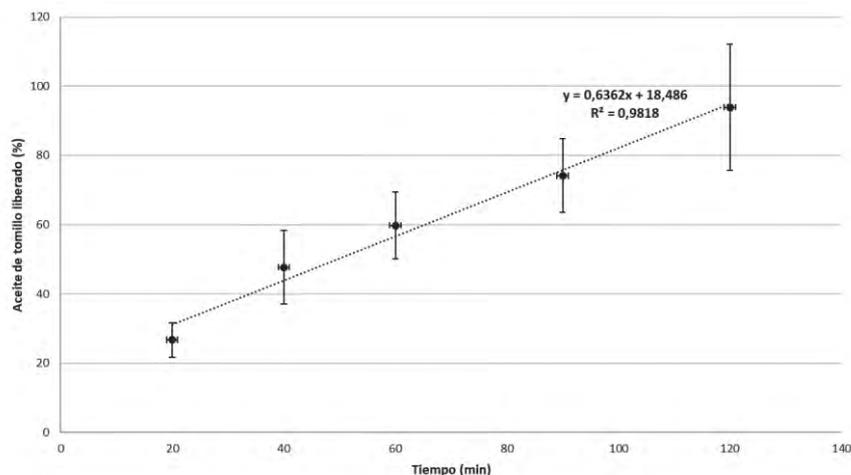


Figura 9. Comportamiento de la liberación del aceite de tomillo a partir de las micropartículas en función del tiempo.

En la tabla 9 se muestran los parámetros derivados de evaluar el ajuste a los modelos cinéticos señalados en la metodología. Para cada modelo cinético se presenta su coeficiente de determinación y la constante de velocidad de liberación correspondiente. Los mejores ajustes se dan con los modelos de Higuchi y Korsmeyer-Peppas. Esto implica que la difusión es uno de los mecanismos importantes que gobiernan el proceso de liberación. El valor del exponente n del modelo de Korsmeyer-Peppas, revela que la liberación se está dando de manera anómala, es decir, una combinación de difusión e hinchamiento [56]

Tabla 9. Parámetros calculados para el sistema microparticulado que contiene el aceite de tomillo, para cada modelo de liberación evaluado.

Modelo	Orden cero		Orden 1		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
	R ²	K ₀	R ²	K	R ²	k _H	R ²	k _{KP}	n
Micropartículas	0,981	0,636	0,900	0,012	0,993	9,964	0,991	0,036	0,678

Estos resultados muestran una modulación en la liberación durante las 3 h del estudio, lo que lleva a sugerir que el producto podría comportarse adecuadamente *in vivo*.

Evaluación del desempeño del microencapsulado de aceite de tomillo en la producción de pollos de engorde

La distribución de peso en función del tiempo, de todos los resultados experimentales se presentan en la figura 10, en la que se observa que los tres tratamientos tienen una distribución de datos similar, destacándose una mayor variabilidad en los datos del tratamiento 3. Se observa que el crecimiento de los pollos a lo largo de tiempo se ajusta a un modelo exponencial y existe una mayor variabilidad en los pesos de los últimos días.

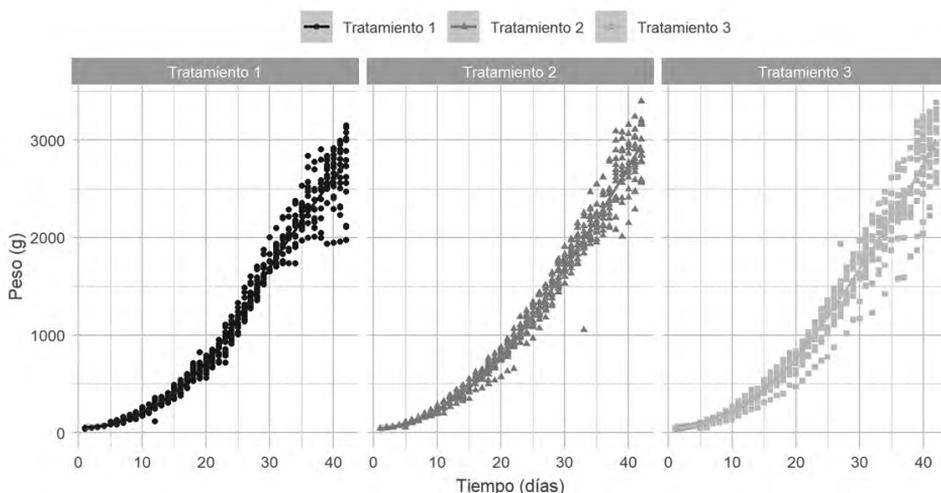


Figura 10. Distribución de peso de los pollos en función del tiempo para cada tratamiento.

Para evidenciar si estas diferencias son estadísticamente significativas se realizó un análisis de varianza (Anova) de la GDP al tiempo 42, de acuerdo con lo planteado en la metodología. Se encuentra que los tratamientos 2 y 3 son estadísticamente diferentes con el tratamiento 1, mientras los tratamientos 2 y 3 son similares estadísticamente entre ellos. Al existir una diferencia con el tratamiento 1, que es el grupo al que no se le administró promotor de crecimiento, se demuestra que tanto el producto en estudio (tratamiento 2) como el producto comercial (tratamiento 3) influyen en el aumento de peso del pollo, por lo que se estaría evidenciando la actividad del microencapsulado con aceite de tomillo como promotor de crecimiento. Adicionalmente, en las tablas 10 y 11 se presentan los resultados de la CA y del CAA.

Tabla 10. Resultados de conversión alimenticia.

	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
T1	0,78	0,87	1,08	1,13	1,45	1,49
T2	0,88	1,04	1,10	1,16	1,44	1,52
T3	0,86	1,28	1,21	1,37	1,44	1,42

Tabla 11. Resultados de consumo de alimento acumulado

CA	T1	T2	T3
Semana 1	1490	1230	3445
Semana 2	4632	5959	7225
Semana 3	5773	14 432	14 784
Semana 4	24 476	17 353	20 611
Semana 5	29 145	15 648	18 498
Semana 6	27 497	17 737	25 801
Consumo total	93 013	72 359	90 364
Consumo por pollo (g)	6201	4824	6024
Consumo por pollo (kg)	6,20	4,82	6,02

Como era de esperarse para la CA este valor tiende a aumentar en función del tiempo, y se presenta un comportamiento diferente de la semana 2 a la 4 para el tratamiento 2, tiempo durante el cual la CA es mayor en comparación con los otros dos tratamientos. Respecto al CAA, los resultados muestran un menor valor para el tratamiento 2, es decir hubo un menor consumo de alimento, sin embargo, en la figura 10 se evidenció que el comportamiento del peso a lo largo del tiempo fue similar a los tratamientos 1 y 3. Estos resultados sugieren que los pollos del tratamiento 2 presentan un mayor aprovechamiento de los nutrientes. Se ha reportado que el tomillo tiene beneficios en la producción de aves de corral [57-59] lo cual es de esperarse dado la actividad antimicrobiana de este que hace que se disminuyan la pérdida de nutrientes por la presencia de microorganismos, modificando la flora intestinal como lo han reportado algunos autores [42].

CONCLUSIONES

El desarrollo de este estudio permitió definir una formulación para la obtención de micropartículas que incluyeron al aceite de tomillo como ingrediente natural activo, adecuada para el consumo en producción de pollos de engorde, demostrando su com-

portamiento como promotor de crecimiento estadísticamente similar al presentado por el producto comercial.

Esta formulación se diseñó partiendo de biopolímeros aptos para el consumo por parte de los pollos, que fueran capaces de emulsificar al aceite para su posterior atomización, logrando así obtener micropartículas por la técnica de secado por aspersión bajo condiciones previamente definidas de acuerdo con el DEE propuesto. Se evidenció la protección física que le proporcionó la cubierta polimérica para disminuir la volatilización del aceite de tomillo y el control de la liberación conferido al sistema, que permitió que el producto pudiera ejercer su acción como promotor de crecimiento, bajo las condiciones estudiadas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al proyecto *Desarrollo de un producto microencapsulado a base de aceite esencial de tomillo con posible aplicación en producción avícola* (Código Hermes: 39 804) financiado por la Alianza entre la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá y la Universidad de Cundinamarca, que permitió la realización de esta investigación.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores manifiestan no tener conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. P.R. Moore, A. Evenson, T.D. Luckey, E. McCoy, C.A. Elvehjem, E.B. Hart, Use of sulfasuxidine, streptothricin, and streptomycin in nutritional studies with the chick, *J. Biol. Chem.*, **165** (2), 437-441 (1946).
2. G.D. Rosen, Antibacterials in poultry and pig nutrition, en: R.J. Wallace, A. Chesson (editores), *Biotechnology in Animal feeds and Animal Feeding*, VCH, Weinheim, 1995, pp. 143-172.
3. R.C. Briz, *Retirada de los antibióticos promotores del crecimiento en la Unión Europea: Causas y consecuencias*, URL: https://www.researchgate.net/profile/Ricardo-Cepero/publication/267787390_RETIRADA_DE_LOS_ANTIBIOTICOS_PROMOTORES_DE_CRECIMIENTO

EN_LA_UNION_EUROPEA_CAUSAS_Y_CONSECUENCIAS/
links/54b3c16a0cf26833efcecd06/RETIRADA-DE-LOS-ANTIBIOTICOS-
PROMOTORES-DE-CRECIMIENTO-EN-LA-UNION-EUROPEA-
CAUSAS-Y-CONSECUENCIAS.pdf, consultado en abril de 2021.

4. H. Wegener, Use of antimicrobial growth promoters in food animals: the risks outweigh the benefits. In: D. Barug, J. de Jong, A.K. Kies, M.W.A. Verstegen (editores), *Antimicrobial growth promoters. Where do we go from here?*, Wageningen Academic Publishers, Netherlands, 2006, pp. 53-58.
5. Organización Mundial de la Salud (OMS), *Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos*, (2016), URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255204/9789243509761-spa.pdf?sequence=1>, consultado en abril de 2021.
6. A. Sokmen, M. Gulluce, H.A. Akpulat, D. Daferera, B. Tepe, M. Polissiou, M. Sokmen, F. Sahin, The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*, *Food Control*, **15**(8), 627-634 (2004).
7. M. Viuda, Y. Ruiz, J. Fernández, J. Pérez, Antifungal activities of thyme, clove and oregano essential oils, *J. Food Saf.*, **27**, 91-101 (2006).
8. S. Popović, N. Puvaca, L. Kostadinović, N. Dzinić, J. Bosnjak, M. Vasiljević, O. Djuragic, Effects of dietary essential oils on productive performance, blood lipid profile, enzyme activity and immunological response of broiler chickens, *Eur. Poult. Sci.*, **80**, 1-12 (2016).
9. C.L. del Toro-Sánchez, J.F. Ayala-Zavala, L. Machi, H. Santacruz, M.A. Villegas-Ochoa, E. Alvarez-Parrilla, G.A. González-Aguilar, Controlled release of antifungal volatiles of thyme essential oil from β -cyclodextrin capsules, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **67**(3), 431-441 (2010).
10. N.V.N. Jyothi, P.M. Prasanna, S.N. Sakarkar, K.S. Prabha, P.S. Ramaiah, G.Y. Srawan, Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency, *J. Microencapsul.*, **27**(3), 187-197 (2010).
11. E.N. Reyna, G.M. Álvarez, A. Hernández, J.L. Martínez, Microencapsulación de componentes bioactivos, *Investigación y Ciencia, Univiversidad Autónoma de Aguascalientes*, **64**, 11-18, 2015.

12. R. Dubey, T.C. Shami, K.U.B. Rao, Microencapsulation technology and applications, *Def. Sci. J.*, **59**, 82-95 (2009).
13. M.M.J. Villena, M.M.E. Hernández, G.V. Lara, R.M.A. Martínez, Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular, *Ars Pharm.*, **50**, 43-50 (2009).
14. A. Trojanowska, A. Nogalska, R.G. Valls, M. Giamberini, B. Tylkowski, Technological solutions for encapsulation, *Phys. Sci. Rev.*, **2**, 1-20 (2017).
15. A.Z.M. Badee, E.A. El-Kader, H.M. Aly, Microencapsulation of peppermint oil by spray drying, *Australian J. Basic Appl. Sci.*, **6**(12), 499-504 (2012).
16. A. Gharsallaoui, G. Roudaut, O. Chambin, A. Voilley, R. Saurel, Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview, *Food Res. Int.*, **40**, 1107-1121 (2007).
17. O.D. López-Hernández, M. Gómez-Carril, Preparación de microesferas mediante secado por aspersión, *Rev. Cubana Farm.*, **42**, 1-8 (2018).
18. R.V.D.B. Fernandes, S.V. Borges, D.A. Botrel, Gum arabic/starch/maltodextrin/inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil, *Carbohydr. Polym.*, **101**, 524-532 (2014).
19. J.E. Camacho-Kurmen, M.I. Gómez, L.F. Villamizar, Selección de un sistema de atomización para la formación de micropartículas de Eudragit® S100 en lecho fluido, *Nova*, **8**(13), 87-100 (2010).
20. Avicultura.com, *un gran futuro para la carne de pollo según la FAO*, 2016, URL: <https://avicultura.com/un-gran-futuro-para-la-carne-de-pollo-segun-la-fao/>, consultado en abril de 2021.
21. I. Giannenas, P. Florou-Paneri, M. Papazahariadou, E. Christaki, N.A. Botso-glou, A B. Spais, Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeria tenella*, *Arch. Anim. Nutr.*, **57**, 99-106 (2003).
22. K.W. Lee, H. Everts, H.J. Kappert, M. Frehner, R. Losa, A.C. Beynen, Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens, *Br. Poult. Sci.*, **44**, 450-457 (2003).
23. A. Brenes, E. Roura, Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action, *Anim. Feed Sci. Technol.*, **158**, 1-14 (2010).

24. J. Aristizábal, T. Sanchez, Características del almidón de yuca, en: D. Mejía (editor), *Guía técnica para producción y análisis de almidón de yuca*, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Roma, 2007, pp. 33-40.
25. G. Matiz, K. Fuentes, G. León, Microencapsulación de aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) en matrices poliméricas de almidón de ñame (*Dioscorea rotundata*) modificado, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **44**, 189-207 (2015).
26. F. Zambrano, C. Camargo, Otimização das condições de hidrólise ácida de amido de mandioca para obtenção de substituto de gordura, *Braz. J. Food Technol.*, **4**, 147-154 (2001).
27. H. Chi, K. Xu, D. Xue, C. Song, W. Zhang, P. Wang, Synthesis of dodecenyl succinic anhydride (DDSA) corn starch, *Food Res. Int.*, **40**, 232-238 (2007).
28. L.A. Bello-Pérez, S.M. Contreras-Ramos, R. Romero-Manilla, J. Solorza-Feria, A. Jiménez-Aparicio, Propiedades químicas y funcionales del almidón modificado de plátano *musa paradisiaca* L. (Var. Macho), *Agrocencia*, **36**, 169-180 (2002).
29. USP 42-NF 37, Farmacopea de los Estados Unidos de América, The United States Pharmacopeial Convention, 2020, p. 8907.
30. R.V.d.B. Fernandes, S.V. Borges, D.A. Botrel, E.K. Silva, J.M.G. da Costa, F. Queiroz, Microencapsulation of rosemary essential oil: characterization of particles, *Dry. Technol.*, **31**, 1245-1254 (2013).
31. X. Song, Y. Pei, M. Qiao, F. Ma, H. Ren, Q. Zhao, Preparation and characterizations of Pickering emulsions stabilized by hydrophobic starch particles, *Food Hydrocoll.*, **45**, 256-263 (2015).
32. Y. Chevalier, M.A. Bolzinger, Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions, *Colloids Surfaces A, Physicochem. Eng. Asp.*, **439**, 23-34 (2013).
33. C. Kusonwiriawong, V. Lipipun, N. Vardhanabhuti, Q. Zhang, G.C. Ritthidej, Spray-dried chitosan microparticles for cellular delivery of an antigenic protein: Physico-chemical properties and cellular uptake by dendritic cells and macrophages, *Pharm. Res.*, **30**, 1677-1697 (2013).
34. D. Harvey, Analytical Chemistry 2.0, an open-access digital textbook, *Anal. Bioanal. Chem.*, **399**, 149-152 (2011).

35. S. Kausadikar, A.D. Gadhawe, J. Waghmare, Microencapsulation of lemon oil by spray drying and its application in flavour tea, *Adv. Appl. Sci. Res.*, **6**, 69-78 (2015).
36. A. Gordillo, *Preparación y caracterización de micropartículas sólidas lipídicas cargadas con aceite esencial de cidrón (Aloysia triphylla) mediante emulsificación por ultrasonido*, Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia, 2013.
37. M.M. Estrada-Pareja, *Anatomía y fisiología aviar*, URL: http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/pluginfile.php/247268/mod_resource/content/0/ANATOMIA_Y_FISIOLOGIA_AVIAR_documento_2011.pdf, consultado en noviembre de 2019.
38. J. Michiels, J. Missotten, N. Dierick, D. Fremaut, P. Maene, S. De Smet, *In vitro* degradation and *in vivo* passage kinetics of carvacrol, thymol, eugenol and trans-cinnamaldehyde along the gastrointestinal tract of piglets, *J. Sci. Food Agric.*, **88**, 2371-2381 (2008).
39. X. Yang, Y. Liu, F. Yan, C. Yang, X. Yang, Effects of encapsulated organic acids and essential oils on intestinal barrier, microbial count, and bacterial metabolites in broiler chickens, *Poult. Sci.*, **98**, 2858-2865, (2019).
40. T.A. Madrid-Garcés, A. López-Herrera, J.E. Parra-Suescún, Effect of inclusion of essential oil of oregano (*Lippia origanoides*) on lipid profile in broiler meat, *Vitae*, **25**, 75-82 (2018).
41. F. Alipour, A. Hassanabadi, A. Golian, H. Nassiri-Moghaddam, Effect of plant extracts derived from thyme on male broiler performance, *Poult. Sci.*, **94**, 2630-2634 (2015).
42. K.Y. Zhang, F. Yan, C.A. Keen, P.W. Waldroup, Evaluation of microencapsulated essential oils and organic acids in diets for broiler chickens, *Int. J. Poult. Sci.*, **4**, 612-619 (2005).
43. E.H. Al-Mashhadani, K.A.-J. Farah, Y.M. Farhan, H.E. Al-Mashhadani, Effect of anise, thyme essential oils and their mixture (EOM) on broiler performance and some physiological traits, *Egypt. Poult. Sci. J.*, **31**(3), 481-489 (2011).
44. M.d.P. Cabildo-Miranda, *Química orgánica*, Universidad Nacional de Educación a Distancia, Madrid, 2011.

45. Z. Zhu, L. Zhang, M. Li, Y. Zhou, Effects of starch alkenylsuccinylation on the grafting efficiency, paste viscosity, and film properties of alkenylsuccinylated starch-g-poly(acrylic acid), *Starch/Stärke*, **64**, 704-712 (2012).
46. X. Song, G. He, H. Ruan, Q. Chen, Preparation and properties of octenyl succinic anhydride modified early Indica rice starch, *Starch/Stärke*, **58**, 109-117 (2006).
47. X. Wu, P. Liu, L. Ren, J. Tong, J. Zhou, Optimization of corn starch succinylation using response surface methodology, *Starch/Stärke*, **66**, 508-514 (2014).
48. P.H. Gouyon, P.H. Vernet, J.L. Guillermin, G. Valdeyron, Polymorphisms and environment: The adaptive value of the oil polymorphisms in *Thymus vulgaris* L., *Heredity (Edinb.)*, **57**, 59-66 (1986).
49. Z. György, N. Incze, Z. Pluhár, Differentiating *Thymus vulgaris* chemotypes with ISSR molecular markers, *Biochem. Syst. Ecol.*, **92**, 104118 (2020).
50. J.D. Thompson, J.-C. Chalchat, A. Michet, Y.B. Linhart, B. Ehlers, Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of, *J. Chem. Ecol.*, **29**, 859-880 (2003).
51. H. Trindade, L.G. Pedro, A.C. Figueiredo, J.G. Barroso, Chemotypes and terpene synthase genes in *Thymus* genus: State of the art, *Ind. Crops Prod.*, **124**, 530-547 (2018).
52. P. Satyal, B.L. Murray, R.L. McFeeters, W.N. Setzer, Essential oil characterization of *Thymus vulgaris* from various geographical locations, *Foods*, **5**, 70 (2016).
53. R.D.S. da Veiga, R.A. da Silva-Buzanello, M.P. Corso, C. Canan, Essential oils microencapsulated obtained by spray drying: a review, *J. Essent. Oil Res.*, **31**, 457-473 (2019).
54. O. Tomazelli-Júnior, F. Kuhn, P.J.M. Padilha, L.R.M.Vicente, S.W.Costa, A.A. Boligon, J. Scapinello, C.N.Nesi, J. Dal Magro, S. Lamo-Castellví, Microencapsulation of essential thyme oil by spray drying and its antimicrobial evaluation against vibrio alginolyticus and vibrio parahaemolyticus, *Braz. J. Biol.*, **78**, 311-317 (2018).
55. M. Shahidi-Noghabi, M. Molaveisi, The effect of wall formulation on storage stability and physicochemical properties of cinnamon essential oil microencapsulated by spray drying, *Chem. Pap.*, **74**, 3455-3465 (2020).

56. M.L. Bruschi, *Strategies to modify the drug release from pharmaceutical systems*, Woodhead Publishing - Elsevier, Cambridge, 2015, pp. 63-86.
57. P.C. Allen, H.D. Danforth, P.C. Augustine, Dietary modulation of avian coccidiosis, *Int. J. Parasitol.*, **28**, 1131-1140 (1998).
58. M. Denli, F. Okan, A.N. Uluocak, Effect of dietary supplementation of herb essential oils on the growth performance, carcass and intestinal characteristics of quail (*Coturnix coturnix japonica*), *South African J. Anim. Sci.*, **34**, 174-179 (2004).
59. M. Pournazari, A.A.A. Qotbi, A. Seidavi, M. Corazzin, Prebiotics, probiotics and thyme (*Thymus vulgaris*) for broilers: Performance, carcass traits and blood variables, *Rev. Colomb. Cienc. Pecuár.*, **30**, 3-10 (2017).

COMO CITAR ESTE ARTÍCULO

S.X. Ojeda, G. Bautista, M.F. Acero, J.A. Martínez, G.E. Matiz, M.E. Pachón, Y. Baena, Estudio de un sistema microparticulado que contiene aceite de tomillo (*Thymus vulgaris*) y de su aplicación potencial como promotor de crecimiento en la producción de pollos de engorde, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **51**(1), 387-423 (2022).