

Empleo de alginato para el encapsulado de alimento balanceado de uso acuícola

Fernando D. Lo Menzo^{1*}, Pablo J. Saubot², Fernando Ariel Bertoni³,
Nadia Woitovich Valetti³, Luciana Pellegrini Malpiedi³

1. Centro Científico, Tecnológico y Educativo “Acuario del Río Paraná”, Rosario, CP 2000, Argentina.
2. Estanques y Peces, Villa Mugueta, CP 2175, Argentina.
3. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR, Rosario, CP 2000, Argentina.

*E-mail: fernandolomenzo@gmail.com

PALABRAS CLAVES

Encapsulado
Acuicultura
Alginato
Alevines

RESUMEN

Este trabajo propone el uso de encapsulados poliméricos a base de alginato como una alternativa económica y sostenible para alimentar larvas de peces. Para ello, se empleó un alimento balanceado desarrollado localmente, con perfil proteico y lipídico similar al de Artemia sp. Se evaluaron distintas formulaciones de microencapsulado utilizando diferentes concentraciones de alginato de sodio de grado alimenticio (0,4 a 1,0 % P/V) y de alimento balanceado (5 a 25 % P/V). Se aplicaron dos técnicas de encapsulado: goteo con jeringa y pulverización con compresor. Las microesferas obtenidas fueron analizadas mediante microscopía óptica y espectrofotometría. La técnica de jeringa con 25 % de alimento y 0,6 % de alginato generó esferas de ~2,5 mm con una eficiencia de encapsulado del 80 %. La pulverización, con 10 % de alimento y 0,6 % de alginato, permitió obtener micropartículas de ~0,4 mm, tamaño comparable al de Artemia. Ambas formulaciones mostraron buena estabilidad en medio líquido durante 15 días a temperatura ambiente. Estos resultados demuestran el potencial del alginato como matriz encapsulante para reemplazar parcialmente el uso de Artemia, reduciendo costos y fortaleciendo la producción acuícola nacional.

Use of alginate for the encapsulation of balanced feed for aquaculture applications

KEYWORDS

Biosorption
Livestock effluent
Calcium alginate
Metal pollution
Sustainable technologies

ABSTRACT

This study explores the use of alginate-based polymeric microcapsules as a cost-effective and sustainable alternative for larval fish feeding. For this, a locally developed balanced feed, with protein and lipid profiles similar to Artemia, was used as the core material. Various encapsulation formulations were evaluated using food-grade sodium alginate (0.4 to 1.0 % w/v) and feed concentrations (5 to 25 % w/v). Two encapsulation methods were tested: syringe dripping and compressor-assisted spraying. The resulting microcapsules were analyzed by optical microscopy and UV-Vis spectrophotometry. Syringe encapsulation with 25 % feed and 0.6 % alginate yielded ~2.5 mm spheres with an encapsulation efficiency of ~80 %. Spraying, using 10 % feed and 0.6 % alginate, produced microparticles with a diameter of ~0.4 mm, comparable to Artemia size. Both formulations exhibited good stability in liquid medium over 15 days at room temperature. These results highlight the potential of alginate as an encapsulating matrix for aquaculture feed, offering a viable alternative to reduce costs and decrease dependence on imported Artemia, thus supporting more resilient local aquaculture systems.

1. Introducción

Durante las primeras etapas de vida, una vez consumido el saco vitelino, los peces comienzan a ingerir distintas especies de microorganismos (fitoplancton y zooplancton) (Li et al., 2025). En acuicultura, por cuestiones económicas, de tiempo, espacio y capacitación del personal, esta fase temprana de alimentación se realiza con la técnica llamada "a cielo abierto" donde se colectan microorganismos con diferentes tamices en estanques con fondo de tierra previamente fertilizados (Vallone et al., 2021). Con esta técnica, podemos recolectar tanto el alimento necesario (e incluso alimento de tamaño superior a la capacidad de ingesta) como también patógenos varios: parásitos, bacterias y hongos que afectan a la salud y sobrevida de los peces. Una de las recomendaciones de la FAO para mejorar la bioseguridad en la acuicultura es minimizar la transferencia de patógenos en los ambientes acuáticos durante el cultivo de las larvas (Halwart, 2022). Actualmente, aquellos establecimientos que pretenden mejorar la bioseguridad y minimizar los tiempos larvarios, cultivan en un medio salino (cultivo accesorio) un crustáceo branquiópodo llamado Artemia sp (AR) (Bertini et al., 2024). Este crustáceo posee un alto valor dependiendo de su calidad nutricional y del porcentaje de eclosión (se comercializa en quistes). Por ejemplo, un producto basado en AR de alta calidad nutricional, con eclosión del 90%, posee un valor de \$21.000 el kg y es de origen extranjero. Este alimento, además de su alto costo, no posee una disponibilidad estable en el tiempo. A su vez, cuando se adquiere AR de menor calidad para disminuir costos, los medios de cultivo deben ser enriquecidos con otros cultivos accesorios que ponen en juego la bioseguridad de la producción. Todo ello se traduce en que la alimentación represente uno de los principales costos en el cultivo de peces. A esto debemos sumarle que la sobrevida en la etapa de larvicultura es cercana al 45% - 50% (Santos & Soares, 2024). Esto se debe, en gran parte, a la imposibilidad de alimentar a los peces durante las primeras semanas de vida con un alimento adecuado al tamaño de su boca (orden de las micras) y con una composición nutricional estable con un medio definido (Sado et al., 2013). Con el objetivo de disminuir las pérdidas asociadas a una incorrecta alimentación, o disminuir los costos relacionados a la importación de productos, este trabajo propone ensayar la posibilidad de realizar una encapsulación del

alimento en micromatrices poliméricas de alginato (ALG) gelificado en presencia de calcio. El ALG es un polímero natural, biocompatible y no tóxico obtenido a partir de algas pardas marinas y algunas cepas de bacterias (Mazza et al., 2023). Es uno de los polímeros preferidos para el encapsulado de diferentes tipos de sustancias debido a las características previamente mencionadas y, además, debido a sus condiciones suaves de gelificación, su accesibilidad y la estabilidad mecánica que presentan los geles formados (Muslykhah et al., 2024). Es por ello que se encuentran en la bibliografía diversas aplicaciones del alginato como agente encapsulante de medicamentos, alimentos, bacterias, entre otros (Bakhshi et al., 2017). En cuanto a cuidado animal, el alginato se ha empleado con éxito para encapsulado de vacunas orales (Bowersock et al., 1999), en piensos para mascotas y, particularmente de interés para este trabajo, en alimentos para peces (Rychen et al., 2017).

Con lo antes expuesto se propuso, en una primera instancia, analizar la factibilidad de obtener microesferas de alginato mediante el empleo de un sistema de pulverización. Para ello, la solución de alginato fue pulverizado con un sistema de spray (de manera de conseguir gotas del menor tamaño posible) sobre una solución de cloruro de calcio. De esta manera, las gotas de alginato gelificaron al entrar en contacto con el calcio, formando geles esféricos. Como alternativa al empleo del sistema de pulverización, se evaluó la obtención de los geles por goteo con ayuda de una jeringa sobre la solución gelificante y la posterior ruptura de las esferas obtenidas por medios mecánicos. Los geles obtenidos fueron caracterizados en cuanto a su tamaño y estabilidad, parámetro de interés para su futura aplicación, mediante el empleo de técnicas de microscopía óptica, light scattering, estabilidad frente a pH y co-solutos, entre otras.

Una vez determinadas las condiciones para la obtención de los micro-geles, se procedió al estudio de la encapsulación del alimento dentro de los mismos. Para ello, se estudiaron diferentes alternativas de encapsulación: en la primera, se suspendió el alimento en la solución polimérica, para luego proceder al proceso de gelificación. En una segunda alternativa, el alimento fue suspendido en la solución de cloruro de calcio y el polímero fue agregado sobre esta solución para luego proceder a la gelificación. En ambos casos, se evaluó nuevamente el tamaño de las partículas obtenidas,

su estabilidad en el tiempo y la eficiencia de encapsulación.

2. Materiales y métodos

Formulación del alimento balanceado

Se utilizó un alimento balanceado sólido, desarrollado por la empresa “Estanques y Peces”, cuya composición proteica y lipídica contiene un perfil similar al de la AR (Lo Menzo et al., 2024).

Desarrollo de una técnica para la determinación de la concentración de alimento

Se obtuvieron los espectros UV-Vis de diferentes diluciones de la muestra de alimento balanceado, a los fines de identificar zonas espectrales que puedan sufrir cambios proporcionales a la concentración de alimento presente y que permita estimar la eficiencia del proceso de encapsulado.

Preparación de las soluciones de trabajo

Se trabajó con ALG de sodio de grado alimenticio, debido a su bajo costo y alta biodegradabilidad. Para la preparación de las soluciones de ALG se pesó una cantidad adecuada de la droga sólida y se disolvió en agua destilada con ayuda de agitación mecánica

hasta lograr la completa disolución. Se prepararon soluciones madre 2% P/V. Para el trabajo experimental se utilizaron diluciones de dichas preparaciones. Para la caracterización del alimento, se prepararon soluciones 3% P/V del mismo en agua destilada.

Encapsulado del alimento

Los ensayos de encapsulado se realizaron empleando diferentes concentraciones de ALG (1,0; 0,8; 0,6 y 0,4 % P/V) y alimento balanceado (25, 10 y 5 % P/V).

Se emplearon dos técnicas de encapsulación diferentes: goteo en jeringa y pulverización mediante un compresor. El encapsulado macroscópico se realizó mediante el goteo, con una jeringa, de la mezcla polímero/alimento previamente preparada y homogeneizada, sobre una solución de CaCl_2 0,2 M.

Para la formación de partículas microscópicas se empleó un sistema de aspersión. Se empleó un compresor de aire adaptado a un pulverizador. En la figura 1 se presenta un esquema simplificado del proceso.

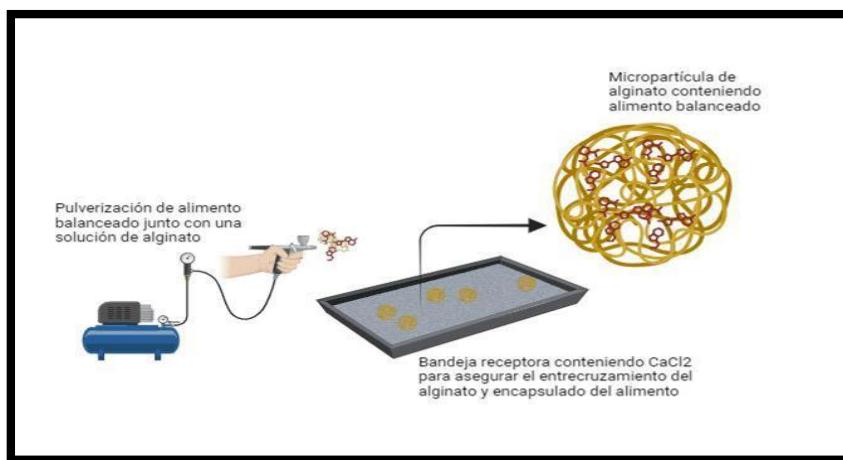


Figura 1. Esquema simplificado del proceso de obtención de micropartículas de ALG con alimento balanceado encapsulado.

Eficiencia de encapsulación

Las esferas obtenidas fueron re-disueltas mediante el empleo de una solución de EDTA 1 M, para liberar el alimento encapsulado. Se determinó la cantidad de alimento encapsulado mediante medidas de absorbancia a 275 y 400 nm. La eficiencia de encapsulación fue calculada por balance de masas, teniendo en cuenta la cantidad inicial colocada y la cantidad recuperada luego de la redisolución.

$$\% \text{ alimento encapsulado} =$$

$$\frac{\text{masa alimento recuperado en esferas redisueltas}}{\text{masa inicial alimento}} \times 100 \quad (1)$$

Caracterización de las esferas obtenidas

El diámetro de las esferas obtenidas fue determinado visualmente o con ayuda de microscopía óptica, dependiendo del tamaño obtenido.

3. Resultados y Discusión

Caracterización del alimento balanceado

En primer lugar, se estudió la solubilidad en agua del alimento balanceado en estudio. Se encontró que el alimento fue correctamente soluble hasta llegar a una concentración de 50% P/V. Las soluciones obtenidas presentaron tonalidad marrón y una elevada viscosidad. Debido a esto, se requirió de una correcta agitación de al menos 4 h para lograr la correcta dispersión del alimento. Posteriormente, se obtuvieron los espectros UV-Vis de diferentes diluciones de la muestra de alimento balanceado, a los fines de identificar zonas espectrales que puedan sufrir cambios proporcionales a la concentración de alimento presente y que nos permitan poder estimar la eficiencia del proceso de encapsulado. A partir de los espectros obtenidos, se seleccionaron 2 zonas para realizar el seguimiento de la concentración de alimento en los pasos posteriores: 400 nm y 275 nm.

En ambas longitudes de onda se observa un comportamiento lineal de crecimiento de la absorbancia de la muestra en función de la cantidad de alimento presente (Figura 2) lo que permitió los cálculos posteriores mediante la obtención de las curvas de calibración correspondientes.

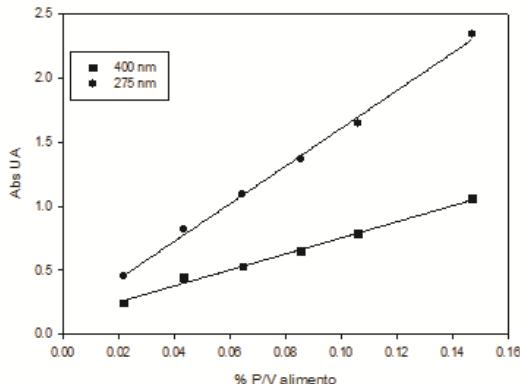


Figura 2. Análisis espectroscópico del alimento balanceado.

Macrocápsulas de alginato con alimento balanceado

Mediante la técnica de goteo, se estudió la factibilidad de realizar en encapsulado del alimento en macroesferas de ALG. Para ello, en primer lugar, se determinaron las concentraciones a emplear de ALG. Se determinó que el ALG empleado gelifica correctamente sobre CaCl_2 (2% P/V) en el rango de concentraciones que van desde 2% P/V hasta 0,4% P/V. En concentraciones menores no se produce la correcta gelificación dando lugar a geles demasiado frágiles. Las esferas obtenidas presentaron un diámetro promedio de 1.5-2 mm.

Otro control realizado fue el estudio de la capacidad del alimento en solución de gelificar per se en presencia de CaCl_2 . Se determinó que la concentración máxima de alimento posible a emplear es de 25 % P/V debido a que es la máxima concentración a la cual se observa facilidad al gotear la mezcla a través de una jeringa. No se observó capacidad gelificante en este ensayo, confirmando la necesidad de agregar ALG para la formación de las cápsulas.

Teniendo en cuenta lo anterior, se estudiaron diferentes combinaciones de ALG y alimento para la encapsulación. Se optó por emplear concentraciones elevadas de alimento a los fines de optimizar la cantidad encapsulada. El ALG se varió en el rango de gelificación previamente determinado. En la tabla 1 se presentan las combinaciones estudiadas y las observaciones realizadas.

A partir de las diferentes condiciones ensayadas se decidió seleccionar las siguientes condiciones: ALG 0,6% P/V con 25 % P/V de alimento. Asimismo, se estableció que por cada 10 ml de solución goteada se deben adicionar 30 ml de solución de CaCl_2 .

Tal como se muestra en la Figura 3, los geles obtenidos mediante este procedimiento presentaron forma esférica con un diámetro promedio de 2,5 mm y una elevada estabilidad tanto física como química. Por otro lado, utilizando la metodología descripta en la sección 2.5, se estimó una eficiencia de encapsulación del 80%.

Microcápsulas de alginato con alimento balanceado

Una vez determinadas las mejores condiciones para la encapsulación mediante goteo, se procedió a estudiar la capacidad del sistema para generar microesferas de ALG con alimento balanceado encapsulado. Teniendo en cuenta los resultados previos obtenidos, se inició el estudio empleando ALG 0,6%P/V con 25 % P/V de alimento. Sin embargo, se encontró que no era posible realizar la aspersión de esta solución ya que continuamente se tapaba la salida del pulverizador, complicando el proceso en general, además de generar pérdida de material.

Tabla 1. Condiciones ensayadas para el encapsulado por goteo del alimento balanceado en geles de alginato.

Concentración final en solución de goteo	Observaciones
0,2 %P/V ALG-25% P/V alimento	La solución gotea a demasiada velocidad, a pesar de la agitación continua no logra observarse la formación de esferas y el alimento queda en solución.
0,4 %P/V ALG-25% P/V alimento	El aumento en la cantidad de polímero mejoró la formación de esferas. Sin embargo, el tiempo de gelificación es muy largo lo que lleva a la pérdida de alimento en la solución de CaCl_2 empleada como agente gelificante.
0,6 %P/V ALG-25% P/V alimento	Se observa una buena gelificación en un lapso corto de tiempo. El alimento queda atrapado dentro de las esferas, que adquieren forma de lenteja. Se observa una marcada expansión del volumen de las esferas contenido alimento comparadas con las esferas que solo poseen ALG.
0,8 %P/V ALG-25% P/V alimento	La solución presenta elevada viscosidad lo que imposibilita el goteo de la misma.

Debido a esto, y teniendo en cuenta los resultados previos en los cuales el ALG no gelificaba de buena manera a bajas concentraciones, se decidió mantener fija la concentración de ALG en 0,6 % P/V, disminuyendo la concentración de alimento en la solución de goteo. Por otra parte, se observó la necesidad de emplear mayor volumen de CaCl_2 para la gelificación, debido a que la pulverización abarcaba una mayor área. Por ello, se estableció un volumen de 250 ml de solución gelificante cada 20 ml de solución de polímero/alimento. Las condiciones ensayadas se detallan en la Tabla 2.

Microcápsulas de alginato con alimento balanceado

Una vez determinadas las mejores condiciones para la encapsulación mediante goteo, se procedió a estudiar la capacidad del sistema para generar microesferas de ALG con alimento balanceado encapsulado. Teniendo en cuenta los resultados previos obtenidos, se inició el estudio empleando ALG 0,6% P/V con 25 % P/V de alimento.



Figura 3. Esferas de alginato de calcio con alimento balanceado encapsulado. Condiciones de trabajo: alginato 0,6% P/V con 25% P/V de alimento.

Sin embargo, se encontró que no era posible realizar la aspersión de esta solución ya que continuamente se tapaba la salida del pulverizador, complicando el proceso en general, además de generar pérdida de material.

Debido a esto, y teniendo en cuenta los resultados previos en los cuales el ALG no gelificaba de buena manera a bajas concentraciones, se decidió mantener fija la concentración de ALG en 0,6 % P/V, disminuyendo la concentración de alimento en la solución de goteo. Por otra parte, se observó la necesidad de emplear mayor volumen de CaCl_2 para la gelificación, debido a que la pulverización abarcaba una mayor área. Por ello, se estableció un volumen de 250 ml de solución gelificante cada 20 mL de solución de polímero/alimento. Las condiciones ensayadas se detallan en la Tabla 2

Tabla 2. Producción de microesferas de alginato con alimento balanceado encapsulado. En todos los casos se empleó una presión de salida de 1 bar.

Condición de pulverización	Observaciones
ALG 0,6% P/V- 5 % P/V de alimento	Se logró una correcta pulverización, la solución fluyó correctamente y no se generaron variaciones en la presión del compresor debido a obstrucciones del pulverizador. Cuando las gotas tomaron contacto con la solución gelificante, rápidamente se observó la formación de partículas pequeñas de tonalidad clara. La observación al microscopio de las partículas obtenidas permitió determinar dispersión en el tamaño de las mismas, aunque todas presentan tamaño menor a 0,5 mm.
ALG 0,6% P/V- 10 % P/V de alimento	Se observó una buena capacidad de pulverización, sin inconvenientes asociados a variaciones de presión u obstrucciones. Al entrar en contacto la solución pulverizada con el CaCl_2 se observa una rápida formación de partículas. Las partículas obtenidas presentan baja dispersión en cuanto a tamaño mostrando diámetros cercanos a los 0,4 mm.
ALG 0,6% P/V- 15 % P/V de alimento ALG 0,6% P/V- 20 % P/V de alimento	La generación del spray al pulverizar fue perfecta. Se observó una rápida formación de partículas gelificadas al tomar contacto con el calcio de tamaño pequeño y en buena cantidad. Las partículas obtenidas presentan forma esférica y diámetros menores a 0,5 mm.

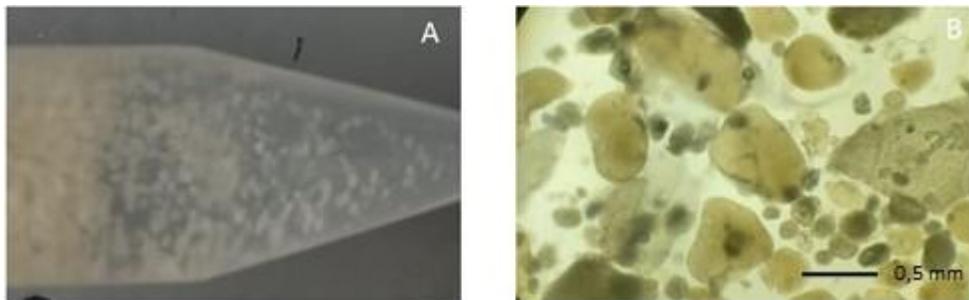


Figura 4. Microesferas obtenidas mediante pulverización. Condiciones: 0,6% P/V de ALG con 20 %P/V de alimento balanceado, 1 bar. A) Microesferas en solución, B) observación al microscopio óptico, aumento: 20X.

Los resultados obtenidos permitieron corroborar que todas las condiciones ensayadas permiten la obtención de micropartículas de ALG con alimento balanceado encapsulado.

De las condiciones ensayadas, los mejores resultados se obtuvieron con la combinación de 0,6%P/V de ALG con 20%P/V de alimento debido a que en dicha condición se logra encapsular una buena cantidad de alimento. Dichas partículas se muestran en la Figura 4. En estos sistemas se dificultó el cálculo de la eficiencia de encapsulación, debido a las pérdidas de material en los diferentes pasos del proceso.

4. Conclusiones

Durante este estudio se evaluó la formación de micro y macro esferas de ALG conteniendo alimento balanceado para alevines. Para tal fin se evaluaron dos metodologías: goteo y pulverización, encontrándose diferencias muy notorias en cuanto a la eficiencia de gelificación y encapsulado entre ellas. Para el caso de la encapsulación mediante goteo, el empleo de 0,6 %P/V de ALG y 25 %P/V de alimento brindó la mejor eficiencia, logrando una incorporación del 80 % del alimento empleado, en macroesferas con un diámetro promedio de 2,5 mm. En el caso de la pulverización, se seleccionó una solución de ALG 0,6 %P/V con 20%P/V de alimento, la cual fue pulverizada sobre CaCl₂ 2% P/V, en una superficie lo más abierta posible para evitar la pérdida de material. Las micropartículas obtenidas mediante esta metodología presentaron diámetros menores a los 0,5 mm, lo que las hace adecuadas para la alimentación de alevines en sus primeras

estapas de crecimiento. Estos resultados representan un punto de partida para la formulación de microcápsulas de alimento balanceado como alternativa de bajo costo y en reemplazo de importaciones para la alimentación de alevines.

5. Agradecimientos

Este trabajo fue financiado con el Programa TECNOPYME 2021, perteneciente al Ministerio de Producción, Ciencia y Tecnología de la provincia de Santa Fe.

6. Referencias

- Bakhshi, M., y otros cinco autores, (2017). Nano-encapsulation of chicken immunoglobulin (IgY) in sodium alginate nanoparticles: In vitro characterization, *Biologicals*, 49, 69–75.
- Bertini, A., y otros doce autores, (2024). A blend of microalgae and cyanobacteria produced from industrial waste outputs for the enrichments of *Artemia salina*: Effects on growth performance , antioxidant status and anomalies rate of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) larvae, *Aquaculture Reports*, 36, 102070.
- Bowersock, T. L., y otros ocho autores, (1999). Oral vaccination of animals with antigens encapsulated in alginate microspheres, *Vaccine*, 17(13–14), 1804–1811.
- Halwart, M. (2022). Aquaculture in SOFIA 2022, *Aquaculture Newsletter*, 66, 7–8.
- Li, B., y otros tres autores, (2025). Application status and development prospect of fermented ingredients in aquaculture, *Aquaculture Reports*, 42, 102842.
- Lo Menzo, F. D., y otros tres autores, (2024). V Workshop Virtual de Polímeros Biodegradables y Biocompuestos. Argentina, 103890.

- Mazza, K. E. L., y otros seis autores, (2023). Microencapsulation of marjoram essential oil as a food additive using sodium alginate and whey protein isolate, International Journal of Biological Macromolecules, 233, 123478.
- Muslykhah, U., y otros cuatro autores, (2024). Encapsulation of protein-based bioactive from black soldier fly for ruminant feeding. Journal of Agriculture and Food Research, 18, 101325.
- Rychen, G., y otros diecinueve autores, (2017). Safety and efficacy of sodium and potassium alginate for pets, other non food-producing animals and fish. EFSA Journal, 15(7), 4945.
- Sado, R. Y., Bicudo, Á. J., Cyrino, J. E. (2013). Growth and hematology of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) fed with increasing levels of vitamin E (DL- α -tocopheryl acetate), Anais da Academia Brasileira de Ciências, 85(1), 385-393.
- Santos, F. A. C., Soares, G. (2024). Efectos de la temperatura y la concentración de presas vivas en la larvicultura de *Colossoma macropomum*, Revista MVZ Córdoba, 29(1), 1-10.
- Vallone, A. E. R., Benedetti, F.(2021). CULTIVO DEL PACÚ Aspectos generales y Estado de la tecnología. Centro de Acuicultura Diamante (CEADI) Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Diamante, Argentina.