

## **Resumen**

La creciente popularidad de los canes como animales de compañía ha planteado desafíos relacionados con su salud, en particular con el equilibrio de su microbiota intestinal, que debe ser analizada desde su identidad biológica. Las alteraciones en la composición de la microbiota generan efectos adversos en la homeostasis de estos animales, siendo necesaria la investigación y aplicación de diversas estrategias terapéuticas, siendo los probióticos una de las más destacadas. El presente trabajo de investigación se dividió en tres etapas esenciales. En primer lugar, se llevó a cabo un análisis exhaustivo de la cinética de crecimiento de las cepas probióticas. Durante esta fase, se realizaron mediciones de la densidad óptica, la viabilidad celular, la biomasa seca y el contenido de glucosa a lo largo del proceso de crecimiento. La segunda etapa se centró en la encapsulación de las cepas probióticas mediante el proceso de liofilización, utilizando materiales de encapsulación específicos, en particular prebióticos. Esta estrategia se demuestra como un componente esencial para mejorar la supervivencia de los probióticos durante el almacenamiento a largo plazo, garantizando su viabilidad y estabilidad durante el almacenamiento. La tercera parte del estudio se enfocó en la caracterización biológica de las formulaciones probióticas microencapsuladas. Se llevaron a cabo ensayos *in vitro* para evaluar la viabilidad de estas formulaciones probióticas y su efecto inmunomodulador en líneas celulares MDCK y DH82, respectivamente. En conclusión, este estudio demostró que la liofilización de cepas de *Lactobacillus* spp. en fase estacionaria es una técnica viable para producir formulaciones probióticas con alta viabilidad y notable estabilidad durante el almacenamiento. A su vez, la caracterización biológica mostró un perfil prometedor en términos de seguridad y modulación de la respuesta inmunológica.

*Palabras clave:* cinética de crecimiento, liofilización, inmunomodulación

## **Abstract**

The growing popularity of dogs as pets has posed challenges related to their health, particularly concerning the balance of their intestinal microbiota, which must be analyzed from their biological identity. Alterations in the microbiota composition have adverse effects on these animals' homeostasis, necessitating research and the application of various therapeutic strategies, with probiotics being one of the most prominent. This research was divided into three essential stages. Firstly, a comprehensive analysis of the growth kinetics of probiotic strains was conducted. During this phase, measurements of optical density, cell viability, dry biomass, and glucose content were taken throughout the growth process. The second stage focused on the encapsulation of probiotic strains through the lyophilization process, using specific encapsulation materials, particularly prebiotics. This strategy proved to be an essential component for enhancing the survival of probiotics during long-term storage, ensuring their viability and stability. The third part of the study centered on the biological characterization of microencapsulated probiotic formulations. *In vitro* assays were performed to assess the viability of these probiotic formulations and their immunomodulatory effect on MDCK and DH82 cell lines, respectively. In conclusion, this study demonstrated that the lyophilization of *Lactobacillus* spp. strains in stationary phase is a viable technique for producing probiotic formulations with high viability and remarkable stability during storage. Furthermore, biological characterization revealed a promising profile in terms of safety and modulation of the immune response.

**Keywords:** growth kinetics, lyophilization, immunomodulation