

Tamo de Cereales como suplemento alimenticio procesado por fermentación en estado sólido

Cereal Straw as a food supplement processed by solid-state fermentation

Diana Isabel Cubillos Orjuela¹, Alejandra Rodríguez Montaña², Leidy Yanira Rache², Luis Miguel Borrás Sandoval³

Resumen

La fermentación en estado sólido es un proceso en el cual se aprovecha el metabolismo de bacterias acidolácticas principalmente para obtener productos alimenticios con mayor valor nutricional. Recientemente, se ha logrado potencializar sustratos con bajas composiciones nutricionales como residuos postcosecha haciéndolos más digestibles para los animales. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la utilidad de la fermentación en estado sólido, en la potencialización del valor nutricional del tamo de cereales y el efecto del tiempo y porcentaje de inclusión de este residuo en la fermentación. Para esto se prepararon dos dietas, una con el 10% de inclusión de tamo de cereales y otra con un 20%, se añadió papa, harina de alfalfa, premezcla mineral, urea, melaza, sulfato de sodio, carbonato de calcio y preparado microbiano enriquecido con bacterias ácido lácticas (BAL). Los productos fueron sometidos a dos tiempos de fermentación (24 y 48 horas) a temperatura constante de 20°C. Se analizó el efecto del tiempo de fermentación y el porcentaje de inclusión del material vegetal fibroso en el pH, materia seca, humedad, proteína cruda, cenizas, extracto etéreo, fibra detergente neutra y ácida, hemicelulosa, materia orgánica, digestibilidad in situ de la materia seca y microbiología. Después de 48 horas de fermentación se evidenció que un porcentaje de inclusión del 20% favoreció la disminución del pH, el incremento del recuento de bacterias ácido lácticas, la cantidad de proteína cruda, cenizas y fibra detergente neutra, parámetros que indican la calidad del producto alimenticio, digestibilidad y utilidad para ser suministrado como dieta a ovinos.

Palabras Clave: Residuos postcosecha, bacterias ácido lácticas, digestibilidad

Abstract

Solid state fermentation is a process in which the metabolism of lactic acid bacteria is used mainly to obtain food products with greater nutritional value. Recently, it has been possible to potentiate substrates with low nutritional compositions as post-harvest residues, making them more digestible for animals. This study aimed to evaluate the usefulness of solid-state fermentation in enhancing the nutritional value of cereal straw and the effect of the time and percentage of inclusion of this residue in the fermentation. For this, two diets were prepared, one with 10% inclusion of cereal straw and another with 20%, potatoes, alfalfa flour, mineral premix, urea, molasses, sodium sulfate, calcium carbonate and microbial preparation enriched with lactic acid bacteria (LAB) were added. The products were subjected to two fermentation times (24 and 48 hours) at a constant temperature of 20°C. The effect of fermentation time and the percentage of inclusion of fibrous plant material on the pH, dry matter, humidity, crude protein, ash, ethereal extract, neutral and acid detergent fiber, hemicellulose, organic matter, in situ digestibility of the dry matter and microbiology were analyzed. After 48 hours of fermentation, it was evident that an inclusion percentage of 20% favors a decrease in pH, and increase the count of lactic acid bacteria, the amount of crude protein, ash and neutral detergent fiber, parameters that indicate the quality of the food, digestibility and usefulness to be supplied as a diet to sheep.

Keywords: Postharvest residues, Lactic acid bacteria, Digestibility.

Recepción: 06-Agosto-2023

Aceptación: 12-Diciembre-2023

¹ Instituto Colombiano Agropecuario ICA. Médico veterinario de apoyo.

² Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Boyacá, Colombia. Facultad de Ciencias, Grupo de Investigación Catálisis.

³ Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Boyacá, Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Grupo de Investigación GIBNA.

1. Introducción

La ovinocultura en Colombia comenzó como una tradición cultural; sin embargo, con el paso del tiempo su cría ha incrementado a pesar de que es un sistema productivo joven comparado con el de otros países. Dentro de los departamentos del trópico alto con más inventario ovino, encontramos a Boyacá con un aproximado de 137.097 cabezas de ganado generando una participación del 7% en la producción nacional de carne ovina para el año 2016 [1]. Los sistemas de producción del municipio de Socotá-Boyacá, Colombia, principalmente están enfocados en la obtención de carne y lana, basándose en una dieta de pastoreo y suplementación con sal y concentrados comerciales para bovinos. No obstante, la suplementación se ha visto afectada debido a los altos costos de los productos comerciales, y ha ocasionado que los productores utilicen residuos de cosecha de papa, caña y diferentes cereales como alternativa nutricional [2].

El inconveniente de suministrar de forma directa los residuos, es que normalmente no se suplen los requerimientos nutricionales de los animales, por lo que la transformación y potencialización de la composición nutricional de las materias de poca calidad nutricional es indispensable. Dentro de las alternativas más destacadas encontramos la fermentación en estado sólido (FES) que es un proceso metabólico de oxidación, en el cual, bajo condiciones específicas, microorganismos benéficos, crecen sobre materiales sólidos sin la presencia de agua logrando optimizar la composición nutricional en los alimentos [3]. Es una metodología biotecnológica de bajo costo y sencilla de realizar a través de la cual se consigue incrementar la composición nutricional de las materias primas. La utilización de alimentos no convencionales como materiales fibrosos, residuos de cosecha, desechos industriales y algunos recursos forestales procesados a través de fermentación, ha permitido obtener alimentos energético proteicos de buena calidad con altos contenidos de proteína, bajos en fibra y digestibilidades adecuadas para el aprovechamiento por los animales [4].

El valor nutricional de un alimento destinado al consumo animal, se evalúa a través de su composición química determinando los componentes de materia seca, humedad, proteína cruda, extracto etéreo, cenizas, materia orgánica, hemicelulosa, fibra detergente neutra y fibra detergente ácida. Además, se debe considerar los efectos en los procesos de digestión, absorción y metabolismo del animal determinando la digestibilidad *in situ* del alimento ya que entre mayor sea el valor de la digestibilidad, mejor será el aprovechamiento de los nutrientes del alimento [5]. Por tanto, se propone: **i.** Evaluar la utilidad de la fermentación en estado sólido como metodología biotecnológica para la obtención de un producto alimenticio conteniendo tamo de cereales que supla los requerimientos nutricionales de los ovinos, y **ii.** Conocer el efecto del tiempo de fermentación y de dos porcentajes de inclusión de tamo de cereales en la calidad del producto alimenticio para ovinos.

2. Materiales y métodos

2.1. Preparación del producto alimenticio

La cantidad de materia prima, inoculante, material secante y aditivo detallado en la tabla 1, se mezcló hasta obtener una pasta homogénea que denominaremos producto fes de cada dieta según método descrito por Elías *et al.* [6]. Se utilizaron bolsas de polietileno negro para dosificar 1.0 kg de peso fresco de la pasta homogénea.

Las bolsas con el producto fes, se cerraron e incubaron a 20°C durante 24 y 48 horas utilizando una incubadora marca Biobase®. Al inicio (hora 0) y al finalizar cada periodo de fermentación, cada bolsa se abrió y se tomaron muestras para determinar pH, composición nutricional y microbiología de las fermentaciones.

Tabla 1: Dietas experimentales.

INGREDIENTES	Dieta 1 (%)	Dieta 2 (%)
Papa	67	57
Tamo de cereales	10	20
Harina de Alfalfa	15	15
Melaza	3	3
Sulfato de sodio	0,5	0,5
Carbonato de calcio	0,5	0,5
Sal mineralizada	0,5	0,5
Urea	1	1
Preparado microbiano	2,5	2,5

2.2. Determinación del pH

En un Erlenmeyer de 100 ml se colocó 5 g de cada dieta y 45 ml de agua destilada estéril, se agitó durante 30 minutos utilizando un agitador eléctrico marca Adams® y posteriormente se filtró por medio de gasas estériles, al producto filtrado se le midió pH utilizando un pHmetro marca Okaton®, siguiendo la metodología descrita por Moyano [7].

2.3. Evaluación de la calidad nutricional

La composición bromatológica de las muestras recolectadas antes y después de la fermentación se determinó mediante análisis de humedad (%H), materia seca (%MS), cenizas (%CZ), proteína cruda (%PC), extracto etéreo (%EE), fibra detergente neutra (%FDN) y fibra detergente ácida (%FDA) siguiendo los métodos citados por AOAC [8, 9].

2.4. Análisis de digestibilidad *in situ*

La determinación de la digestibilidad *in situ* de la materia seca se realizó en el laboratorio de química analítica del Centro de Investigación de Turipaná, vinculado a la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (AGROSAVIA),

localizado en Cereté, Córdoba, Colombia por medio de la técnica descrita por Orskov y McDonald [10]. Previamente, las muestras se secaron a 60°C durante 24 horas en una estufa de secado de la marca Memmert® y se estimó el %DMS utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Digestibilidad in situ MS \%} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100 \quad (1)$$

2.5. Análisis microbiológico

El análisis microbiológico se realizó en el Laboratorio de Control Biológico localizado en la ciudad de Tunja, Boyacá, Colombia. Se analizó el recuento de bacterias ácido lácticas (ISO 15214:1998, [11]), aerobios mesófilos [12], coliformes totales y fecales (ICMSF:2000 NMP, [13]), esporas de Clostridium sulfito reductor (ISO 15213:2003, [14]), presencia de Salmonella (ISO 6579-1:2017, [15]), y recuento de mohos y levaduras (ISO 21527:2008, [16]).

2.6. Diseño experimental y análisis estadístico

Los tratamientos se realizaron siguiendo un diseño experimental aleatorizado, con repeticiones por triplicado (Tabla 2). Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y las medias con diferencias estadísticamente significativas se compararon mediante la prueba de Tukey con el fin de conocer el efecto del tiempo de fermentación y del porcentaje de inclusión de tamo de cereales en la producción de PC, MS, H, CZ, EE, FDN, FDA, materia orgánica, digestibilidad *in situ* y recuento microbiológico. El análisis de los datos se realizó con el programa estadístico R para Windows.

Tabla 2: Tratamientos según porcentaje de inclusión y tiempo de fermentación.

T	Porcentaje de inclusión	Tiempo (H)
1	10	0
2	20	
3	10	24
4	20	
5	10	48
6	20	

T: Tratamiento, H: horas

3. Resultados y discusión

3.1. Determinación del pH

Un importante indicador inicial del progreso y adecuado proceso de fermentación es el pH. Se ha reportado que un pH entre 3.5–6.0 permite el crecimiento de microorganismos

benéficos, los cuales utilizan cada uno de los ingredientes y los transforman en un producto de mejor calidad [6, 17]. En los tratamientos evaluados, el pH inició en 6.4 y disminuyó paulatinamente a las 24H con leves diferencias de acuerdo con el porcentaje de inclusión de tamo hasta 5.3 y 5.6 para 10 y 20% de inclusión respectivamente. Después de 48 horas de fermentación se alcanzó un pH de 5.3 y 5.4, respectivamente. Resultados similares respecto a disminución y estabilización del pH durante la fermentación en estado sólido de papa como parte de un alimento fueron reportados por Borrás-Sandoval *et al.* [18]. Los autores muestran un pH inicial de 6.7 y estabilización en 5.0. Lo anterior indica que el porcentaje de tamo de cereales incluido en el producto fes obtenido en este estudio no altera en general los resultados de pH durante el proceso de fermentación.

El descenso de este indicador podría estar relacionado con la producción de ácido láctico, vinculado a la presencia de azúcares y almidones procedentes de la papa y las bacterias ácido lácticas provenientes del inoculante microbiano [7]. Al respecto, Caicedo *et al.* [19] hacen referencia a la importancia del pH en los procesos FES, logrando estabilizarse entre las 48 y 96 horas de fermentación por acción de las bacterias ácido lácticas, que transforman los carbohidratos solubles en ácido láctico, y hacen que baje rápidamente el pH hasta estabilizarse generando una buena conservación y preservación del alimento.

3.2. Evaluación de la calidad nutricional

Los análisis de calidad nutricional del producto fes, muestran un efecto del tiempo de fermentación y el porcentaje de inclusión de tamo de cereales en la producción de proteína cruda, materia seca, humedad, cenizas, extracto etéreo, fibra detergente neutra y ácida (tabla suplementaria 1, $p > 0,05$).

Proteína cruda. En relación con la producción de proteína cruda, se evidenció un ascenso a medida que transcurrió el tiempo de fermentación. Con la inclusión de 20% de tamo de cereales se cuantificó un aumento de 2.2 puntos porcentuales a las 48 h de fermentación (Figura 1). Comparado con los resultados obtenidos por Borrás-Sandoval *et al.* [18] quienes analizaron un producto alimenticio obtenido con los mismos ingredientes y porcentajes de inclusión similares, pero excluyendo el tamo, se puede concluir que existe un efecto positivo y estadísticamente significativo del tiempo de fermentación y el porcentaje de inclusión en la obtención de proteína cruda, cuantificándose la mayor producción 17,57% al incluir 20% de tamo en el alimento.

Resultados similares fueron obtenidos por Saavedra *et al.* [20] y Caicedo *et al.* [19], quienes cuantificaron los mayores valores de proteína cruda después de 48 horas de fermentación; mientras que Jiménez *et al.* [21] encontraron la concentración máxima de proteína cruda después de 24 horas de fermentación de cáscara de piña, atribuyendo el resultado al mantenimiento del proceso dentro de un rango adecuado

de pH para el crecimiento de los microorganismos.

Cenizas y extractos etéreos. El tiempo de fermentación afecta significativamente la producción de CZ y EE ($p < 0,05$). Los valores de CZ del producto fes, incrementaron durante el proceso de fermentación. Al incluir 10% de tamo de cereales se evidenció un aumento de 1.5 puntos porcentuales, y con 20% 2.3 puntos (figura 1). El aumento porcentual encontrado en este trabajo concuerda con los incrementos reportados por Moyano [7] en FES de papa y con los resultados encontrados por Caicedo *et al.*, Saavedra *et al.* y Jimenes *et al.* [19, 20, 21] quienes reportaron aumentos de 1.7 puntos porcentuales de CZ con el paso del tiempo de fermentación. Los contenidos de CZ en los procesos de fermentación en estado sólido son importantes para el metabolismo y crecimiento de los microorganismos y por tal motivo se añade premezcla mineral como ingrediente a la dieta [21]. Las fuentes energéticas utilizadas se encuentran relacionadas con el porcentaje de CZ lo que puede llevar a la variación entre dietas con diferentes materias primas [23].

Los resultados de EE muestran una leve disminución del contenido de grasa del producto fes con el transcurso del tiempo, lo cual podría afectar la calidad del producto alimenticio, principalmente cuando se incluye 20% de tamo de cereales que fue la dieta donde se cuantificó la mayor disminución (figura 1).

Materia seca y humedad. En la tabla suplementaria 1, se evidencia que el tiempo afecta significativamente la producción de MS y H ($p < 0,05$). Se evidencia una relación inversamente proporcional respecto a MS y H, a medida que disminuye la MS aumenta la humedad del producto fes (figura 2A). Teniendo en cuenta que para conservar de forma adecuada el alimento e inhibir el crecimiento de microorganismos dañinos como *Clostridium* se deben tener niveles superiores al 30% de MS [19], en este estudio los niveles de MS se mantuvieron por encima del 30%, partiendo con 46% y terminando la fermentación con 43.5 y 44.3% para 10 y 20% de inclusión de tamo de cereales. Resultados similares fueron obtenidos por Brea *et al.* [22], quienes encontraron diferencias significativas en la materia seca sobre el tiempo de fermentación. La materia seca pasó de 36,31% a las 0H a 33,68% a las 48H; mientras que Fonseca *et al.* [23] en FES de zanahoria con inclusiones del 20% de repila de trigo evidenció un aumento (59,7%) de MS entre las 24 y 48H de fermentación relacionado con la utilización de carbohidratos solubles como fuentes energéticas.

Respecto a humedad, Moyano [7] recomienda mantener la humedad entre 30 y 70% para proporcionar un medio de cultivo ideal para los microorganismos. Los incrementos de humedad encontrados en este estudio están entre los rangos recomendados para un adecuado proceso fermentativo y el crecimiento microbiano, cuya posible causa es la liberación de agua por los procesos metabólicos desarrollados por los microorganismos. No obstante, Mejía, Saavedra *et al.* y Caro *et al.* [24, 20, 25] evidenciaron una disminución en la hu-

medad al transcurrir las horas de fermentación debida a la evaporación de agua por medio de la actividad metabólica de los microorganismos.

Fibra detergente neutra y ácida. El análisis de los componentes fibrosos, muestra diferencias estadísticamente significativas, el porcentaje de inclusión de tamo de cereales y el tiempo de fermentación afectan la cantidad de FDN y FDA obtenida, mientras que el contenido de materia orgánica y la hemicelulosa permanecen estables (tabla suplementaria 1).

Los valores de FDN y FDA aumentan con el paso del tiempo. Un aumento de 10.5 puntos porcentuales de FDA al final del proceso de fermentación se cuantificó al incluir 10% de tamo de cereales. La FDN aumenta entre 3 y 4% durante el proceso de fermentación (figura 2B). Incrementos similares fueron reportados por Peláez *et al.* [26], quienes atribuyeron los incrementos a la síntesis de ácidos orgánicos y el consumo de carbohidratos solubles por el hongo *P. sapidus* durante la FES de caña de azúcar. Jimenes *et al.* [21] reportaron incrementos de la FDN y FDA en la FES de cáscara de piña, los cuales atribuyen a que los microorganismos utilizan primero los azúcares que se encuentran disponibles en el contenido celular para síntesis proteica quedando los carbohidratos más complejos, como almidón, celulosa y hemicelulosa, que requieren de una acción enzimática para ser convertidos en azúcares simples.

La digestibilidad *in situ* de la materia seca, no se ve afectada por el tiempo de fermentación, ni por el porcentaje de inclusión de tamo en el producto fes (tabla suplementaria 1, $p > 0,05$). No obstante, valores similares a los encontrados en este estudio sobre digestibilidad fueron reportados por Blandino y Pineda [27] en FES de caña de azúcar con inclusión de harina de granos de Canavalia, con una digestibilidad de la materia seca entre el 71,77% al 73,42% haciendo referencia a que la digestibilidad de la FES dependerá en cierta medida de la composición nutricional y digestibilidad de los sustratos utilizados en el proceso fermentativo. Caicedo *et al.* [19] al evaluar la digestibilidad aparente en cerdos de la materia seca para el FES de banano florito encontraron digestibilidades que sobrepasan el 90%.

La digestibilidad de la materia seca se encuentra relacionada con los materiales vegetales utilizados en la fermentación sin dejar de lado el papel que realizan los microorganismos mejorando la calidad del alimento por su capacidad de producir enzimas que ayudan a la hidrólisis de los nutrientes, logrando resultados mucho mejores comparados con alimentos que no reciben tratamiento antes de ser suministrados [7, 19, 23, 28].

3.3. Análisis microbiológicos.

Ninguna de las condiciones evaluadas, tiempo de fermentación ni porcentajes de inclusión de tamo de cereales afectan significativamente los recuentos de aerobios mesófilos, coliformes fecales y totales, mohos, levaduras, bacterias ácido

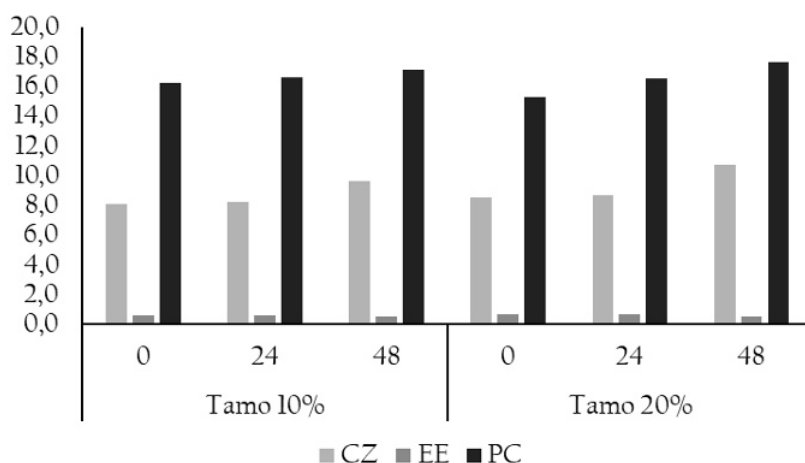


Figura 1: Proteína cruda (PC), cenizas (CZ) y extractos etéreos (EE) cuantificados durante la fermentación en estado sólido de tamo de cereales.

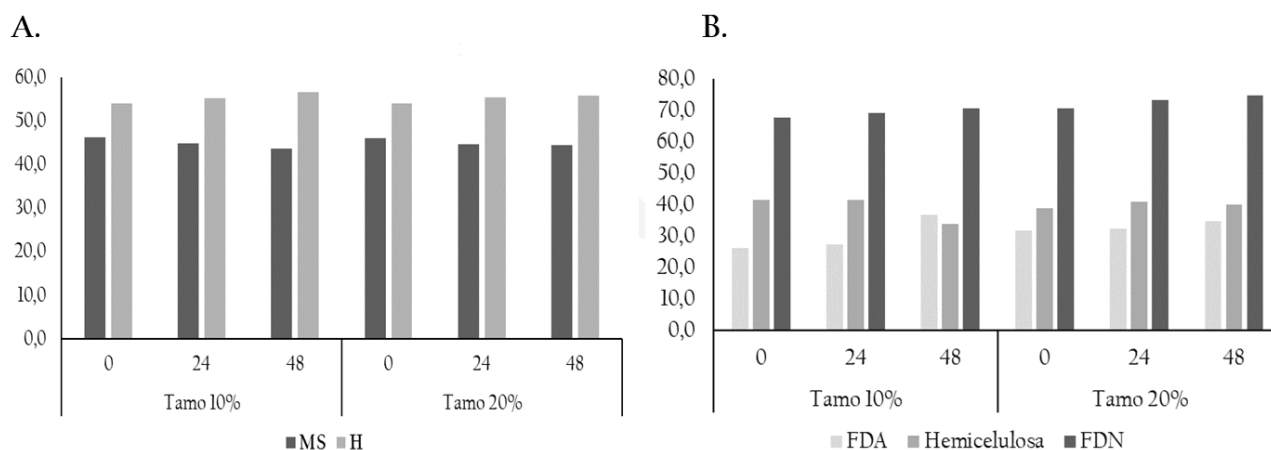


Figura 2: Cuantificación de A. Materia seca (MS), humedad (H) y B. Fibra detergente neutra (FDN), Fibra detergente ácida (FDA) y hemicelulosa durante la fermentación en estado sólido de tamo de cereales.

láticas, salmonella y esporas de *Clostridium* (tabla suplementaria 2). Sin embargo, se encontró que el pH tiene un efecto estadísticamente significativo en el recuento de bacterias ácido lácticas mesófilas.

En un proceso de fermentación las bacterias aerobias mesófilas, expresan la carga total y la actividad de los microorganismos en presencia de oxígeno, a temperaturas que oscilan entre 15 y 45°C [29]. De acuerdo con los resultados obtenidos se cuantificó un aumento de bacterias aerobias mesófilas a medida que transcurrió el tiempo de fermentación. Caro et al. [25] reportaron un comportamiento similar en el recuento de mesófilos aerobios debido principalmente a la estabilización del pH al generarse el consumo de carbohidratos para la formación de proteína microbiana, inhibiendo el crecimiento de enterobacterias por la presencia de bacterias ácido lácticas (BAL).

En este estudio se utilizaron bacterias del género *Lactobacillus* y *Streptococcus* como BAL, las cuales requieren para su

multiplicación azúcares como glucosa y lactosa, aminoácidos, vitaminas y otros factores de crecimiento, la mayoría de los cuales son proporcionados por la leche [30], excelente medio de crecimiento para BAL y producción de metabolitos [31]. Una relación inversamente proporcional fue evidenciada al cuantificarse un aumento del recuento de BAL a medida que disminuyó el pH. Además, de un efecto positivo al incluir 20% de tamo de cereales, ya que al final de la fermentación el recuento de BAL fue mayor comparado con 10% de inclusión. Las bacterias ácido lácticas se desarrollan de manera adecuada en valores de pH entre 4,5 y 6 mientras que a valores menores de 3,8 se ve detenida su actividad metabólica [32]. La incorporación de BAL para la elaboración del producto fcs logra mejorar las características del alimento especialmente de rumiantes [33], y el aumento de la proteína y la digestibilidad del alimento relacionado a la concentración de ácido láctico y ácidos orgánicos producidos durante la fermentación.

Finalmente, los productos feses obtenidos con los dos porcentajes de inclusión de tamo, no presentan esporas de *Clostridium*, ni *Salmonella*, resultado que avala su calidad para utilizarlos como productos sanitariamente seguros en los animales sin perjudicar su salud [34].

4. Conclusiones

La fermentación en estado sólido mostró ser una herramienta biotecnológica útil a través de la cual, utilizando desechos agronómicos como el tamo de cereales incluido como ingrediente en un producto alimenticio, se transforman y obtienen alimentos de buena calidad nutricional e inoocuos para ser suministrados a ovinos.

El porcentaje de inclusión de material vegetal fibroso influye en la calidad del producto alimenticio durante el tiempo de fermentación, en este estudio, 20 es el porcentaje de inclusión de tamo de cereales favorable para obtener incremento en proteína cruda, cenizas, recuento de bacterias ácido lácticas y mejorar la calidad del alimento.

5. Agradecimientos

Los autores agradecen al Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación Francisco José de Caldas y a la Gobernación de Boyacá por la financiación recibida para el desarrollo del proyecto “Desarrollo de un alimento altamente digestible para la alimentación ovina desde residuos post-cosecha”, contrato de financiamiento de recuperación contingente No. 80740-658-2020 y código SGI 2993. Alejandra Rodríguez agradece a la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia con el desarrollo SGI 3250

Referencias

- [1] Gobernación de Boyacá. Plan Departamental de Extensión Agropecuaria (PDEA), Tunja, 2020
- [2] Torres, I. Y. Caracterización de la producción ovina en el municipio de socotá (Boyacá). En I Congreso Iberoamericano y XXXI Internacional en Administración de Empresas Agropecuarias–2018.
- [3] Borrás Sandoval, Luis Miguel; Rache Cardenal, Leidy Y.; Martínez, José J.; Caicedo Pineda, Gerardo Andrés, Biotecnología enfocada al sector agropecuario y minero con guías de laboratorio / Biotechnology in Agricultural and Mining Industries - Including Laboratory Guides / Tunja: Editorial UPTC, 174 p. 2021.
- [4] Georgana, L. E., Ramos, J. A., Salgado, S., & Aranda, E. M. Elaboración de un alimento basado en caña de azúcar a partir de la fermentación en estado sólido y con diferentes niveles de zeolitas. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, 46(2), 159-163. 2012.
- [5] Abarca Pino, G. D. C. Comparación de tres tipos de ensayos de digestibilidad “In vitro” de alfalfa (*Medicago sativa*) con la digestibilidad “In vivo” en cuyes (*Cavia porcellus*) (Bachelor’s thesis, Tesis de licenciatura, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo), 2015.
- [6] Elías A, Lezcano O, Lezcano P, Cordero J, Quintana, L. Reseña descriptiva sobre el desarrollo de una tecnología de enriquecimiento proteínico en la caña de azúcar mediante fermentación solida (Saccharina). Rev. Cubana Cienc. Agríc, 24 (1):3-12, 1990.
- [7] Moyano Bautista, M. A. Fermentación en estado sólido (fes) de la papa (*Solanum Tuberosum*), como alternativa tecnológica para la alimentación animal, 2014.
- [8] AOAC. Official methods of analysis. Washington, DC, USA: Association of Official Analytical Chemists. 1984.
- [9] AOAC. Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Washington, D.C., US. 1213p, 1990.
- [10] Orskov E.R. y McDonald, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. The journal of agricultural science, 92, 499, 1979. <https://doi.org/10.1017/S0021859600063048>
- [11] Blagoeva G, Milev M, Minkova S, Gotcheva V, Angelov A. 2014. Assessment of lactic acid bacteria and Enterobacteriaceae counts in Bulgarian probiotic products by TEMPO® System and ISO Methods. J Nutr Health Food Eng 1(5): 00029. DOI: 10.15406/jnhfe.2014.01.00029
- [12] Compact Dry TC Método de referencia AOAC 966.23 Edition: 2019, AOAC 010401.
- [13] Navarro, J. Evaluación de la calidad microbiológica de *Trachurus picturatus murphyi* “jurel” y *Aulacomya ater* “choro” comercializados en diferentes mercados de los distritos de San Juan de Lurigancho y San Martín de Porres, Lima - Perú. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM, 2017.
- [14] ISO 15213:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions.
- [15] Kirsten A. Mooijman, Annemarie Pielaat, Angelina F.A. Kuijpers, Validation of EN ISO 6579-1 - Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* - Part 1 detection of *Salmonella* spp., International Journal of Food Microbiology, Vol. 288, pp 3-12, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.03.022>.

- [16] Bird, P., Flannery, J., Crowley, E., Agin, J., Goins, D., & Jechorek, R. Evaluation of the 3M™ Petrifilm™ rapid yeast and mold count plate for the enumeration of yeast and mold in food: Collaborative study, first action 2014.05. *Journal of AOAC International*, vol. 98(3), pp. 767-783, 2015.
- [17] Pandey A., C.R. Soccol, J.A. Rodríguez-León y P. Nigam. *Solid-state fermentation in biotechnology. Fundamentals and applications*. Asiat-ech Publishers, IC. New Delhi. 221 p. 2011.
- [18] Borrás-Sandoval, L. M., Iglesias, A. E., & Saavedra-Montañez, G. F. Evaluación de la dinámica de conservación del producto final de un alimento obtenido por fermentación en estado sólido de la papa (Fes-papa). *Ciencia y Agricultura*, vol. 12(1), pp. 73-82, 2015.
- [19] Caicedo, W., Ferreira, F. N., Viáfara, D., Guamán, A., Sócola, C., Pérez, M., et. al. Evaluación química y digestibilidad fecal de cerdos en crecimiento alimentados con banano fiorito (*Musa acuminata* AA) fermentado en estado sólido. *Livestock Res Rural Dev*, 31(11). 2019.
- [20] Saavedra Montañez, G. F., Borrás Sandoval, L. M., Cala Guerrero, D. C., Ensilaje líquido de residuos de durazno (*Prunus pérsica*) como alternativa para la alimentación animal. *Ciencia en Desarrollo*, Vol. 11, 2020.
- [21] Jiménez-Alfaro, D., Sobalvarro-Mena, J. L., & Elizondo-Salazar, J. A. Enriquecimiento proteico de dos especies forrajeras y cáscara de piña por medio de fermentación en estado sólido. *Agronomía Costarricense*, vol. 44(2), pp. 175-187, 2020.
- [22] Brea-Maure, O., Elías-Iglesias, A., Ortiz-Milán, A., Motta-Ferreira, W., & Hechavarría-Riviaux, S. Efecto de la urea y del tiempo en la fermentación en estado sólido de la harina de frutos del árbol del pan (*Artocarpus altilis*). *Ciencia y Agricultura*, vol. 12(2), pp. 91-101, 2015.
- [23] Fonseca-López, D., Saavedra-Montañez, G., & Rodríguez-Molano, C. E. Elaboración de un alimento para ganado bovino a base de zanahoria (*Daucus carota* L.) mediante fermentación en estado sólido como una alternativa ecoeficiente. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, vol. 12(1), pp 175-182, 2018.
- [24] Mejía Tinoco, W. A. Fermentación en estado sólido de *Saccharum officinarum* con follaje de *Moringa oleifera* para alimentación porcina (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Agraria), 2017.
- [25] Caro-Cusba, N. L., Saavedra-Montañez, G. F., & Borrás-Sandoval, L. M. Evaluación de subproductos de *Solanum tuberosum* y *Daucus carota* mediante FES como alternativa en la alimentación animal. *Ciencia y Agricultura*, vol. 18(2), pp. 55-66, 2021.
- [26] Peláez-Acero, Armando, Meneses-Mayo, Marcos, Miranda-Romero, L. Alberto, Ayala-Martínez, Maricela, Crosby-Galván, M. Magdalena, Loera-Corral, Octavio, & Megías-Rivas, M. Dolores. Enzimas fibrolíticas producidas por fermentación en estado sólido para mejorar los ensilajes de caña de azúcar. *Agrociencia*, vol. 45(6), pp. 675-685. 2022.
- [27] Blandino Guido, G. A., & Pineda Blandón, J. A. Caracterización nutricional de la fermentación en estado sólido de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) con diferentes niveles de inclusión de harina de granos de Canavalia (*Canavalia ensiformis*), 2015 (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Agraria).
- [28] Nkosi, B., Meeske, R., Langa, T. & Thomas, S. (2011). Effects of bacterial silage inoculants on whole-crop maize silage fermentation and silage digestibility in rams. *S. Afr. j. anim. sci.* [revista en la Internet]. 2011. 41(4): 350-359. Disponible en: http://www.scielo.org.za/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S03751589201100040005&lng=es. [consultado: Oct. 25. 2022].
- [29] Díaz, B., Elías, A. & Valiño, E., (2014). Consorcios microbianos con actividad ácido-láctica promisorios aislados desde inoculantes bacterianos nativos para ensilajes. *Rev. Ciencia y Agricultura* Vol. 11 (1), pp. 17-25, 2014.
- [30] Azadnia, P., Zamani, M., Shah, G., Khalegh, M., Karimi, M. & Taarof, N. Isolation and identification of thermophilic Lactobacillid from traditional yoghurts of tribes of Kaserum. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. vol. 10(6), pp. 774-776, 2011.
- [31] Vásquez, S., Suárez, H. & Zapata, S. Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Revista Chilena de Nutrición*. 36:64-71, 2009.
- [32] Borrás-Sandoval, L. M., Valiño-Cabrera, E. C., & Rodríguez-Molano, C. E. Preparado microbiano con actividad ácido láctica como acelerante biológico en los procesos de fermentación para alimento animal. *Ciencia y Agricultura*, vol. 14(1), pp. 7-13, 2017.
- [33] Thomas, R., Nkosi, BD, Umesiobi, DO, Meeske, R., Kanengoni, AT, y Langa, T. Evaluation of potato hash two silage inoculants bacteria and their effects on the growth of fattening pigs. *Sudafricana Journal of Animal Science*, vol. 40 (5), pp. 488-490, 2013.
- [34] Borrás, L. M., Valiño, Elaine. C., Elías †, A., Martínez, J. J., Sanabria, A. M., & Becerra, Mónica. L. Fermentación en estado sólido de residuos poscosecha de *Solanum tuberosum* y un preparado microbiano. *Cuban Journal of Agricultural Science*, vol. 54(4), pp. 525-533, 2020.

6. Anexos

Tabla suplementaria 1. Efecto del tiempo de fermentación y % de inclusión del sustrato en los indicadores bromatológicos.

Indicadores	Tiempo	Material vegetal fibroso Tamo de cereales		EE ± sign
		Inclusión 10%	Inclusión 20%	
Materia seca	0	46,13 ^a	46,00	± 1,00 p<0.5
	24	44,80 ^{ab}	44,60	
	48	43,53 ^b	44,30	
Humedad	0	53,86 ^b	54,00	± 1,00 p<0.5
	24	55,20 ^{ab}	55,40	
	48	56,46,53 ^{ab}	55,70	
Cenizas	0	8,13 ^b	8,46 ^b	± 1,24 p<0.5
	24	8,20 ^b	8,66 ^b	
	48	9,63 ^a	10,73 ^a	
Extracto etéreo	0	0,64 ^a	0,72 ^b	± 0,01 p<0.5
	24	0,59 ^{ab}	0,71 ^{ab}	
	48	0,50 ^b	0,48 ^b	
Fibra Detergente Neutra	0	67,50 ^c	0,72 ^b	± 1,48 p<0.5
	24	68,96 ^c	73,20 ^{ab}	
	48	70,46 ^{bc}	74,56 ^a	
Fibra Detergente Ácida	0	26,23 ^c	31,80 ^b	± 1,27 p<0.5
	24	27,53 ^c	32,43 ^b	
	48	36,70 ^a	34,60 ^{ab}	
Materia Orgánica	0	91,86 ^a	90,86 ^a	± 1,16 p>0.5
	24	91,80 ^a	91,33 ^a	
	48	90,36 ^a	89,26 ^a	
Hemicelulosa	0	41,26 ^a	38,70 ^a	± 2,46 p<0.5
	24	41,43 ^a	40,76 ^a	
	48	33,76 ^b	39,96 ^a	
Digestibilidad in situ de materia seca	0	82,35 ^a	77,76 ^a	p>0.5
	24	77,34 ^a	77,13 ^a	
	48	76,79 ^a	75,91 ^a	

Tabla suplementaria 2. Efecto del tiempo de fermentación y el porcentaje de inclusión del sustrato en los indicadores de microbiología.

Indicadores	Tiempo	Material vegetal fibroso Tamo de cereales		EE ± sign
		Inclusión 10 %	Inclusión 20 %	
Aerobios mesófilos (UFC/g)	0	$4,4 \times 10^3 (a)$	$3,6 \times 10^3 (a)$	p>0.5
	24	$6,0 \times 10^2 (a)$	$7,2 \times 10^3 (a)$	
	48	$4,6 \times 10^3 (a)$	$1,6 \times 10^3 (a)$	
Coliformes fecales (NMP/g)	0	1100 ^a	53 ^a	p>0.5
	24	16 ^a	20 ^a	
	48	6,2 ^a	1100 ^a	
Coliformes totales (NMP/g)	0	1100 ^a	1100 ^a	p>0.5
	24	1100 ^a	1100 ^a	
	48	1100 ^a	1100 ^a	
Mohos (UFC/g)	0	<10 ^a	$2,8 \times 10^2 (a)$	p>0.5
	24	$1,0 \times 10^1 (a)$	$6,8 \times 10^1 (a)$	
	48	<10 ^a	<10 ^a	
Levaduras (UFC/g)	0	<10 ^a	$3,0 \times 10^3 (a)$	p>0.5
	24	$1,0 \times 10^2 (a)$	$8,0 \times 10^1 (a)$	
	48	<10 ^a	<10 ^a	
Recuento de bacterias ácido lácticas mesófilas (UFC/g)	0	$8,0 \times 10^1 (a)$	$6,4^2 (a)$	p>0.5
	24	$4,1 \times 10^3 (a)$	$7,2 \times 10^3 (a)$	
	48	$3,5 \times 10^3 (a)$	$1,7 \times 10^4 (a)$	
Salmonella sp (A-P / 25g)	0	AUSENCIA /25g	AUSENCIA /25g	
	24	AUSENCIA /25g	AUSENCIA /25g	
	48	AUSENCIA /25g	AUSENCIA /25g	
Hemicelulosa	0	<10	<10	
	24	<10	<10	
	48	<10	<10	