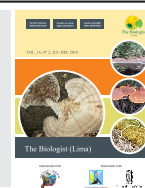




The Biologist (Lima)



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

EFFECT OF A BIO-PREPARATION ON THE PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CASSAVA SILAGE WITH COWPEA

EFFECTO DE UN BIOPREPARADO SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DEL ENSILAJE DE YUCA CON CAUPI

José Efraín Miranda-Yuquilema^{1,2*}; Alfredo Marín-Cárdenas²;
Mabel González-Pérez³ & Angélica Petrona Valla-Cepeda⁴

¹ Becario del Instituto de Fomento a Talento Humano, SENESCYT, Ecuador.

² Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuani Km 5 ½. Santa Clara. Cuba.

³ Centro de Investigaciones Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuani Km 5 ½. Santa Clara. Cuba.

⁴ Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Panamericana sur 1 ½ km, Riobamba, Ecuador.

* Author for correspondence: efra_miranda@outlook.com

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the physics, chemistry, microbiology and formation of fatty acids change of cassava silage with cowpea used on microbial preparation. 45 kg of cassava (leaves, stem and root), 25 kg of cowpea flour and 5 L of microbial preparation containing *Lactobacillus acidophilus* (Moro, 1900); Hansen & Mørcquot, 1970, *Streptococcus thermophilus* (ex Orla-Jensen, 1919) Schleifer et al., 1995 y *Kluyveromyces fragilis* Van der Walt, 1971 (L-4 UCLV) were used. The variants were: T1, cassava more 30% of cowpeas and 8% prepared microbial. T2, cassava plus 30% of cowpea and 12% microbial preparation. T3, cassava plus 30% of cowpeas and 15% microbial preparation. A completely randomized design was used. The physical, chemical, fibrous, microbiological characteristics and formation of short chain fatty acids were evaluated. For 12 months, crude and true protein values were higher in T2. The fibrosity was lower in T2 and T3. The pH remained below 3.98. Short chain fatty acids improved in all treatments. It is concluded that the use of bio-preparations in cassava silage with 30% of cowpea is able to conserve the physicochemical properties and the pH values are kept below 3.98 for 12 months; likewise, the indices of dry matter and short chain fatty acids were improved. In addition, the presence of *Salmonella* spp., *E. coli* and total coliforms was eliminated by adding bio-preparations.

Keywords: alternative foods – food preservation – lactic bacteria – yeasts

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar los cambios físicos, químicos, microbiológicos y formación de ácidos grasos en el ensilaje de yuca con caupí y preparado microbiano. Se emplearon 45 kg yuca (hojas, tallo y raíz), 25 kg harina de caupí y 5 L de preparado microbiano que contenía *Lactobacillus acidophilus* (Moro, 1900); Hansen & Mocquot, 1970, *Streptococcus thermophilus* (ex Orla-Jensen, 1919) Schleifer *et al.*, 1995 y *Kluyveromyces fragilis* Van der Walt, 1971 (L-4 UCLV). Las variantes evaluadas fueron: T1, yuca integral más 30% de caupí y 8% biopreparado. T2, yuca integral más 30% de caupí y 12% biopreparado. T3, yuca integral más 30% de caupí y 15% biopreparado. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado. Se evaluaron, las características físicas, químicas, fibrosas, microbiológicas y formación de ácidos grasos de cadena corta. Durante 12 meses, los valores de proteína cruda y verdadera fueron mayores en el T2. La fibrosidad fue menor en el T2 y T3. El pH mantuvo por debajo de 3,98. Los ácidos grasos de cadena corta mejoraron en todos los tratamientos. Se concluye que el empleo del preparado microbiano en el ensilaje de yuca integral con 30% de caupí se logra conservar las propiedades fisicoquímicas y los valores de pH se mantienen por debajo de 3.98 por 12 meses; así mismo, los índices de la materia seca y los ácidos grasos de cadena corta se mejoraron. Además, se logró eliminar la presencia de *Salmonella* spp., *E. coli* y coliformes totales.

Palabras clave: alimentos alternativos – conservación del alimento – bacterias lácticas – levaduras

INTRODUCCIÓN

Un método económico y de fácil acceso es el ensilaje, el mismo, permite conservar productos de rápido deterioro, a su vez, mejore los indicadores nutritivos de los alimentos empleados (Danelon *et al.*, 2010). El aumento continuo de los costos de alimentos balanceados superando los 80 por ciento del costo total de la producción animal ha limitado su uso y minimizado las utilidades de los pequeños y medianos productores (Heguy *et al.*, 2016). Por ello, la búsqueda de soluciones y alternativas que logren dar respuesta a las necesidades básicas de la producción animal es apremiante. En tal sentido, un método de producción, conservación de alimentos de rápido deterioro y con alto valor biológico es el ensilaje, con esta técnica se busca reducir la pérdida de los requerimientos nutricionales del material empleado, para compensar los costos de producción (Fernández-Herrero *et al.*, 2013; Ali *et al.*, 2014; Miranda-Yuquilema *et al.*, 2014). En la actualidad, la producción (tubérculos, granos, frutales y forrajes) y la conservación es clave para la producción ganadera de los países en vía de desarrollo, para

palear los desafíos que atraviesa el planeta (Hoffman *et al.*, 2011).

El ensilaje de yuca (hoja, talla y raíz) con harina de caupí al emplear preparado microbiano pudiera resultar eficiente y económico para obtener un alimento proteico-energético con bioestimulantes para la dieta animal. Los alimentos alternativos han sido evaluado y utilizado en las diferentes especies animales con resultados alentadores, un ejemplo de esto, aumentos de peso y ganancia media diaria en cerdos en la etapa ceba (Kung *et al.*, 2015). En las vacas y cabras lecheras, se ha visto mejorar la producción de leche (Danelon *et al.*, 2010). El empleo de enzimas y preparados microbianos obtenidos a partir de *Lactobacillus acidophilus* (Moro, 1900); Hansen & Mocquot, 1970, *L. buchneri* (Henneberg, 1903) Bergey *et al.*, 1923, *Kluyveromyces marxianus* Van der Walt, 1971 (L-4 UCLV) en el ensilaje de alfalfa, hojas de maíz, sorgo, plátano, yuca planta integral, patatas y frijoles forrajeros ha mejorado los parámetros nutritivos (Miranda *et al.*, 2014; Spanghero *et al.*, 2015). Así mismo, en pruebas “*in situ*” se ha observado; a) mejorar la degradación fibrosa de los forrajes (Hoffman *et al.*, 2011), b) aumento el

tiempo de conservación sin afectar al contenido nutritivo (Miranda *et al.*, 2014), c) inhibe el crecimiento de *Clostridium*, *Clostridium botulinum* van Ermengem, 1895, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* (E. Murray *et al.*, 1926) Pirie, 1940, entre otros (Lyncha *et al.*, 2014; Kung *et al.*, 2015), d) reduce el deterioro rápido de los tubérculos y frutales durante la conservación (Dadvar *et al.*, 2015, Miranda *et al.*, 2017a). El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto del cultivo microbiano, sobre la composición fisicoquímica, microbiológica y los niveles de ácidos grasos de cadena corta del ensilaje de yuca con caupí.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. El estudio se realizó en el laboratorio de bromatología, Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP), Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Santa Clara, Cuba.

Material empleado. Se emplearon 45 kg de Yuca (*Manihot esculenta* Crantz) planta integral (hoja, talla y raíz) fresca, con el siguiente valor nutritivo: 43,43% de materia seca (MS), 4,5% de proteína cruda (PC) y 0,9% ceniza (Cz). 25 kg harina de Caupí (*Vigna unguiculata* (L) Walp.) que contiene, 85% MS, 26,1% PC, 1,0 % extracto etéreo (EE), y 3,2 Cz y 5 L de cultivo microbiano.

Selección, activación de las cepas y obtención del preparado microbiano. Las cepas seleccionadas para el desarrollo del cultivo microbiano fueron: *L. acidophilus*, *S. thermophilus* y *K. fragilis* (L-4 UCLV) proveniente del banco de microorganismos de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Las cepas en formato biomasa fue activado en 250 mL de leche de soya ácida a 37°C por 24 h, en una estufa con agitador orbital (Nkubationshaube TH 15, Alemania) a 60 rpm, según la metodología descrita por Miranda *et al.* (2017a). Una vez activados los microorganismos, se procedió a obtener el preparado microbiano. El cultivo microbiano, estuvo compuesto por 150 mg (Balanza Analítica Radwag AS 220/C/2, Suiza) de biomasa anteriormente descrita. La mezcla de estos cultivos

fue inoculada en 2,5 L de yogur de soya más 600 g de melaza de caña de azúcar a $34 \pm 2^\circ\text{C}$ y se incubó a 37°C por 24 h. Finalmente se caracterizó, según la metodología descrita por Miranda *et al.* (2014). El mismo contenía 13,35% de materia seca (MS), 3,5% de proteína bruta (PB), 3,9 pH y 9×10^8 UFC/mL de concentración microbiana.

Obtención de diferentes variantes de ensilaje. Yuca entera (raíz, tallo, hojas) fue molida utilizando en un molino martillo (DPM-4 NOGUEIRA, Brasil), hasta obtener un tamaño aproximadamente de 6 mm. Seguidamente, se mezcló con 30% de harina de caupí, a continuación, se procedió a inocular preparado microbiano como se aprecia en la Tabla 1. Todos los tratamientos fueron conservados en frascos de cristal de boca ancha con capacidad de 1 kg estéril, con una temperatura ambiente de $12 \pm 2^\circ\text{C}$, según la metodología descrita por Miranda *et al.* (2017b).

Variables de respuesta

Caracterización, física y química. Color: mediante código HTML descrita por Miranda *et al.* (2017b). Aroma, sabor y textura, se evaluó por los sentidos sensoriales del investigador siguiendo la metodología descrita por Acevedo *et al.* (2009). La determinación de PC y PV se realizó mediante la metodología descrita por Dadvar *et al.* (2015). MS, Cz, EE, Fibra ácida detergente (FAD), lignina y celulosa, se determinó mediante métodos de AOAC (2012). El pH se midió en un pHmetro (HANNA® *H 110, USA), calibrado a 5.

Análisis microbiológico. Se tomaron 25 g de cada tratamiento independientemente al tratamiento, seguidamente se inoculó en 50 mL de suero fisiológico, finalmente fue incubado por 24 h a 37°C. Seguidamente, se centrifugaron las muestras en una centrifuga (BD DYNAC™ III) a 600 rpm por 5 min, todos por separado. La determinación de ácido láctico, ácido propiónico, ácido butírico se realizó mediante las metodologías descritas por Sourav & Arijit (2010) y Kung *et al.* (2015). La evaluación de la viabilidad de determinó mediante la metodología descrita por Miranda *et al.* (2017b).

Crecimiento de la población microbiana en el ensilaje: 50 g de ensilaje fue diluido en 250 mL de agua estéril con solución de Ringer (Oxoid BR0052G, Unipath, Basingstoke, UK), hasta la escala 0,5 del esquema MacFarland y las muestras

fueron homogenizadas a 150 rpm con un agitador magnético (JOAN o OEM, MS001, CN; Suiza) durante 5 min. Finalmente se evaluaron el crecimiento de levaduras, *Lactobacillus*, *Salmonella* spp., *E. coli* y Coliformes totales, según la metodología escrita por Kung *et al.* (2015) y Miranda *et al.* (2017a).

Aspectos éticos: La recolección y utilización del material empleado (yuca integral, harina de caupí y microorganismos) fue de manera oportuna y sin generar ningún efecto dañino al medio ambiente. Se respetaron todos los protocolos para la manipulación y conservación.

Análisis estadístico. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con cinco tratamientos y seis repeticiones. Todas las variables fueron analizadas mediante STATGRAPHIC Plus versión 15,1. La comparación de media de los tratamientos se la realizó mediante la prueba de Duncan (1955).

RESULTADOS

En la tabla 2, se reporta las características físicas, del ensilaje de yuca integral (hojas, tallo y raíz) más harina de caupí y preparado microbiano durante 12 mes de conservado. En lo que se refiere a la aroma, color, sabor y textura al momento de ensilar fue: ácido dulzón, marrón verdoso, ácido dulzón y pastosa respectivamente, para todos los tratamientos. Estas características físicas de los ensilados no variaron durante el estudio.

Los índices de la composición química del ensilaje de yuca con harina de caupí, se aprecia en la Tabla

3. Los valores de la PC y PV fue mayor ($P < 0,05$) en T2 y T3, frente a T1, al momento de ensilar. Mientras que, en la evaluación realizada a los 12 meses de ensilado los índices de PC y PV fue mayor ($P < 0,05$) en el T2. FAD y lignina fue mayor ($P < 0,05$) en el T1 frente a T2 y T3, sin diferencia entre estos últimos, a los 12 meses de conservado. En cuanto a la MS, EE, Cz y celulosa no defirieron entre tratamientos en todas las evaluaciones realizadas.

En la Tabla 4 se observa el comportamiento de pH y los ácidos grasos de cadena corta (láctico, butírico y propiónico) en el ensilaje de yuca con caupí. Al momento de ensilar los valores de pH oscilaba entre 4,37 y 4,46. Sin embargo, a los 12 meses de conservado los índices de pH se encontraron por debajo de 3,98. En cuanto a la viabilidad microbiana de todos los tratamientos se mantuvieron por encima de 94% hasta los 12 meses de ensilado. Con respecto a los índices de ácido láctico, butírico y propiónico al momento de ensilar fueron bajos en todas las variantes en estudio. Pero, a los 12 meses de conservado los valores de los ácidos grasos de cadena corta aumentaron notablemente en todos los tratamientos, sin diferencias significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos.

Al momento de ensilar, el número de unidades formadoras de colonias (UFC) de las levaduras y los *Lactobacillus* spp., fue superior a $4,2 \times 10^5$ UFC·g⁻¹ en todos los tratamientos. Sin embargo, estos valores en la evaluación realizada a los 12 meses de conservado, se aumentaron por encima de $7,2 \times 10^6$ UFC·g⁻¹. La presencia de *Salmonella* spp., *E. coli* y coliformes totales al inicio fue superior a $1,2 \times 10^4$ UFC·g⁻¹. Mientras que, en la medición realizada a los 12 mes de conservado no hubo crecimiento (ver la Tabla 5).

Tabla 1. Los tratamientos empleados en el estudio.

Tratamientos	Material empleado
T1	Yuca integral (raíz + talla + hoja) + 30% caupí + 8% preparado microbiano
T2	Yuca integral más + 30% harina de caupí + 12% preparado microbiano
T3	Yuca integral más + 30% harina de caupí + 15% preparado microbiano

Tabla 2. Característica física (inicio, dos meses) del ensilaje de yuca con caupí con el preparado microbiano

Tiempo	Indicadores	Tratamientos			SEM	P
		T1	T2	T3		
Inicio	Aroma	4	4	4	0,02	-
	Color	3	3	3	0,21	-
	Sabor	3	3	3	0,04	-
	Textura	2	2	2	0,12	-
12, meses	Aroma	3	4	4	0,06	-
	Color	3	3	3	0,02	-
	Sabor	3	3	3	0,01	-
	Textura	2	2	2	0,12	-

^{a,b,c} letras desiguales en la misma fila, las medias difieren a $P < 0.05$ (Duncan, 1955). **T1**, Yuca integral (hoja, talla, raíz) + 30% caupí y 8% preparado microbiano. **T2**, Yuca integral + 30% harina de caupí y 12% preparados microbiano. **T3**, Yuca integral + 30% harina de caupí y 15% preparado microbiano. **Aroma**: 0 Sin olor, 1 Putrefacto, 2 Láctica, 3 Acido, 4 Acido dulzón, 5 dulzón. **Sabor**: 1 Amargo, 2 Rancio, 3 ácido dulzón, 4 Dulce, 5 Muy dulce. **Textura**: 0 semilíquida, 1 cremosa, 2 pastosa, 3, consistente 4 sólida. **Color (HTML)**: 1, #808000 (verde olivo). 2, #669933 (verde lechoso). 3, #B8860B (marrón verdoso). 4, #29241E (gris osucro). 5, #000000 (negro).

Tabla 3. Característica química (inicio, dos meses) del ensilado de yuca con caupí, al incluir preparado microbiano.

Tiempo	Indicadores	Tratamientos			SEM	P
		T1	T2	T3		
Inicio	MS % (m/m)	28,55	28,82	29,17	0,07	0,12
	PC %, (m/m)	13,22 ^b	14,34 ^a	14,42 ^a	0,01	0,00
	PV % (m/m)	8,21 ^b	9,15 ^a	9,54 ^a	0,01	0,01
	EE %, (v/v)	2,11	2,13	2,08	0,02	0,25
	Cz %, (m/m)	2,52	2,43	2,68	0,03	0,23
	FAD %, (m/v)	10,38	10,12	10,12	0,01	0,81
	Lig % (m/v)	5,18	5,22	5,08	0,01	0,57
	Cel % (m/v)	0,84	0,81	0,86	0,06	0,06
12, meses	MS % (m/m)	32,85	33,42	33,67	0,03	0,05
	PC %, (m/m)	13,12 ^b	14,54 ^a	13,21 ^b	0,11	0,02
	PV % (m/m)	8,33 ^b	9,43 ^a	8,24 ^b	0,06	0,01
	EE %, (v/v)	2,18	2,51	2,12	0,04	0,64
	Cz %, (m/m)	3,52	3,63	3,44	0,87	0,13
	FAD %, (m/v)	9,98 ^a	8,14 ^b	8,62 ^b	0,04	0,00
	Lig % (m/v)	3,62 ^a	3,03 ^b	3,15 ^b	0,12	0,01
	Cel % (m/v)	0,57	0,52	0,58	0,04	0,12

^{a,b,c} superíndices diferentes en la misma fila difieren $P < 0.05$ (Duncan, 1955). **T1**, Yuca integral (hoja, talla, raíz) + 30% caupí y 8% preparado microbiano. **T2**, Yuca integral + 30% harina de caupí y 12% preparados microbiano. **T3**, Yuca integral + 30% harina de caupí y 15% preparado microbiano. **MS**, materia seca. **PC**, proteína cruda. **PV**, proteína verdadera. **EE**, extracto etéreo. **Cz**, ceniza. **FAD**, fibra acida detergente. **Lig**, lignina. **Cel**, celulosa. **m/m**, masa/masa. **v/v**, volumen/volumen. **m/v**, masa/volumen.

Tabla 4. Los valores de pH, fermentación de ácidos grasos de cadena corta (láctico, butírico y propiónico) del ensilaje de yuca con caupí, al incluir cultivo microbiano.

Tiempo	Indicadores	Tratamientos			SEM	P
		T1	T2	T3		
Inicio	pH	4,42	4,46	4,37	0,12	0,25
	Viab %, (v/v)	94	94	94	0,01	0,84
	Ácid láct, g/kg	11	11	10	0,02	0,52
	Acid but, g/kg	0,7	0,8	0,9	0,03	0,12
	Ácid prop, g/kg	0,8	0,9	0,8	0,01	0,08
12, meses	pH	3,96	3,98	3,98	0,12	0,52
	Viab %, (v/v)	94	94	94	0,01	0,52
	Ácid láct, g/kg	53	54	54	0,06	0,71
	Acid but, g/kg	2,21	2,34	2,35	0,02	0,07
	Ácid prop, g/kg	3,15	3,12	3,14	0,01	0,53

^{a,b,c} letras distintas en la misma fila difieren $P < 0.05$ (Duncan, 1955). **T1**, Yuca integral (hoja, talla, raíz) + 30% caupí y 8% preparado microbiano. **T2**, Yuca integral + 30% harina de caupí y 12% preparados microbiano. **T3**, Yuca integral + 30% harina de caupí y 15% preparado microbiano. **Viab**, viabilidad. **Acid lact**, ácido láctico. **acid but**, ácido butírico. **Acid prop**, ácido propiónico. v/v, volumen/volumen. g/kg, gramo/kilogramos.

Tabla 5. Crecimiento de levaduras, *Lactobacillus* y microorganismos patógenos (*Salmonella* spp., *Escherichia coli* y coliformes totales) del ensilaje de yuca con caupí, al incluir preparado microbiano.

Tiempo	Indicadores (UFC·g ⁻¹)	Tratamientos			SEM	P
		T1	T2	T3		
Inicio	Levaduras	4,2x10 ⁵	6,4x10 ⁶	8,4x10 ⁷	0,02	-
	<i>Lactobacillus</i> spp	3,2x10 ⁵	3,4x10 ⁶	3,4x10 ⁷	0,01	-
	<i>Salmonella</i> spp	1,3x10 ⁴	1,3x10 ³	1,3x10 ²	0,06	-
	<i>Escherichia coli</i>	2,2x10 ²	2,3x10 ⁴	1,2x10 ³	0,01	-
	Coliformes totales	2,4x10 ³	1,2x10 ³	2,1x10 ⁴	0,02	-
12, meses	Levaduras	7,2x10 ⁵	7,4x10 ⁶	8,4x10 ⁷	0,06	-
	<i>Lactobacillus</i> spp	7,2x10 ⁵	7,4x10 ⁶	8,4x10 ⁷	0,02	-
	<i>Salmonella</i> spp	ND	ND	ND	-	-
	<i>Escherichia coli</i>	ND	ND	ND	-	-
	Coliformes totales	ND	ND	ND	-	-

^{a,b,c} medias con superíndices diferentes en la misma fila difieren a $P < 0.05$ (Duncan, 1955). **T1**, Yuca integral (hoja, talla, raíz) + 30% caupí y 8% preparado microbiano. **T2**, Yuca integral + 30% harina de caupí y 12% preparados microbiano. **T3**, Yuca integral + 30% harina de caupí y 15% preparado microbiano. **ND**: no presencia. **UFC·g⁻¹**, unidades formadoras de colonia.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio en lo que se refiere a las características físicas del ensilaje de yuca integral más caupí y preparado microbiano, conservado por 12 meses (tabla 2), se asemeja a los estudios previamente realizados por Miranda *et al.* (2014, 2017) en el ensilaje de yuca integral con la inclusión de las diferentes concentraciones de harina de caupí (20, 30 y 40 %) y cultivo microbiano, conservado desde dos hasta 18 meses. Ke *et al.* (2015) observaron la interacción que existe entre la materia prima y las condiciones ambientales que pudiera afectar las propiedades físicas de los ensilajes durante la conservación. Mientras que, Danelon *et al.* (2010), Heguy *et al.* (2016) y Mahecha *et al.* (2017) observaron que las características físicas de los ensilados dependían de la calidad y el contenido nutritivo, pero fundamentalmente de la especie y la diversidad de la materia prima empleada. Sin embargo, Spanghero *et al.* (2015) y Miranda *et al.* (2017) presumen que la característica física de alta calidad es por el empleo de los microorganismos, los mismos que influyen positivamente en la conservación de los ensilados. Por su parte Muck *et al.* (2010) y Hoffman *et al.* (2011) mencionaron que los cambios físicos de los alimentos conservados son debido a las variaciones del pH. Touno *et al.* (2014); Mahecha *et al.* (2017) y Miranda *et al.* (2017b) al emplear forraje de soja marchitada, gramíneas, arbustos, yuca integral más caupí y forraje de maíz reportaron similares características físicas a los obtenidos en el presente trabajo.

El comportamiento de los parámetros químicos (Tabla 3) del ensilaje de yuca integral más caupí y preparado microbiano del presente trabajo, podría estar relacionada al contenido bromatológico de la materia prima empleada (Eckard *et al.*, 2011; Fernández *et al.*, 2013; Ke *et al.*, 2015). Mahecha *et al.* (2017), reportaron aumentar los niveles de los compuestos nitrógenados y de ácidos orgánicos, debido a la pérdida de los azúcares solubles en los ensilajes con alto contenido de la MS. Por su parte, Ke *et al.*, (2015) y Fernández-Herrero *et al.* (2013) observaron mejorar la contracción de los ácidos grasos de cadena corta, dicho aumento, redujo la proteólisis de los ensilajes, cuando los silos contenían preparados microbianos, los

microorganismos benéficos inoculados en los ensilajes evitan la proliferación de los agentes patógenos como los *Clostridium* (Kung *et al.*, 2015). En este mismo sentido, en estudios preveos, Miranda *et al.* (2014) observaron mejorar los contenidos de la MS, PC y PV en el ensilaje de yuca con caupí al emplear microorganismos anaerobios. Ke *et al.* (2015) y Ali *et al.* (2014) mejoraron los contenidos de la composición nutritiva de los ensilajes cuando estos contenían microorganismos benéficos, en pruebas realizadas “*in vitro*”. Mientras que, Schmidt *et al.* (2009) no reportaron diferencia significativa ($P \leq 0,05$), en los índices de los parámetros nutritivos, al emplear enzimas en el ensilaje de alfalfa. Sin embargo, Danelon *et al.* (2010) y Spanghero *et al.* (2015) mejoraron el contenido de la PC, PV y EE al inocular enzimas energéticas en el ensilaje de alfalfa.

Heguy *et al.* (2016), registraron la reducción de los niveles de FAD, lignina y celulosa en el ensilaje de hojas de maíz con el preparado microbiano. Reducción de las partes fibrosas también fue reportado por Lynch *et al.* (2014), Kung *et al.* (2015) y Heguy *et al.* (2016) en el ensilaje de maíz planta integral (raíz, tallo y hojas) y sorgo con maíz, cuando emplearon enzimas fibrolíticas y microorganismos benéficos. En estudios previos, Miranda *et al.* (2017b) observaron diferencias significativas de la celulosa, lignina y FAD en el ensilaje de yuca integral más diferentes concentraciones de harina de caupí y preparados microbianos. Danelon *et al.* (2010) observaron reducir las fracciones celulósicas cuando los ensilajes contenían mayor número ($\text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$) de bacterias ácido lácticas. Sin embargo, Der Bedrosian *et al.* (2012) no observaron variación en el contenido de la fibra en los ensilajes con preparados microbianos.

El pH menor en los ensilajes al incluir preparado microbiano en la evaluación realizada a los 12 meses después de ensilar probablemente contribuyó a la menor proteólisis, que es causada principalmente por la acción de organismos indeseables, la reducción rápida de pH por debajo de 4,8 disminuye la proliferación de microorganismos indeseables (Miranda *et al.*, 2014; Mahecha *et al.*, 2017). Sourav & Arijit (2010) registraron variar los parámetros bromatológicos de la pulpa de limón al incluir *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E.C.Hansen.

Por su parte, Touno *et al.* (2014) reportaron mejorar los valores nutritivos cuando los valores de pH mantienen inferior a 4,8 en el ensilaje de plátano forrajero por 70 días de conservado. Asimismo, del Rio *et al.* (2010), Ali *et al.* (2014) y Heguy *et al.* (2016) observaron mejorar el contenido nutritivo de los ensilajes (tallos de tabaco, algodón, girasol y paja de trigo) con pH inferior a 4,5, al emplear enzimas y en algunos casos preparados microbianos. Sin embargo, son inferiores a los obtenidos en el presente estudio.

Los índices de los ácidos grasos de cadena corta (ácido láctico, butírico y propiónico) en el presente estudio se mejoraron a los 12 meses de conservado en el ensilaje de yuca planta integral más harina de caupí y preparado microbiano. Similares a los señalados por Muck (2010) al emplear *Lactobacillus plantarum* (Orla-Jensen, 1919) Bergey *et al.*, 1923. Por su parte, McDonald *et al.* (1991) observaron un aumento de la fermentación heteroláctica en las primeras horas después de ensilar. Sin embargo, Lynch *et al.* (2014) no reportaron variación cuando los valores de pH fueron superiores a 4,9. Mientras que Muck *et al.* (2010), Lynch *et al.* (2014) y Mahecha *et al.* (2017) reportaron mejor la conversión de azúcares orhexosa pentosa en ácido láctico, CO₂ y otros productos, principalmente ácido acético, etanol y ácido propiónico cuando el material a fermentar contenía bacterias y ácido láctico. Unido a esto, Lynch *et al.* (2014) reportaron la capacidad heterofermentativa de *L. buchneri* en los ensilajes, y su repercusión en la producción de los ácidos grasos de cadena corta entre ellos: ácido láctico, acético y 1,2-propanodiol, en la última etapa de fermentación. Efectos similares también fueron observados por Schmidt *et al.* (2009) al incluir bacterias ácido lácticas en el ensilaje de alfalfa.

La inhibición de los agentes patógenos es debido a un incremento de las bacterias anaeróbicas en los productos fermentados, dando lugar a la formación de ácido acético y propiónico (Muck, 2010; Sourav & Arijit, 2010; Heguy *et al.*, 2016). En este sentido, Mahecha *et al.* (2017) y Miranda *et al.* (2017b) registraron efectos positivos en la conservación de ensilajes al incluir cultivos microbianos (bacterias ácido lácticas y levaduras), los mismos crean un ambiente inhostil, al variar los valores de pH, mejora la producción de los niveles de ácidos grasos de cadena corta, como resultado a lo anterior

reduce la carga de los agentes patógenos, en las primeras 24 h posterior al ensilado (Kung *et al.*, 2015). La no presencia de agentes patógenos como la *E. coli*, *Salmonella* spp. y coliformes totales, en el presente estudio, podría estar relacionado con los microorganismos empleados, los mismos lograron garantizar la inocuidad del ensilaje de yuca con caupí por superior a los 12 meses de conservado, alimento apropiado para la dieta animal (Muck, 2010; Lynch *et al.*, 2014; Kung *et al.*, 2015). Similares resultados fueron reportados al ensilar maíz, sorgo, girasol y paja de trigo con enzimas y cultivo microbiano (Eckard *et al.*, 2011, Ali *et al.*, 2014).

En las condiciones del presente estudio, la inclusión de los microorganismos benéficos (bacterias lácticas y levaduras) en el ensilaje de yuca integral más 30% de harina de caupí, mejora las propiedades fisicoquímicas y los niveles de ácidos grasos de cadena corta se mejoraron al final de estudio. Asimismo, se logra mantener en 3,98 los valores de pH, y los índices de FAD, lignina y celulosa se redujeron. Además, se logró conservar sin la presencia de agentes patógenos en el material ensilado por 12 meses de conservado.

AGRADECIMIENTO

El autor principal agradece a Instituto de Fomento a Talento Humano, Secretaría de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación (Ecuador), por la beca de formación doctoral (PhD).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, I.; García, O.; Contreras, J. & Acevedo, I. 2009. Elaboración y evaluación de las características sensoriales de un yogurt de leche caprina con jalea semifluida de piña. Revista UDO Agrícola, 9: 442-448.
- Ali, M.; Cone, J.W.; van Duinkerken, G.; Klop, A.; Kruisdijk, J.; Blok, M.C.; Bruinenberg, M. & Hendriks, W.H. 2014. Relationship between chemical composition and *in situ*

- rumen degradation characteristics of grass silages in dairy cows. *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences*, 70:9-15.
- AOAC. 2012. *Official methods of analysis*, Association of official analytical chemist 19th Ed., Washington D.C., USA.
- Dadvar, P.; Dayani, O.; Mehdipour, M. & Morovat, M. 2015. Determination of physical characteristics, chemical composition and digestion coefficients of treated lemon pulp with *Saccharomyces cerevisiae* in goat diet. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 99: 107–113.
- Danelon, J.L.; D'Alesio, M.; Barletta, L.; Allocati, P.A.; Wawrzekiewicz, M.; Ceballos, E.; Colatto, C. & Victoria, D. 2010. Ensilaje de alfalfa suplementado con distintos concentrada energética para alimentar cabras lecheras. *Asociación Latinoamericana de Producción Animal*, 18: 17-26.
- del Rio, S.; Heguy, J.M. & Lago, A. 2010. Feed management practices on California dairies. *Journal Dairy Science*, 93(E-Suppl. 1):773.
- Der Bedrosian, M.C.; Nestor, K.E. & Kung, L. 2012. The effects of hybrid, maturity, and length of storage on the composition and nutritive value of corn silage. *Journal of Dairy Science*, 95: 5115–5126.
- Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, 11: 1-42.
- Eckard, S.; Wettstein, F. E.; Forrer, H. & Vogelgsang, S. 2011. Incidence of *Fusarium* species and *mycotoxins* in silage maize. *Toxins*, 3: 949–967.
- Fernández-Herrero, A.; Tabera, A.; Agüeria, D. & Manca, E. 2013. Obtención, caracterización microbiológica y fisicoquímica de ensilado biológico de anchoíta (*Engraulis anchoita*). *REDVET - Revista electrónica de Veterinaria*, 14: 1-15.
- Heguy, J.M.; Meyer, D. & Silva-del Río, N. 2016. A survey of silage management practices on California dairies. *Journal of Dairy Science*, 99: 1-6.
- Hoffman, P.C.; Esser, N.M.; Shaver, R.D.; Coblenz, W.K.; Scott, M.P.; Bodnar, A.L.; Schmidt, R.J. & Charley, R.C. 2011. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starchprotein matrix in high-moisture corn. *Journal Dairy Science*, 94: 2465–2474.
- Ke, W.C.; Yangb, F.Y.; Undersander, D.J. & Guo, X.S. 2015. Fermentation characteristics, aerobic stability, proteolysis and lipid composition of alfalfa silage ensiled with apple or grape pomace. *Animal Feed Science and Technology*, 202: 12-19.
- Kung, L.; Lim, J.M.; Hudson, D.J.; Smith, J.M. & Joerger, R.D. 2015. Chemical composition and nutritive value of corn silage harvested in the northeastern United States after Tropical Storm Irene. *Journal of Dairy Science*, 98: 2055–2062.
- Lyncha, J.; Jina, L.; Larab, E.C.; Baaha, J. & Beauchemina, K.A. 2014. The effect of exogenous fibrolytic enzymes and a ferulic acidesterase-producing inoculant on the fibre degradability, chemical composition and conservation characteristics of alfalfa silage. *Animal Feed Science and Technology*, 193: 21-31.
- Mahecha, L.; Angulo, J.; Barragán, W. (2017). Calidad nutricional, dinámica fermentativa y producción de metano de arreglos silvopastoriles. *Mesoamerican Agronomy*, 28: 371-387.
- McDonald, P.; Henderson, A.R. & Heron, S.J.E. (Eds.). 1991. *The Biochemistry of Silage*. Chalcombe Publications, Marlow, Bucks.
- Miranda, J.E.; Marin, A. & Baño, D. 2017a. Elaboration of a bioprepared with probiotic effect from a mixed culture of lactic bacteria and yeasts. *Bionatura*, 2: 245-247.
- Miranda, J.E.; Marin, A.; González, M. & Sanchez, D. 2017b. Evaluación física, química y microbiológica del ensilaje de yuca con caupí y cultivo microbiano. *Enfoque UTE*, 8: 67-75.
- Miranda-Yuquilema, J.E.; Marin-Cárdenas, A. & González-Pérez, M. 2014. Ensilaje de yuca (*Manihot esculenta crantz*) con caupí (*Vigna unguiculata*) para la alimentación porcina. *REDVET - Revista electrónica de Veterinaria*, 15: 1-12.
- Muck, R.E., 2010. Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39: 183–191.
- Schmidt, R.J.; Hu, W.; Mills, J.A. & Kung Jr. L. 2009. The development of lactic acid bacteria and *Lactobacillus buchneri* and their effects on the fermentation of alfalfa silage. *Journal Dairy Science*, 92:

5005–5010.

Sourav, B & Arijit, D. 2010. Study of physical and culture parameters on the bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from traditional indian fermented food. *American Journal of Food Technology*, 5: 111-120.

Spanghero, M.; Zanfi, C.; Signor, M.; Davanzo, D.; Volpe, V. & Venerus, S. 2015. Effects of plant vegetative stage and field drying time on chemical composition and *in vitro* ruminal degradation of forage soybean

silage. *Animal Feed Science and Technology*, 200: 102-106.

Touno, E.; Kaneko, M.; Uozumi, S.; Kawamoto, H. & Deguchi, S. 2014. Evaluation of feeding value of forage soybean silage as a substitute for wheat bran in sheep. *Animal Science Journal*, 85: 46–52.

Received March 2, 2018.
Accepted April 30, 2018.