

FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO (FES) DE LA PAPA (*Solanum
tuberosum*), COMO ALTERNATIVA TECNOLÓGICA PARA LA ALIMENTACIÓN
ANIMAL

MÓNICA ANDREA MOYANO BAUTISTA

Asesores:

LUIS MIGUEL BORRAS

Zootecnista Esp. Msc. en Desarrollo Rural

NIDIA CARREÑO

Médico Veterinario y Zootecnista. Esp. Msc Ciencias agropecuarias

UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA (UNAD)
ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS, PECUARIAS Y DEL MEDIO AMBIENTE
ESPECIALIZACIÓN EN NUTRICIÓN ANIMAL SOSTENIBLE

TUNJA

2014

DEDICATORIA

A mis padres Crisanto Moyano y Luz Ángela Bautista, por ser las personas que me han dado los elementos para saber vivir y que han estado conmigo en los mejores y los peores momentos.

A mi hija Ailyn Valentina por ser el motor de mí existir.

A mi hermano Cristian Camilo por sus continuas palabras de ánimo.

A mi ángel Elber, que está en el cielo, que por algún motivo que solo Dios sabe tuvo que partir muy pronto, pero que dejó marcado en mi vida toda su alegría y entusiasmo.

RESUMEN

La papa (*Solanum tuberosum*) es un tubérculo ampliamente consumido a nivel mundial por su alta calidad energética; igualmente, los residuos de las cosechas son usados como alimento en las producciones animales. Sin embargo, la papa cruda por sí sola no aporta la cantidad proteica requerida, por lo que se han venido estudiando alternativas que mejoren su calidad nutricional. Este ensayo tuvo como objetivo principal determinar el efecto de la fermentación en estado sólido sobre los valores nutricionales. Para esto se preparó una mezcla con 90% de papa; 5% salvado de trigo; 0,5% de sulfato de sodio; 2% de melaza; 1% de urea; 0,5% de premezcla mineral y 1% de microorganismos eficientes. Este producto se sometió a diferentes tiempos (24 y 48h) y temperaturas (20, 25, y 30°C) de fermentación para analizar valores de humedad (%H), materia seca (%MS), cenizas (%CZ), amoníaco (%NH₃), Proteína Cruda (%PC), Proteína verdadera (%PV) Fibra cruda (%FC), y la cantidad Ácidos grasos volátiles totales (mEq/L AGV). Luego de la fermentación se observaron valores de PC hasta del 21% y PV hasta de 12,46%, con relevancia estadística (P<0.01). Infiriendo que el producto Fes papa es una excelente opción de alimento energético –proteico para suministro en las producciones animales de la región.

Palabras claves. Papa, fermentación, proteína cruda, proteína verdadera, ácidos grasos volátiles, alimentación animal.

ABSTRACT

The potato (*Solanum tuberosum*) tuber is a widely consumed worldwide for its high quality energy; also, the crop residues are used as feed for livestock production. However, raw potato by itself does not provide the required amount protein, so have been studying alternatives to improve its nutritional quality. This study's main objective was to determine the effect of solid state fermentation on the composition parameters of the potato. To this mixture was prepared with Potato 90%, 5% wheat bran, 0.5% of sodium sulfate, 2% molasses, 1% urea, 0.5% mineral premix and 1% of effective microorganisms (EM). This product was subjected to different times (24 and 48h) and temperatures (20, 25, and 30 ° C) Fermentation to analyze moisture values (% H), dry matter (% DM), ash (% CZ), ammonia (NH₃%) Crude protein (% CP), true protein (% BW) (% FC) Crude fiber, and amount the total volatile fatty acids (mEq / L AGV). After fermentation, we observed PC value to the 21% and up to 12.46% PV, with statistical significance (P <0.01). Inferring the Fes potato product is an excellent choice of energy-protein food supply for livestock production in the region.

Keywords. Pope, fermentation, crude protein, true protein, volatile fatty acids, animal feed.

ÍNDICE GENERAL

Contenido

ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
INTRODUCCIÓN	1
2. JUSTIFICACIÓN	4
3. OBJETIVOS	6
3.1 Objetivo general	6
3.2 Objetivos específicos:	6
4. MARCO TEÓRICO	7
4.1 LA PAPA	7
4.2 FERMENTACIÓN EN ESTADO SOLIDO (FES)	15
5. METODOLOGÍA	23
5.1 MATERIALES Y MÉTODOS	23
5.2 DISEÑO EXPERIMENTAL	27
5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	27
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
6.1 EFECTO DEL TIEMPO Y LA TEMPERATURA EN LAS VARIABLES EVALUADAS	28
6.2 COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS TRATAMIENTOS CON RELACIÓN AL TIEMPO CERO Y LAS DIFERENTES TEMPERATURAS	43
7. CONCLUSIONES	53
8. RECOMENDACIONES	55
AGRADECIMIENTOS	56
REFERENCIAS	57
ANEXOS	69

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Composición química – bromatológica del tubérculo de papa	9
Tabla 2. Análisis químico de la papa según el ICA Colombia	10
Tabla 3. Tratamientos empleados según temperatura y tiempo de fermentación	24
Tabla 4. Análisis de varianza para los diferentes parámetros evaluados	27
Tabla 5. Análisis de los factores sobre los parámetros	28
Tabla 6. Promedios de cada una de las variables en los diferentes tratamientos	29
Tabla 7. Promedio de los valores de pH medidos en los diferentes tratamientos	30

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Fig. 1 Localización geográfica del área de estudio	23
Fig. 2 Fotos tomadas durante la preparación y análisis químico del producto FES papa	24
Fig. 3 Variación del porcentaje de amoniaco a las 24 h de fermentación respecto al producto recién preparado	43
Fig. 4 Variación del porcentaje de amoniaco a las 48 h de fermentación respecto al producto recién preparado	43
Fig. 5 Valores de pH durante las primeras 24 h del proceso fermentativo	43
Fig. 6 Valores de pH a las primeras 48 h de fermentación	43
Fig. 7 Tendencia de los valores de ácidos grasos volátiles totales en los diferentes tratamientos a las 24h de fermentación	45
Fig. 8 Tendencia de los valores de ácidos grasos volátiles totales en los diferentes tratamientos a las 48h de fermentación	45
Fig. 9 Valores de humedad y materia seca a las 24h de fermentación	47
Fig. 10 Valores de humedad y materia seca a las 48h de fermentación	47
Fig. 11 Porcentajes de cenizas en los tratamientos de las 24 h de fermentación	48
Fig. 12 Porcentajes de cenizas en los tratamientos de las 48 h de fermentación	48
Fig. 13 Valores de proteína cruda y verdadera en el producto fermentado por 24 h	49
Fig. 14 Valores de proteína cruda y verdadera en el producto fermentado por 48 h	50
Fig. 15. Porcentajes de fibra cruda en los tratamientos establecidos a 24 h	51
Fig. 16 Porcentajes de fibra cruda en los tratamientos establecidos a 48 h	51

INTRODUCCIÓN

La alimentación es eje fundamental en toda producción animal, pues de esta depende el funcionamiento orgánico de las especies y por ende el buen desarrollo de parámetros productivos. Sin embargo, el suministro de dietas alimenticias que proporcionen los nutrientes requeridos por cada animal resulta en muchas ocasiones poco rentable para los productores, pues representa aproximadamente el 60% de los costos de producción. Por ello se ha venido procurando evaluar e implementar alternativas de alimentación mediante procesos tecnológicos económicamente viables. Dentro de estas alternativas, ha tenido gran auge, la denominada "Fermentación en Estado Sólido – FES" que es un proceso que consiste en el crecimiento de microorganismos sobre materiales sólidos texturizados y porosos sin la presencia de agua con el fin de optimizar la cantidad de proteína contenida en los alimentos que se consumirá el animal. La FES es usada a nivel comercial para la producción de diferentes alimentos fermentados, obtención de enzimas, metabolitos secundarios y para la bioconservación de residuos orgánicos en productos útiles (Pérez, 1996).

En este sentido, esta tecnología permite el uso de residuos de subproductos agroindustriales y de cosechas en las fincas como materia prima para alimentación animal, implicando disminución en los costos de producción por reducción en la compra de alimentos comerciales que complementen la dieta, control en el impacto medioambiental por desechos orgánicos y un gran beneficio a nivel nutricional para los animales. A nivel mundial se han empleado desechos de cultivos como la caña de azúcar, el bagacillo de arroz, el garbanzo, los frutales, el cacao, la yuca, entre otros, que por contener una cantidad importante de carbohidratos, se convierten en sustratos adecuados para el desarrollo de procesos FES.

La papa (*Solanum tuberosum*, sp. *Tuberosum*) es un cultivo que se ha ganado un espacio en la utilización de sus tubérculos como materia prima en la industria de alimentos. La papa es el cuarto producto en importancia alimenticia después del maíz, trigo y arroz. La producción mundial es de 300.000.000 ton., provenientes de un área sembrada de 18.000.000 de ha, con una productividad promedio de 16 ton/ha (Loyola *et al.*, 2010). Dimer (2000), citado por (Loyola *et al.*, 2010) indica que en América Latina se producen 8 millones de toneladas de papas anualmente, siendo el rendimiento de almidón por ha de 2,72 ton.

El cultivo de papa en Colombia representa, en promedio, un 32% de la producción de los cultivos transitorios. El área cosechada en hectáreas, para el año 2009 fue de 156.5682. El departamento de Boyacá aporta un 26,26% de la producción nacional, convirtiéndose en el segundo productor después de Antioquia (Superintendencia de Industria y comercio, 2012). Sin embargo, ya sea por exceso en la oferta o por baja calidad del producto, el porcentaje de pérdida es bastante elevado, representando un 14% (Loyola *et al.*, 2010). Esta cantidad de residuos de este tubérculo, podría ser aprovechada como alternativa alimenticia en las producciones pecuarias del departamento dado que se ha reconocido este tubérculo como un excelente alimento que puede estar presente en alto porcentaje en raciones para animales monogástricos (cerdo) o como suplemento energético para rumiantes.

El potencial en los rumiantes es muy grande, pues al tener gran cantidad de almidón, se convierte en una fuente importante de carbohidratos (CHO's) que aportan energía en la dieta. Los carbohidratos, conforman el 70% o más de la MS consumida y aportan la mayor parte de la energía, incluyendo el "efecto fibra". Los carbohidratos no fibrosos (CNF), aportan aproximadamente la mitad del total de los CHO's, mientras el remanente proviene de la conocida fibra en detergente neutro (FDN) (Danelón, 2001).

La composición de la papa está influenciada por varios factores como la variedad, la zona de producción, las prácticas culturales, factores ambientales, etc. haciendo difícil el hecho de unificar criterios en cuanto a valores nutricionales. No obstante, la literatura reporta porcentajes de humedad aproximada del 75%, proteína 6-12%, fibra 1-10% cenizas 4-6% y contenido de almidón del 60-80% (Herrera *et al.*, 1970; Siebald *et al.*, 2002). Sin embargo, este tubérculo tiene el inconveniente de poseer una concentración proteica baja y de pobre valor biológico. Por ello se deben plantear alternativas que potencien la composición nutricional de la papa para la alimentación y optimización de los parámetros productivos de los animales.

Considerando lo anterior el presente estudio tiene como objetivo principal analizar el efecto de la implementación de procesos FES sobre la calidad composicional de la papa, como alternativa de alimento energético proteico para suministro animal, apoyada en la tecnología desarrollada al respecto en el Instituto de Ciencia Animal de Cuba (ICA) (Animales y producción, *sf*).

2. JUSTIFICACIÓN

La alimentación es uno de los parámetros de mayor relevancia en toda producción animal, sin embargo, el suministro de dietas alimenticias que proporcionen los nutrientes requeridos por cada animal resulta en muchas ocasiones poco rentable para los productores, pues representa aproximadamente el 60% de los costos de producción. Por esto en las últimas décadas ha surgido la necesidad de buscar fuentes alternativas de alimentación animal.

En este sentido, la implementación de tecnologías de alto impacto y de bajo costo como la Fermentación en estado sólido (FES) dentro del escenario de la búsqueda de alternativas alimenticias para las diversas especies pecuarias; tiene como meta principal la rentabilidad de las pequeñas y medianas producciones del país, contribuyendo a la sostenibilidad de los sistemas pecuarios

Esta tecnología nos permite aprovechar los desechos y excedentes de cosechas de cultivos propios de las regiones, como materia prima que sometida a un proceso biotecnológico sencillo se convierte en una fuente alimenticia con altísimo valor energético y proteico, a muy bajo costo. Esto incide directamente en la productividad de los animales, la economía del productor y la protección del medio ambiente, mejorando los niveles de competitividad de las producciones a nivel nacional y preparándolas para soportar los efectos de la competitividad internacional, dentro del marco de los acuerdos de libre comercio.

En el Departamento de Boyacá, particularmente, en las épocas del año en que se colecta la cosecha de papa (*Solanum tuberosum*), los precios del tubérculo descienden debido al exceso de la oferta. Esta circunstancia ha llevado a que tradicionalmente se pierdan cantidades considerables de la cosecha debido a la poca utilidad económica que se obtiene al llevarla al mercado. Por otra parte, aún en condiciones de mercadeo normal existe una porción de la papa cosechada que

por su tamaño reducido y daños físicos durante la cosecha, no puede ser comercializada. En total las pérdidas de papa ascienden al 14% de la producción del departamento. Por lo que, sin lugar a dudas, la implementación de la tecnología FES sobre estos desechos de papa sería una alternativa viable.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Estimar el efecto de la temperatura y tiempo sobre el producto final de la Fermentación en estado sólido (FES) de la papa (*Solanum tuberosum*) como alternativa para la alimentación animal en el departamento de Boyacá.

3.2 Objetivos específicos:

- Determinar el efecto de la relación temperatura y tiempo sobre parámetros de composición nutricional como los porcentajes de humedad (%H), materia seca (%MS), cenizas (%CZ), Proteína Cruda (%PC), Proteína verdadera (%PV) Fibra cruda (%FC), en desechos de papa (*Solanum tuberosum*) sometidos a fermentación en estado sólido (FES)
- Determinar el efecto de la relación temperatura y tiempo sobre dos indicadores fermentativos: amoníaco (%NH₃) y la cantidad Ácidos grasos volátiles totales (mEq/L AGV) en desechos de papa (*Solanum tuberosum*) sometidos a fermentación en estado sólido (FES)

4. MARCO TEÓRICO

4.1 LA PAPA

La papa (*Solanum tuberosum*, sp. *tuberosum*) es un cultivo que se ha ganado un espacio en la utilización de sus tubérculos como materia prima en la industria de alimentos, la cual establece requisitos rigurosos en parámetros de calidad (Loyola *et al.*, 2010). *Solanum tuberosum* es una especie muy polimorfa, de propagación vegetativa por tubérculos enteros o por porciones, formando una planta de tallos múltiples cuyos ejes se ramifican formando hierbas de portes muy diferentes. En el nudo cotiledonal de las plantas provenientes de semilla brotan dos o más rizomas que al final desarrollan tubérculos diminutos. La forma, color y textura de la superficie de los tubérculos son características variables, especialmente la primera, que es la más variable en la región andina, donde los cultivares avanzados tienen tubérculos elipsoidales a esféricos, con ojos escasos y superficiales y cascara lisa, blanca o rosada (León, 2002).

La papa es el cuarto producto en importancia alimenticia después del maíz, trigo y arroz. La producción mundial es de 300.000.000 ton., provenientes de un área sembrada de 18.000.000 ha, con una productividad promedio de 16 ton/ha. En América Latina se producen 8 millones de toneladas de papas anualmente y el rendimiento de almidón por ha es de 2,72 ton. En América del Sur se siembran apenas 600.000 ha (Loyola *et al.*, 2010)).

El cultivo de la papa en Colombia, representa en promedio un 32% de la producción de los cultivos transitorios, ocupó el cuarto lugar en la producción agropecuaria nacional en el 2011, después del cultivo de la caña azucarera, la caña panelera y el plátano, con 3.156.813 millones de Ton y un área cosechada de 1565689 hectáreas (Superintendencia de industria y comercio, 2012; Vélez, 2013). Su participación en el valor real de la producción agropecuaria nacional representó el 3,6%, el 4,3% del total del área cultivada en el país y el 10,4% de la superficie cultivada con productos transitorios (Martínez *et al.*, 2005).

De la producción nacional de papa al 2009, los departamentos con mayor participación fueron Cundinamarca, Boyacá, Nariño y Antioquia con 37.74%, 26.26%, 17.30% y 6.53% de la producción nacional respectivamente (Superintendencia de industria y comercio, 2012).

El área de producción de papa en el país se encuentra ubicada a lo largo de la región andina, en pisos térmicos que van desde el frío moderado hasta el páramo, en altitudes ubicadas entre los 1.500 y los 4.000 m.s.n.m.; en suelos con diferentes características físico-químicas las cuales han venido sufriendo alteraciones "por las diferentes prácticas de cultivo, riego, drenaje y la acumulación de residuos químicos, no biodegradables, cuyos efectos constituyen hoy día uno de los mayores causales del deterioro y la contaminación de los mismos" (Rondón, 1997), citado por (Vélez, 2013).

El cultivo de la papa que creció a tasas aceleradas en los últimos 30 años, al igual que muchos otros renglones agropecuarios lo ha venido haciendo en gran parte sobre la base de tecnologías y sistemas de producción inadecuados y patrones de ocupación territorial que han terminado afectando de manera significativa los ecosistemas relacionados directa o indirectamente con el cultivo, colocando en riesgo su sostenibilidad (IICA, 1999).

Desde otra perspectiva, en las épocas del año en que se colecta la cosecha de papa, los precios del tubérculo descienden debido al exceso de la oferta. Esta circunstancia ha llevado a que tradicionalmente se pierdan cantidades considerables de la cosecha debido a la poca utilidad económica que se obtiene al llevarla al mercado. Por otra parte, aún en condiciones de mercadeo normal existe una porción de la papa cosechada que por su tamaño reducido y daños físicos durante la cosecha, no puede ser comercializada, tanto los excedentes como los

desechos de la papa se han utilizado en la alimentación animal (Betancourt *et al.*, 2012).

La cantidad de papa de desecho oscila entre el 10 y 15% de la producción total, y estos excedentes de producción van a depender principalmente de las variaciones que se presenten en la superficie plantada de una temporada a otra (Siebald *et al.*, 2002). De esta cuantía se destina aproximadamente 1.9% para la alimentación animal sin procesar (Prada, 2002).

4.1.1 Caracterización nutricional de la papa

La papa es un tubérculo ampliamente utilizado en alimentación humana y ocasionalmente empleado como alimento sustituto en regiones donde su cultivo representa una importante actividad agrícola. Es un alimento versátil y tiene un gran contenido de carbohidratos, es popular en todo el mundo y se prepara y sirve en una gran variedad de formas (Zapata *et al.*, 2013).

El tubérculo de la papa es un tallo subterráneo modificado para el almacenamiento de almidón. La parte exterior del tubérculo se denomina periderma; viene luego, una franja estrecha difícilmente visible que es la corteza, ambas secciones forman la cáscara. Además, tiene un tallo modificado que se ramifica hacia los ojos o yemas, denominado médula. El espacio entre la médula y la corteza esta relleno de un tejido conocido como parénquima vascular de almacenamiento, dicho tejido está separado en dos porciones por el anillo vascular. El tubérculo está constituido por aproximadamente 2% de cáscara, 75% a 85% de parénquima vascular de almacenamiento y de 14% a 20% de médula (Prada, 2002).

Su calidad está influenciada por las condiciones ambientales y el manejo agronómico (temperatura presente durante el crecimiento de la planta, precipitación y/o calidad y cantidad de riego usado, tipo de suelo, fertilización

química y orgánica empleada, época y forma de la eliminación del follaje y especialmente la madurez del tubérculo) (Prada, 2002; Gualtieri *et al.*, 2007).

De manera general, se ha logrado establecer que recién cosechada, contiene un 70 – 75% de humedad y un 25 – 30% de materia seca. Entre el 60 por ciento y el 80 por ciento de esta materia seca es almidón. Los carbohidratos de la papa incluyen el almidón, la celulosa, la glucosa, la sacarosa y la pectina, pero específicamente, los almidones de este tubérculo son la amilasa y la amilopectina en la proporción de 1:3 (Prada, 2002). Respecto a su peso en seco, el contenido de proteína de la papa es análogo al de los cereales, y es muy alto en comparación con otras raíces y tubérculos (Siebald *et al.*, 2002). En la tabla 1 podemos observar la composición química – bromatológica del tubérculo de la papa en diferentes presentaciones, información recopilada por varios autores (Siebald *et al.*, 2002; Herrera *et al.*, 1970).

Tabla 1. Composición químico – bromatológica del tubérculo de la papa

NUTRIENTE	CRUDA ENTERA (*)	COCIDA ENTERA (*)	HARINA (*)	BASE 100% DE MATERIA SECA (**)
HUMEDAD	75,3	77,69	11,29	0
PROTEINA	2,47	1,97	1,29	6 – 12
GRASA	0,28	0,40	0,33	0,1 – 1
FIBRA	0,53	0,82	2,28	1,0 – 10
CENIZAS	1,37	1,55	5,74	4 – 6
ALMIDON				60 – 80
OTROS AZUCARES				0,5 – 1,8
ACIDO CITRICO				0,5 – 0,7

Fuente: (*) Herrera *et al.*, 1970; (**) Siebald SE, 1977

Normalmente la papa presenta un 10% de proteína bruta y de un 1.8 a 2.8% de proteína verdadera. En otros estudios se encuentra que el tubérculo contiene de 1 a 2% de nitrógeno total en base seca; de este porcentaje, la mitad o un tercio está presente como proteína. Las proteínas de la papa son casi exclusivamente

globulinas en un 60 a 70% y glutelinas de un 20% a 40%, se han podido identificar cerca de 21 aminoácidos como constituyentes normales en el tejido del tubérculo (Prada, 2002).

Además, la papa contiene una cantidad moderada de hierro, pero el gran contenido de vitamina C fomenta la absorción de este mineral. Además, este tubérculo tiene vitaminas B1, B3 y B6, y otros minerales como potasio, fósforo y magnesio, así como folato, ácido pantoténico y riboflavina. También contiene antioxidantes alimentarios, los cuales pueden contribuir a prevenir enfermedades relacionadas con el envejecimiento, y tiene fibra, cuyo consumo es bueno para la salud (Prada, 2002) (Tabla 2).

Tabla 2. Análisis químico de la papa según el ICA-Colombia

COMPOSICIÓN	OTRAS VARIEDADES	PAPA CRIOLLA
Parte comestible	100%	100%
Calorías (100gr)	84%	83%
Agua %	76,7%	75,5%
Proteína %	1,9%	2,5%
Grasa %	0,1%	0,1%
Carbohidratos %	19,31%	18,7%
Azúcares invertidos %	0,11%	
Fibra %	1,0%	2,2%
Cenizas %	1,0%	1,0%
Calcio mg/100 gr	4,0	7,0
Fosforo mg/100 gr	26,0	54,0
Hierro mg/100 gr	1,1	1,0
Acido ascórbico mg/100gr	20,0	15,0

Fuente: Instituto Colombiano Agropecuario, 2008

4.1.2 La papa en la alimentación animal

La papa históricamente se ha utilizado en la alimentación animal en las zonas alta producción del país, generalmente se suministra en fresco y es utilizada especialmente en la alimentación de bovinos, porcinos, caprinos y aves (Fedepapa). Sin embargo, el valor nutritivo de la papa cruda como alimento para animales es muy discutido; descripciones convencionales describen que no es tan satisfactorio como el contenido de los cereales (Whittemore, 1977).

La papa está conformada, aproximadamente, por 80% de agua y 20% de materia seca, aunque esto puede variar de acuerdo a los factores ambientales y las condiciones de los diferentes cultivos. De manera general, se estima que del 20% de materia seca del tubérculo, el 18% son carbohidratos y el 2% proteínas (Navarre *et al.*, 2009).

El contenido de carbohidratos (CHOS's) del tubérculo van del 70% al 75%, representados por el almidón, de la MS consumida y aportan la mayor parte de la energía, incluyendo el "efecto fibra" (Buono *et al.*, 2009; IICA). Los carbohidratos no fibrosos (CNF), aportan aproximadamente la mitad del total de los CHO's, mientras el remanente proviene de la conocida fibra en detergente neutro (FDN) (Danelón, 2001). De acuerdo a esto, la papa tiene un potencial muy grande para la alimentación animal, especialmente de rumiantes, dado que el contenido de CHO's, son el centro de toda dieta exitosa.

Göhl (1992) indica que aunque los retoños de la papa contienen un alcaloide tóxico, la solanina, no existen restricciones para su utilización en la alimentación de rumiantes que se asocien a posibles intoxicaciones con este compuesto (Montoya *et al.*, 2004). El tubérculo de la papa es prácticamente libre de grasa y colesterol, y es rico en vitaminas y potasio. Además, proporciona importantes cantidades de proteínas y fibra dietética, y es relativamente bajo en calorías.

Además, es fuente importante de antioxidantes como el ácido ascórbico, polifenoles, carotenoides y tocoferoles (Buono *et al.*, 2009).

Vacas alimentadas principalmente en pastoreo, requieren de adoptar diversas estrategias de alimentación, especialmente en las épocas secas, las cuales pueden ser, henos, ensilajes, residuos de cosecha, subproductos de agroindustria (granos, semillas, harinas, pulpas, raíces y tubérculos como la papa entre otros) (Monje, 2006). Se menciona, que las vacas lecheras pueden recibir hasta 15 kg de papa cruda al día (Montoya *et al.*, 2004). Sin embargo, su utilización en la alimentación de vacas lactantes en pastoreo y en otras especies animales en la región, no ha sido muy estudiada por lo que la información encontrada es escasa.

En vacas en pastoreo con Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), y suplementadas con concentrado y diferentes niveles de papa, se evaluaron los aportes de carbohidratos no estructurales CNE, de dichos alimentos, donde se pudo constatar el importante aporte de estos CNE, por parte del tubérculo, además se pudo constatar el aporte de la papa en la calidad de la leche, cuando se le suministraron 6 kg/papa/día, pero en suministros superiores no hubo diferencias significativas (>0.05) (Montoya *et al.*, 2004).

La papa puede estar en un gran porcentaje en alimentos para monogástricos (cerdos), y se considera una buena opción para la alimentación de rumiantes como fuente energética; sin embargo, la cantidad de fibra está estimada en un 3 a 4 %, por lo que se requiere adicionar una fuente rica en esta para ser aprovechada por el rumiante, al igual es deficiente en calcio y fosforo, lo que hace necesario suplementar con sales mineralizadas (Siebald *et al.*, 2002).

Como se mencionó anteriormente, el contenido de humedad de la papa es alto y esta característica no permite que se realice una conservación por largos periodos de tiempo, por lo que se han venido estudiando alternativas de

almacenamiento, conservación y suministro del tubérculo en producciones animales.

A nivel internacional, se han adelantado ensayos donde se someten los desechos de la papa a procesos de fermentación láctica natural bajo condiciones anaeróbicas, como el ensilaje; cuyo objetivo principal, es preservar subproductos altos en humedad y mantenerlos disponibles durante un buen periodo de tiempo para su uso como fuente principal de alimentación de alto valor nutritivo para los rumiantes, mejorando así la sostenibilidad económica y ambiental de sistemas de producción (Elías *et al.*, 1990; Nkosi *et al.*, 2010).

La fermentación mediante ensilajes tiende a mejorar el efecto sobre el consumo de alimento, la utilización de nutrientes y producción de leche en rumiantes (Nkosi *et al.*, 2010). Se ha descrito, que ensilajes utilizados para estudios de crecimiento y digestibilidad se caracterizaron por el contenido de Ácido láctico (LA) que osciló desde 92 hasta 113 g / kg de MS, cantidades traza de ácido butírico (2 - 5 g / kg MS) y las concentraciones de amoníaco-N (13-78 g / kg TN), indicativos de ensilajes bien fermentados (McDonald *et al.*, 1991).

Según Cushnahan *et al.* (1995), citado por (Nkosi *et al.*, 2010), los ensilajes tratados con inoculantes bacterianos resultan ser más digeribles que los ensilajes no inoculados, aparentemente debido a la ingestión de productos finales de fermentación que modifican la fermentación ruminal. Estudios concluyen que al inocular con *Lactobacillus buchneri* se mejoró ($P < 0,05$) la digestibilidad de la MS, MO, energía y N en comparación con los otros ensilajes (Nkosi *et al.*, 2010). Esta mejora en la digestibilidad del alimento ensilado puede deberse a la conservación de nutrientes durante el proceso de fermentación y conservación de una mayor proporción de nutrientes digeribles (Aksu *et al.*, 2004; McDonald *et al.*, 1991).

Driehuis *et al.* (2001) y Ranjit *et al.* (2002), citados por (Nout, 2014), evaluaron el ensilado con o sin inoculantes para subproductos de la papa, demostrando que estos pueden mejorar la estabilidad aeróbica del ensilaje a través de la producción de ácido acético y que esto mejora posteriormente el rendimiento del animal.

En estos términos se evidencia que los desechos de papa sometidos a procesos fermentativos mejoran su composición nutricional y que pueden ser una alternativa viable para la inclusión en la dieta animal; así como para minimizar la contaminación ambiental y favorecer la rentabilidad de las producciones.

4.2 FERMENTACIÓN EN ESTADO SOLIDO (FES)

En la industria alimenticia, la fermentación se refiere a la utilización de microorganismos para conseguir las propiedades deseables de los alimentos; indica todo proceso anaeróbico y microbiológico aeróbico con modificaciones bioquímicas que dan lugar a modificaciones de calidad deseable de ingredientes de alimentos y bebidas (Nout, 2014).

La fermentación es un proceso metabólico de oxidación y puede ser aeróbico cuando tiene lugar en presencia de oxígeno y anaeróbico si se producen fuera del contacto con el oxígeno. Durante la fermentación, los microorganismos oxidan los hidratos de carbono de la materia orgánica, proporcionando esqueletos carbonados y energía en forma de ATP para el crecimiento de los mismos y liberando principalmente dióxido de carbono (CO₂), amonio (NH₄), nitrógeno (N₂) y agua (H₂O) cuando es aeróbico y, metano (CH₄), bióxido de carbono (CO₂), amoníaco (NH₃), ácido sulfhídrico (SH₂) y nitrógeno (N₂) e hidrógeno (H₂) cuando es anaeróbico (Ramírez, 2003).

Michell *et al.* (2002), indica que los procesos fermentativos se pueden dividir en fermentación líquida sumergida (FLS) y fermentación en estado sólido (FES). La

mayor diferencia entre estos dos procesos biológicos, es la cantidad de líquido libre en el sustrato. En las FLS existe agua libre en el sistema y las FES se caracterizan por desarrollarse en sustratos sólidos húmedos, donde no existe agua libre en el sistema.

En los últimos años, la FES ha mostrado ser muy prometedora en el desarrollo de algunos bioprocesos y productos; y se ha evaluado el potencial de varios productos que pueden ser obtenidos por este método (Fernández, 2009).

La fermentación en estado sólido (FES) consiste en hacer crecer un microorganismo sobre un sustrato, empleando una fuente de nitrógeno y sales nutrientes, bajo ciertas condiciones de humedad, pH, aireación y temperatura. La FES no presenta agua libre en su estructura, aunque conlleva determinados requerimientos de humedad. El desarrollo de la Biotecnología permite el empleo de algunos microorganismos (m.o), como es el caso de los hongos filamentosos con vistas al enriquecimiento proteico del producto final y la excreción al medio de enzimas entre las que se encuentran las celulasas, amilasas, pectinasas, xilanasas y glucoamilasas (Díaz, 2011; Echeverría *et al.*, 2003).

El desarrollo de bioprocesos y productos mediante fermentación en estado, sólido ha mantenido un interés creciente en los últimos años, particularmente en países como Cuba. Muchas investigaciones se realizan en este tema, fundamentalmente, dedicadas al enriquecimiento proteico de los residuos agroindustriales de la producción azucarera (Echeverría *et al.*, 2003; Fernández, 2009). Hesseltine (1972), citado por (Julián *et al.*, 2007), empleó el término de fermentación en estado sólido a todas las fermentaciones donde el sustrato no es líquido, luego planteó que el término FES debe usarse para designar el crecimiento de los microorganismos en materiales sólidos no sumergidos en una fase líquida.

4.2.1 Características de FES

De acuerdo a Miller (1977), citado por (Becerra, 2006), la FES tiene el objetivo de preservar o desarrollar nuevos alimentos a partir de la utilización de varios materiales carbohidratos mediante el uso de microorganismos. Las levaduras son microorganismos unicelulares de crecimiento vegetativo que, dependiendo de la especie, pueden utilizar compuestos como las pentosas, metil pentosas, alcoholes de azúcar, ácidos orgánicos, polisacáridos e incluso compuestos como el i-inositol y casi todas las especies, con raras excepciones, utilizan iones de amonio para la síntesis de proteína. Durante la FES de subproductos agroindustriales ricos en azúcares y celulósicos, la energía de esos carbohidratos y la urea como fuente de nitrógeno (N) son utilizados para el crecimiento de la microflora epifita de los subproductos, duplicándose la biomasa en 5.2 minutos, lo que hace posible obtener un incremento en la población de levaduras y bacterias principalmente, aún en la fase de secado, sin la utilización de inóculo en el sistema (Valiño *et al.*, 1994).

4.2.2 Ventajas y desventajas de FES

Las aplicaciones principales de la fermentación en estado sólido en la industria alimentaria son tres grupos. En primer lugar las referidas a la obtención de alimentos tanto desde el punto de vista de la mejora de los procesos tradicionales de producción como del desarrollo de nuevos procesos. Se incluyen en este aquellas aplicaciones destinadas a la mejora de la composición nutritiva, obtención de aromas característicos, prevención del deterioro e incremento de la digestibilidad de los alimentos (Pastrana, 1996).

La fermentación en estado sólido brinda la posibilidad de producir, por vía biotecnológica y de forma combinada, setas comestibles *Pleurotas spp.* y forraje beneficiado (pleurotina); siendo la única tecnología que permite obtener mediante

la bioconversión de subproductos agrícolas, alimento humano y alimento animal (Bermúdez *et al.*, 2002).

Actualmente no existe ningún tratamiento con estos subproductos, y su disposición final en el terreno de cultivo trae aparejado una descomposición, hasta que se fermenta espontáneamente, generando y proliferando plagas entre los cultivos. Su empleo como abono para los suelos, así como en la industria es limitado, por lo que se considera un desecho agrícola de bajo valor comercial. Estos subproductos contienen sustancias químicas atractivas para la alimentación (azúcares libres, proteínas, celulosa), pero a su vez contienen sustancias con un posible efecto anti fisiológico (cafeína, taninos, teobromina) que no permiten ser utilizados como alimento directamente (Bermúdez *et al.*, 2002). La FES ofrece notables ventajas biotecnológicas, como la alta concentración de metabolitos obtenidos, estabilidad de los productos y adaptabilidad de los microorganismos – especialmente los hongos- al sistema, con bajo contenido de agua libre (Granda *et al.*, 2005).

4.2.3 Parámetros de FES (Microorganismos, humedad, pH, temperatura, concentración y disponibilidad de sustrato, aireación e inóculo)

Sustrato: Los sustratos para la fermentación en estado sólido deben poseer preferentemente la característica de ser insoluble en agua para mantener su condición de cultivo en estado sólido; tener elevado contenido en carbohidratos y proteínas; estructura granular que posibilite la adhesión y penetración del microorganismo. Sin duda este aspecto, que puede representar elevado costo, condiciona en gran medida el proceso. Aunque la variedad de materiales potencialmente utilizables es muy superior a los empleados en los cultivos en estado sólido en los que sustrato y soporte coinciden, básicamente deben poseer características físicas similares en cuanto a porosidad, dureza, tenacidad y bajo costo (Costa *et al.*, 2010; Pastrana, 1996).

Contenido en humedad del sustrato: Es el factor más decisivo sobre una fermentación en estado sólido. El nivel adecuado es función de la naturaleza del sustrato, el tipo de producto final y los requerimientos del microorganismo. Evidentemente se encuentra relacionado con la actividad de agua cuya influencia sobre el crecimiento actividades metabólicas de los microorganismos está ampliamente documentada (Pastrana, 1996). Los microhongos son los microorganismos más adecuados, en función de sus bajos requerimientos de actividad de agua, para desarrollarse sobre sistemas en estado sólido. Con todo, se debe tener presente que los requerimientos de actividad de agua para la producción de metabolitos son sensiblemente superiores a los necesarios para el crecimiento, por lo que el mantenimiento y control de la humedad en los cultivos puede utilizarse como recurso para el control externo de este tipo de procesos. Así, un alto contenido en humedad provoca en numerosas situaciones descensos de la porosidad y por consiguiente de la difusión del oxígeno, aumenta el riesgo de contaminación bacteriana e incrementa la formación de micelio aéreo, efectos que se deben prevenir en una fermentación en estado sólido. Complementariamente un fenómeno igualmente indeseable se observa en cultivos con una reducida actividad de agua ya que cuando esta desciende por debajo del límite de crecimiento, se puede producir la esporulación del microorganismo. Generalmente el contenido inicial en humedad del sustrato oscila entre el 30 y el 75%. Durante el curso de las fermentaciones se ocasionan reducciones de este nivel debidas tanto a perdidas por evaporación como a la propia actividad metabólica de los microorganismos. Por ello es frecuente la implementación de humidificadores en los fermentadores o bien simple adición a intervalos de agua estéril al sistema (Pastrana, 1996).

Temperatura: Es frecuente que como consecuencia de la actividad metabólica de los microorganismos, se produzca una elevación de la temperatura en los fermentadores, especialmente en las zonas internas del sustrato. Este incremento térmico afecta directamente al crecimiento, germinación de las esporas y/o

formación del producto. Por ello, es conveniente dotar a los fermentadores de mecanismos que permitan disipar el calor, siendo los más frecuentes la circulación de aire en el interior del reactor, inmersión en baños de agua o su instalación en habitaciones de temperatura controlada. En algunos casos, en laboratorio, los cultivos poseen alta porosidad, pequeño espesor de la capa de sustrato y partículas de granulometría adecuada para no provocar compactaciones elevadas. En estas condiciones el calor generado durante la fermentación se disipa sin dificultad, siendo necesario, por el contrario, un aporte externo de energía para mantener una temperatura adecuada en los cultivos (Pastrana, 1996).

Aireación y agitación: Esto permite la transferencia de masa tanto a nivel interparticular como intraparticular. A nivel interparticular el proceso de transferencia de masa más importante es la difusión de gases, en especial la transferencia de oxígeno y depende esencialmente de la proporción de espacios huecos en la masa de fermentación y de la aireación. La proporción de espacios huecos, es una función de la geometría de las partículas del sustrato, del contenido en humedad y de la naturaleza química del sustrato, y debe representar al menos un 30% del volumen total de la masa de fermentación (Pastrana, 1996).. Las tasas de aireación se establecen de acuerdo con el tipo de microorganismos, los requerimientos para la síntesis del producto objetivo, el grado de eliminación del calor y CO₂, el espesor de la capa de sustrato empleada y el número de espacios intersticiales que dejan las partículas de sustrato. Para algunos autores es indispensable efectuar agitaciones más o menos intensas con el fin de permitir la eliminación del CO₂ formado y la renovación del aire en los espacios intersticiales, para otros las lesiones ocasionadas al micelio sometido a agitación hacen desaconsejable tal medida. Debido a que la mayor parte de los sustratos empleados en los cultivos en estado sólido son poliméricos (almidón, celulosa) y necesitan ser previamente degradados por las enzimas extracelulares, las limitaciones difusionales intraparticulares juegan un importante papel. Así, mientras para partículas con tamaño de poro grande la resistencia a la

transferencia de más es prácticamente insignificante, cuando el tamaño del poro es pequeño, es conveniente minimizar las limitaciones difusionales disminuyendo el diámetro de las partículas (Pastrana, 1996). De ahí la importancia de usar el material rayado o molido.

PH: El pH es uno de los factores críticos en unos procesos fermentativo, en estado sólido su seguimiento y control durante el transcurso de los cultivos es particularmente dificultoso. No obstante los sistemas de fermentación en estado sólido suele poseer una relativa estabilidad frente al pH. Ello es debido a la elevada capacidad tampón de los sustratos usuales, por lo que mediante el ajuste inicial del pH del sustrato es posible eliminar la necesidad de su control reduciendo la incidencia real de esta variable. Con todo, en ocasiones resulta conveniente realizar la humectación de los sustratos con soluciones tampón para evitar cambios de pH en áreas localizadas. Esta estrategia resulta adecuada en los casos en los que los cultivos no se someten a agitación y la fuente de nitrógeno se suministra como sales de amonio, circunstancias que promueven bruscos descensos del pH (L Dunierea, 2013; Pastrana, 1996).

Microorganismos: Desde el punto de vista de la fermentación en estado sólido los micro hongos son los microorganismos de elección, y ello debido a que de forma natural crecen sobre materiales sólidos, por dos motivos principales: 1) Facultad para utilizar mezclas de polisacáridos. De modo general los microhongos poseen sistemas enzimáticos completos que les permiten utilizar indistintamente varias fuentes de carbono. 2) Capacidad de adherencia y penetración en las partículas del sustrato. Es claro que la estructura micelar de los hongos filamentosos les confiere en este sentido ventaja frente a otros microorganismos (Pastrana, 1996).

4.3 PROCESOS DE FERMENTACIÓN EN ESTADO SOLIDO APLICADOS A DIFERENTES RESIDUOS DE COSECHAS

En los últimos años, ha cobrado gran importancia el enriquecimiento proteico de residuos agroindustriales y subproductos altos en celulosa como bagazo de caña, pulpa de remolacha, cascarilla de café y semillas y bagazo de manzana (BM) entre otros, mediante sistemas de FES con el objetivo de producir enzimas, etanol, proteína unicelular, champiñones, enzimas, ácidos orgánicos, aminoácidos, metabolitos secundarios biológicamente activos y otros productos para su uso industrial y alimenticio (Becerra, 2006).

Los procesos fermentativos, realizados en condiciones anaeróbicas, tienen un rendimiento de algo más de 3 moles de ATP por mol de glucosa fermentada (Bermúdez *et al.*, 2002; Castillo *et al.*, 2011). El ATP producido, es empleado por los microorganismos ruminales para su mantenimiento y multiplicación, mientras que cerca del 90% de la energía del sustrato fermentado, se conserva en forma de ácidos grasos de cadena corta. La fermentación realizada en condiciones aeróbicas, resulta en cambio mucho más productiva en cuanto a la síntesis de ATP, logrando más de los 30 moles por mol de carbohidrato fermentado, superando las tasas de fermentación obtenidas en el rumen. Bajo esas condiciones, los procesos biotecnológicos relacionados con la fermentación aeróbica, son una alternativa interesante para resolver el problema de la relación proteína: energía demasiado estrecha que presentan productos como la caña, el arroz, los frutales y otros almidones (Vivas *et al.*, 2004).

5. METODOLOGÍA

5.1 MATERIALES Y MÉTODOS

El presente proyecto se enmarcó dentro de un tipo de investigación de desarrollo tecnológico experimental, el cual pretende desarrollar un alimento alternativo de bajo costo y de alto nivel nutricional, para la alimentación animal, basado en el desarrollo de una fermentación en estado sólido de la papa (FES-papa).

Hipótesis:

Ho: Los residuos de papa sometidos al proceso de Fermentación en estado sólido a diferentes temperaturas y tiempos, no presentan cambios ni ventajas en su composición nutricional ni en indicadores fermentativos para el suministro animal.

H₁: Los residuos de papa sometidos al proceso de Fermentación en estado sólido a diferentes temperaturas y tiempos, presentan cambios en su composición nutricional y en indicadores fermentativos, haciéndolos una fuente alimenticia óptima para los animales.

5.1.1 Localización geográfica del área de estudio

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), ubicada en la avenida central del norte, vía Tunja – Paipa, en el municipio de Tunja, Departamento de Boyacá (Figura 1).

El Departamento de Boyacá, tiene una superficie de 23.189 km². Está situado en el centro del país, limita al Norte con los Departamentos de Santander y Norte de Santander y la República de Venezuela, al Oriente con los Departamentos de Arauca y Casanare, al Sur con los Departamentos del Meta y Cundinamarca, y al

Occidente con el Departamento de Antioquia, del que está separado por el río Magdalena (Información del departamento de Boyacá). El departamento es conocido por la belleza de sus paisajes por sus riquezas arquitectónicas y sus atractivos religiosos culturales e históricos y por ser uno de los departamentos pioneros en la producción de papa.

La Ciudad de Tunja se encuentra localizada, sobre la Cordillera Oriental de los Andes sobre una altura de 2.820 msnm, cuenta con una temperatura promedio de 12°C y precipitación media anual de 553 mm (Bernal, 2009).



Figura 1. Localización geográfica del área de estudio. Fuente: Oficina de planeación UPTC – Tunja

5.1.2 Preparación del alimento FES papa

En la preparación del producto FES papa se empleó tubérculo completo de papa obtenida comercialmente, previamente limpio y picado finamente; y se añadió los siguientes ingredientes y fuentes energéticas, según método descrito preestablecido por Elías *et al.* (1990) así: 90% de papa, 5% material secante

(Salvado de trigo); 2% de melaza, 1% de urea; 1% de microorganismos eficientes, 0,5% pre-mezcla mineral y 0,5% de Sulfato de Sodio. Estos ingredientes se mezclaron hasta obtener una pasta homogénea lo que denominamos producto fes papa; parte de este se dispuso para realizar los análisis de composición nutricional e indicadores fermentativos del producto a la hora 0 y a temperatura ambiente; y el producto restante se distribuyó en bolsas plásticas selladas no herméticamente para incubar a diferentes temperaturas y periodos de tiempo, según tratamientos, cada bolsa representó una unidad experimental, con tres repeticiones cada uno (Figura 2) (Tabla 3).



Figura 2. Fotos tomadas durante la preparación y análisis químico del producto FES papa.
Fuente: Autora

Tabla 3. Tratamientos empleados según temperatura y tiempo de fermentación

Tratamiento 0	0 H
Tratamiento 1	24 H 20°C
Tratamiento 2	24 H 25°C
Tratamiento 3	24 H 30°C
Tratamiento 4	48 H 20°C

Tratamiento 5	48 H 25°C
Tratamiento 6	48 H 30°C

El producto se mantuvo a 20°C, 25°C y 30°C, respectivamente, en incubadoras independientes marca Memmert®. Pasadas 24 y 48 horas de incubación se procedió a tomar parte de cada una de las muestras del producto para realizar los análisis químicos y bromatológicos respectivos (Anexo 1).

Después de la incubación, el contenido de las bolsas de cada tratamiento fue recolectado en su totalidad y homogenizado, luego se tomaron 5 g de muestra que se colocaron en un Erlenmeyer de 100 mL y se les adicionó 45 mL de agua destilada estéril (fresca). La preparación se agitó durante 30 minutos en un agitador eléctrico marca Adams® y posteriormente se obtuvo el filtrado mediante gasas estériles para medición del pH en un potenciómetro automático marca Okaton®, tecnología desarrollada por Elias *et al.* (Buono *et al.*, 2009; Elias *et al.*, 1990)

5.2.3 Análisis químico

El porcentaje de nitrógeno amoniacal (%N-NH₃) se determinó por Conway (1957) y ácidos grasos de cadena corta totales (AGCCt) según Cottyn y Boucqué (1968), citados por Ramos (2005).

El total de los sólidos que quedó en las bolsas se secaron a 60°C y se molieron en un martillo marca UDY®, con criba de 1 mm, para análisis bromatológico mediante las siguientes técnicas analíticas: Humedad (%H) y Materia seca (%MS) por secado a 60°C durante 24 h en estufa de secado, Cenizas (%CZ) por calcinación a 550°C durante 4 h en mufla y Proteína Cruda (%PC) por técnica kjeldahl, métodos establecidos por AOAC (1995); Proteína de filtrado (PF) según protocolo Instituto Ciencia Animal, Cuba, precipitándola con una solución de Sulfato cúprico

al 6% e Hidróxido de sodio al 1,25% y sometiéndola posteriormente a digestión kjeldahl, basado en método Berstein (1983) y la Proteína Verdadera (%PV) se calculó por diferencia (PC-PV), métodos citados por (Ramos, 2005; Elías *et al.*, 1994). La Fibra cruda (%FC) se determinó de acuerdo a la Norma mexicana NMX-F-090-S-1978 (Dirección general de normas México, 1979).

5.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

En este experimento, se utilizó un Diseño completamente al azar con estructura factorial de tratamientos empleando un modelo matemático para diseño bifactorial para las variables tiempo y temperatura:

$$T = Tkl = \ell k + y_l + Ekl + \varepsilon_{ij}$$

T= Tratamiento

Tkl= Tratamiento producto de la interacción de dos factores

ℓk = Factor A (Tiempo)

y_l = Factor B (Temperatura)

Ekl = Interacción entre factores AB

ε_{ij} = variable aleatoria normal con distribución independiente, con esperanza 0 y varianza $\sigma^2 \forall i, j$

5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó Análisis de Varianza (ANOVA), con el fin de determinar la composición nutricional con base en las distintas temperaturas y diferentes tiempos, junto con la posible interacción de los factores de los tratamientos 1 al 6. Para la comparación de medias se utilizó la prueba Tukey, usando el programa estadístico SAS, versión 9.2 para *Windows* (SAS, 2009).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El proceso de Fermentación en Estado Solido de la papa (*Solanum tuberosum*), es una temática de interés por su novedad apoyada en estudios previos realizados con la colaboración de investigadores del Instituto de Ciencia Animal (ICA) de Cuba; razón por la cual la información reportada en la literatura es escasa.

A continuación se presenta los resultados y discusión de los parámetros composicionales y algunos indicadores de fermentación de la FES papa sometidos a diferentes tiempos y temperaturas. Adicionalmente, es importante mencionar que los valores de cada parámetro evaluado en el presente estudio se presentan en base al porcentaje de materia seca respectiva para cada tratamiento.

6.1 EFECTO DEL TIEMPO Y LA TEMPERATURA EN LAS VARIABLES EVALUADAS

Al realizar el análisis de varianza para los diferentes tratamientos se obtuvieron los resultados que se detallan en la tabla 4 (Anexos 2-9).

Tabla 4. Análisis de varianza para los diferentes parámetros evaluados

Variable	Pr>F	Significancia	R ²	EEM
Amoniaco	0.1368	NS	0.3176	0.0022
AGV	0.0190	*	0.4975	1.6884
Humedad	0.0002	**	0.7506	5.6565
Materia seca	0.0002	**	0.7507	5.6546
Cenizas	0.0001	**	0.7971	1.7865
Proteína cruda	0.0001	**	0.8647	1.1466
Proteína verdadera	0.0229	*	0.4830	1.3867
Fibra cruda	0.2858	NS	0.2300	4.1539

** (Pr<0.010) altamente significativo, * (Pr entre 0.010 y 0.050) significativo, NS No significativo

Al realizar el análisis de varianza se encontraron diferencias estadísticas altamente significativas ($P < 0.01$) para humedad, materia seca, cenizas y proteína cruda. Se observa un coeficiente de determinación (R^2) de 75% para humedad y materia seca, de 79.7% para cenizas y de 86% para proteína cruda, lo que indica que los tratamientos explican en alto porcentaje la variación total para estas variables. También se hallaron diferencias significativas ($P < 0.05$) para las variables ácidos grasos volátiles y proteína verdadera con un coeficiente de determinación de 49 y 48% respectivamente, indicando que los tratamientos explican un buen porcentaje de la variación total. Las variables amoníaco y fibra cruda no mostraron diferencias significativas (NS) y presentaron un coeficiente de determinación de 31 y 23% respectivamente..

En cuanto al Error Estándar de la Media (EEM) el valor obtenido para el amoníaco es muy bajo, lo que significa que en el análisis de varianza de la concentración de amoníaco, los datos poseen baja dispersión. Para la media de las variables de ácidos grasos volátiles, las cenizas, la proteína cruda y la proteína verdadera el EEM presentó un valor menor a 2, por lo tanto, las medias o promedios de estos parámetros para cada tratamiento también presentan baja dispersión. En cuanto al EEM para las variables de humedad, materia seca y fibra cruda muestra una mediana dispersión.

En la tabla 5 se presentan los efectos de la temperatura y el tiempo sobre cada una de las variables evaluadas

Tabla 5. Análisis de los factores sobre los parámetros

Variable	Efectos	
	T	T(°C)
Amoníaco	NS	NS

AGV	NS	*
Humedad	*	**
Materia seca	*	**
Cenizas	NS	**
Proteína cruda	**	**
Proteína verdadera	NS	*
Fibra cruda	NS	NS

** (Pr<0.010) altamente significativo, * (Pr entre 0.010 y 0.050) significativo, NS No significativo

Se puede observar en la tabla 5 que el tiempo y la temperatura de fermentación no tuvieron efecto de relevancia estadística ($P>0.05$) para el comportamiento de los valores de amoníaco, ni para FC. Para el caso de los AGV, la temperatura presentó diferencias significativas ($P<0.05$), mas no el tiempo ($P>0.05$)

En las variables humedad y materia seca, el tiempo tuvo un efecto significativo ($P<0.05$) y la temperatura un efecto altamente significativo ($P<0.01$). Por su parte, la temperatura, mostró un efecto relevante sobre la medición de los porcentajes de cenizas ($P<0.01$) y el tiempo no presentó diferencias significativas ($P>0.05$).

En cuanto a la variable de proteína cruda, el tiempo y la temperatura ejercieron un efecto importante sobre los valores de la misma ($P<0.01$). Para la proteína verdadera la temperatura marca un efecto significativo ($P<0.05$) pero no así el tiempo ($P>0.05$).

En la tabla 6 se presentan los valores promedio de cada una de las variables en cada uno de los tratamientos y las diferencia entre ellos (Anexos 2-9), posteriormente se analizará y realizará la discusión para cada variable evaluada.

Tabla 6. Promedios de cada una de las variables en los diferentes tratamientos

VARIABLE	TRATAMIENTOS						Sign
	T1 24H20°C	T2 24H25°C	T3 24H30°C	T4 48H20°C	T5 48H25°C	T6 48H30°C	
Amoniaco	0.0052 ^b	0.0092 ^a	0.0090 ^a	0.0047 ^b	0.0054 ^b	0.0033 ^b	**

(%N-NH ₃)							
AGV (mEq/l)	0.6228 ^{b,c}	5.7855 ^a	1.6297 ^b	0 ^c	0 ^c	0 ^c	**
Humedad (%)	80.7 ^a	60.5 ^b	61.4 ^b	61.8 ^b	80.8 ^a	82 ^a	**
Materia seca (%)	19.3 ^b	39.4 ^a	38.5 ^a	38.1 ^a	19.1 ^a	17.9 ^a	**
Cenizas (%)	7.8 ^c	8.3 ^c	13.9 ^a	16.1 ^a	11 ^b	6.6 ^c	**
Proteína cruda (%)	16.6 ^b	20.8 ^a	20.2 ^a	21.0 ^a	14.8 ^c	14.8 ^c	**
Proteína verdadera (%)	10.8 ^{a,b}	12.4 ^a	7.8 ^d	10.3 ^{b,c}	10.6 ^{a,b}	8.2 ^{c,d}	**
Fibra cruda (%)	14.2 ^{a,b}	8.4 ^{b,c}	9 ^{b,c}	17.6 ^a	9.7 ^{b,c}	7.2 ^c	**

^{a,b,c,d} Letras diferentes en la misma fila muestran diferencias estadísticas significativas. ** (P<0.01)

En la tabla 7 se presentan los valores promediados de pH presentados en cada uno de los tratamientos, el cual se valoró para llevar un control del producto fes papa durante el transcurso del estudio, pues se reporta que el pH se debe mantener entre 3.5 y 6 para un adecuado crecimiento de microorganismos en procesos FES (Pandey *et al.* 2001; Elías *et al.*, 1990).

Tabla 7. Promedio de los valores de pH medidos en los diferentes tratamientos

TRATAMIENTO		pH
T0	O H	5,7
T1	24 H 20°C	5,1
T2	24 H 25°C	4,6
T3	24 H 30°C	4,3
T4	48 H 20°C	4,5
T5	48 H 25°C	4,4
T6	48 H 30°C	4,4

6.1.1 Amoniaco (%N-NH₃) Como se aprecia en la Tabla 6, el %N-NH₃ presentó un descenso, tanto para los tratamientos 24h como los 48h a medida que se incrementó la temperatura; lo cual coincide con estudios realizados por

(Fernández, 2009) en los que se adicionó Vitarfert (Microorganismos eficientes) a los desechos de caña de azúcar, y en sachasorgo y sachapullido con adición del 5% de vitafert (Ramos, 2005) a temperatura de 25°C. Este comportamiento puede atribuirse a la utilización del N-NH₃, así como de los azúcares disponibles, por parte de los microorganismos que prevalecen en el producto, para la formación de su protoplasma celular (Ramos, 2005). Álvarez *et al.* (2009), reporto el mismo comportamiento en un estudio de FES bagacillo de arroz, elaborado con 14 t de bagacillo de retorno, 1.5 % de urea, 0.5 % de sales minerales, 10 % de pulidura de arroz y 15 % de Saccharina como inóculo, el cual después de 24 h de fermentación, se ensiló en bolsas de nailon durante 45 d y finalmente se realizó medición de parámetros.

Así mismo, se observó un comportamiento similar en la concentración de amoniaco en un trabajo realizado en FES de mezcla de caña y boniato con adición de urea del 1% (Rodríguez *et al.*, 2001), cantidad igual a la usada en el presente estudio. Los investigadores observaron valores de 6,4 y 1,66 mEq/L de amoniaco a las 0 y 48 h de fermentación respectivamente; mostrando de esta manera disminución de los valores con el transcurso del tiempo; coincidiendo con una disminución significativa del pH ($P < 0.001$) durante las primeras 48 h y posteriormente ascendió de forma notable en aquellos tratamientos con mayor nivel de nitrógeno. Estos resultados concuerdan con el presente estudio donde las mediciones se realizaron únicamente para las primeras 24 y 48 h de fermentación.

Cuando se tiene un pH bajo, como el medido para los tratamientos a las 24 y 48h (Tabla 7), el NH₃ producido es retenido en el sustrato (Rodríguez *et al.*, 2001). Este amoniaco como compuesto puede ser utilizado por ciertos microorganismos que no hidrolizan la urea agregada, como resultado de esto, la cantidad de algunos microorganismos presentes en los sustratos fermentados se puede incrementar (Valiño *et al.*, 1994).

En cuanto a esto, se recalca la importancia de que el crecimiento de los microorganismos desarrollados durante los procesos de fermentación en estado sólido, no solo dependerá de los sustratos empleados, sino también de factores biológicos y de los factores físicos-químicos como la disponibilidad energética, temperatura, el pH, la aireación, el tiempo de incubación de la muestra, que pueden influir en su crecimiento (Rodríguez *et al.*, 2001; Pandey *et al.*, 2001).

Es así que, en cuanto al papel del sustrato, en un ensayo donde se emplearon cuatro sustratos diferentes (extracto de malta, manzana molida, melaza de caña y suero de leche) y tres tipos de levaduras se logró determinar que el Nitrógeno Amoniacal, se incrementó cúbicamente ($P < 0.01$), observando diferencia ($P < 0.01$) entre tratamientos y levaduras (Díaz, 2011). De las 0h a las 128h de la FES, la concentración de NH_3 en los sustratos se incrementó de 0.10 a 0.78mM/ml en t1 con la levadura A, de 0.02 a 0.89 mM/ml en t2 con la levadura B, de 0.00a 0.81 mM/ml en t3 con la levadura C y de 0.00 a 0.88 mM/ml en t4 con la levadura D, indicando actividad de los microorganismos ureolíticos como lo explican considerando el tipo de sustrato (Calderón *et al.*, 2005; Valiño *et al.*, 1992).

Adicionalmente, se reporta en la literatura (Aranda *et al.*, 2012) que durante el proceso FES los microorganismos requieren de fuentes de N, como la urea, y de carbohidratos solubles para convertir mediante reacciones metabólicas el nitrógeno no proteico en nitrógeno proteico, maximizando el uso eficiente el NH_3 en la síntesis de aminoácidos.

Wilkinson (2005) citado por (Nkosi *et al.*, 2010), menciona que el Nitrógeno amoniacal en un ensilaje refleja el grado de degradación de la proteína, y que la proteólisis extensa afecta negativamente la utilización del N por el rumiante. Por lo que se describe que para mantener bien conservado los alimentos mediante procesos fermentativos, estos deben contener menos de 100g N- NH_3 /Kg (McDonal *et al.*, 1991). En este sentido, la inoculación de desechos de croquetas de papa en el ensilaje, mostró reducción en la concentración de N amoniacal en

comparación con el grupo sin inoculante (Nout, 2014). Sin embargo, un rápido descenso en el pH reduce la degradación de la proteína en un silo (McDonal *et al.*, 1991).

En contraste, autores (Driehuis *et al.*, 2001) que inocularon un ensilaje de maíz con *L. buchneri* (<270g/kg MS), informaron que al aumentar la concentración de N amoniacal se aumentó el pH, y que esto se debió relativamente a la actividad metabólica de la bacteria.

Finalmente, cabe indicar que Galindo *et al* (2005), citado por (Fernández, 2009) señalan niveles óptimos entre 5 a 8 mg/dL⁻¹ de N-NH₃ en un subproducto sometido a fermentación, para maximizar la síntesis de proteína microbiana.

6.1.2 Ácidos Grasos Volátiles totales (AGVt)

Los ácidos grasos volátiles presentaron un incremento significativo ($P < 0.01$) a las 24 h y 25°C de fermentación, pero en los muestreos de las 48 h se hallaron valores de 0 mEq/L, indicando que quizá por su condición volátil se evaporan a mayor temperatura y tiempos mayores de 24 h de fermentación. La alta concentración de AGVt en el tratamiento 2 durante el proceso de FES papa, se relaciona con otros experimentos (Ramos *et al.*, 2005) donde se ha empleado menos del 2% de urea en Fes caña de azúcar, lo que según Brown y Johnson (1970), citados por (Ramos *et al.*, 2005), puede limitar la disponibilidad del NH₄ para los microorganismos debido a la baja cantidad de urea.

Considerando lo anterior, los microorganismos harían uso de los aminoácidos libres del protoplasma, haciendo que entren en fase de latencia con acumulo interno de polisacáridos celulares (Thomson y Hobson., 1971, citados por Ramos *et al.*, 2005), fermentando los azúcares disponibles de la caña de azúcar con producción de AGVt. Este proceso llevaría al agotamiento de los carbohidratos solubles disponibles para la actividad energética de la microbiota durante las

primeras 24 horas de fermentación, por lo que disminuye la producción de metabolitos como los AGV (Elías *et al.*, 2001), lo que se vio reflejado en los valores de 0 mEq/l a las 48 h de fermentación en el presente trabajo (Tabla 5)

Continuando con el efecto del tiempo, (Rodríguez *et al.*, 2006) reportaron que el tiempo de fermentación en fes boniato no influyó en la cantidad de los AGVt, aspecto que también se observó en el presente estudio (Tabla 5). Además el mismo autor encontró que el tiempo no afectó la concentración de ácido láctico y los menores valores de acético se encontraron a las 48 h.

Los resultados de este trabajo en la disminución de la concentración de ácidos grasos volátiles en diferentes tiempos y temperaturas, también coinciden con lo propuesto por Ramos, (2005) y Fernández, (2009) que durante el proceso de FES de desechos de caña de azúcar observaron que, los microorganismos obtienen la energía de la oxidación de los carbohidratos (sacarosa, glucosa, fructosa y almidón) del sustrato y de las fuentes energéticas empleadas; con la producción final de energía en forma de ATP, de AGV, ácidos orgánicos, CO₂ y H₂O. Estos productos de desecho de los microorganismos, se convierten en el sustrato de otros; así, probablemente, en el presente estudio, los AGV pueden ser usados por las levaduras y las bacterias como elementos estructurales para la construcción de nuevas células; que finalmente; se convertirían en fuente proteica para el rumiante.

6.1.3 Humedad (H) y Materia seca (MS)

En la literatura, Prada (2012) y Mora, (1999) reportan valores de humedad para la papa cruda del 75 – 76% y Montoya et al., (2004) observó porcentajes de materia seca del 19.9%. En un estudio previo realizado por Fonseca, (2013) se determinó un porcentaje de 86,76% de H en la papa cruda, valor similar al obtenido para el producto FES papa recién preparado en este trabajo, de 84,1% H y 17,7% MS, lo que puede atribuirse a la adición de los microorganismos eficientes

en estado líquido y a la urea diluida en agua destilada. Adicionalmente, se observó que a las 24 h de fermentación los %H disminuyeron significativamente ($P < 0.01$) y a las 48 h nuevamente los valores de H aumentaron (Figura 6); indicando también el aumento y la posterior disminución ($P < 0.01$) de %MS a las 24 y 48 h de incubación, respectivamente. Se sugiere, que la disminución de la MS de los diferentes alimentos al inicio de la fermentación, con respecto a la calculada, está relacionada con la adición de agua al sistema, al diluir la urea (Ramos, 2005) lo que corresponde a los resultados presentados a 24 h (Tabla 6). Así mismo, con el transcurso de tiempo se empieza a liberar una mayor cantidad de agua por los procesos metabólicos desarrollados por los microorganismos. Se indica, que la acción microbiana provoca una reducción de MS en el tiempo durante procesos FES producto de la utilización de azúcares (sacarosa, glucosa, fructosa) y almidón en sus procesos metabólicos generando agua, CO_2 y AGV, lo que se ha reportado por Rodríguez et al., (2001) al evaluar procesos fes luego de 48 horas de fermentación.

La disminución de la MS también se puede deber a la hidrólisis de la urea y, posiblemente en menor escala, a la desaminación de péptidos y aminoácidos con la producción de amoníaco que se pudiera volatilizar en dependencia del pH final del proceso, por los microorganismos presentes en el ecosistemas durante sus procesos metabólicos para síntesis celular, oxidándolos a ácidos grasos (que pudieran ser usados por levaduras y bacterias), CO_2 y H_2O (Rodríguez, 2005). Parte del agua producida durante la oxidación de las moléculas, pudiera evaporarse por el calor metabólico que se genera durante el proceso de FES (Mitchell *et al.*, 2002, Pandey *et al.*, 2001; citados por Ramos et al., 2007). Esto coincide con el comportamiento evaluado en los valores de MS a 48 h de fermentación (19 y 17,9% a 25 y 30°C, respectivamente) donde se observa que dichos valores vuelven a ser similares a los de la hora 0 que también fue tomada con un resultado de 15.7%, adicionalmente se observa que los porcentajes de N-NH_3 y la cantidad de AGVt también se encuentran muy cercanos a 0.

En otros estudios, se obtuvieron resultados similares a este trabajo, empleando la caña de azúcar durante el proceso de la FES. La MS final disminuyó en 2.0 y 2.01 unidades percentiles con relación a la MS inicial para el Sacchasorgo y Sacchapulido, respectivamente (Ramos, 2005). Por otra parte, (Rodríguez, 2005) encontró que la materia seca en Sacchaboniato disminuyó conforme se prolongó el tiempo de fermentación. También, se halló disminución de la materias seca en Saccharina en el tiempo de fermentación (0 y 24 h) (Elías *et al.*, 1990).

6.1.4 Proteína cruda (PC) y Proteína verdadera (PV)

Los valores de proteína cruda reportados para la papa cruda son 6-12% en base a materia seca. En un estudio previo realizado en el Laboratorio de Nutrición Animal de la UPTC (Fonseca, 2013) se determinó un valor de 7,73% de PC en la papa cruda; valores superados significativamente ($P<0.01$) al someter los residuos de papa a FES llegando a ser hasta del 21% en producto fermentado por 48h a 20°C, seguido de valores de 20,8; 20,2; 16,6; 15,4 y 14,7% en T3, T4, T2, T7 Y T6 respectivamente ($P<0.01$). Adicionalmente, a la hora 0 y temperatura ambiente, que también fue valorada, se observó un 15.5% PC que pudo deberse a la adición de urea. Estos valores superan otros trabajos donde se suministró papa, en Antioquia (Colombia) usando papa Capira para alimentación de vacas Holstein con porcentajes de proteína cruda de 13,6% en base a materia seca (Montoya *et al.*, 2004).

Por otra parte, empleando diferentes sustratos (maíz molido, sorgo molido, pulpa de cítrico deshidratada y pulidora de arroz) y fuentes energéticas en un estudio en Cuba se logró estimar que con los valores de PC ascienden a 17.52 - 22.98% y PV 10.62 - 13.27% al someterlos a FES, afirmando que este tipo de alimentos pudiera competir con alimentos comerciales; además, se demostró el potencial que tienen los procesos de FES en la producción de alimentos de mayor valor nutritivo para los animales, a partir de materiales fibrosos con bajo contenido de

proteína, y disponibles local o regionalmente, como es el caso de la caña de azúcar (Ramos, 2005).

El incremento de la proteína utilizando otros sustratos también fue comprobado por Valdivie *et al.* (1997), citado por (Cárdenas *et al.*, 2008). El investigador, informó que en caña de azúcar fermentada con diferentes ingredientes mediante FES, los valores de PC pasaron de 11,5 a 16,3% y la PV paso de 4,7 a 9,77% sin inóculo y a 9,8% con inóculo. Por su lado, (Rodríguez *et al.*, 2001) en la elaboración de Saccharina a partir de caña y boniato sometida a diferentes tiempos de fermentación (24, 48, 72 y 96h), con adición de 1% de urea, obtuvieron valores de PC de 10,1% a las 24 h y de 13,7% a las 48 h.

Así mismo, en un ensayo empleando bagacillo de retorno, con 24 h de fermentación y con inclusión de 20 % de pulido de arroz, se alcanzaron valores promedio de 21.1 a 27.1 % de PB y de 9.9 a 11.9 % de PV, con temperaturas de incubación de 38.5 a 45.8 °C (Elías *et al.*, 2000). También en la Fes de garbanzo se obtuvo un incremento, con diferencias estadísticas ($p < 0,05$), de proteína cruda de 19,6 a 23,2% y de proteína verdadera 19,9 a 23,4% en desechos de garbanzo (Gómez *et al.*, 2000). En otro estudio realizando FES a la yuca para alimentación de cerdos en el valle del Cauca (Colombia) se logró aumentar de un 3 a un 9.2% PC (Espinosa, 2008).

Por su parte, el incremento hallado en los porcentajes de proteína puede atribuirse a que se mantuvo un pH dentro de un rango adecuado para el crecimiento de los microorganismos (ver Tabla 7), estos a su vez hacen uso de la energía disponible en forma de carbohidratos solubles que la papa proporciona, utilizada para la retención de amoníaco y posterior conversión de NNP en nitrógeno proteico a través de procesos físico – biológicos (Valiño *et al.*, 1994). Ramos *et al.*, (1990) indican que la eficiencia de conversión de los carbohidratos solubles a proteína puede llegar a valores de 61%, debido al desarrollo de la microbiota que se establece en el sistema cuando este le proporciona las condiciones adecuadas

para su crecimiento. También, Ramos (2005), reporta que empleando inoculación con microorganismos eficientes Vitafert en Sacchasorgo y Sacchapulido, se observó una mayor retención de amoníaco, debido al menor pH, lo cual incremento el contenido de PC de estos alimentos. Además, el investigador afirma que a pesar de que la inoculación con el Vitafert no tuvo el incremento en PV esperado, es importante usar este producto, ya que el pH que se obtiene al final de la FES, nos permitiría conservar húmedo el producto almacenado, lo que evitaría que otros microorganismos no deseables se establezcan. Adicionalmente, de acuerdo con los resultados de (Rodríguez, 2005), sería importante buscar estrategias que permitan que, cuando se use el Vitafert como inóculo, el pH no descienda bruscamente en las primeras horas y no afecte a los microorganismos que se desarrollan en estos procesos, como se ha mencionado anteriormente, efecto que no se presentó en nuestro estudio ya que los valores del pH si bien tendieron a disminuir no lo hicieron de manera abrupta.

A raíz de varios estudios de FES, se infiere que los valores de PC y PV están relacionados a la cantidad de AGVt y el pH, por ejemplo, en el Sacchasorgo los contenidos de PVE son ligeramente inferiores, en muestras con menor concentración de AGVt y pH. Al respecto Pandey *et al.*, (2001) citado por (Ramos 2005), mencionan que uno de los mayores problemas de la FES es la heterogeneidad del proceso. En el presente experimento, para el producto FES papa, también se observó una correspondencia directa entre los valores de pH y el porcentaje de PV, basta con detenerse en el T4 que fue donde se presentó el mínimo pH del estudio y que corresponde al mínimo porcentaje de PV, sin llegar a ser deficiente. Según, Sinkkema *et al.* (1995), Geros *et al.* (2000), Roe *et al.* (2002), Augstein *et al.* (2003) y Schüller *et al.* (2004), citados por (Ramos, 2005), este efecto negativo del bajo pH en la síntesis de proteína microbiana, se debe a que los ácidos débiles como el acético, láctico, sórbico y benzoico, a pH bajo se encuentra en forma no disociada y pueden atravesar la membrana celular por difusión pasiva y, al disociarse, bajan el pH del citosol, acidificándolo.

En los procesos bioquímicos desarrollados durante la FES, las proteínas solubles y degradables, que en cantidad es poca, y la de los ingredientes energéticos utilizados, probablemente pudieran ser transformadas por las proteasas extracelulares de los microorganismos a péptidos, los cuales dentro del interior de la célula microbiana, pudieran ser atacados por las peptidasas con liberación de aminoácidos (Hristov *et al.*, 2005). En el interior de la célula los aminoácidos serían utilizados directamente para la síntesis de proteínas o de otros constituyentes celulares, como las paredes celulares y los ácidos nucleicos, o catabolizados a AGVt, ácidos orgánicos, CO₂ y H₂O; parte de los aminoácidos serían desaminados a NH₃ a través de la enzima L-Glutamato Deshidrogenasa - NADH; así mismo, la urea sería transformada a NH₃ por la enzima ureasa de la microbiota epifítica de estos procesos (Valiño *et al.*, 1994). El amoníaco liberado puede convertirse en NH₄ por efecto del bajo pH, y este se puede incorporar al protoplasma celular a través de la enzima L-Glutamato Deshidrogenasa-NADPH para el metabolismo de los aminoácidos en la mitocondria (Fernández, 2009).

Rodríguez *et al.* (2001) indican que con traspasos mayores de tiempo de 48 horas fermentación ocurren reducciones bruscas de los valores de PC debido a que en este momento se obtienen las mayores producciones de NH₃ que como compuesto volátil se pierden durante el procesamiento de la muestra; concordando con lo observado en nuestro estudio ya que los valores de la PC a las 48 h en las muestras conservadas a 25 y 30°C fueron inferiores a las reportadas para los tratamientos a las 24h.

En cuanto a la proteína verdadera es el indicador más importante de la síntesis microbiana. Por tanto los incrementos observados en éste parámetro confirman que los carbohidratos y el nitrógeno ureico fueron utilizados en la formación de protoplasma celular (Rodríguez *et al.*, 2001), indicando que la máxima eficiencia alcanzada para el paso de nitrógeno no proteico a nitrógeno proteico se lleva a cabo cerca a las 96 h de fermentación con adición del 1% de urea a la mezcla.

Finalmente, cabe resaltar que aproximadamente el 50% de la PC corresponde a compuestos nitrogenados no proteicos, uno de los cuales es la Solanidina, alcaloide, que puede estar presente libre o combinado en forma de glicoalcaloides denominados chaconina y solanina, ambos tóxicos para los animales (Siebald *et al.*, 2002). Este inconveniente también se ve contrarrestado al someter los desechos de papa a Fermentación en estado sólido, pues en este caso la mayoría de la proteína es de origen microbiano y no directamente del alimento.

6.1.5 Cenizas (CZ)

Las cenizas o minerales, son sales y óxidos de los diferentes elementos químicos. Es en base a esos elementos, que en el lenguaje de la Producción Animal, se nombra y se conoce a los minerales (Cárdenas *et al.*, 2008). La papa cruda presenta valores promedio de 4-6% de cenizas en base a materia seca (Montoya *et al.*, 2004; Mora, 1999), valores que se vieron incrementados de manera significativa ($P < 0.01$) en cada uno de los tratamientos del actual estudio y que fueron superiores a lo indicado para la papa cruda. Este comportamiento puede atribuirse a que se adicionó 0.5% de premezcla mineral al producto fes papa. En otro estudio realizando FES a la yuca para alimentación de cerdos en el valle del Cauca (Colombia) se logró aumentar de un 1,6% a un 4,8% CZ (Espinosa, 2008). En FES de desechos de guayaba para alimentación de ganado en México se pasó de 0,7% de CZ a 1,5%, sin adición de material secante ni premezclas minerales, manteniendo el producto a 28°C durante 7 días de fermentación (Jauregui, 1992). Arias (2010) obtuvo un porcentaje de hasta 17,96% de cenizas en pollinaza sometida a fermentación en estado sólido por un periodo de 24 h. Contrario a esto, en Fes de residuo de la pulpa de café se pasó de un 6,20% de cenizas en fresco a un 4,8% en producto fermentado; mostrando un comportamiento inverso al de Fes papa (Gualtieri *et al.*, 2007).

La elevación en los valores de cenizas con el tiempo de fermentación también fue reportado por Pérez (1996), quien observó que al someter el mijo de perla

(*Pennisetum americanum* (L) Leeke) a fermentación en estado sólido el contenido de cenizas paso de 1.6% a 2.1% a las 72 horas de fermentación como consecuencia del metabolismo celular. Se sugiere que el hongo *Rhizopus oligosporus* empleado para la fermentación utilizo carbohidratos y fibra, aumentando entonces la cantidad del contenido de grasas y minerales no utilizados por él en el producto final.

Argamentería *et al.* (1997), citado por (Mier, 2009), señalan que las cenizas indican el contenido mineral de un alimento; sin embargo, si el porcentaje es alto, mayor del 15 % sobre MS, es seguro que hubo contaminación con tierra, lo que pudo haber sucedido en el T4 en el cual se dieron porcentajes de 16.1%.

Dentro de los los valores de cenizas se encuentran el fósforo, azufre y otros metales, que son importantes para el metabolismo de la microbiota; pero en pequeñas cantidades, como ha sido señalado por (Robinson *et al.*, 2001), mientras que otros autores (Elías *et al.*, 1993; Mufarrege, *sf*), demostraron la importancia de los elementos trazas y vitaminas del complejo B para el crecimiento acelerado de las levaduras que se establecen durante la FES de la caña de azúcar.

6.1.6 Fibra cruda (FC)

El contenido de fibra cruda en la papa cruda varia normalmente entre 3 a 4% lo cual implica la necesidad de combinar este alimento con otros, ricos en este elemento, a fin de producir un mejor aprovechamiento específicamente en los rumiantes (Siebald *et al.*, 2002); adicionalmente un alto porcentaje de papas en la ración puede ocasionar problemas digestivos por un efecto laxante y de meteorismo. Para evitar este efecto y mejorar el aprovechamiento general de este tubérculo, es necesario acompañarla con alimentos ricos en fibra (Siebald *et al.*, 2002). En este sentido, de acuerdo a los datos observados en la tabla 6, el proceso Fes en la papa ofrece un beneficio adicional pues los valores encontrados

son superiores respecto a la papa cruda, hallando inclusive cantidades de 14 y 17% en los tratamientos de 20°C a 24h y 48h, respectivamente. Estos resultados coinciden con investigaciones donde se observó incremento en los porcentajes de fibra después de someter desechos de caña de azúcar a procesos de FES (Ramos, 2005).

El incremento de la fibra puede ser explicado porque el tiempo de fermentación incrementa significativamente el contenido de paredes celulares, en relación al contenido de almidón del producto usado (Aranda *et al.*, 2012). Esto debido al uso de los azúcares que se encuentran en el contenido celular por los microorganismos que se desarrollan en el sistema (Berradre *et al.*, 2009; Fernández, 2009; Ramos, 2005), proceso que se ve reflejado aproximadamente a las 48 h de fermentación según (Rodríguez *et al.*, 2001).

6.2 COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS TRATAMIENTOS CON RELACIÓN AL TIEMPO CERO Y LAS DIFERENTES TEMPERATURAS

6.2.1 Amoniaco:

La medición del nitrógeno amoniacal a la hora 0 resulto en 0,048% y a partir de allí tuvo un descenso ($p < 0.01$) a las 24 horas de incubación a 0,0052; 0,0092 y 0,009% a 20°, 25° y 30°C respectivamente; y a las 48 horas a 0,0047; 0,0054; 0,0033% respectivamente.

Se observó que en el trascurso del tiempo de fermentación la cantidad de N-NH₃ tuvo ligeros descensos (Figura 3 y 4), lo que se tradujo en disminución de pH pasando de un valor de 5,7 en el producto recién preparado a 5,1; 4,6 y 4,3 a 20, 25 y 30° C de incubación a las 24 h; y a 4,5; 4,4 y 4,4 a las 48h, respectivamente.

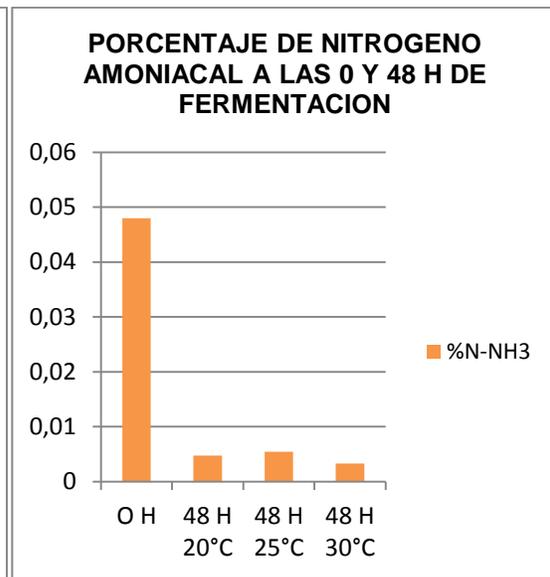
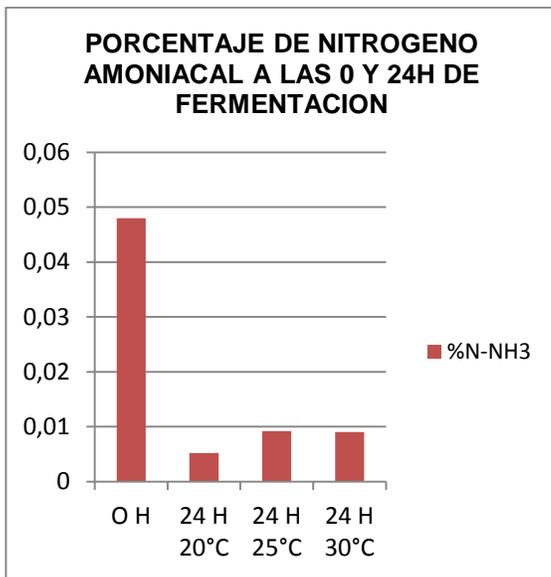


Figura 3. Variación del porcentaje del N-NH₃ a las 24 h de fermentación respecto al producto recién preparado.

Figura 4. Variación del porcentaje del N-NH₃ a las 48 h de fermentación respecto al producto recién preparado.

En la figura 3 se observa como los valores disminuyeron en los distintos tiempos de fermentación y temperaturas con el tiempo de fermentación. Así mismo, se aprecia en la figura 4, que los porcentajes disminuyeron en gran proporción a las 48 h de fermentación, alcanzando valores muy cercanos a 0%.

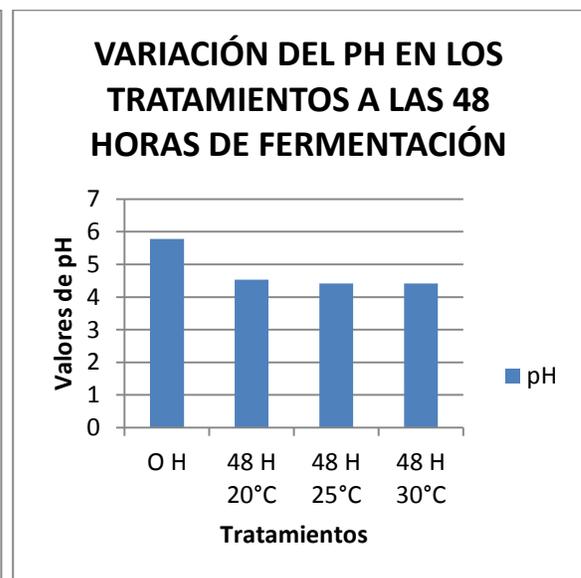
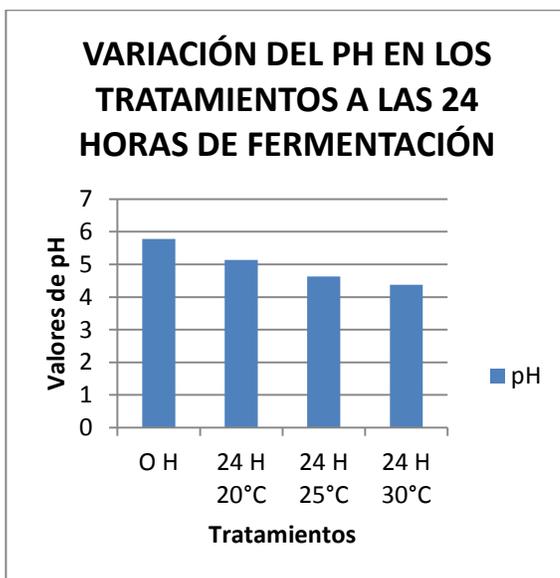


Figura 5. Valores del pH durante las primeras 24 h del proceso fermentativo.

Figura 6. Valores del pH a las 48 h de fermentación.

En cuanto a los valores de pH (Tabla 7) (Figura 5 y 6), se observa que los valores tienden a disminuir con el tiempo de fermentación y que existe similitud con el comportamiento del N-NH₃. Así mismo, los valores de las 48 h fueron estables (4,5 y 4,4), lo que coincide con la disminución de los valores de N-NH₃ y AGVt

Se indica que el objetivo principal del uso de inoculantes bacterianos al hacer ensilaje es obtener un tipo de ácido láctico que resulta de la fermentación en el ensilaje bien conservado (Nkosi *et al.*, 2010). En general se cree que la inoculación microbiana de ensilado tiene efectos positivos sobre la fermentación por la disminución del pH y ácido butírico, y el aumento de la concentración de ácido láctico y ácido acético (Muck *et al.*, 1997). El pH de los ensilajes después de 90 días de ensilaje se redujo a 4,6 o menos, lo que se considera aceptable para ensilajes con cantidades de materia seca de 350 g/kg (Chemey *et al.*, 2006). Los inoculantes aumentan la producción de ácido láctico y la disminución del pH del ensilaje, así como las concentraciones de ácido butírico y N amoniacal en comparación con el tratamiento control de ensilaje de maíz (Aksu *et al.*, 2004).

Lo anterior también se ha descrito en estudios de Fes en diversos productos como el Sacchaboniato y la pulpa del café (Aksu *et al.*, 2004; Cárdenas *et al.*, 2008; Rodríguez, 2004); recalando que el pH es un indicador estrechamente correlacionado con la dosis de urea, la concentración de amoníaco y, en menor o mayor grado, con los AGVt (Echeverría *et al.*, 2003). Al adicionar diferentes porcentajes de urea a las FES de caña de azúcar, se demostró que el amoníaco y los AGVt estuvieron altamente correlacionados con el pH del Sacchamaíz, Sacchasorgo y Sacchacítrico (Cárdenas *et al.*, 2008).

Adicionalmente, en experimentos donde se ha incluido microorganismos eficientes (Vitafert), se ha reportado que la disminución, posiblemente se deba al desarrollo

de las bacterias láctogénicas que se encuentran en el Vitafert, que producen ácido láctico durante su actividad fermentativa. Por otro lado, la disminución del pH coincide con la disminución de la concentración de amoníaco (Fernández, 2009).

6.2.2 Ácidos Grasos Volátiles totales: La cantidad de ácidos grasos volátiles a la hora 0 fue de 4.7 mEq/L; a las 24 horas de incubación se observó cambios drásticos pasando a 0,62; 5,78; y 1,62 mEq/L a 20°, 25° y 30°C respectivamente y a las 48 h las mediciones fueron 0 mEq/L para las diferentes temperaturas, variaciones de relevancia estadística ($P < 0.01$) en los dos periodos de tiempo.

Los valores de AGVt presentaron un comportamiento muy variable, ya que a las 24 h y 20 y 30°C de fermentación se observó una disminución en los valores (Figura 7), pero el material incubado a 25°C presentó un valor superior al dato inicial; y a las 48 h de fermentación se pudo observar que los valores fueron de 0 mEq/l (Figura 8).

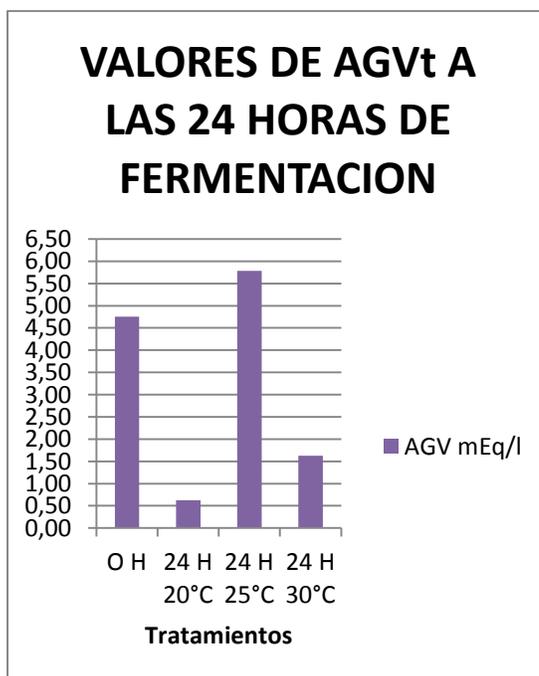


Figura 7. Tendencia de los valores de Acidos grasos volatiles totales en los diferentes tratamientos a las 24 h de fermentación.

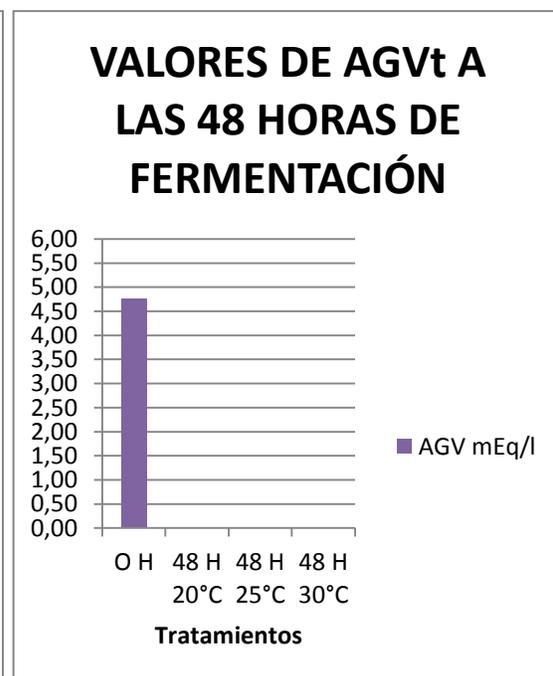


Figura 8. Tendencia de los valores de Acidos grasos volatiles totales en los diferentes tratamientos a las 48 h de fermentación.

En las figura 7 se aprecia que el valor de las 24H25°C de fermentación es superior al valor inicial, dato que coincide con el descenso del pH; igualmente en la figura 8 se observa que las mediciones de las 48 h resultaron en 0mEq/l, lo que se refleja en valores estables de pH para estas mediciones.

6.2.3 Humedad y Materia seca: El producto FES Papa presento inicialmente un cantidad de 84,1% en humedad; el material fermentado por 24 horas presentó promedios de 80,6; 60,4 y 61,3% de humedad a 20°, 25° y 30°C (P<0.01). A las 48 horas el material mostró porcentajes de 61,8%; 80,8% y 81,9%, respectivamente (P<0.01).

El porcentaje de materia seca pasó de 15,7% a las 0 horas a 19,2; 39,4 y 38,5% respecto a cada temperatura a las 24 horas de fermentación mostrando diferencias (P<0.01) . A las 48 horas se observó una tendencia inversa ya que los porcentajes de materia seca resultaron de 38,1; 19,1 y 17,9 a 20°, 25° y 30°C de incubación, respectivamente (P<0.01).

EL porcentaje de MS se comportó inversamente proporcional al de humedad, observándose de manera general que en las mediciones de las 24 h el % MS aumento respecto a la hora cero, observándose el mayor porcentaje a las 24 h y 25°C de incubación (Figura 9). En las mediciones de las 48 h se observó descenso en los valores llegando nuevamente al promedio de las 0 h para las muestras de 25° y 30°C (Figura 10).

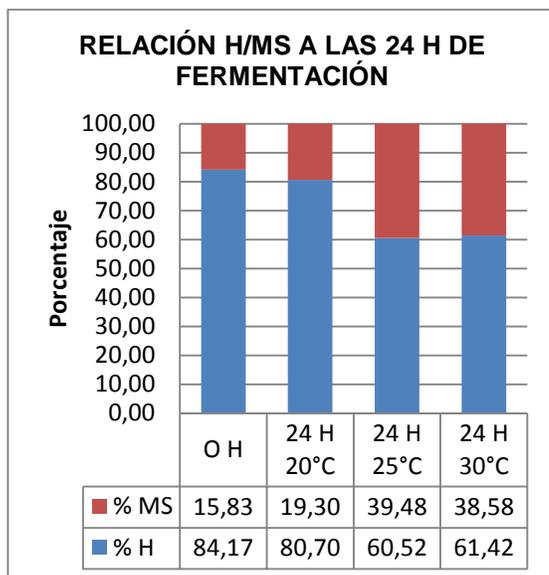


Figura 9. Valores de materia seca y humedad a las 24 h de fermentación.

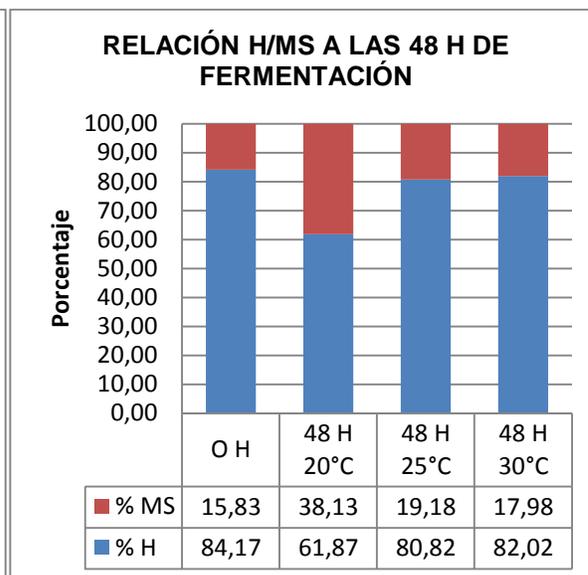


Figura 10. Valores de materia seca y humedad a las 48 h de fermentación..

En la figura 9, se puede observar que el producto presenta aumento en el %MS luego de 24 horas de conservación en las diferentes temperaturas. Por su parte, en la figura 10, se interpreta que el %MS en el producto mantenido a 25 y 30°C disminuye a valores similares al de la hora 0, este comportamiento, como se explicó anteriormente se atribuye a con el transcurso de tiempo de fermentación se empieza a liberar una mayor cantidad de agua por los procesos metabólicos desarrollados por los microorganismos haciendo que el porcentaje de MS disminuya.

6.2.4 Cenizas: El producto recién preparado expresó un porcentaje de 6,4 de cenizas; a las 24 horas los valores aumentaron a 7,9; 8,3; y 13,9% respecto las tres temperaturas de incubación. Finalmente, en el producto fermentado durante 48 horas los valores fueron 16,1; 10,9 y 6,6% ($P < 0.01$).

Se pudo observar que el tiempo y la temperatura de fermentación implicaron un aumento en las diferentes mediciones, respecto al producto recién preparado (Figura 11 y 12).

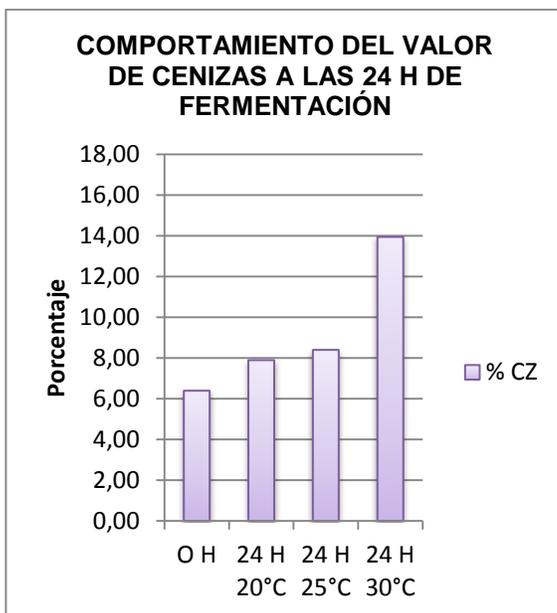


Figura 11. Porcentajes de cenizas en los tratamientos establecidos a las 24 h.

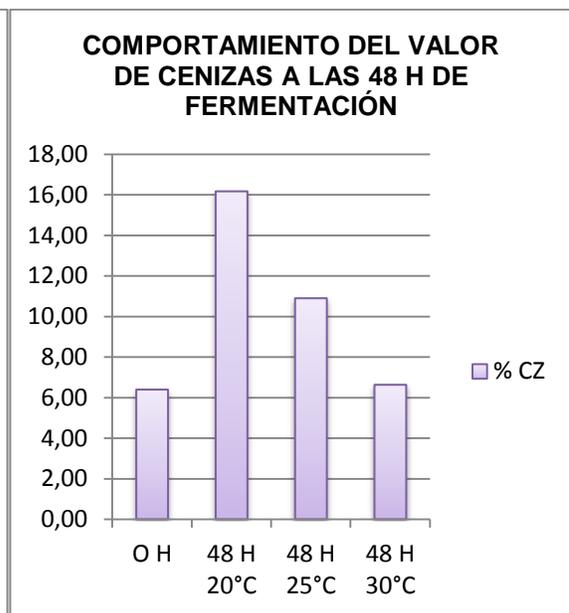


Figura 12. Porcentajes de cenizas en los tratamientos establecidos a las 48 h.

Como se observa en la figura 11, los valores de CZ incrementaron a las 24 horas al incrementarse la temperatura, con un valor máximo en el producto conservado a 30°C. En los tratamientos analizados a las 48 horas, se observa que los valores incrementaron respecto a las hora 0, alcanzando un 16,1% en el producto incubado a 20°C (Fig 12). Cabe recordar que se adiciono 0.5% de premezcla mineral y que adicional a esto el metabolismo de los microorganismos incrementa con el trascurso del tiempo la cantidad de los minerales en el producto.

6.2.5 Proteína Cruda y Proteína verdadera: El material FES papa recién preparado mostro una cantidad de 15,5% de PC; a las 24 horas de fermentación se presentó un aumento en las diferentes temperaturas resultando en 16,6; 20,8 y 20,2% respectivamente. A las 48 horas de incubación los valores resultaron un tanto diversos de esta manera: 21; 14,7 y 15,4% (P<0.01).

El valor inicial de proteína verdadera del producto fue de 8,8%; a las 24 horas presentó un aumento para el producto conservado a 20 y 25°C y una ligera reducción al de 30°C resultando en 10,8; 12,4 y 7,8%, respectivamente. El

producto fermentado por 48 horas presento valores de 10,3; 10,6 y 8,2% respecto a cada temperatura ($P < 0.01$).

Los valores de PV están relacionados directamente a los de PC mostrando porcentajes importantes de 56, 65, 59, 38, 49, 72 y 53% de PV respecto a cada valor de PC; por lo que cabe recalcar que las mayores proporciones se presentaron en las muestras fermentadas a 20°C por 24 h y a 25°C por 48 horas (Figura 13 y 14).

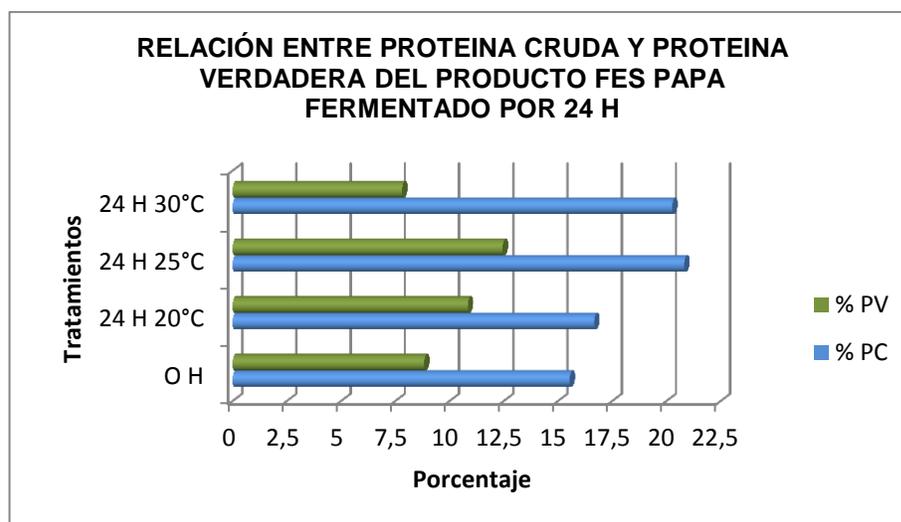


Figura 13. Valores de proteína cruda y verdadera en el producto fermentado por 24 h.

Obsérvese en la figura 13 que los porcentajes de PC y PV aumentan con el tiempo de conservación. Así mismo, se puede notar que la mejor relación se presentó en el producto conservado a 20°C, pues la PV represento un 65% respecto a la cantidad de PC.

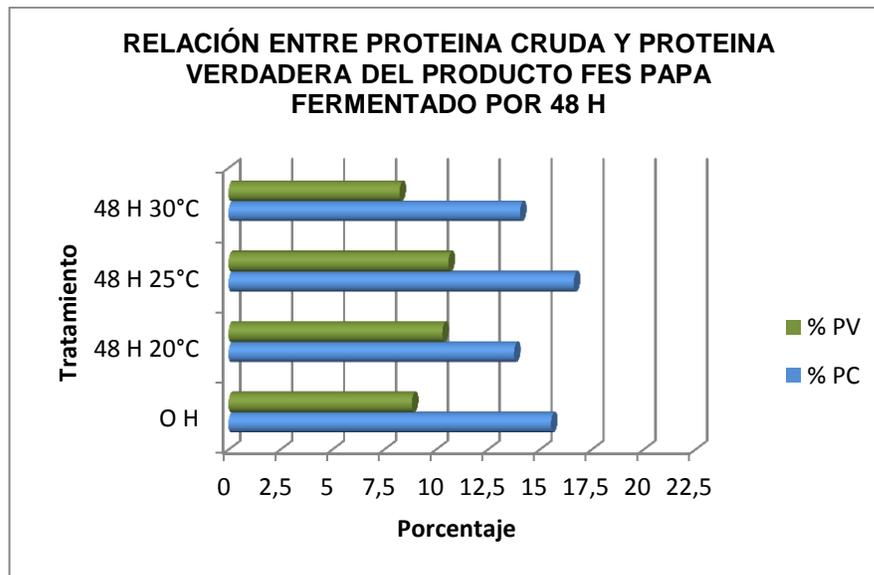


Figura 14. Valores de proteína cruda y verdadera en el producto fermentado por 48 h.

En la figura 14 se observa el aumento de los porcentajes de PC y PV con el tiempo de conservación, sin embargo no son tan altos como a las 24 h. Igualmente, la mejor relación PC/PV se presentó en el producto fermentado a 20°C.

Este incremento en los valores de PC y PV se atribuye a una adecuada actividad microbiana que permite la retención de amonio y su conversión en nitrógeno proteico.

2.6 Fibra Cruda: Los valores de FC fueron variables para los diferentes tratamientos, mostrando valores de 5% a las 0 horas; 14,2; 8,4 y 9% a las 24 horas y 17,6; 9,7 y 7,2% a las 48 horas, respectivamente a los 20°, 25° y 30°C ($P < 0.01$).

Se puede mencionar que los valores no siguieron un patrón específico, pero cabe recalcar que las mediciones de las muestras conservadas a 20°C, a las 24 y 48h, presentaron los valores más elevados con porcentajes de 14.2 y 17.6%, respectivamente (Figura 15 y 16).

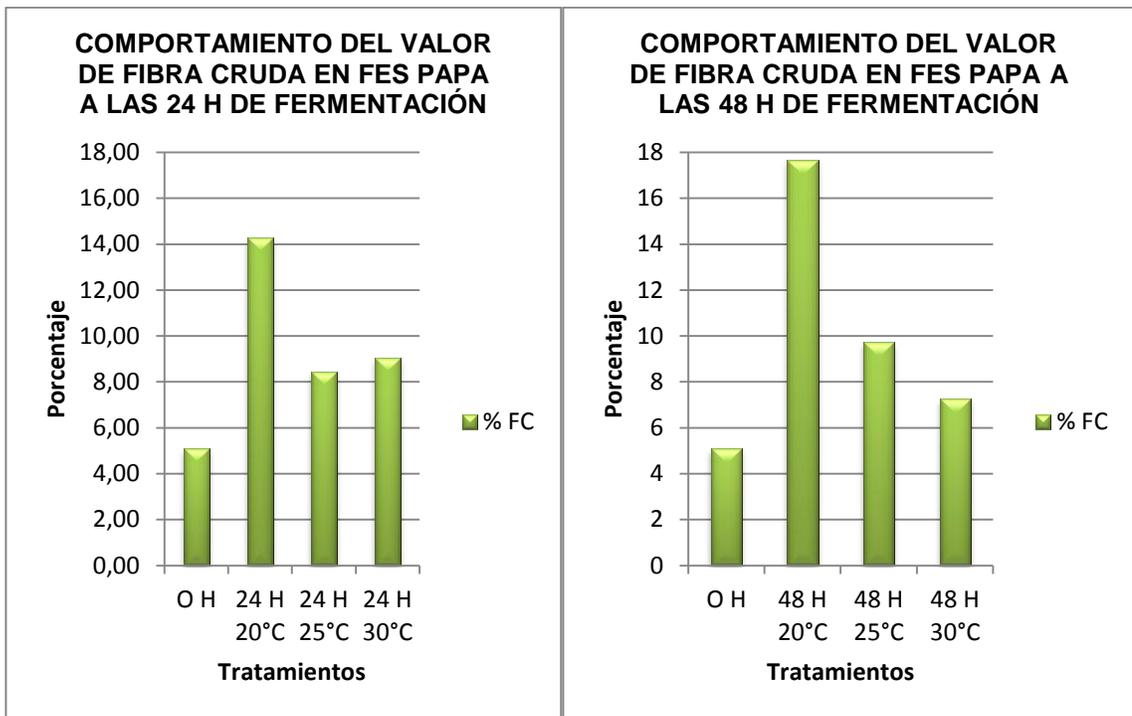


Figura 15. Porcentajes de Fibra cruda en los tratamientos establecidos a las 24 h.

Figura 16. Porcentajes de Fibra cruda en los tratamientos establecidos a las 48 h.

Obsérvese que la %FC aumento con el tiempo de fermentación, mostrando el valor máximo en producto incubado a 20°C (Fig 15). El %FC aumento a las 48 h de fermentación, mostrando valores superiores a los de 24h, e igualmente el valor máximo fue en el producto incubado a 20°C (Fig 16).

Se recalca que este aumento en los valores de la fibra cruda se debe a que con el tiempo de fermentación se incrementa significativamente el contenido de paredes celulares (Hernández, 2010), en relación al contenido de almidón del producto usado, variando de esta manera los porcentajes.

7. CONCLUSIONES

- La Fermentación en estado sólido es una biotecnología que permite optimizar la calidad de los componentes nutricionales de desechos de cultivos ricos en carbohidratos, como la papa, convirtiéndolos en un alimento energético-proteico óptimo para la alimentación de rumiantes y monogástricos. Esto se puede recalcar, ya que el tiempo y la temperatura de fermentación presentaron diferencias estadísticas altamente significativas para las variables porcentaje de humedad, materia seca, cenizas y proteína cruda ($p < 0,01$) y afectaron significativamente ($P < 0,05$) a los parámetros de Ácidos grasos volátiles y proteína verdadera en el producto FES papa, recalcando de esta manera la relevancia de la implementación de esta tecnología en el uso de residuos de cosechas para alimentación animal.
- La síntesis de proteína microbiana en procesos fermentativos se ve favorecida a niveles adecuados de pH, debido a que los microorganismos encargados de desarrollar los procesos metabólicos de transformación del alimento, requiere de condiciones aptas para su crecimiento; de esta manera al someter productos a fermentación en estado sólido se debe mantener controlado el pH en un rango comprendido entre 4 y 6. El producto fes papa incubado a 20, 25 y 30°C durante 24 y 48 horas de fermentación presento modificaciones de relevancia en su composición nutricional, en lo referido a los porcentajes de proteína cruda y proteína verdadera, mostrando incrementos desde 7,7% de PC en la papa cruda hasta del 21%, con valores de PV hasta de 12,4%, convirtiéndose en valores de importancia al implementar una dieta de cualquier especie animal.
- El porcentaje de amoníaco y la cantidad de ácidos grasos volátiles descendieron con el tiempo de fermentación de los desechos de papa, y se pudo inferir que estos parámetros fermentativos están relacionados con el pH del producto. De esta manera cuando el amoníaco aumenta y los AGV descienden, el pH aumenta; cuando el amoníaco desciende y los AGV

aumentan el pH disminuye; pero cuando el amoníaco y los AGV tienen el mismo comportamiento, el pH tiende a permanecer estable.

- La papa cruda por su alto contenido en carbohidratos solubles y bajos valores en fibra, no es un alimento bien asimilado por los animales, llevando a problemas digestivos como la diarrea o el timpanismo. Este problema se ve minimizado al someter la papa a procesos de fermentación en estado sólido, pues los valores de fibra cruda se ven incrementados con el paso del tiempo de fermentación, obteniendo valores inclusive hasta del 14%.
- La fermentación en estado sólido es una tecnología que permite aprovechar residuos de cosechas generando un alimento energético – proteico óptimo para minimizar los costos de la nutrición animal, así como para contrarrestar los efectos contaminantes de la acumulación de residuos en el medio ambiente y contribuir a la rentabilidad de las producciones.

8. RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con ensayos FES papa implementando diferentes proporciones de los ingredientes y diferentes métodos de conservación para lograr estandarizar un método para la preparación del producto final con valor nutricional apropiado y rentable para el productor.
- Se recomienda analizar los valores de Nitrógeno amoniacal y Ácidos grasos volátiles mediante técnicas más específicas para obtener datos más específicos; así como poder diferenciar los ácidos grasos.
- Se sugiere evaluar la cantidad de ácido láctico, ácidos orgánicos, pigmentos, sustancias tóxicas y análisis microbiológicos al producto fes papa.
- Identificar y evaluar la presencia de factores antinutricionales en la caracterización alimenticia.
- Cuantificar el valor energético, y realizar un perfil de aminoácidos para determinar el valor biológico de la proteína que se está formando en el producto final
- Se recomienda trabajar los desechos con mucho cuidado evitando contaminación con tierra para que los análisis sean más exactos.
- Es importante realizar la cuantificación de la FDN y la FDA, ya que son valores específicos para un análisis nutricional pues inciden notablemente en la digestibilidad del alimento.
- Realizar evaluación del producto fes papa a las 96 horas de fermentación o más, ya que parámetros fermentativos como el amoniaco y los ácidos grasos volátiles siguen un patrón y afectan el pH y la producción de proteína microbiana viéndose reflejado hasta después de las 72 horas.
- Evaluar digestibilidad *in vitro* e *in situ* en el producto final de la papa sometida a fermentación en estado sólido. La evaluación *in situ* se debería realizar en diversas especies tanto de animales rumiantes como monogástricos.
- Los resultados de esta investigación son la base para el desarrollo de futuros proyectos que profundicen en la temática de FES papa.

AGRADECIMIENTOS

- A Dios por ser el creador y guía de mi vida, porque en cada instante está presente y porque ha puesto en mi camino muchas bendiciones.
- Al Grupo de Investigación en Bioquímica y Nutrición Animal de la UPTC porque ha formado parte importante de mi desarrollo profesional y personal.
- Al Dr. Carlos Eduardo Rodríguez Molano por su incondicional colaboración.
- Al Dr. Luis Miguel Borrás por guiar este trabajo y ponerle todo su empeño.
- A la Dra. Nidia Carreño por estar pendiente de mi proceso académico en la especialización.
- A mis compañeros de trabajo porque he contado con ellos para todo lo que he necesitado.

REFERENCIAS

- Aksu, T., Baytok, E., Bolat, D. (2004). Effects of a bacterial inoculant on corn silage fermentation and nutrient digestibility. *Small Rum. Res.* 55, 249–252. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2003.12.012
- Álvarez L, Mendoza G, Aranda E, Ramos J, Mora O, Hernández P, García. (2011). Efecto del nivel de sustitución del bagacillo de retorno (Pachaquil), fermentado en estado sólido y ensilado, en el comportamiento productivo de vaquillas en el trópico. *Rev. Cubana Cienc. Agric*, 45(3):257-260
- Animales y producción. *Composición nutricional de la papa*. Recuperado de: http://mundo-pecuario.com/tema60/nutrientes_para_monogastricos/papa_harina-262.html [Acceso: Octubre 12, 2013]
- Aranda E, Georgana L, Ramos J, Salgado S. (2012). Elaboración de un alimento basado en caña de azúcar a partir de la fermentación en estado sólido y con diferentes niveles de zeolitas. *Rev. Cubana Cienc. Agric*, 46(2): 159-163
- Arias F. (2010). *Efecto de los niveles vitafert y melaza en la pollinaza fermentada aeróbica*. [Tesis maestría]. México: Colegio de Postgraduados, Instituto de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas.
- Becerra Bernal A. (2006). *Aprovechamiento de subproductos de manzana mediante la producción de proteína microbiana con fermentación en estado sólido para la alimentación animal*. [Tesis Doctoral]. México: Universidad Autónoma de Chihuahua.

- Bermúdez Savón RC, Ramos Sevilla I, Donoso Fernández C, García Oduardo N, Martínez Manrique CE. (2002). Fermentación sólida de la cáscara de cacao por *Pleurotus ssp.* *Tecnología química (Ecuador)*, 22(3):53-58.
- Bernal Duffo E. (2009). *Diccionario de Gentilicios de Colombia*. Bogotá: Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC).
- Berradre M, Mejias M, Ferrer J, Chandler C, Paez G, Marmol Z. (2009). Fermentación en estado sólido del desecho generado en la industria vinícola. *Rev. Fac. Agron. (Zulia)*; 26:398-422.
- Betancourt JE, Cuastumal HB, Rodríguez SP, Navia JF, Insuasty EG. (2012). Alimentación de vacas Holstein con suplemento de papa de desperdicio (*Solanum tuberosum*) y acacia negra (*Acacia decurrens*), y su efecto en la calidad de leche. *Investig. pecu. (Pasto)*, 1(2):41-51.
- Buono V, Paradiso A, Serio F, Gonella M, De Gara L Santamaría P. (2009). Tuber quality and nutritional components of “early” potato subjected to chemical haulm desiccation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22: 556–562. DOI: 10.1016/j.jfca.2009.01.001
- Calderón J, Elías A, Valdivie M. (2005). Dinámica de la fermentación en estado sólido de la camas de cascarilla de café en inicio de ponedoras inoculadas con vitafert. *REDVET*, 6(5): 8p.
- Cárdenas JR, Aranda EM, Hernández D, Lagunes LC, Ramos JA, Salgado S. (2008). Obtención de un alimento fermentado en estado sólido a partir del bagacillo de retorno, pulido de arroz e inóculos. Su utilización en la alimentación animal. *Rev. cubana Cien. Agric*, 42(2):173-176.

- Castillo Y, Ruiz O, Angulo C, Rodríguez C, Elías A y la O³. (2011). Inclusión de residuos de panadería en algunos metabolitos e indicadores bromatológicos de la fermentación en estado sólido del bagazo de manzana. *Rev. Cubana Cienc. Agríc*, 45 (2):141-144.
- Chemey DRJ, Alessi MA, Chemey JH. (2006). Influence of grass species and sample preparation on ensiling characteristics. *Crop Sci.*, 46: 256–263.
- Costa M, Torres M, Magariños H, Reyes A. (2010). Production and partial purification of *Aspergillus ficuum* hydrolytic enzymes in solid state fermentation of agroindustrial residues. *Rev. Colomb. Biotecnol* (Bogota), 12(2):163-175.
- Danelón JL. (2001). *Comprendiendo a los carbohidratos*. Recuperado de: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/manejo_del_alimento/56-comprendiendo_a_los_carbohidratos.pdf [Acceso: Diciembre 13, 2013].
- Díaz Plascencia D. (2011). Desarrollo de un inóculo con diferentes sustratos mediante fermentación sólida sumergida. *REDVET* [en línea] [Fecha de acceso 11 de enero 2013]; 12(1). Recuperado de: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n010111/011101.pdf>
- Dirección General de Normas. (1979). *Norma para la Determinación de fibra cruda en alimentos*. México.
- Driehuis F, Oude E, S.J.W.H., Van W, P.G. (2001). Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass Forage Sci.* 56: 330–343.

- Echeverría J, López P, Mato S. (2003). Alternativas para la alimentación animal utilizando fermentación en estado sólido. *Revista Avanzada Científica* [en línea] [fecha de acceso 21 de enero de 2013]; 6(1). Recuperado de: <http://avanzada.idict.cu/avanzada/article/view/62/72>
- Elías A, Lezcano O, Herrera F. (2001). Algunos indicadores bromatológicos y productos finales de la fermentación para la obtención de cuatro tipos de Saccharina inoculados con Vitafert. *Rev. Cubana Cienc. Agríc*, 35(2): 153-158
- Elías A, Lezcano O, Lezcano P, Cordero J, Quintana, L. (1990). Reseña descriptiva sobre el desarrollo de una tecnología de enriquecimiento proteínico en la caña de azúcar mediante fermentación sólida (Saccharina). *Rev. Cubana Cienc. Agríc*, 24 (1):3-12.
- Elías, A. & Lezcano O. (2000). Inclusión de niveles de harina de soya desgrasada y sin desgrasar en la fermentación de la caña de azúcar en estado sólido. *Sacchasoya. Rev. cubana Cien. Agríc.*, 34:143
- Elías, A. & Lezcano, O. (1993). Efecto de la fuente de N y algunos factores de crecimiento en la población de levaduras que se establecen en la producción de Saccharina. *Rev. Cubana Cienc. Agríc*. 28:319.
- Elías, A. & Lezcano, O. (1994). Efecto de los niveles de inclusión harina de maíz sobre la fermentación de caña de azúcar. *Rev. cubana Cienc. Agríc*, 28:319
- Espinosa Arias JD. (2008). *Evaluación de dos procesos para mejorar la calidad nutricional de la harina de yuca (raíces y follaje) como alimento para cerdos*

en la etapa de ceba [Tesis de grado]. Cali: Facultad de Ingeniería, Universidad de San Buenaventura.

Fedepapa. *Guía Ambiental para el Cultivo de la Papa*. Recuperado de: <http://es.scribd.com/doc/33251710/Guia-Ambiental-Para-El-Cultivo-de-La-Papa> [Acceso: Septiembre 15, 2013].

Fernández Cabrera CR. (2009). *Efectos de los niveles de urea en el Sacchapulido sobre los patrones de fermentación ruminal* [Tesis de maestría]. Tabasco: Colegio de Postgraduados, Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas.

Fonseca D. (2013). *Evaluación de una dieta con diferentes porcentajes de inclusión de papa fresca mezclada con un alimento a base de harinas sobre la producción y calidad de leche en vacas Holstein* [Tesis de grado]. Facultad de ciencias Agropecuarias: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

Göhl B. Tropical feeds. (1992). *Food and agriculture organization of the United Nations*. Software development by Oxford Computer Journals. Version 30. DOI: 10.1016/B978-0-12-386454-3.00988-X

Gómez Garza RM, Reyes Moreno C, Romero Urias CA, Milán Carrillo J. (2000). Composición química y calidad nutritiva de garbanzo (*Cicerarietinum* L.) fresco y endurecido después de la fermentación en estado sólido (FES). *Food Science and technology international (Española)*, 6(3):251-258

Granda DM, Mejia AI, Jiménez GA. (2005). Utilización de residuos de plátano para la producción de metabolitos secundarios por fermentación en estado sólido con el hongo *Lentinus crinitus*. *Vitae (Medellín)*, 12(5):13-20.

- Gualtieri MJ, Villalta C, Diaz LE, Medina G, Lapenna E, Rondon ME. (2007). Producción de biomasa *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida utilis* usando residuos de pulpa de *Coffea arabica* L. *INHRR (Caracas)*, 28(2):13p.
- Hernández Guzmán S. (2010). *Importancia de la fibra en la alimentación de los bovinos* [Tesis de grado]. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Herrera H, Gallo J, Maner H, Ceballos E. (1970). *Análisis químico-bromatológico de algunas materias primas colombianas empleadas en Nutrición Animal*. Bogotá: Instituto Colombiano Agropecuario.
- Hristov, A.N., Ropp, J.K., Grandeen, S., Abedi, S., Etter, R.P., Melgar, A. & Foley, A.E. (2005). Effect of carbohydrate source on ammonia utilization in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83:408-421. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(03)73836-3
- Información del departamento de Boyacá*. [Sitio en internet]. Recuperado de: <http://boyaca.com.co/index.php/2-uncategorised?start=4> Consultado 13 de enero de 2014.
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura-ILCA, Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (1999). *Acuerdo marco de competitividad de la cadena agroalimentaria de la papa*, Bogotá.
- Jauregui Rincón J. (1992). Incremento del contenido proteico de la guayaba por medio de una fermentación en estado sólido para la elaboración de un alimento para ganado. *Revista Investigación y Ciencia (Aguascalientes)*, 5(1)32-36.

- Julián M y Ramos L. (2007). Fermentación en estado sólido (I). Producción de alimento animal. *Tecnología química*, 27(3):10p
- L. Dunièrea, J. Sindoub, F. Chaucheyras-Durand, I. Chevallier, D. Thévenot-Sergenteta. (2013). Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. *Animal Feed Science and Technology*, 182: 1– 15. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2013.04.006
- León J. 2000. Botánica de los cultivos tropicales. Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura (IICA). Segunda edición. Costa rica
- Loyola N, Oyarce E, Acuña C. (2010). Evaluación del contenido de almidón en papas (*Solanum tuberosum*, sp. *tuberosum* cv. *desirée*), producidas en forma orgánica y convencional, en la provincia de Curicó, región del Maule. *Indesia (Chile)*, 28 (2):41-52
- Martínez Covalada H, Pinzón Ruiz N, Barrios Urrutia C. (2005). *La cadena de la papa en Colombia una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2005*. Bogotá: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Observatorio Agrocadenas Colombia, 28p
- McDonald, P., Henderson, A.R., Heron, S.J.E. (1991). *The Biochemistry of Silage*. Chalcombe Publications, Marlow, Buckinghamshire, UK, pp. 109.
- Mier Quiroz MA. (2009). *Caracterización del valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilados en forma de microsilos para maíz forrajero*. [Tesis de maestría]. Córdoba: Departamento de producción animal, Universidad de Córdoba.

- Mitchell, D.A., Berovic, M. & Krieger, N. (2002). Overview of solid state bioprocessing. *Biotechnology annual Review. Elsevier Science. Animal Feed Science and technology.* 8:183-200. DOI: 10.1016/S1387-2656(02)08009-2
- Monje A. (2006). *Estrategias de alimentación para los sistemas de producción de carne vacuna ante situaciones de déficit de forraje.* Recuperado de: <http://www.elsitioagricola.com/gacetillas/concepcion/co2006gacetillas/20060602alimentacion.asp> [Acceso: Noviembre 30, 2013].
- Montoya N, Pino ID, Correa HJ. (2004). Evaluación de la suplementación con papa (*Solanum tuberosum*) durante la lactancia en vacas Holstein. *Rev Col CiencPec (Medellín)*, 17(3):241-249.
- Mora DJ. (1999). *La papa en la alimentación animal.* Recuperado de: http://corpomail.corpoica.org.co/BACFILES/BACDIGITAL/14770/s2d25B9E9A19A52289CFCC816C27C326C51_1.pdf [Acceso: Septiembre 14, 2013].
- Muck RE, Kung JR. (1997). *Effects of silage additives on ensiling.* *Silage: Field to Feedbunk.* NRAES-99 (Ithaca), pp. 187–199.
- Mufarrege DJ. *Los minerales en la alimentación de vacunos para carne en la Argentina.* [Sitio en internet]. Recuperado de: http://www.produccion-animal.com.ar/suplementacion_mineral/60-minerales_en_la_alimentacion_vacunos.pdf Consultado: 20 de enero de 2014.
- Navarre DA, Goyer A, Shakya R. (2009). *Nutritional Value of Potatoes: Vitamin, Phytonutrient and Mineral Content.* In “Advances in potato chemistry and

technology”. Jaspreet Singh and Lovedeep Kaur (Eds). Elsevier Inc. Chapter 14, 395-424.

Nkosi BD, Meeskeb R. (2010). Effects of ensiling totally mixed potato hash ration with or without a heterofermentative bacterial inoculant on silage fermentation, aerobic stability, growth performance and digestibility in lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 161:38–48.

Nout M.J.R. (2014). *Food Technologies: Fermentation*. In: Encyclopedia of Food Safety. Pages 168–177.

Pandey, A., Soccol C.R., Rodríguez-León, J.A. & Nigam, P. (2001). *Solid-state fermentation in biotechnology. Fundamentals and applications*. Asiatech Publishers, Inc. New Delhi. 221 p.

Pastrana L. (1996). Fundamentos de la fermentación en estado sólido y aplicación a la industria alimentaria. *Ciencia y Tecnología Alimentaria (México)*, 1(3): 4-12.

Pérez Quilantan LM. (1996). *Fermentación en estado sólido del Mijo de perla (Pennisetum americanum (L.) Leeke) por Rhizopus oligosporus para la obtención de un producto rico en proteína* [Tesis de maestría]. Monterey: Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nueva León.

Prada Ospina R. (2012). Alternativa de aprovechamiento eficiente de residuos biodegradables: el caso del almidón residual derivado de la industrialización de la papa Bogotá, 180-192. *Rev. esc.adm.neg*, 72(1):182-192.

- Ramírez, L. (2003). *Fermentaciones aplicadas a la industria de alimentos*. Universidad del Valle, contribución a la II muestra agroindustrial, Facultad de ciencias agropecuarias (Cauca), 1(1):45-49.
- Ramos Juárez JA. (2005). *Obtención de un concentrado energético proteínico por fermentación en estado sólido de la caña de azúcar para bovinos en ceba* [Tesis doctoral]. La Habana: Instituto de Ciencia Animal, Departamento de ciencias biofisiológicas.
- Robinson, T., Singh, D. & Nigam, P. (2001). Solid state fermentation: a technology successfully for the production of secondary metabolites. *Appl. Microbiol/Biotechnol.* 55: 284-289.
- Rodríguez Z, Boucourt R, Elías A, Herrera F, Núñez O. (2006). Efecto del grosor de la capa en la dinámica de fermentación de mezclas de caña (*Saccharum officinarum*) y boniato (*Ipomea batata Lam*). *Rev. Cubana Cienc. Agric*, 40(2): 173-182.
- Rodríguez Z, Boucourt R, Elías A, Madera M. (2001). Dinámica de fermentación de mezclas de caña (*Saccharum officinarum*) y boniato (*Ipomea batata*). *Rev. Cubana Cienc. Agric*, 35(2):147-151
- Rodríguez Z, Elías A, Boucourt R, Núñez O. (2001). Efectos de los niveles de nitrógeno ureico en la síntesis proteica durante la fermentación de mezclas de caña (*Saccharum officinarum*) y boniato (*Ipomea batata Lam.*). *Rev. cubana Cien. Agric*, 35(1):29-36.
- Rodríguez, A.Z. (2004). *Uso del boniato (Ipomea batata Lam.) en la tecnología de fermentación en estado sólido de la caña de azúcar (Saccharum officinarum)* [Tesis de Doctoral]. Instituto de Ciencia Animal, Habana, Cuba.

- Rodríguez, B.Y. (2005). *Obtención de un alimento energético proteico a través de la FES de la caña de azúcar y el tubérculo de yuca* [Tesis de Maestría]. Universidad Agraria de la Habana. Instituto de Ciencia Animal. Habana, Cuba.
- Siebold E, Goic L, Matzner M. (2002). *Alimentación de rumiantes con papa de desecho*. En: Boletín Técnico N° 88 Instituto de Investigaciones Agropecuarias – Centro Regional de Investigaciones Remehue. Recuperado de: http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/suplementacion/99-papa.pdf [Acceso: Enero 27, 2014]
- Superintendencia de Industria y Comercio. (2012). *Cadena productiva de la papa: Diagnostico de libre competencia*. Recuperado de: <http://www.sic.gov.co/documents/10157/973ad164-55ea-4c55-9d24-38f11403e400> [Acceso: Enero 05, 2014].
- Valiño, E., A. Elías, E. Álvarez, E. Regalado y J. Cordero. (1992). Dinámica de crecimiento de la microbiota de la caña de azúcar durante la obtención de saccharina. *Rev. cubana de Cienc. agric.*, 26:297.
- Valiño, E., Elías, A., Álvarez, E. Quintana, M. & Montes de Oca, N. (1994). Composición de especies de bacterias aisladas del proceso de obtención de la Saccharina. II. Bacterias gram positivas. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.*, 28:75.
- Vélez Goyeneche A. (2013). *Papitas para la China y la India*. En: Revista Papa. Colombia: Fedepapa, p. 4-10.

Vivas NJ, Carvajal J. (2004). Saccharina rustica una aplicación biotecnológica para la alimentación animal. *Facultad de Ciencias Agropecuarias (Cauca)*, 2(1):43-48.

Whittemore CT. (1977). The potato (*Solanum tuberosum*) as a source of nutrients for pigs, calves and fowl — A review. *Animal Feed Science and Technology*, 2(2): 171-190.

Zapata Martínez J, Velásquez Escandón C. (2013). *Estudio de la producción y comercialización de la malanga: Estrategias de incentivos para la producción en el país y consumo en la ciudad de Guayaquil*. [Tesis de maestría]. Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana.

ANEXOS

Anexo 1. Fotos tomadas durante la preparación y análisis químico del producto fes papa



Anexo 2. Análisis de varianza y prueba Tukey para porcentaje de amoníaco (Programa SAS)

```

Sistema SAS                                06:23 Saturday, August 1, 2009  1
Procedimiento GLM
Información de nivel de clase
Clase           Niveles     Valores
Tratamiento           6       2 3 4 5 6 7
repeticion            3       1 2 3
tiempo                2       24 48
temperatura           3       20 25 30

Número de observaciones leídas           19
Número de observaciones usadas           18
Sistema SAS                               06:23 Saturday, August 1, 2009  2

```

```

Procedimiento GLM
Variable dependiente: Amoníaco

Fuente           DF           Suma de           Cuadrado de           F-valor           Pr > F
                  cuadrados           la media
Modelo            3           0.00003201         0.00001067           2.17           0.1368
Error            14           0.00006875         0.00000491
Total corregido  17           0.00010077

R-cuadrado           Coef Var           Raíz MSE           Amoníaco Media
0.317697            35.72877           0.002216           0.006202

Fuente           DF           Tipo I SS           Cuadrado de           F-valor           Pr > F
                  Tipo I SS           la media
tiempo            1           0.00000300         0.00000300           0.61           0.4472
temperatura       2           0.00002901         0.00001450           2.95           0.0851

Fuente           DF           Tipo III SS           Cuadrado de           F-valor           Pr > F
                  Tipo III SS           la media
tiempo            1           0.00000300         0.00000300           0.61           0.4472
temperatura       2           0.00002901         0.00001450           2.95           0.0851
Sistema SAS                               06:23 Saturday, August 1, 2009  3

```

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para Amoniaco

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	12
Error de cuadrado medio	1.083E-6
valor crítico del rango estudentizado	4.75023
Diferencia significativa mínima	0.0029

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	0.0092723	3	2
A			
A	0.0090870	3	3
B	0.0054554	3	5
B			
B	0.0052905	3	1
B			
B	0.0047242	3	4
B			
B	0.0033852	3	6

06:46 Saturday, August 1, 2009 19

Anexo 3. Análisis de varianza y prueba Tukey para Ácidos grasos volátiles totales (Programa SAS)

Sistema SAS

06:23 Saturday, August 1, 2009 1

Procedimiento GLM

Información de nivel de clase

Clase	Niveles	valores
Tratamiento	6	2 3 4 5 6 7
repeticion	3	1 2 3
tiempo	2	24 48
temperatura	3	20 25 30

Número de observaciones leídas	19
Número de observaciones usadas	18

06:23 Saturday, August 1, 2009 2

Procedimiento GLM

Variable dependiente: AGV

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	39.52053167	13.17351056	4.62	0.0190
Error	14	39.91350999	2.85096500		
Total corregido	17	79.43404165			

R-cuadrado	0.497526	Coef Var	126.0365	Raíz MSE	1.688480	AGV Media	1.339676
------------	----------	----------	----------	----------	----------	-----------	----------

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
tiempo	1	6.24112717	6.24112717	2.19	0.1611
temperatura	2	33.27940450	16.63970225	5.84	0.0143

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
tiempo	1	6.24112717	6.24112717	2.19	0.1611
temperatura	2	33.27940450	16.63970225	5.84	0.0143

06:23 Saturday, August 1, 2009 4

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para AGV

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	12
Error de cuadrado medio	0.182535
Valor crítico del rango estudentizado	4.75023
Diferencia significativa mínima	1.1717

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	5.7855	3	2
B	1.6297	3	3
C B	0.6228	3	1
C	0.0000	3	4
C	0.0000	3	5
C	0.0000	3	6

Sistema SAS

06:46 Saturday, August 1, 2009 20

Anexo 4. Análisis de varianza y prueba Tukey para porcentaje de humedad (ProgramaSAS)

Sistema SAS

06:23 Saturday, August 1, 2009 1

Procedimiento GLM

Información de nivel de clase

Clase	Niveles	Valores
Tratamiento	6	2 3 4 5 6 7
repeticion	3	1 2 3
tiempo	2	24 48
temperatura	3	20 25 30

Número de observaciones leídas
Número de observaciones usadas
Sistema SAS

19
18

06:23 Saturday, August 1, 2009 2

Procedimiento GLM

Variable dependiente: HUMEDAD

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
Modelo	3	1348.192315	449.397438	14.05	0.0002
Error	14	447.952422	31.996602		
Total corregido	17	1796.144737			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	HUMEDAD Media
0.750603	7.941699	5.656554	71.22599

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
tiempo	1	171.612293	171.612293	5.36	0.0362
temperatura	2	1176.580022	588.290011	18.39	0.0001

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
tiempo	1	171.612293	171.612293	5.36	0.0362
temperatura	2	1176.580022	588.290011	18.39	0.0001

Sistema SAS

06:23 Saturday, August 1, 2009 5

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para HUMEDAD

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

```
Alpha 0.05
Error Degrees of Freedom 12
Error de cuadrado medio 0.520197
Valor crítico del rango estudentizado 4.75023
Diferencia significativa mínima 1.9781
```

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	82.0213	3	6
A	80.8198	3	5
A	80.7022	3	1
B	61.8714	3	4
B	61.4191	3	3
B	60.5221	3	2

Sistema SAS

06:46 Saturday, August 1, 2009 21

Anexo 5. Análisis de varianza y prueba Tukey para porcentaje de materia seca (Programa SAS)

Sistema SAS

06:23 Saturday, August 1, 2009 1

Procedimiento GLM

Información de nivel de clase

Clase	Niveles	valores
Tratamiento	6	2 3 4 5 6 7
repeticion	3	1 2 3
tiempo	2	24 48
temperatura	3	20 25 30

```
Número de observaciones leídas 19
Número de observaciones usadas 18
Sistema SAS
```

06:23 Saturday, August 1, 2009 2

Procedimiento GLM

Variable dependiente: MS

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
Modelo	3	1348.137594	449.379198	14.05	0.0002
Error	14	447.644310	31.974594		
Total corregido	17	1795.781904			

```
R-cuadrado 0.750725
Coef Var 19.64964
Raíz MSE 5.654608
MS Media 28.77715
```

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
tiempo	1	171.512307	171.512307	5.36	0.0362
temperatura	2	1176.625288	588.312644	18.40	0.0001

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
tiempo	1	171.512307	171.512307	5.36	0.0362
temperatura	2	1176.625288	588.312644	18.40	0.0001

Sistema SAS

06:23 Saturday, August 1, 2009 6

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para MS

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	12
Error de cuadrado medio	0.520201
valor crítico del rango estudentizado	4.75023
Diferencia significativa mínima	1.9781

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	39.4771	3	2
A	38.5844	3	3
A	38.1324	3	4
B	19.3038	3	1
B	19.1829	3	5
B	17.9824	3	6

Sistema SAS

06:46 Saturday, August 1, 2009 22

Anexo 6. Análisis de varianza y prueba Tukey para porcentaje de cenizas (Programa SAS)

Sistema SAS

06:23 Saturday, August 1, 2009 1

Procedimiento GLM

Información de nivel de clase

Clase	Niveles	valores
Tratamiento	6	2 3 4 5 6 7
repeticion	3	1 2 3
tiempo	2	24 48
temperatura	3	20 25 30

Número de observaciones leídas	19
Número de observaciones usadas	18

Sistema SAS

06:23 Saturday, August 1, 2009 2

Procedimiento GLM

Variable dependiente: CENIZAS

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
Modelo	3	175.5941441	58.5313814	18.34	<.0001
Error	14	44.6871079	3.1919363		
Total corregido	17	220.2812521			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	CENIZAS Media
0.797136	16.73617	1.786599	10.67508

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
tiempo	1	1.3534965	1.3534965	0.42	0.5255
temperatura	2	174.2406476	87.1203238	27.29	<.0001

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
tiempo	1	1.3534965	1.3534965	0.42	0.5255
temperatura	2	174.2406476	87.1203238	27.29	<.0001

Sistema SAS 06:23 Saturday, August 1, 2009 10

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para CENIZAS

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	12
Error de cuadrado medio	0.78426
Valor crítico del rango estudentizado	4.75023
Diferencia significativa mínima	2.4288

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	16.1734	3	4
A	13.9422	3	3
B	11.0116	3	5
C	8.3981	3	2
C	7.8941	3	1
C	6.6312	3	6

Anexo 7. Análisis de varianza y prueba Tukey para porcentaje de proteína cruda (Programa SAS)

Sistema SAS	06:23 Saturday, August 1, 2009	1
Procedimiento GLM		
Información de nivel de clase		
Clase	Niveles	Valores
Tratamiento	6	2 3 4 5 6 7
repeticion	3	1 2 3
tiempo	2	24 48
temperatura	3	20 25 30
Número de observaciones leídas		19
Número de observaciones usadas		18
Sistema SAS	06:23 Saturday, August 1, 2009	2

variable dependiente: PC

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
Modelo	3	117.7204025	39.2401342	29.84	<.0001
Error	14	18.4080645	1.3148618		
Total corregido	17	136.1284670			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	PC Media
0.864774	6.341947	1.146674	18.08079

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
tiempo	1	12.0312887	12.0312887	9.15	0.0091
temperatura	2	105.6891138	52.8445569	40.19	<.0001

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
tiempo	1	12.0312887	12.0312887	9.15	0.0091
temperatura	2	105.6891138	52.8445569	40.19	<.0001

Sistema SAS 06:23 Saturday, August 1, 2009 7

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para PC

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	12
Error de cuadrado medio	0.310797
Valor crítico del rango estudentizado	4.75023
Diferencia significativa mínima	1.5289

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	21.0407	3	4
A	20.8238	3	2
A	20.2742	3	3
B	16.6742	3	1
C	14.8413	3	5
C	14.8306	3	6

Sistema SAS

06:46 Saturday, August 1, 2009 23

Anexo 8. Análisis de varianza y prueba Tukey para porcentaje de proteína verdadera (Programa SAS)

Sistema SAS

06:23 Saturday, August 1, 2009 1

Procedimiento GLM

Información de nivel de clase

Clase	Niveles	Valores
Tratamiento	6	2 3 4 5 6 7
repeticion	3	1 2 3
tiempo	2	24 48
temperatura	3	20 25 30

Número de observaciones leídas
Número de observaciones usadas
Sistema SAS

19
18

06:23 Saturday, August 1, 2009 2

Procedimiento GLM

Variable dependiente: PV

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	25.15861778	8.38620593	4.36	0.0229
Error	14	26.92347043	1.92310503		
Total corregido	17	52.08208821			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	PV Media
0.483057	13.80603	1.386761	10.04460

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
tiempo	1	1.49415725	1.49415725	0.78	0.3930
temperatura	2	23.66446053	11.83223026	6.15	0.0121

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
tiempo	1	1.49415725	1.49415725	0.78	0.3930
temperatura	2	23.66446053	11.83223026	6.15	0.0121

Sistema SAS

06:23 Saturday, August 1, 2009 8

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para PV

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	12
Error de cuadrado medio	0.57608
Valor crítico del rango estudentizado	4.75023
Diferencia significativa mínima	2.0816

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	12.4581	3	2
B A	10.8478	3	1
B A	10.6006	3	5
B C	10.3027	3	4
D C	8.2373	3	6
D	7.8211	3	3

Sistema SAS 06:46 Saturday, August 1, 2009 24

Anexo 9. Análisis de varianza y prueba Tukey para porcentaje de fibra cruda (Programa SAS)

Sistema SAS

06:23 Saturday, August 1, 2009 1

Procedimiento GLM

Información de nivel de clase

Clase	Niveles	valores
Tratamiento	6	2 3 4 5 6 7
repeticion	3	1 2 3
tiempo	2	24 48
temperatura	3	20 25 30

Número de observaciones leídas
 Número de observaciones usadas
 Sistema SAS

19
 18
 06:23 Saturday, August 1, 2009 2

Procedimiento GLM

Variable dependiente: FC

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
Modelo	3	72.1592907	24.0530969	1.39	0.2858
Error	14	241.5705614	17.2550401		
Total corregido	17	313.7298521			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	FC Media
0.230005	37.54913	4.153919	11.06262

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
tiempo	1	0.04686490	0.04686490	0.00	0.9592
temperatura	2	72.11242579	36.05621289	2.09	0.1606

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-valor	Pr > F
tiempo	1	0.04686490	0.04686490	0.00	0.9592
temperatura	2	72.11242579	36.05621289	2.09	0.1606

06:23 Saturday, August 1, 2009 9

Procedimiento GLM

Prueba del rango estudentizado de Tukey (HSD) para FC

NOTA: Este test controla el índice de error experimentwise de tipo I, pero normalmente tiene un índice de error de tipo II más elevado que REGWQ.

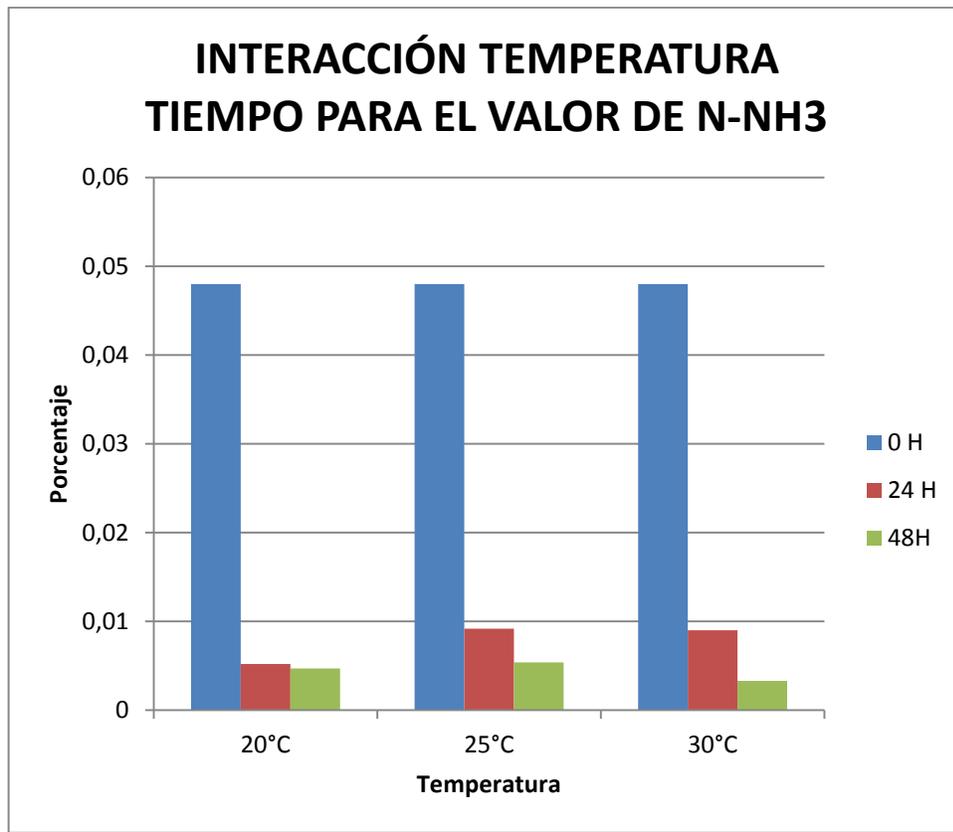
Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	12
Error de cuadrado medio	5.758888
valor crítico del rango estudentizado	4.75023
Diferencia significativa mínima	6.5815

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

Tukey Agrupamiento	Media	N	Tratamiento
A	17.670	3	4
B A	14.289	3	1
B B	9.711	3	5
B C	9.035	3	3
B C	8.429	3	2
B C	7.242	3	6

06:46 Saturday, August 1, 2009 25

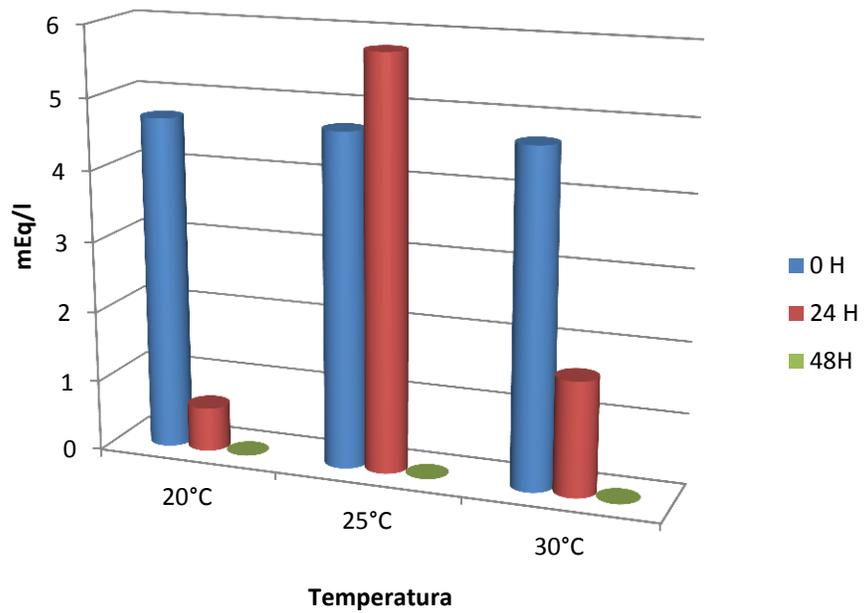
Anexo 10. Grafica de Interacción temperatura – tiempo para el amoniaco



Se observa la variación del %N-NH3 en los diversos tratamientos (Temperatura - Tiempo) respecto a la hora 0

Anexo 11. Grafica de Interacción temperatura – tiempo para los acidos grasos volátiles

INTERACCIÓN TEMPERATURA - TIEMPO PARA LOS VALORES DE AGVT



Se observa la variación de los mEq/l de Ácidos grasos volátiles totales en los diversos tratamientos (Temperatura - Tiempo) respecto a la hora 0