

# 11

Fecha de presentación: febrero, 2022

Fecha de aceptación: mayo, 2022

Fecha de publicación: julio, 2022

## EXTRACTO

DE AGAVE FOURCROYDES FERMENTADO COMO ADITIVO PARA ENSILAJES

### FERMENTED AGAVE FOURCROYDES EXTRACT AS A SILAGE ADDITIVE

Bárbara Yaislyn Ortíz Hurtado<sup>1</sup>

E-mail: [bortiz@ucf.edu.cu](mailto:bortiz@ucf.edu.cu)

ORCID: <https://orcid/0000-0002-0053-0357>

Raciel Lima Orozco<sup>2</sup>

E-mail: [raciello@uclv.edu.cu](mailto:raciello@uclv.edu.cu)

ORCID: <https://orcid/0000-0002-9278-6076>

Enrique Casanova Cosío<sup>1</sup>

E-mail: [ecasanovas@ucf.edu.cu](mailto:ecasanovas@ucf.edu.cu)

ORCID: <https://orcid/0000-0001-5884-3922>

Delfín Gutiérrez González<sup>3</sup>

E-mail: [delfin@ica.co.cu](mailto:delfin@ica.co.cu)

ORCID: <https://orcid/0000-0002-7386-5035>

<sup>1</sup> Universidad de Cienfuegos Cuba

<sup>2</sup> Universidad Central Las Villas. Cuba

<sup>3</sup> Instituto de Ciencia Animal. Cuba

#### Cita sugerida (APA, séptima edición)

Ortiz Hurtado B. Y., Lima Orozco R., Casanova Cosío E. & Gutiérrez González D., (2022). Extracto de Agave fourcroydes fermentado como aditivo para ensilajes. *Revista Universidad y Sociedad*, 14(4), 125-130.

#### RESUMEN

En la presente investigación se elaboró un producto biológico con el objetivo de evaluar las características del extracto de A. fourcroydes fermentado como aditivo para ensilar. Se evaluó la cinética de fermentación del extracto de Henequén durante el proceso de bioproducto donde se determinó pH, temperatura y °Brix, posteriormente se determinó el contenido de materia seca, cenizas y proteína bruta; se realizó análisis microbiológico para determinar los microorganismos viables totales a las 24 y 48 h de fermentación. Los datos fueron procesados a través del paquete estadístico SPSS 21.0 donde se realizó análisis de varianza de clasificación simple. Se obtuvo como resultado una estabilidad de fermentación a las 24h con pH de 3,87, además de variaciones en la temperatura y °Brix. El bioproducto posee 15 % de materia seca, 47 % de proteína bruta (base seca) y se caracteriza por la presencia de gérmenes lignocelulolíticos, predominan *Penicillium* spp. y *Bacillus subtilis*. Se concluye que la obtención de un inóculo a partir del extracto de A. fourcroydes como producto biológico activador en silo representa una alternativa económica y sustentable para conservar alimentos sin afectar el valor nutricional de estos.

**Palabras clave:** A. fourcroydes, fermentación, bioproducto

#### ABSTRACT

This paper explains the elaboration of a biological product used to evaluate the characteristics of A. fourcroydes extract fermented as a silage additive. The fermentation kinetics of the sisal extract was evaluated during the bioproduct process, where pH, temperature and °Brix were determined, followed by dry matter, ash and crude protein content; microbiological analysis was carried out to determine the total viable microorganisms at 24 and 48 h of fermentation. The data were processed through the SPSS 21.0 statistical package where a simple classification analysis of variance was performed. As a result, fermentation stability was obtained at 24 h with a pH of 3.87, in addition to variations in temperature and °Brix. The bioproduct has 15% dry matter, 47% crude protein (dry basis) and is characterized by the presence of lignocellulolytic germs, predominantly *Penicillium* spp. and *Bacillus subtilis*. It is concluded that obtaining an inoculum from A. fourcroydes extract as an activating biological product in silo represents an economic and sustainable alternative for preserving food without affecting its nutritional value.

**Keywords:** Agave fourcroydes, fermentation, bioproduct

## INTRODUCCIÓN

En el trópico se generan gran variedad de forrajes que podrían, por medio del ensilaje, ser transformados en un alimento más nutritivo y económico para el ganado, pues permite almacenar grandes volúmenes de alimento para épocas de escasez o incrementar el número de animales. En Europa, los agricultores de países como Holanda, Alemania y Dinamarca almacenan más del 90 por ciento de sus forrajes como ensilaje y en países con buenas condiciones climáticas para la henificación, como Francia e Italia, cerca de la mitad del forraje es ensilado (Garcés *et al.*, 2004)

Díaz (2014) reportó que para la optimización del proceso de ensilaje es recomendable utilizar aditivos, principalmente inoculantes bacterianos, para mantener o mejorar el valor nutritivo y garantizar una buena fermentación del material conservado. Los aditivos biológicos contienen bacterias productoras de ácido láctico que se agregan a la población bacteriana natural para garantizar una fermentación rápida y eficiente del ensilaje (Cheng *et al.*, 2019). Según Lima *et al.* (2014) los aditivos promueven o garantizan el sustrato adecuado para el desarrollo satisfactorio de la fermentación y con ello la producción de ácidos orgánicos que permiten conservar el material por largo período de tiempo obteniendo mayores resultados al combinar aquellos aditivos que son fuentes de energía (sustratos) con inoculantes bacterianos (estimulantes de la fermentación). Al agregar aditivos se observa mejor preservación del material ensilado, elevación de la concentración de azúcares solubles y mayor degradabilidad ruminal (Lima *et al.*, 2014). El empleo de extracto de henequén (*Agave fourcroydes*) como un producto biológico activador representa una alternativa para los sistemas agroproductivos, pues está disponible todo el año por ser un subproducto de la producción de la fibra del henequén que se desecha. Además, se caracteriza por la presencia de minerales en los que se destacan el Ca, Zn, Fe, Cu y Mn (García *et al.*, 2012), reconocidos como elementos promotores de la actividad fermentativa por estar presentes en muchos sistemas enzimáticos como co-factores y por poseer fuentes naturales de oligofructanos, considerados entre los mejores sustratos para las bacterias ácido-lácticas con respecto a los de alto grado de polimerización y con estructura y composición heterogénea con diferentes enlaces tipo b que facilitan la fermentación y el crecimiento microbiano (García *et al.*, 2012)

A partir de los elementos anteriores se trabajó la hipótesis de que el extracto de *A. fourcroydes* fermentado posee características que permiten emplearlo como aditivo para mejorar el proceso de ensilaje. Por lo tanto, el objetivo principal del presente trabajo fue evaluar las características

del extracto de *A. fourcroydes* fermentado como aditivo para ensilar.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el Centro de Investigaciones Agropecuarias de la Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas con una temperatura de 26°C y humedad relativa de 79 %. El extracto se obtuvo de plantas de *Agave fourcroydes* de la empresa henequenera Juraguá “Francisco del Sol” la cual se caracteriza por suelos ferralíticos rojos lixiviados muy profundos, con buen drenaje interno y externo. La temperatura máxima anual es de 30,8°C y la mínima de 20,4°C. La precipitación anual es de 1 139 mm, presentándose dos períodos, el lluvioso entre mayo y octubre con una media de 161,2 mm, representando el 84 % del agua total caída en el año y uno seco entre noviembre y abril con una media de 28,6 mm y un total de 172 mm, que representa el 16 % del agua total caída en el año. La humedad relativa oscila entre 71 y 82 %, mostrando anualmente un valor promedio de 77 %, alcanzando su mayor valor en el período de octubre a diciembre con el 82 % y los valores mínimos entre enero y mayo, con una media de 74,2 %, favorables para el cultivo del henequén.

El extracto de *A. fourcroydes* se obtuvo con el empleo de un trapiche, a partir de hojas de Henequén de 5 años de edad, cosechadas de la corona más baja a un ángulo de 90° con relación al tronco de la planta en horas de la mañana.

La elaboración del producto biológico se realizó según la metodología desarrollada por Elías & Herrera (2008) en tres series con 3 réplicas por cada serie. Cada serie se corrió en semanas diferentes para reducir los efectos de cambios de materia prima. Durante la cinética de fermentación del extracto de *A. fourcroydes* en el proceso de bioproducto (0, 2, 4, 12, 18, 24,48 h) se evaluó pH, Temperatura (IR Thermometer, UNI-T, UT 300 A) y °Brix (Brix ATC, VBR32T) según la metodología propuesta por Elías & Herrera (2008). Además, al producto obtenido a las 48 h se le determinó materia seca (MS), proteína bruta (PB) y ceniza (Cz) según la Association of Official Analytical Chemists ,AOAC (2005).

El análisis microbiológico se realizó en el laboratorio de microbiología del Centro de Bioactivos Químicos en la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Se tomaron muestras de bioproducto con 12 y 48 h de fermentación para determinar el conteo total de hongos, levaduras y bacterias mediante la técnica dilución seriada en placas invertidas (Novo, 2005).

Los datos fueron procesados a través del paquete estadístico SPSS 21.0 (SPSS., 2012). Se realizó análisis de varianza de clasificación simple para evaluar el efecto de los tiempos de fermentación, y en los casos que el ANOVA simple devolvió  $P < 0,05$  se empleó la dócima de Duncan (1955) para discernir entre los tiempos de fermentación.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Cinética de fermentación

La variable pH según los tiempos estudiados (0h a 48 h) durante la cinética de fermentación del extracto de *A. froucroydes* en el proceso de obtención del bioproducto manifestó un incremento gradual de 0 h a 12 h y posteriormente un descenso de 12 h a 24 h obteniendo una estabilidad a partir de 24 h.

Letras diferentes entre horas de fermentación difieren estadísticamente para  $P < 0,05$  (Duncan, 1955)

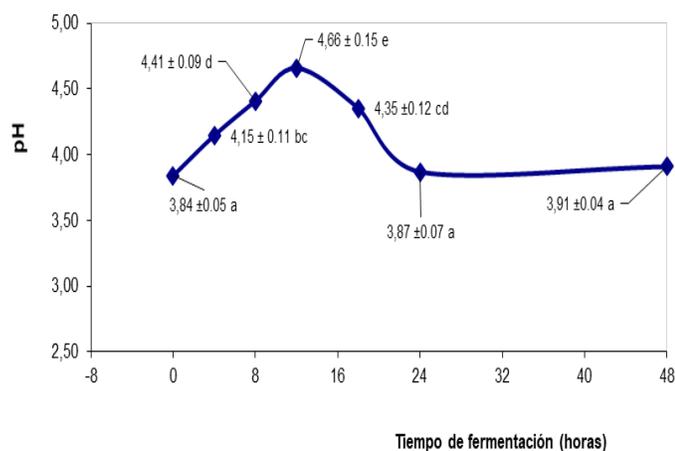


Figura 1. Cinética de Fermentación (promedio ± desviación estándar) del extracto de *Agave froucroydes* durante el proceso de bioproducto.

Además, la cinética de fermentación en la figura 1 muestra un incremento de pH hasta 4,66 que favorece la actividad enzimática de las proteasas y carbohidrasas con actividad proteolítica de degradación de proteínas a aminoácidos, además de la producción de  $\text{NH}_3$  por especies microbianas urolíticas (Espinoza, 2015). En este período predomina la actividad microbiana con liberación de  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  producto de la respiración celular de bacterias y levaduras presentes (Díaz, 2014) y la posterior disminución del pH a 3,81 por la liberación de alcohol y la degradación de carbohidratos de fácil fermentación (Espinoza, 2015). Según Díaz (2014) se convierten los carbohidratos de fácil fermentación a ácidos orgánicos como el ácido láctico y acético fundamentalmente, los cuales reducen

el pH en el medio; aunque, también está relacionado directamente, pero en menor medida, con la producción y/o utilización de  $\text{NH}_3$  para la producción de ácidos orgánicos (Vlaeminck *et al.*, 2006)

La evaluación de la cinética de fermentación durante 48 h arroja que a partir de las 24h se logra la estabilidad del bioproducto en estudio ( $P > 0,05$ ), aspecto informado por Espinoza (2015) al estudiar un fermentado a base de jugo de caña de azúcar, aunque Díaz (2014) refiere el proceso de estabilidad cinética de fermentación a las 96 h. La obtención de una estabilidad a pH de 3,81 permite la disminución del contenido y cambios en la composición de factores antinutricionales (Kalač *et al.*, 1996) facilitando este medio ácido la disminución de las saponinas esteroideas (Kalač *et al.*, 1996), principal factor antinutricional del extracto crudo de *A. froucroydes* (Rendón *et al.*, 2007).

La figura 2 muestra la los valores de temperatura durante la cinética de fermentación del extracto de *Agave froucroydes* durante el proceso de bioproducto según los tiempos estudiados (0h a 48 h).

Letras diferentes entre horas de fermentación difieren estadísticamente para  $P < 0,05$  (Duncan, 1955).

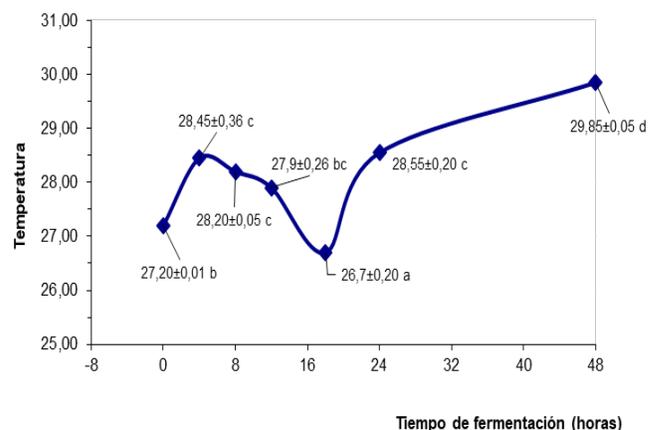


Figura 2. Temperatura (promedio ± desviación estándar) durante la cinética de fermentación de *Agave froucroydes* durante el proceso de bioproducto.

La temperatura manifestó diferencias estadísticas para  $P < 0,05$  relacionadas con la temperatura ambiental y la conducción del calor de los sustratos fermentados por lo que coincidimos con Díaz (2015). Según (Elías & Lezcano, 1994) algunas especies de levaduras y bacterias se desarrollan a temperatura de  $28^\circ\text{C}$  por lo que durante la cinética de fermentación se obtuvo con similar

valor de temperatura e incremento de pH una mayor población microbiana

La figura 3 presenta la cinética del ° Brix según los tiempos estudiados (0h a 48 h) durante la cinética de fermentación del extracto de *A. fourcroydes* en el proceso de obtención del Bioproducto.

Letras diferentes entre horas de fermentación difieren estadísticamente para  $P < 0,05$  (Duncan, 1955)

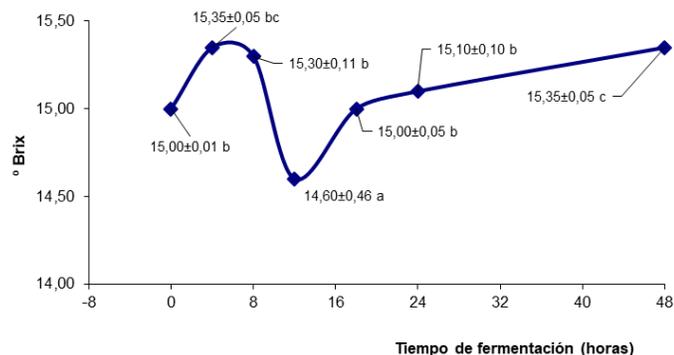


Figura 3. Valores de ° Brix (promedio ± desviación estándar) durante la cinética de fermentación de *Agave fourcroydes* durante el proceso de bioproducto

El °Brix manifestó un descenso ( $P < 0,05$ ) a las 12 h con un valor de 14,6 producto de la actividad microbiana en este período utilizando estos azúcares como sustratos en la producción de levaduras y bacterias (Espinoza, 2015). Estas disminuciones de los ° Brix a las 12 h han sido descritas anteriormente con mayor o menor intensidad (Espinoza, 2015) en dependencia de la mayor o menor concentración microbiana en sus estudios. El incremento del °Brix a las 48h se encuentra relacionado al incremento de la actividad celulolítica (Díaz, 2014).

#### Concentración de microorganismos

Los microorganismos viables totales determinados fueron en la figura 4 fueron bacterias, levaduras y hongos con diferencias estadísticas significativas para  $P < 0,05$ , la disminución de la población microbiana de 12 h a 48 h se encuentra relacionado con la disminución del pH (Danner *et al.*, 2003; Díaz, 2014). Al respecto, Rycroft *et al.* (2001) plantean que valores de pH bajos indican mayor actividad metabólica acidogénica de los microorganismos que se adaptan a esas condiciones. Además, según García *et al.* (2012) el *A. fourcroydes* presenta diferentes compuestos con enlaces tipo  $\beta$  con actividades prebióticas para la fermentación microbiana de acción similar a los prebióticos comerciales que potenciarían su uso como aditivo para estimular las fermentaciones durante el proceso de ensilaje.

Letras diferentes difieren estadísticamente para  $P < 0,05$  (Duncan, 1955).

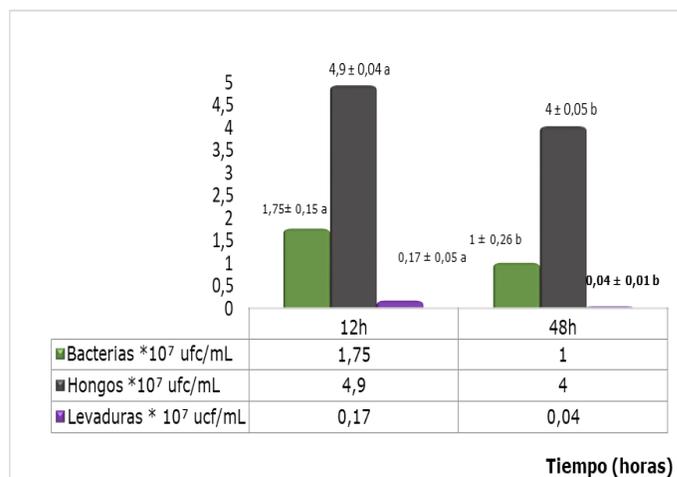


Figura 4. Conteo total de microorganismos viables (promedio ± desviación estándar) en el bioproducto.

Se identificó la presencia de hongos filamentosos, como *Penicillium spp.* en la figura 5 los cuales se destacan por expresar mayor cantidad de enzimas xilanolíticas y para lograrlo necesitan del aporte nutricional necesario (Aguilar, 2017). La presencia de carbono, nitrógeno y minerales en el producto biológico facilita una actividad enzimática eficiente.

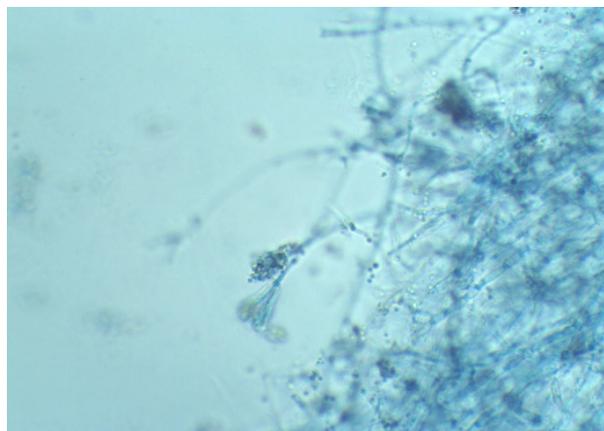


Figura 5. *Penicillium spp.*

El uso de enzimas celulasas exógenas o de hongos productores de esas enzimas en el alimento o en el proceso de ensilaje representa una alternativa con un incremento en la degradación de materia orgánica, disminución de fibra detergente neutra y ácida con efectos positivos en los procesos digestivos en rumiantes en la eficiencia de fermentación (Lima *et al.*, 2018). Esta actividad enzimática facilita el uso eficiente de alimentos con altos contenidos lignocelulósicos como subproductos agrícolas, forrajes

de baja calidad y bagazo de caña según estudios realizados por Aguilar (2017).

La tendencia a la disminución de la velocidad de crecimiento de hongos y levaduras demuestra que existen factores limitantes en su crecimiento como el pH (concentración de ácidos orgánicos, especialmente el acético aunque hayan sustratos en el Bioproducto). Además, se observó la presencia de levaduras en el producto biológico con una disminución ( $P < 0,05$ ) a las 48 h asociado, fundamentalmente con el descenso de pH, debido a que el pH óptimo para el crecimiento de levaduras varía de 4,5 a 6,5 (Espinoza, 2015). La presencia de levaduras en la figura 6 a concentraciones de  $10^7$  ucf se reportaron en otros aditivo microbianos empleados como inóculo para ensilajes (Gutiérrez *et al.*, 2012; Espinoza, 2015). Aunque, según Garcés *et al.* (2004) las levaduras se consideran indeseables en el ensilaje porque compiten por los azúcares disponibles y nutrientes para el desarrollo de bacterias ácido lácticas; sin embargo, las levaduras junto con bacterias aerobias durante la primera fase (Respiración) del ensilaje contribuyen a reducir el oxígeno en las primeras horas y con ello a las condiciones anaeróbicas deseadas para el crecimiento de las bacterias ácido lácticas durante el proceso de ensilaje (Villa, 2008).

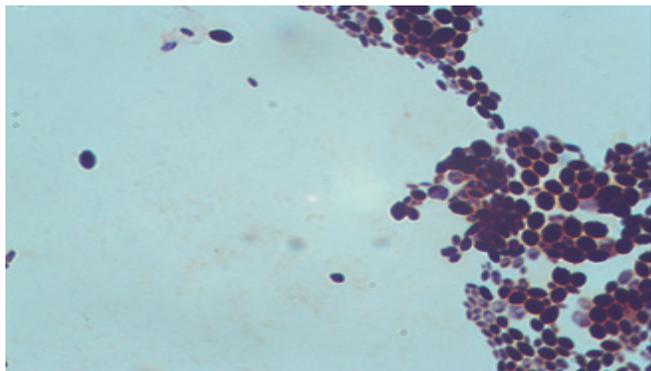


Figura 6. Levaduras.

Igualmente, las bacterias totales decrecen a las 48 h en las que se identificaron bacterias del género *Bacillus spp.* en la figura 7. Al respecto, Garcés *et al.* (2004) plantearon que con excepción de las especies que producen sustancias fungicidas presentes en los productos biológicos de, el desarrollo de los *Bacillus spp.* en el ensilaje es considerado como indeseable, aunque Solís (2017) obtuvo excelentes resultados empleando como aditivo *Bacillus spp.* en ensilaje fibrosos (mayor degradación de los nutrientes, mejor digestibilidad, incremento del ácido propiónico en el rumen y disminución de los gases de efecto invernadero).

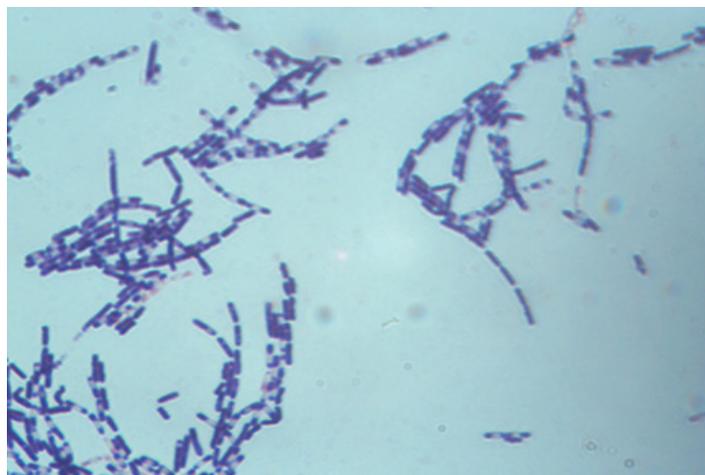


Figura 7. *Bacillus spp.*

Se identificó en el Bioproducto en estudio del género *Bacillus spp.* la especie *B. subtilis* la cual se caracteriza por su actividad antifúngica (Garcés *et al.*, 2004) y ser utilizada para inhibir el proceso de deterioro aeróbico con beneficios en ensilajes. Según Solís (2017) la FDA (Food and Drug Administration) y la AAFCO (Association of American Feed Control Officials) reconocen a esta especie del género *Bacillus spp.* como microorganismos GRAS (generalmente reconocidos como seguros). Estas bacterias poseen actividad fibrolítica que está dada por las enzimas celulasas producidas como parte de la acción para mejorar la degradabilidad de sustratos lignocelulósicos.

En el bioproducto en estudio se determinaron contenidos de PB (314,10 g/kg MS  $\pm$  0,4), cenizas (97g/kg MS $\pm$ 0,2) y MS(150g/kg MF $\pm$ 0,2), valores similares a los bioproductos producidos por Rendón *et al.* (2007). Este contenido de minerales interviene en la calidad nutritiva del ensilaje, en el desarrollo y crecimientos de microorganismos además de la producción de enzimas linogcelulolíticas.

## CONCLUSIONES

La obtención de un inóculo a partir del extracto de *A. fourcroydes* como producto biológico activador en silo representa una alternativa económica y sustentable para conservar alimentos sin afectar el valor nutricional de estos. El bioproducto en estudio presenta 15% de MS, alto contenido de PB, una estabilidad cinética de fermentación a las 24h inferior a 4 y se caracteriza por la presencia de gérmenes lignocelulolíticos, predominan *Penicillium spp.* y *B. subtilis*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, O. A. (2017). Estudio de expresión de la actividad xilanolítica de *Penicillium* spp. CGECOOCR en bagazo de caña de azúcar y pulpa de café. (Trabajo de Diploma). Universidad Autónoma de Chiapas.
- AOAC. (2005). Official Methods of Analysis of AOAC international. En, W. Horwitz & G. W. Latimer. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg
- Díaz, B. L. (2014). Evaluación de residuos agrícolas post cosecha en ensilajes inoculados con preparados microbianos nativos para alimentación de vacas lecheras en Ecuador. (Tesis Doctoral). Instituto de Ciencia Animal.
- Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F test Biometrics. *Biometrics* 11(1), 1-42.
- Elías, A., & Herrera, F. R. (2008). Producción de alimentos para animales a través de procesos biotecnológicos sencillos con el empleo de microorganismos beneficiosos activados (MEBA). Instituto de Ciencia Animal
- Elías, A., & Lezcano, O. (1994). Efecto de la inclusión de niveles de harina de maíz en la fermentación de la caña de azúcar. *Revista Cubana de Ciencias Agrícolas*, 28, 319.
- Espinoza, V. A. (2015). Utilización Del Jugo De Caña De Azúcar (*Saccharum officinarum* L.) como medio de cultivo para la producción de *Saccharomyces boulardii* L., Machala 2014. (Tesis de Diploma). Universidad Técnica de Machala.
- Garcés, A. M., Berrio, L., Ruiz, S., Serna, J. G., & Builes, A. F. (2004). Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Revista Lasallista de Investigación*, 1(1), 66-71.
- García, Y., López, M. G., Bocourt, R., Rodríguez, Z., Urias, J., & Herrera, M. (2012). Fermentación in vitro del extracto de *Agave fourcroydes* (henequén) por bacterias ácido lácticas. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 46(2), 203-209.
- Gutiérrez, D., A. Elías, García, R., Herrera, F., Jordán, H., & Sarduy, L. (2012). Efecto del aditivo microbiano VITAFERT en el consumo de la materia seca y fibra neutro detergente en cabras Saanen alimentadas con heno de *Brachiaria brizantha*. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 46(3), 267-271.
- Kala, P., Price, K. R., & Fenwick, G. R. (1996). Changes in saponin content and composition during the ensilage of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Food Chemistry*, 56(4), 377-380.
- Lima, R., Arce, M. A., Bello, I., Artiles, E., & Fievez, V. (2018). Assessment of quality and rumen degradability of mixed silages of sugarcane tops with whole plants of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray in combination with molasses, fungi and lactobacilli. *Advances in Animal Biosciences*, 8, 519.
- Lima, R., Van, I., Álvarez, U., & Fievez, V. (2014). Combined conservation of jack bean and velvet bean with sorghum: evaluation of lab-scale silages and in vitro assessment of their nutritive value. *Journal of Agricultural Science*.(152), 967-980.
- Novo, R. (2005). Microbiología agrícola ejercicios prácticos. Félix Varela.
- Rendón, L. A., Magdub, A., Hernández, L., & Larqué, A. (2007). El jarabe de henequén (*Agave fourcroydes* Lem.). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(4), 463-467.
- Solís, R. (2017). *Efecto de la adición de Bacillus Spp. en ensilaje de maíz (Zea mays) sobre la cinética de degradación ruminal in situ y fermentación ruminal in vitro*. (Trabajo de Diploma). Universidad Técnica De Ambato.
- SPSS. (2012). Software for windows, release 21.0, Inc. Property of IBM Corporation. Chicago, Illinois. USA.
- Villa, A. F. (2008). Estudio microbiológico y calidad nutricional de ensilaje de maíz cosechado en dos ecorregiones de Colombia (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Colombia Bogotá.