

Caracterización de proteína microbiana obtenida a partir de residuos agroindustriales

Characterization of microbial protein obtained from agro-industrial waste

Ana Lucia Chafla¹, Juan M. Espín¹, Margarita Jara¹, Sonia E. Peñafiel²,

¹Universidad Estatal Amazónica, UEA. Puyo - Ecuador

²Escuela Superior Politécnica de Chimborazo ESPOCH. Riobamba – Ecuador

achafla@uea.edu.ec; jespín@uea.edu.ec

Resumen

En el laboratorio de Biotecnología de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, se caracterizó la proteína microbiana obtenida a partir de la mezcla suero lácteo, cáscara de maracuyá (*Passiflora edulis*) y banano maduro (*Musa paradisiaca*), mediante fermentación en estado sólido (FES). Los tratamientos se asignaron bajo un diseño completamente al azar, con arreglo factorial de 4x4 y tres repeticiones. Los factores fueron: suero lácteo (SL) (0, 5, 10 y 15 %) y Tiempo de Fermentación (TF) (0, 12, 24 y 36 h). Se evaluó los indicadores bromatológicos, pH, nitrógeno amoniacal (NH₃), ácidos grasos volátiles (AGVs), y conteo de levaduras. El pH se incrementó a medida que se incluyó el SL, entre 4.9 y 5.6, sin embargo con el (TF), el valor difiere significativamente en los tratamientos ($P \leq 0.001$). El número de levaduras incrementaron significativamente ($P < 0.001$), en los tratamientos 10 y 15 % de SL, con respecto al control. Existió una relación significativa ($P < 0.001$), entre la producción de AGVs y el TF, el tratamiento que presentó la mayor producción de AGVs fue el tratamiento al 15 % SL a las 24 h con 13.33 meq/L. La fibra cruda (FC) disminuyó ($P \leq 0.0001$) con el nivel creciente de SL. La proteína verdadera (PV) aumentó ($P \leq 0.0001$), a medida que se incrementa el nivel de SL y el TF en cada tratamiento. La inclusión hasta un 15 % de SL sobre cáscara de maracuyá y banano maduro permitió obtener los mejores indicadores fermentativos y bromatológicos en la producción de proteína microbiana

Palabras clave: residuos agroindustriales, fermentación sólida, proteína microbiana.

Abstract

Microbial protein was characterized in the Biotechnology laboratory of the Polytechnic School of Chimborazo (Escuela Superior Politécnica de Chimborazo). This was obtained from a mixture of whey, passion fruit peel (*Passiflora edulis*), and ripe banana (*Musa paradisiaca*), using solid state fermentation (SSF). Treatments were allocated under a completely randomized design, with a 4x4 factorial arrangement and three repetitions. Factors were: whey (0, 5, 10 and 15 %) and fermentation time (FT) (0, 12, 24, and 36 h). Food indicators, pH, ammonia-nitrogen (NH₃), volatile fatty acids (VFA), and yeast count were assessed. The pH increased as whey was added, between 4.9 and 5.6, however, regarding fermentation time, the value differs significantly across treatments ($P \leq 0.001$). The number of yeast cells increased significantly ($P < 0.001$) in treatments with 10 and 15 % whey with respect to the control. There was a significant relation ($P < 0.001$) between VFA production and FT. The treatment with the highest VFA production was the one with 15% whey at 24 h with 13.33 meq/L. Crude fiber (CF) decreased ($P \leq 0.0001$) with the increasing levels of whey. True protein (TP) increased ($P \leq 0.0001$) as whey and FT levels increased in each treatment. Adding up to 15% of whey on the passion fruit peel and ripe banana enabled the obtaining of better food and fermentation indicators during microbial protein production.

Key words: Agroindustrial residues, solid fermentation, microbial protein.

Introducción

A nivel mundial, la preocupación por el aprovechamiento de residuos ha tomado gran fuerza entre la comunidad científica y sobre todo a nivel industrial, donde los procesos de transformación generan subproductos que pueden ser útiles en otras actividades. De hecho, estudios recientes han demostrado que las cáscaras de frutas poseen excelentes características en su composición química, valor

Introduction

Worldwide, concern about the use of waste has become a main issue among the scientific community and especially in the industrial sector, where transformation processes generate by-products which can be useful in other activities. As a matter of fact, recent studies have shown that fruit peel have excellent characteristics regarding their chemical

nutritivo y palatabilidad (Rodríguez *et al.*, 2001).

Sin embargo, los residuos generados en las transformaciones agroindustriales y por pérdidas post-cosecha en Ecuador, aún no han sido aprovechados eficientemente, en parte, por su valor desconocido y, sobretodo, por la falta de métodos apropiados para la preparación y caracterización de sustancias de mayor valor agregado con la suficiente calidad e inocuidad como para ser usadas en procesos alimenticios.

La estrategia de valorización de tales residuos debe contemplar una serie de criterios adicionales, tales como el calendario y volumen de producción, localización de las áreas que los generan, relación con las zonas de mayor consumo potencial y coste del transporte.

La agroindustria ecuatoriana genera una enorme masa de subproductos, algunos de ellos son arrojados a vertederos a cielo abierto, convirtiéndose en focos de contaminación por su elevado contenido de materia orgánica. Los subproductos generados son principalmente residuos de madero, suero de leche, desechos agrícolas, así como desperdicios de la industria de pulpas y mermeladas.

composition, nutritional value and palatability (Rodríguez *et al.*, 2001).

However, waste generated from agro-industrial transformations and postharvest losses in Ecuador have yet to be used efficiently, partly because of their unknown value and especially due to a lack of appropriate methods for the preparation and characterization of substances with greater added value with enough quality and safety as to be used in food processing.

The strategy for the recovery of said waste must consider a number of additional criteria, such as timing and volume of production, location of the generating areas, relation to the areas of higher potential consumption, and transportation costs

Ecuadorian agro-industry produces an enormous mass of by-products, some of them are thrown into open dumps, thus becoming sources of pollution due to the high organic matter content. By-products are mainly generated from whey, agricultural, slaughterhouse, and pulp and jam waste

En la actualidad, esta ingente biomasa de subproductos representa un importante problema ambiental para los productores, con doble incidencia en la sanidad ambiental y economía, lo que provoca cuantiosos recursos económicos para minimizar los efectos.

Por otra parte, existe gran interés de ganaderos y profesionales del sector pecuario en incorporar desechos y residuos agroindustriales en la alimentación animal. Su utilización se ha visto estimulada en los últimos años debido al elevado costo alcanzado por los insumos tradicionalmente empleados, como también por la modernización de los sistemas de producción de carne.

La fermentación en estado sólido (FES), es un proceso biotecnológico para preservar o desarrollar nuevos alimentos a partir de la utilización de varios materiales ricos en 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, azúcares, ácidos orgánicos, polisacáridos e incluso compuestos lignocelulósicos y casi todas las especies, con raras excepciones, utilizan iones de amonio para la síntesis de

Nowadays, this enormous biomass of by-products represent an important environmental issue to producers, affecting both the environmental health and the economy, which requires a large amount of economic resources to reduce the effects.

There is great interest from ranchers and professionals of the livestock sector to incorporate agro-industrial waste into animal feeding. Its use has been encouraged in recent years due to the high price acquired by the inputs used traditionally and the modernization of meat production systems

Solid state fermentation (SSF) is a biotechnological process to preserve and develop new food from the use of various materials rich in carbohydrates, this is achieved using microorganisms. Yeast are unicellular microorganisms of natural growth which, depending on the species, can use compounds such as pentoses, methyl-pentose, sugars, organic acids, polysaccharides and even lignocellulosic compounds, and almost all species, with few exceptions, use ammonium ions for protein synthesis. (Miller, 1977).

proteína (Miller, 1977).

Durante la FES de subproductos agroindustriales ricos en azúcares, 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 312 s, 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.*, 1992).

En este trabajo se caracterizó la proteína microbiana en un sistema de fermentación en estado sólido sobre los residuos de cáscara de maracuyá y banano maduro enriquecida con suero de leche en diferentes concentraciones.

Materiales y Métodos

Recolección, transformación y caracterización del maracuyá y banano

Los subproductos de maracuyá (cáscara) y banano maduro entero en mezcla (50:50), se obtuvieron de los mercados de la ciudad de Riobamba. Se recolectó diariamente 1 Kg de cada subproducto durante una semana en bolsas de polietileno y se conservó

During SSF of agro-industrial by-products rich in sugars, the energy of these carbohydrates and urea as a source of nitrogen (N) are used for epiphytic microflora growth in by-products, doubling the biomass in 312 s, which makes possible an increase in the population of yeast cells and bacteria during the drying step without using an inoculum in the system (Valiño *et al.*, 1992).

In this study microbial protein was characterized in a solid state fermentation system on waste from passion fruit peel and ripe banana, enriched with whey at various concentrations.

Materials and Methods

Collecting, Transformation and Characterization of Passion Fruit and Banana

Passion fruit (peel) and whole ripe banana by-products in a (50:50) mixture were obtained from markets in Riobamba city. For one week 1 Kg of each product was collected daily in polyethylene bags and kept under refrigeration. Later they were transferred under the same conditions to the Biotechnology laboratory. After

en refrigeración. Posteriormente fueron trasladadas bajo las mismas condiciones al laboratorio de Biotecnología. Acondicionadas las muestras por 2 h a temperatura ambiente, se procedió a triturar y homogeneizar, el tamaño de partícula fue de 1 a 2 cm aproximadamente. A partir de 100 g de muestra fresca, se determinó la humedad inicial en estufa de aire a 65 0C durante 4 h. Las muestras fueron tamizadas en una malla de 0.5 mm, envasadas y etiquetadas para su posterior análisis.

Análisis físicos y químicos

A los residuos deshidratados se les analizó: el contenido de materia seca (AOAC 934.16), ceniza (AOAC 942.05), proteína (AOAC 920.152), fibra cruda (AOAC 962.09), extracto etéreo (AOAC 954.02), azúcares totales (MO-LSAIA-21), pH (MO-LSAIA-09).

Procesos de fermentación

Al residuo agroindustrial en mezcla se adicionó: 2 % de melaza, 3 % de yogurt natural, 0.5 % de sales minerales, 1.5 % de urea, 0.2 sulfato de amonio y suero láctico en diferentes concentraciones (0, 5, 10, 15 %). Para los procesos fermentativos, se emplearon 48 erlenmeyer esterilizados de 500 mL, los cuales se llenaron

conditioning the samples for 2 hours at ambient temperature they were then ground and homogenized; particle size was 1-2 cm approximately. From 100 g of fresh sample the initial moisture was determined in an air oven at 65 0C for 4 h. Samples were sieved in a 0.5 mm mesh, then packaged and labeled for later analysis.

Physical and Chemical Analysis.

In the dehydrated waste the following indicators were analyzed: Dry matter content (AOAC 934.16), ash (AOAC 942.05), protein (AOAC 920.152), crude fiber (AOAC 962.09), ethereal extract (AOAC 954.02), total sugars (MO-LSAIA-21), pH (MO-LSAIA-09).

Fermentation Processes.

The following was added to the agro-industrial waste mixture: 2% molasses, 3% natural yogurt, 0.5% mineral salts, 1.5% urea, 0.2 ammonium sulphate, and whey at different concentrations (0, 5, 10, 15 %). For the fermentation processes were used 48 sterilized 500 mL Erlenmeyer flasks, which were filled with approximately 250 g of the mixtures described above, according to

con aproximadamente 250 g de la mezclas descritas anteriormente, según tratamientos. Todos los erlenmeyer se taponaron con algodón y se incubaron a 32°C. Los tiempos de fermentación fueron de 0, 12, 24 y 36 h, con agitación cada 3 h. El conteo de levaduras, parámetros fermentativos y calidad de sustrato se utilizó la metodología descrita por Castillo (2009).

Análisis Estadísticos: Se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial de 4x4 y tres repeticiones por tratamiento, los factores fueron: suero lácteo (SL) (0, 5, 10 y 15 %) y Tiempo de Fermentación (TF) (0, 12, 24 y 36 h), con una prueba de significación de Tukey al 5%.

Resultados

Composición química del subproducto

La Tabla 1, muestra la composición química de ambos residuos permite considerarlos como buenos sustratos para el cultivo de microorganismos, como lo afirma Barnett (1988) “El medio de cultivo debe tener todos los nutrientes necesarios de forma balanceada para favorecer el crecimiento del microorganismo de manera relevante en carbono-nitrógeno en lo que respecta a la eficiencia de conversión energética”

treatments. All flasks were stoppered with cotton and were incubated at 32°C. Fermentation times were 0, 12, 24, and 36 h, shaken every 3 h. Yeast cells, fermentation parameters and substrate quality count were carried out with the methodology described by Castillo (2009).

Statistical analysis: A completely randomized design (CRD) was used, in a 4x4 factorial arrangement and three repetitions per treatments, Factors were: whey (0, 5, 10, and 15%) and Fermentation time (FT) (0, 12, 24, and 36 h), with Tukey's significance test at 5%.

Results

Chemical composition of by-products.

Table 1 shows the chemical composition of both types of waste, they can be considered as good substrates for microorganism cultures, as stated by Barnett (1988) “The culture medium must possess all necessary nutrients in a balanced way to encourage microorganism growth relevant to carbon-nitrogen, regarding energy conversion efficiency”

Tabla 1. Composición química de la materia prima en base seca

INDICADOR	MARACUYA/BANANO (50:50 m/m)
Materia seca (%)	76.3
Ceniza (%)	6.81
Proteína bruta (%)	6.30
Fibra bruta (%)	32.6
Extracto etéreo (%)	1.24
Azúcares Totales (°Brix, %)	12.61
pH	5.13

El valor de pH se encuentra cercano a los requerimientos que tienen las levaduras para su óptimo crecimiento de 3.5 a 5 (Rose, 1987).

Procesos de fermentación

Se encontró interacción significativa ($P < 0.001$) entre el nivel de inclusión de SL y el TF para el pH. A medida que aumentó el TF, el pH disminuyó, en todos los niveles de inclusión con respecto al tratamiento inicial (tabla 2). En el nivel de inclusión al 10 % de SL de 0 a 12 h, el pH alcanzó valores altos, mientras que a las 36 h de fermentación el pH fue menor. De acuerdo con Domenech (2000), el pH cambia por la secreción de ácidos orgánicos como el acético y láctico durante el proceso, así como la adición de fuentes de nitrógeno. Algunos investigadores como Rimbault y Alazard (1980) propusieron para el crecimiento de *Aspergillus niger* en harina de yuca una mezcla de sulfato de amonio - urea de 3 a 2 (calculado en base al nitrógeno) y se logró man-

PH value is close to that required by yeast for its optimal growth, 3.5 to 5 (Rose, 1987).

Fermentation Processes

A significant interaction ($P < 0.001$) was found between the inclusion levels of added whey and fermentation time on pH. As FT increased, pH decreased, in all inclusion levels with respect to the initial treatment (Table 2). At 10% whey inclusion level from 0 to 12 h, pH reached high values, whereas at 36 h pH was lower. According to Domenech (2000), pH changes due to the secretion of organic acids such as acetic and lactic acids during the process, and also influenced by the addition of nitrogen sources. Some researches like Rimbault y Alazard (1980) proposed a mix of ammonium sulphate - urea (3:2), calculated based on nitrogen, for growth of *Aspergillus niger* in cassava flour.

tener el pH durante el proceso en el intervalo de 5 a 6.2 favorable para el crecimiento del microorganismo.

El contenido de nitrógeno amoniacal, registró diferencias significativas, obteniéndose un mayor valor en el tratamiento al 10 % de inclusión a las 24 h ($P < 0.001$) ya que presentó un contenido de 8.53 meq/L., con respecto al tratamiento control que reporta los más bajos resultados. A las 36 h de fermentación los valores de amoníaco (NH_3) en todos los tratamientos disminuyen.

El contenido de amoníaco en la FES está condicionado principalmente como un reflejo de fermentaciones negativas, aunque en la práctica es imposible evitar totalmente su producción. Siempre se encuentra asociado a los ácidos orgánicos en forma de sales de amonio, por lo que no favorece la disminución del pH dentro de la masa fermentada (Wilkins *et al.* 1999).

PH was kept between 5 and 6.2 during the process, which is favorable for the microorganism's growth.

Ammoniacal nitrogen content presented significant differences. A higher value was obtained in the 10% inclusion treatment at 24 h ($P < 0.001$) since it presented a 8.53 meq/L content with respect to the control treatment which reported the lowest results. At 36 fermentation hours ammonia values decreased in all treatments.

Ammonia content in SSF is conditioned mainly as a reflection of negative fermentations, although in practice it's impossible to completely prevent its production. It's always associated to organic acids in the form of ammonia salts, so that it doesn't favor a pH decrease within the fermented mass (Wilkins *et al.* 1999).

Tabla 2. Indicadores fermentativos de la materia prima, con inclusión de suero láctico en función del tiempo de fermentación

TIEMPO DE FERMENTACIÓN (h)	NIVEL (%Suero)	pH	NH ₃ (meq/L)	AGVs (meq/L)	Lev
0	0	5,28ab	1,49i	2,18f	8,24fg
	5	5,17abc	2,24hi	3,05f	8,15fg
	10	5,53a	2,98h	3,06f	8,30f
	15	5,22ab	2,29hi	3,22e	8,98def
12	0	5,03abc	3,17h	5,33e	8,59ef
	5	4,93abcd	4,63g	5,10e	8,85ef
	10	5,57a	4,83fg	6,57e	9,51cde
	15	4,10e	4,87fg	6,03e	10,18c
24	0	4,67bcde	7,23bcd	8,6d	11,70b
	5	4,43cde	7,93abc	12,23ab	13,33a
	10	4,7bcde	8,53a	12,93ab	13,53a
	15	4,1e	8,13ab	13,33a	12,10b
36	0	4,2de	8,01abc	11,30bc	10,04cd
	5	4,17e	5,90ef	9,87cd	7,97fg
	10	4,27de	6,4de	8,90d	8,0fg
	15	4,13e	6,97cde	9,0d	7,10g
EE±		0,0617	0,1313	0,3363	0,1413
VALOR DE P		0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Medias con letras distintas en la columna presentan diferencias significativas ($P < 0,05$).

A las 12 h del proceso de FES, no existió significancia entre los valores de AGVs totales. A partir de las 0, 24 y 36 h de fermentación, se encontraron diferencias significativas ($P < 0,001$) en los niveles de inclusión de SL. Los resultados obtenidos están en correspondencia con los reportados por Vidotti (2001). La mayor producción de AGVs se evidenció en el tratamiento al 10 % de SL a las 24 h con 8.53 meq/L.

At 12 h of the SSF process, there was not significance between total VFAs values. From 0, 24, and 36 fermentation hours, significant differences ($P < 0,001$) were found in whey inclusion levels. The obtained results agree with those reported by Vidotti (2001). The greatest production of VFAs was present in the 10% whey treatment at 24 h with 8.53 meq/L.

El conteo de levaduras, expresados en log10, en los diferentes tratamientos a través del tiempo (tabla 2) mostraron interacción significativa ($P < 0.0001$) entre los niveles de inclusión de SL y el TF. La mayor producción de levaduras se evidenció a las 24 h de fermentación al 5 y 10 % de SL. Los resultados más bajos en la producción de levaduras mostraron los niveles al 0 y 5 % de SL a las 0 y 12 h de fermentación. Se puede atribuir estos resultados debido a la variación de pH y ausencia de sustancias nutritivas para la producción de microorganismos (Elías, 2001).

Los resultados de la composición bromatológica se muestran en el tabla 3. Los indicadores bromatológicos presentaron diferencias significativas ($P < 0.0001$). El tratamiento al 0 % de adición de SL, presentó el mayor porcentaje de MS 80,24 % y a medida que transcurre el tiempo de fermentación la MS disminuyó. Mientras que el efecto de adición de suero con respecto al tiempo de fermentación, la MS mantiene valores cercanos a los del tratamiento control. La disminución de la MS en productos ricos en azúcares se debe a un proceso fermentativo de estos carbohidratos en FES, con incremento notable en la concentración de AGV totales y descenso del pH (Elías et al. 2001). Esto concuerda con los resultados obtenidos en este

Yeast cells count expressed in log10- in different treatments throughout time (Table 2) displayed a significant interaction ($P < 0.0001$) between whey inclusion levels and FT. Largest yeast production was detected at 24 fermentation hours with 5 and 10 % whey. The lowest amount of yeast production was found at 0 and 5 % whey between 0 and 12 fermentation hours. These results can be attributed to pH variation and a lack of nutritious substances for microorganism production (Elías, 2001).

Results from food composition are shown in table 3. Food indicators presented significant differences ($P < 0.0001$). The 0 % whey treatment displayed the highest percentage of dry matter (MS), 80.24%, and as the fermentation time passes MS decreased. While the effect of whey inclusion with respect to fermentation time, MS presents values close to the control treatment. MS decrease in sugar-rich products is caused by a fermentation process of these carbohydrates in SSF, with a noticeable increase in total VFAs concentration and a decrease in pH (Elías et al. 2001). This agrees with the results obtained in this study,

trabajo, que están relacionados con un desarrollo considerable de microorganismos y, consecuentemente, con un mayor uso de los nutrientes azucarados que forman parte del sustrato (Ruiz et al. 2008). El EE también aumentó con el incremento del SL existiendo diferencias significativas entre los tratamientos. Los tratamientos a las 24 y 36 horas de fermentación concentraron un mayor porcentaje de EE, estos valores pudieron atribuirse al contenido de EE presente en la materia prima. Para la FC, a medida que se incrementó el nivel de SL, tendió a disminuir, lo que está relacionado con el contenido de MS y el material fibroso de estos residuos (tabla 1). El mayor contenido de FC en el tiempo 0 y 12 h de fermentación se evidencian en el tratamiento control y al 5% de inclusión. Esta disminución pudo ser consecuencia de la rápida utilización de los carbohidratos fácilmente fermentables por parte de los microorganismos produciendo un efecto de dispersión de la fibra que repercute en su concentración (Rodríguez et al., 2001). Con respecto al contenido de PC existieron diferencias significativas entre tratamientos, evidenciándose incrementos de proteínas durante el tiempo de fermentación. Los valores marcados de PB fueron a las 24 horas de fermentación en todos los tratamientos. La PV aumentó en todos los trata-

which are related to the considerable microorganism development and consequently to a higher use of sugar nutrients in the substrate (Ruiz et al. 2008). Etheral extract (EE) also increased with the increase of whey, presenting significant differences between treatments. Treatments of 24 and 36 fermentation hours had a greater percentage of EE, this values can be attributed to the EE content present in prime matter. Regarding crude fiber (FC), as the whey level increased, it decreased. This is related to the MS content and fiber matter in waste (table 1). The greatest content of FC at times 0 and 12 fermentation hours was found in the control treatment and the 5% inclusion. This reduction could be caused by the rapid used of the easily fermentable carbohydrates by microorganisms, leading to a dispersion effect of fiber thus affecting its concentration (Rodríguez et al, 2001). Regarding crude protein (PC) content, there were significant differences between treatments. Increments in protein were detected during fermentation time. The PB values were taken at 24 hours of fermentation in all treatments. PV increased in all treatments with respect to the initial treatment. The

mientos con respecto al tratamiento inicial. El aumento de la PV en la FES está estrechamente relacionado con el desarrollo de microorganismos (levaduras y bacterias) y enzimas que se generan en el sistema FES. Estos utilizan al nitrógeno amoniacal como fuente nitrogenada y a los ácidos grasos como fuente de energía para sintetizar proteína unicelular (Elías *et al.* 2001).

increase in PV during SSF is closely related to microorganism development (yeast and bacteria) and to enzymes produced within the SSF system. They use Ammoniacal nitrogen as a nitrogen source and fatty acids as a source of energy to synthesize unicellular protein (Elías *et al.* 2001).

Tabla 3. Parámetros bromatológicos del sustrato biofermentado

TIEMPO DE FERMENTACIÓN (h)	NIVEL (%Suero)	MS	EE%	PC%	PV%	Lev
0	0	80,24a	1,4cd	5,36c	2,35d	32.64e
	5	77,93cd	1,31cd	5,63c	2,67d	32.49de
	10	79,14abc	1,28d	5,96c	2,32d	31.54bcde
	15	78,17bcd	1,41cd	6,01c	3,05d	32.01cde
12	0	75,47efg	1,47cd	8,21b	3,08d	32.35de
	5	77,18de	1,37cd	8,38b	6,07abc	32.38de
	10	78,85abcd	1,73ab	8,30b	5,85abc	31.50bcde
	15	79,76ab	1,82a	9,01b	6,19ab	31.52bcde
24	0	71,41h	1,45cd	9,05b	6,16ab	30.15abc
	5	74,25fg	1,47cd	9,41b	5,95abc	30.18abc
	10	78,58abcd	1,92a	10,93a	6,87a	29.80ab
	15	79,03abc	1,92a	10,92a	6,89a	30.48abcd
36	0	68,63i	1,44cd	8,22b	5,56bc	30.12abc
	5	73,99g	1,55bc	8,22b	5,10bc	29.67ab
	10	75,75efg	1,91a	9,07b	4,98c	30.13abc
	15	75,78ef	1,84a	8,94b	5,16cb	28.98a
EE±		0,3385	0,0073	0,2325	0,1366	0,5009
VALOR DE P		0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001

Medias con letras distintas en la columna presentan diferencias significativas ($P < 0,05$).

La proteína microbiana obtenida por procesos de fermentación en estado sólido se ve favorecida a niveles de pH de 4 a 6. El sustrato biofermentado a partir de residual agroindustrial con adición de SL del 10 al 15 % a las 24 y 36 horas de fermentación, presentó notables transformaciones en su composición bromatológica, en lo referido a los porcentajes de fibra cruda, proteína cruda y proteína verdadera, mostrando incrementos desde 5.36 % de PC hasta 10.93 %, con valores de PV hasta 6.89 %, y FC de 28,98 %; convirtiéndose en valores de importancia al implementar una dieta de cualquier especie animal.

Microbial protein obtained from the solid state fermentation processes is favored at pH levels of 4 – 6. The bio-fermented substrate from industrial waste, with 10 to 15 % added whey at 24 and 36 hours of fermentation showed important transformation in its food composition, regarding percentages of crude fiber, crude protein, and true protein, displaying increments from 5.36 % of PC to 10.93%, PV values up to 6.89%, and FC of 28.98%. Important values for any animal's diet.

Literatura citada

- Anrique, R. 2003. Efecto de la pulpa de manzana ensilada en la ración de vacas lecheras sobre el consumo, la tasa de sustitución y la producción de leche. Archivos de medicina Veterinaria. 35:13.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis (15th ed.). Association of Official Analytical Chemist, Arlington, Virginia.
- Buitrago, J., Escobar, A. 2009. Aplicación de levadura *Candida* spp como una alternativa viable para la retardación en la pudrición del banano (*musa acuminata*). Tesis de Microbiología Industrial Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá D.C.
- Castillo, Y., Ruiz, O., Elías, A. 2009. Kinetics of fermentation of Apple residues. J. Anim. Sci. 87:90.
- Cayon D., Giraldo G., Arcila M. 2000. Postcosecha y agroindustria del plátano en el eje cafetero de Colombia, CORPOICA, Armenia, Quindío.
- Domenech, F. (2000). Obtención de un biopreparado a partir de *Metarhizium anisopliae* por fermentación en estado sólido para su empleo como control biológico de insectos en la agricultura. Tesis Doctor en Ciencias Técnicas. ICIDCA, Ciudad Habana.
- Elías, A., Lezcano, O., Herrera, F. R. 2001. Algunos indicadores bromatológicos y productos finales de la fermentación para la obtención de cuatro tipos de

- Sacharinas inoculadas con Vitafert. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 35:153
- Lomas de León, Y.; Rojas, C. 2005. Aprovechamiento de suero de leche de cabra como sustrato para el desarrollo de un producto fermentado prebiótico con *Bidobacterium bidum* y *Lactobacillus acidophilus*. En: Universidad de Guanajuato; Universidad de Nuevo León. VII Congreso Nacional de Ciencia de los Alimentos y III Foro de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Guanajuato 475-484 pp.
- Martorrel, P. 2006. Desarrollo y aplicación de sistemas rápidos para la detección, identificación y caracterización de levaduras alterantes de alimentos. Tesis Dr. Universidad de Valencia. Departamento de Biotecnología. 221pp.
- Miller, M.W. 1977. *Enciclopedia of Food, Agriculture and Nutrition*. 4th Edition. McGraw-Hill, Inc. New York USA 679 pp.
- Raimbault, M. y Alazard D. (1980). Culture Method to study fungal growth in solid state fermentation. *Europa. J. Appl. Microbiol. Biotechn.*, 9: 199-209.
- Rodríguez, Z., Bocourt, R., Elías, A. & Madera, M. 2001. Dinámica de fermentación de mezcla de caña (*Saccharum officinarum*) y boniato (*Ipomoea batata* Lam.). *Rev Cubana Cienc. Agríc.* 35:147
- Rose, A.H. 1987. Yeast culture a microorganism for all species a theoretical look at its mode of action. *Proceedings. Alltech's third annual symposium. Biotechnology in the Feed Industry.* Nicholasville, kentuki. U.S.A.
- Ruiz, O., Castillo, Y., Rodríguez, C., Elías, A., García, H., Arzola, C., La O, O. 2008. Caracterización bromatológica de un fermentado de bagazo de manzana bajo condiciones de microanaerobilidad. XXXVI Reunión Anual Asociación Mexicana de Producción Animal. Monterrey, Nuevo León. México. 193-196 pp.
- Valiño E., Elías A., Galindo, J. Lugo, S., Albelo, N., Lezcano, O. Y Piedra, R. 1999. Proceso fermentativo de la caña de azúcar en un sistema de fermentación en estado sólido compacto (empacado). *RCCA.* 33 : 199
- Vidotti, R.M. 2001. Producto e utilização de silagens de peixe na nutricio do piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). Tesis Dr.Sci Universidade de São Paulo. São Paulo. 59, pp.
- Wilkins, R.J., Syrjälä-Qvist, L., & Bolsen, K.K. 1999. The future role of silage in sustainable animal production. p. 23-35, in: Pauly, 1999 q.v.