



"Por un Desarrollo Agrario  
Integral y Sostenible"

# UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL

Departamento de zootecnia

## TRABAJO DE GRADUACIÓN

**Fermentación en estado sólido de caña de azúcar y forraje fresco de  
*Moringa oleífera* con diferentes niveles de inclusión de  
*Sacharomyces cerevisiae* Managua, 2018**

### AUTORES

Br. Laguna Meylin Carolina  
Br. Martínez Yubelkis Karina

### ASESORES

Ing. Nadir Reyes Sánchez PhD  
Ing. Wendell Antonio Mejía Tinoco MSc.

Managua, Nicaragua  
2018

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL**

**APROBACIÓN DEL TRIBUNAL EXAMINADOR**

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable tribunal examinador designado por la Decanatura de la Facultad de Ciencia Animal, como requisito parcial para optar al título profesional de:

**INGENIERO ZOOTECNISTA**

**MIEMBROS DEL TRIBUNAL EXAMINADOR:**

---

MSc. Rosario Rodríguez Pérez  
**Presidente**

---

Ing. Josué D. Rocha Espinoza MSc  
**Secretario**

---

Ing. Santiago Gutiérrez G.  
**Vocal**

**Sustentantes:**

---

Br. Laguna Meylin Carolina

---

Br. Martínez Yubelkis Karina

**Managua, Nicaragua, abril, 2018.**

# ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>i</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>ii</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>iii</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>iv</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	<b>vii</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>viii</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II. OBJETIVOS</b> .....	<b>2</b>
2.1. Objetivo general .....	2
2.2. Objetivos Específicos .....	2
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>3</b>
3.1. Localización del experimento .....	3
3.2. Descripción del experimento.....	3
3.3. Preparación de los tratamientos en estudio .....	3
3.4. Manejo del experimento.....	4
3.5. Análisis estadístico .....	6
3.6. Modelo estadístico es: .....	6
3.7. Variables evaluadas.....	6
3.8. Descripción de las variables de fermentación .....	6
3.8.1. Temperatura de fermentación.....	6
3.8.2. pH.....	7
3.8.3. Temperatura ambiental (°C).....	7
3.8.4. Análisis de muestras en el laboratorio.....	7
3.8.5. Análisis financiero.....	7

<b>IV. RESULTADO Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>8</b>
4.1. Temperatura ambiente y temperatura de fermentación. ....	8
4.2. Potencial de iones hidrógeno (pH). ....	9
4.3. Humedad del sustrato .....	11
4.4. Contenido de Proteína Bruta (PB).....	12
4.5. Análisis financiero.....	14
<b>V. CONCLUSIONES</b> .....	<b>14</b>
<b>VI. LITERATURA CITADA</b> .....	<b>16</b>

## DEDICATORIA

A **Dios**, rey de reyes padre misericordioso, porque él es mi refugio y fortaleza, la luz en mi camino acompañándome en todo momento permitiéndome cumplir uno de mis mayores logros al culminar mis estudios y optar por mi título profesional, por siempre estar a mi lado confortándome en los momentos más difíciles de mi vida.

A mi madre hermosa **Johana del Carmen Laguna**, por ser mi inspiración a salir a delante dándome su apoyo incondicional en todo el transcurso de mi vida sacrificándose por mí, gracias madre, como tu ninguna te amo, sin ti esto no fuese posible, eres el mejor regalo que Dios me dio.

A mi abuela **Ada Laguna Arguello**, por siempre ponerme en sus oraciones, por apoyarme siempre que la necesite económica y emocionalmente, te quiero abüe linda.

A **Katherin Lisseth Díaz Campos**, por ese apoyo emocional y económico ayudándome siempre que estuviera en sus manos poder hacerlo y sin pensarlo, por siempre estar ahí pendiente de mí, gracia te quiero, Dios te bendiga.

A mi amiga **Yubelkis Karina Martínez**, por su dedicación para la elaboración de nuestro trabajo de investigación y sobre todo por su apoyo en toda circunstancia durante el tiempo nuestros estudios.

Con mucho cariño, **Meylin Carolina Laguna**

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a **Dios** por permitirme culminar mi carrera y convertirme en una profesional, gracias por ser parte de mi vida resguardándome y guiándome en cada instante, regalándome la fuerza día a día para seguir siempre hacia adelante.

A la persona más importante en mi vida mi madre linda **Johana del Carmen Laguna**, por su esfuerzo y su apoyo para que me superara, gracias por todos tus sacrificios para ayudarme a salir adelante y convertirme en una profesional, gracias por ese amor de madre incondicional que no se compara con nada.

A mi abüe hermosa **Ada Laguna Arguello**, muchas gracias por tu poyo, y sobre todo por ese cariño bonito que brindas, Dios te guarde y te bendiga.

Muchísimas gracias a mis familiares, en especial a mi primo **Julio Cesar Suazo** quien es como mi hermano gracias por tu apoyo, los quiero mucho

A **Katherin Lisseth Díaz Campos**, gracias por ser tan linda conmigo, gracias por tu apoyo incondicional en todo, por tus consejos y tus regaños cuando actué mal buscando siempre mi bienestar infinitamente gracias, te quiero.

A mi compañera de tesis **Yubelkis Karina Martínez**, mi amiga querida, gracias por ese cariño sincero de amistad apoyándome en momentos difíciles, siempre tan linda conmigo aconsejándome siempre que necesité, gracias por todo

A los asesores **PhD. Nadir Reyes Sánchez** y **MSc. Wendell Mejía Tinoco**, muchas gracias por su apoyo, por dedicarnos un poco de su tiempo y compartir sus conocimientos para poder hacer posible la elaboración de nuestro trabajo investigativo y que hoy estemos defendiendo

A todos ellos con amor muchas gracias

**Meylin Carolina Laguna**

## DEDICATORIA

A Dios padre celestial quien me ha brindado la oportunidad de culminar mis estudios académicos prestándome vida hasta el presente día, brindándome sabiduría, entendimiento y paciencia para cumplir unas de mis metas, a Jesús quien se sacrificó en la cruz para el perdón de mis pecados.

A mi madre **Reyna Isabel Martínez Reyes**, quien me inculco el amor y la pasión por los estudios, brindándome su apoyo emocional y económico dando impulso a seguir adelante y llevar a cabo con mi preparación profesional.

A mi hermana **Carolina L. Blandón Martínez**, por persuadirme a estudiar cuando tenía exámenes o alguna prueba académica, así también su apoyo tanto emocional como económico. De la misma manera a su esposo **Jimmy Cruz**, por su apoyo entusiasta como económico en la vida y estudios

A mi esposo **Elton J. Duarte Guevara**, quien me levantaba el ánimo cuando caía en una batalla, asimismo por comprensión, amor, paciencia y ayuda económica para finalizar mis estudios profesionales y logros de vida.

A mi compañera de tesis y gran amiga del alma **Meylin Laguna** por su amistad y paciencia durante los años de la carrera y trabajo de graduación. Por su apoyo incondicional en todos los momentos malos y buenos de estos años juntas.

A mis amigos y compañeros de clases por su ayuda en algún momento de mi vida y de estudio.

Con mucho cariño y agradecimiento a todos,

**Yubelkis Karina Martinez.**

## AGRADECIMIENTOS

Eternamente agradecida con mi padre Dios, ya que me regalo vida para realizarme a nivel profesional y gracias a Jesús por intervenir ante Dios para seguir adelante en la vida y por todas las buenas y malas personas que puso en mi camino para que pudiera salir adelante en la vida.

Infinitamente en deuda y agradecida quien me dio a luz a mi madre **Reyna Isabel Martínez Reyes**, por inculcarme los buenos valores en la vida, enseñándome a luchar por mis objetivos de vida, gracias por su amor, tiempo, comprensión, regaños y sobre todo por su sacrificio para que pudiera estudiar una carrera profesional y lograr terminar mis estudios

Gracias a mi hermana **Carolina L. Blandón Martínez**, por su tiempo, ayuda, cariño, apoyo cuando necesitaba algún tipo de ayuda y regaños cuando no daba el interés necesario en algunos de mis objetivos a nivel profesional. De igual manera gracias a su esposo **Jimmy Cruz**, por las prestaciones materiales y emocionales en la vida durante todo el tiempo que me conoce

Enormemente agradecida a mí esposo **Elton J. Duarte Guevara**, gracias por su amor, comprensión, paciencia, sabiduría, tiempo y su apoyo emocional así también económico durante esta gran etapa de mi vida. Gracias por creer en mí cuando yo no creía y por formar parte importante en mi vida.

Gracias a mi gran amiga y compañera de tesis **Meylin Laguna**, por ser una excelente persona conmigo, brindándome buenos consejos y apoyándome en cada decisión que tomo en mi vida sin juzgarme, esperando que todas nuestras metas se cumplan con la ayuda de Dios nuestro padre celestial.

A los asesores **PhD. Nadir Reyes Sánchez** y **MSc. Wendell Mejía Tinoco**, muchas gracias por brindarnos su ayuda incondicional aun en momentos de ligerezas, corrigiéndonos siempre para obtener un buen trabajo de estudio y buscando la manera de ayudarnos. Sobre todo, gracias por brindarnos el conocimiento para elaborar este trabajo de investigación que hoy día estamos defendiendo con sabiduría.

En fin, gracias a todas las personas que me apoyaron y a las que no también, esperando que se puedan sentir orgullosos de mi persona, gracias a todos.

Con amor y eternamente agradecida con todos y todas.

**Yubelkis Karina Martínez.**

## RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el efecto de tres niveles de inclusión de levadura *Sacharomyces cerevisiae* en el proceso fermentativo en estado sólido de (*Saccharum officinarum*) más *Moringa oleífera* (FES-*Moringa*) se realizó un estudio utilizando un diseño completamente al azar (DCA) con tres tratamientos y tres repeticiones. Los niveles de inclusión de la levadura *Sacharomyces cerevisiae* fueron: (T1) 0 %, (T2) 1%, (T3) 1.5%. Las variables estudiadas fueron: indicadores fermentativos (Temperatura ambiental (Ta) Temperatura de fermentación (Tf) PH, Humedad del sustrato) y composición química (PB). En los resultados se encontró que la temperatura ambiental promedio durante las 36 h fue de 27.95 °C. La temperatura promedio de fermentación para los tratamientos fueron 26.94 °C, 26.5 °C y 26.16 °C para Sacharina rustica con 0.0% y para FES-*Moringa* 1% y 1.5% de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae*. El pH en el proceso de FES-*Moringa* con inclusión de la levadura *Sacharomyces cerevisiae* se mantuvo entre 5.5 y 8.8 con un pH promedio de 6.84, 7.68 y 7.47 respectivamente para cada tratamiento. El contenido de proteína bruta fue de 9.4%, 13.17%, 19.80 % la cual difiere significativamente entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ) siendo estos (T1) 0 %, (T2) 1%, (T3) 1.5% de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae*. Por otra parte, al realizar el análisis económico entre tratamientos, el T3 es que nos presenta el mejor resultado ya que se obtiene mayor contenido de proteína a menor costo.

**Palabras Claves.** *Saccharum officinarum*, FES-*Moringa*, indicadores fermentativos, humedad de sustrato, levadura.

## ABSTRACT

With the goal of evaluate the effect of three levels of including yeast *Sacharomyces cerevisiae* in the fermentable process in a solid state of (*Saccharum officinarum*) more *Moringa oleifera* (FES-*Moringa*) realized a study using a totally random design (DCA) with three treatments and three repetitions. The levels of the inclusion of yeast *Sacharomyces cerevisiae* were: (T1) 0 %, (T2) 1%, (T3) 1.5%. The studied variables were: fermentable indicators (ambiental temperature (Ta), fermentation temperature (Tf), pH, substrate moisture) and the chemical composition (PB). The results show that the ambiental temperature average during the 36 hours was at 27.95 °C. The average temperatures of the fermentation process for the treatments were 26.94 °C, 26.55 °C and 26.6 °C for rustic Sacharine with 0.0%, 1% and 1.5% inclusion of *Sacharomyces cerevisiae*. The pH-value during the process of FES-*Moringa* with the inclusion of the yeast *Sacharomyces cerevisiae* remained between 5.5 and 8.8 with a PH-value average of 6.48, 7.68 and 7.47 respectively for each treatment. The crude protein content was 9.4%, 13.17%, 19.80% which differs significantly between treatments ( $P < 0.05$ ), with these (T1) 0%, (T2) 1%, (T3) 1.5% inclusion of *Sacharomyces*. On the other hand, when performing the economic analysis between the treatments, the T3 is that it presents the best result since it obtains a higher protein content at a lower cost.

**Key words:** *Saccharum officinarum*, FES-*Moringa*, fermentative indicators, substrate moisture, yeast.

## ÍNDICE DE CUADROS

**Cuadro. 1.** Presupuesto de producción de 1 kg de proteína para cada uno de los tratamientos 14

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura. 1.</b> proceso de elaboración y secado del experimento, FES de la caña de azúcar y forraje fresco de Moringa oleífera con inclusión de <i>Sacharomyces cerevisiae</i> .....	5
<b>Figura. 2.</b> Comportamiento de la temperatura ambiente y temperatura de fermentación durante el proceso de 36 horas de FES de la caña de azúcar y forraje fresco de Moringa oleífera con diferentes niveles de inclusión de <i>Sacharomyces cerevisiae</i> .....	8
<b>Figura. 3.</b> Comportamiento del pH durante el proceso de 36 horas de FES de la caña de azúcar y forraje fresco de Moringa oleífera con diferentes niveles de inclusión de <i>Sacharomyces cerevisiae</i> .....	10
<b>Figura. 4.</b> Comportamiento de la humedad al inicio y al final del proceso de 36 horas de FES de la caña de azúcar y forraje fresco de Moringa oleífera con diferentes niveles de inclusión de <i>Sacharomyces cerevisiae</i> .....	11
<b>Figura. 5.</b> Contenido de proteína bruta en el producto final de la FES de la caña de azúcar y forraje fresco de Moringa oleífera con diferentes niveles de inclusión de <i>Sacharomyces cerevisiae</i> .....	12

## I. INTRODUCCIÓN

Teniendo en cuenta, que la alimentación, representa el 80% de los costos totales de producción, es necesario buscar fuentes alternativas de alimentación de buena calidad nutricional, fácil consecución y constante producción durante el año; que puedan ser utilizadas en la dieta de los animales, ya sea como materia prima para la elaboración de concentrados o como suplemento alimenticio, que conlleven a mejorar la producción y productividad de la empresa animal a bajos costos.

Cabe destacar que el cultivo de caña de azúcar, cuya importancia radica en aprovechar el valor nutritivo, la alta radiación solar y alta temperatura a lo largo del año que ofrece el mundo tropical, se transforma en un recurso que ofrece variedad de productos y subproductos para la alimentación animal.

La caña de azúcar es una planta perenne con alta producción de hojas y de tallos que, en su madurez, tiene la mitad de su biomasa en forma de azúcares. (Preston, 1993 citado por Rincón, 2005). Es una eficiente colectora de energía solar, que es almacenada en grandes cantidades de biomasa en forma de fibra y azúcares. (Ordóñez, 1996 citado por Rincón, 2005). Debido a su amplia distribución en el trópico, su alta productividad, resistencia a la sequía y a las plagas, tiene gran potencial para la alimentación de monogástricos y rumiantes (Vieira, 1997 citado por Rincón, 2005)

La fermentación en estado sólido (FES), es un proceso biotecnológico para preservar o desarrollar nuevos alimentos a partir de microorganismos. Las levaduras son microorganismos unicelulares de crecimiento vegetativo, que, dependiendo de la especie, pueden utilizar compuestos como las pentosas, ácidos orgánicos, polisacáridos e iones de amonio para la síntesis de proteína (Miller, 1977 citado por Moyano, 2014).

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 epifítica 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.* 1992 citado por Moyano, 2014).

Por lo anteriormente mencionado, se realizó el presente estudio con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes niveles de inclusión de levadura *Sacharomyces cerevisiae* en el proceso fermentativo en estado sólido de la caña de azúcar más follaje fresco de *Moringa oleífera* para obtener un suplemento proteico de bajo costo que mejore el valor nutricional de la alimentación animal y por ende mejorar la productividad de las empresas pecuarias.

## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de inclusión de la levadura *Sacharomyces cerevisiae* (0, 1%, 1.5%) como aditivo en la fermentación en estado sólido de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y follaje fresco de Moringa (*Moringa oleífera*)

### 2.2. Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae* sobre la dinámica fermentativa en estado sólido de la caña de azúcar más *Moringa oleífera* (temperatura de fermentación, pH y humedad del sustrato).
- Determinar el efecto de la inclusión de levadura *Sacharomyces cerevisiae* sobre el contenido de proteína bruta (PB) de la FES de caña de azúcar con follaje fresco de *Moringa oleífera*.
- Analizar desde el punto de vista financiero el efecto de la inclusión de levadura *Sacharomyces cerevisiae* en la FES de caña de azúcar con follaje fresco de *Moringa oleífera*, realizando un análisis de costos.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Localización del experimento

El ensayo se realizó en la finca Santa Rosa de la Facultad de Ciencia Animal de la Universidad Nacional Agraria, ubicada en las coordenadas entre 12°08'15" longitud norte y 86°09'36" latitud oeste, además presenta una temperatura media anual de 27.3°C, precipitación pluvial promedio anual de 1403 mm, humedad relativa media anual de 72 % y se encuentra a 56 msnm (INETER, 2017).

#### 3.2. Descripción del experimento

Se utilizó un diseño completo al azar (DCA) con tres tratamientos y tres réplicas, para estudiar el efecto de diferentes niveles de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae* sobre algunos indicadores de la FES de caña de azúcar con follaje fresco de *Moringa oleífera* y el contenido de PB en el producto final

Los tratamientos en estudio fueron:

Tratamiento 1 o Sacharina rustica: 97.25% caña de azúcar (CA) + 1.5% de urea (U) + 0.75% de sulfato de amonio (SA) + 0.5% de sales minero vitamínicas (SMV).

Tratamiento 2 o FES Moringa + *Sacharomyces cerevisiae* al 1%: 63.25% CA + 25% FFMO + 5% S + 3% M + 1.5% U + 0.75% SA + 0.5% SMV + 1% *Sacharomyces cerevisiae* (SC).

Tratamiento 3 o FES Moringa + *Sacharomyces cerevisiae* al 1.5%: 62.75% CA + 25% FFMO + 5% S + 3% M + 1.5% U + 0.75% SA + 0.5% SMV+ 1.5% SC.

#### 3.3. Preparación de los tratamientos en estudio

Los tratamientos fueron preparados utilizando como materia prima principal tallos de caña de azúcar desprovisto de cogollo y hojas, de una variedad comercial no identificada, con doce meses de edad. Los tallos se cosecharon con machete y se fragmentaron en una picadora mecánica estacionaria para obtener un material con tamaño de partículas de 2 a 3 cm.

El follaje fresco de *Moringa oleífera* utilizado se obtuvo de un área establecida en la finca Santa Rosa de la Facultad de Ciencia Animal (FACA). Antes de iniciar el experimento se realizó un corte con uniformidad, para garantizar la disponibilidad de rebrotes de 45 días de edad. El follaje se cortó con machete a una altura de 45 cm del suelo, se seleccionaron las hojas, pecíolos y tallos con diámetro menor a 5 mm, luego se fragmentó en pedazos de aproximadamente 2 cm de longitud, usando una picadora mecánica estacionaria.

La caña picada, fué distribuida en una superficie lisa de cemento, sobre un plástico negro en capas de 10 cm de espesor, se le adicionó semolina, urea, sulfato de amonio, sales minero vitamínicas, melaza, follaje fresco de *Moringa oleífera* y levadura *Sacharomyces cerevisiae*, según lo correspondiente a los tratamientos, descritos anteriormente. Todos los componentes mencionados se mezclaron homogéneamente, con la ayuda de un rastrillo forrajero, se distribuyeron nuevamente las mezclas y se dejaron fermentar por un período de 36 horas.

### **3.4. Manejo del experimento**

Todos los tratamientos en estudio se ubicaron en la galera experimental de la Facultad de Ciencia Animal, localizada en la Finca Santa Rosa, que cuenta con techo, piso de concreto y buena ventilación, lo que garantizó las mismas condiciones ambientales para el proceso de FES de los tratamientos en estudio. Cada tratamiento consistió en un lote de 30 kg, dividido en tres repeticiones de 10 kg cada una, las que se extendieron en un piso de cemento bajo sombra, con espesor de capa de 10 cm garantizando las condiciones aeróbicas necesarias para la FES.

El período para el proceso de fermentación en estado sólido fue de 36 horas. Se midió la temperatura ambiente y la temperatura de fermentación de cada repetición por tratamiento cada 4 horas. Simultáneamente se midió el pH, utilizando un pH/temperature meter, model pH55/ph56 pocket size con electrodo reemplazable, marca pH Martini Instruments by Milwaukee Instruments, Inc. A las 4 horas y 20 horas de iniciado el proceso de FES todos los tratamientos con sus respectivas repeticiones, se removieron para garantizar suficiente aeración del material y se le agregó 2 litros de agua, por repetición, para mantener un contenido adecuado de humedad para el crecimiento de los microorganismos. (Ver figura 1).

Al inicio y al final del proceso fermentativo, se recolectaron muestras aleatorias de cada repetición por tratamiento con un peso fresco de 250 gramos para determinar el contenido de humedad y el contenido de Proteína Bruta (PB). Al finalizar la fermentación, el material de cada repetición por tratamiento se dispersó, en capas delgadas de 2 cm de alto, para secarlo al sol y se revolvió cada hora para garantizar un secado uniforme. Una vez seco, se tomaron muestras aleatorias de 100 gramos de cada repetición por tratamiento.

**Figura. 1.** Proceso de elaboración y secado del experimento, FES de la caña de azúcar y forraje fresco de *Moringa oleífera* con inclusión de *Sacharomyces cerevisiae*



### 3.5. Análisis estadístico

Se realizó análisis de varianza a cada variable evaluada para determinar efecto estadístico del nivel de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae*, utilizando el programa estadístico Minitab Statistical Software Versión 16.0 y se realizó el procedimiento de comparación de medias a través de la Prueba de Tukey cuando las diferencias entre los tratamientos fuesen estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

### 3.6. Modelo estadístico es:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Dónde:

$Y_{ij}$  = cualquiera de las variables en estudio en la j-ésima repetición del i-ésimo nivel de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae*.

$\mu$  = Media general.

$\tau_i$  = Efecto del i-esimo nivel de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae*.

$\epsilon_{ij}$  = Error aleatorio.

i = i-esimo tratamiento

j = j-esima repetición

### 3.7. Variables evaluadas

#### a) Indicadores fermentativos a nivel de campo.

- Temperatura ambiental ( $T_a$ )
- Temperatura de fermentación ( $T_f$ )
- PH
- Humedad del sustrato

#### b) Composición química (Bromatológico)

- Proteína bruta (PB)

### 3.8. Descripción de las variables de fermentación

#### 3.8.1. Temperatura de fermentación

Se midió la temperatura de fermentación en todas las repeticiones de cada tratamiento, utilizando un pHmetro/termómetro model pH55/ph56 pocket size con electrodo reemplazable, marca pH Martini Instruments by Milwaukee Instruments, Inc. Para una correcta lectura se introdujo el electrodo a una profundidad de 5 cm dentro de cada repetición. Cada medición de la temperatura de fermentación se tomó cada 4 horas por un periodo de 36 horas.

### 3.8.2. pH.

Se tomó el pH en cada repetición de cada uno de los tratamientos, utilizando un pHmetro/termómetro, model pH55/ph56 pocket size con electrodo reemplazable, marca pH Martini Instruments by Milwaukee Instruments, Inc. Para una correcta lectura se introdujo el electrodo a una profundidad de 5 cm dentro de cada repetición. Cada medición de pH se tomó cada 4 horas por un periodo de 36 horas.

### 3.8.3. Temperatura ambiental (°C)

Se determinó a través de un termómetro/higrómetro "Chaney" (AQUARITE®), que se colocó en el área de la galera experimental donde estaban ubicados los tratamientos a una altura de 5 cm a nivel del suelo. La medición de temperatura ambiental se realizó cada 4 horas por un periodo de 36 horas.

### 3.8.4. Análisis de muestras en el laboratorio

El contenido de humedad de las muestras fue determinado según el procedimiento de la AOAC (1990). Las muestras secas fueron molidas y pasadas por un tamiz de 1mm y almacenadas en recipientes de vidrios para posteriores análisis químicos. La concentración de nitrógeno total fue determinada utilizando el método de Kjeldahl (AOAC, 1984) y la concentración de Proteína Bruta fue calculada mediante la siguiente fórmula:

$$PB = \% \text{ de nitrógeno total} * 6.25.$$

### 3.8.5. Análisis financiero

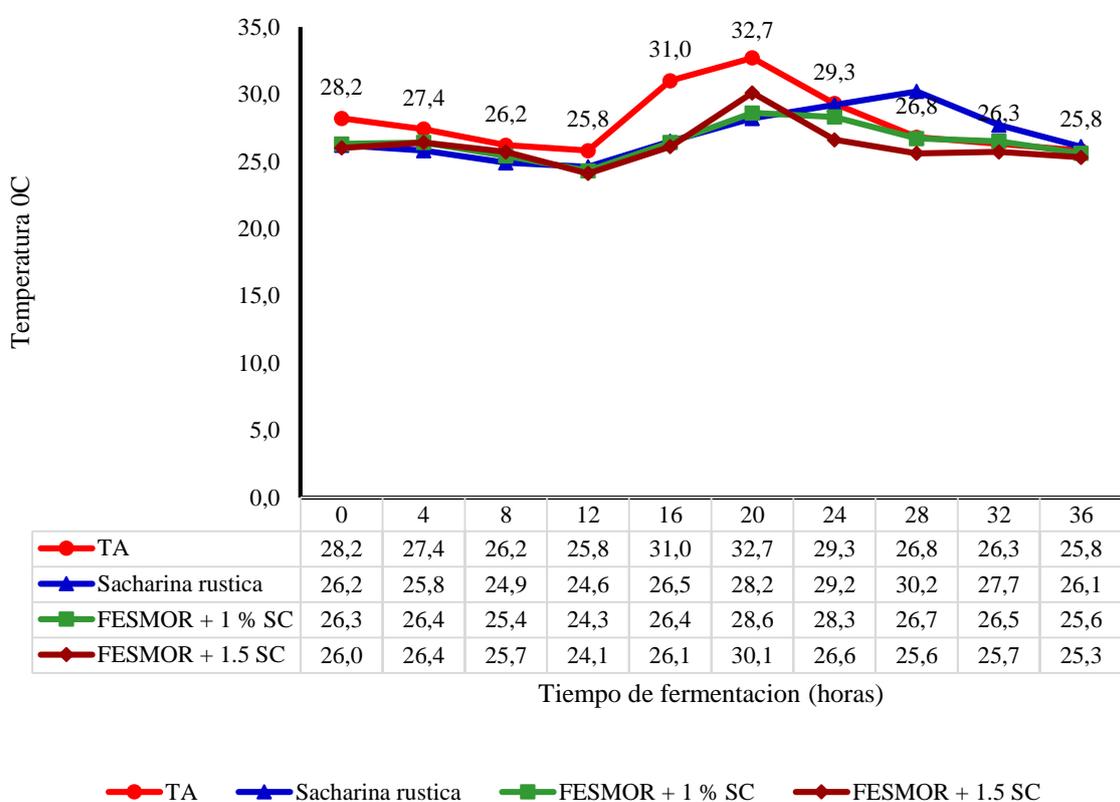
Con la finalidad de comparar los costos de cada tratamiento, así como los beneficios financieros que existen al sustituir uno por otro, se realizó un análisis a través de costos de producción de kg de proteína.

## IV. RESULTADO Y DISCUSIÓN

### 4.1. Temperatura ambiente y temperatura de fermentación.

En la Figura 2 se presenta el comportamiento de la temperatura de fermentación con relación a la temperatura ambiente de cada uno de los tratamientos en estudio. Se observa que el comportamiento de las temperaturas de fermentación de los diferentes tratamientos fue similar a la temperatura ambiente.

**Figura. 2.** Comportamiento de la temperatura ambiente y temperatura de fermentación durante el proceso de 36 horas de FES de la caña de azúcar y forraje fresco de *Moringa oleífera* con diferentes niveles de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae*.



La temperatura ambiente promedio durante las 36 horas del proceso de FES de la caña de azúcar y forraje fresco de *Moringa oleífera* con diferentes niveles de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae* fue de 27.95 °C, mientras que la temperatura promedio de fermentación para los tratamientos en estudio fueron 26.94 °C, 26.5 °C y 26.16 °C para los niveles de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae* de 0, 1 y 1.5%, respectivamente.

Estos resultados nos indican que durante el proceso de FES de la caña de azúcar y forraje fresco de *Moringa oleífera* con inclusión de *Sacharomyces cerevisiae*, hay una tendencia natural a que se mantenga la temperatura interna de fermentación del producto con una estabilidad relativa, con relación a la temperatura ambiente, lo cual es coincidente con lo

expresado por Ruiz et al. (2002) y Rodríguez (2009), que exponen que en los procesos de FES, la temperatura de fermentación interna suele mantenerse constante a pesar de los cambios de temperatura ambiental; aunque en algunas ocasiones puede influenciar la temperatura del sustrato.

Según Becerra (2006) el rango óptimo para el crecimiento de levaduras es de 30 °C, aunque en la fermentación de caña de azúcar se reportan como temperaturas adecuadas de fermentación para el crecimiento de levaduras las que se ubican entre 30 a 33 °C (Lescano y Elías, 1992).

Por otro lado, Castillo (2013) manifiesta que la temperatura de fermentación óptima depende de los microorganismos que se desea desarrollar en el proceso, pero generalmente el óptimo se ubica entre 20 °C a 40°C, aunque se puede llegar a marcar hasta un máximo de 50 °C, no obstante, a esta temperatura se corre el riesgo de que los microorganismos se vuelvan lentos e ineficientes, por lo que la mejor opción es mantener una temperatura de fermentación promedio cercana a 32 °C. En este sentido, es importante destacar que las temperaturas de fermentación obtenidas en el presente estudio en los diferentes tratamientos se ubican en el rango óptimo reportado por los autores anteriormente mencionados.

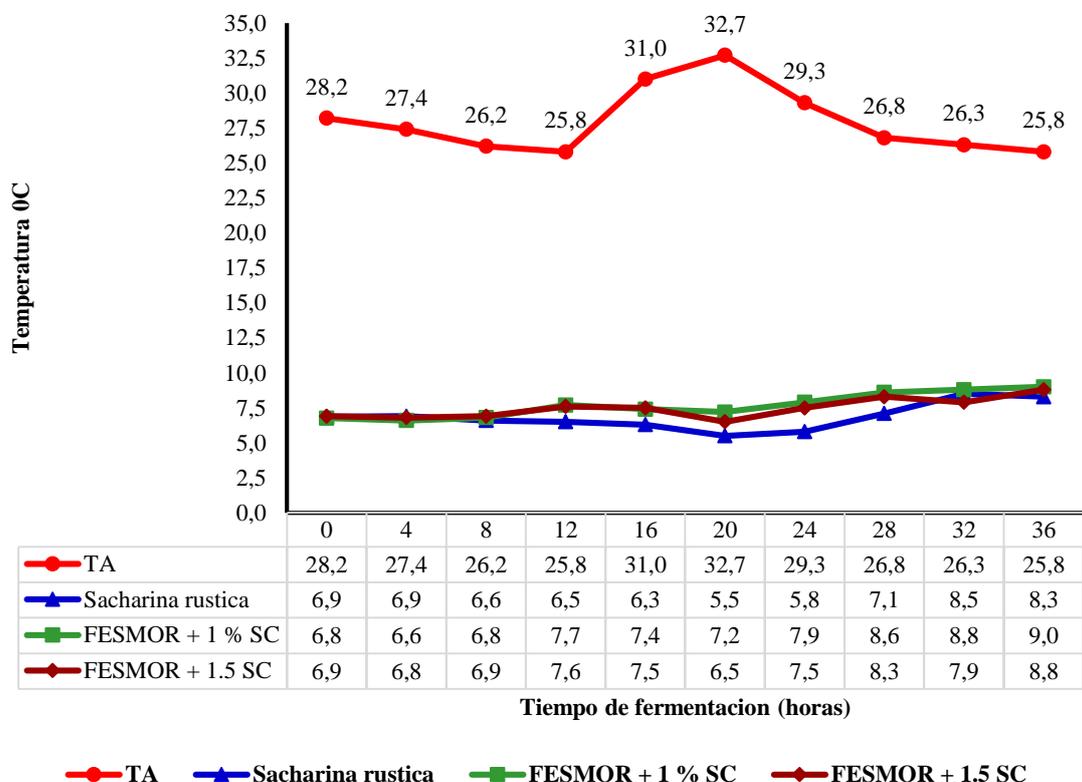
#### **4.2. Potencial de iones hidrógeno (pH).**

El pH es otro de los factores importantes en los procesos de fermentación, cada microorganismo posee un rango de pH para su crecimiento y actividad con un valor óptimo dentro del rango. Normalmente los hongos tienen un mejor crecimiento en sustratos con un rango de pH de 3.5-6, las levaduras entre 4.5-7 y las bacterias un poco más arriba que las levaduras sin que esto pueda ser tomado como una regla (Becerra, 2006; Caraveo 2008).

Krishna (2005), expone que el pH cambia por diferentes razones; normalmente disminuye por la secreción de ácidos orgánicos como acéticos y lácticos durante el proceso. No obstante, la fuente de nitrógeno utilizada influye mucho en la tendencia que sigue el pH.

En la Figura 3 podemos observar que el pH del proceso de FES de la caña de azúcar y forraje fresco de *Moringa oleífera* con inclusión de *Sacharomyces cerevisiae* durante las 36 horas se mantuvo en un rango entre 5.5 y 8.8 con un pH promedio de 6.84, 7.68 y 7.47 para 0, 1 y 1.5% de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae*, respectivamente. Acorde con el rango de pH recomendado para la reproducción de hongos y levadura

**Figura. 3.** Comportamiento del pH durante el proceso de 36 horas de FES de la caña de azúcar y forraje fresco de *Moringa oleífera* con diferentes niveles de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae*.



Es importante destacar que posterior a las 24 horas todos los tratamientos (Figura 3) mostraron un incremento del pH alcanzando valores entre 7.1 y 9.0, esto se explica por la liberación de amonio debido a la diseminación de la urea u otras aminas que puede incrementar el pH, esto dependerá de la actividad metabólica de los microorganismos y de la capacidad amortiguadora del sustrato (Caraveo, 2008). Es primordial señalar que los incrementos de pH coinciden con el incremento del  $\text{NH}_3$  y con una mayor cantidad de levaduras, al parecer, la disponibilidad de  $\text{NH}_3$  en el sustrato, puede llegar a facilitar el desarrollo de las levaduras.

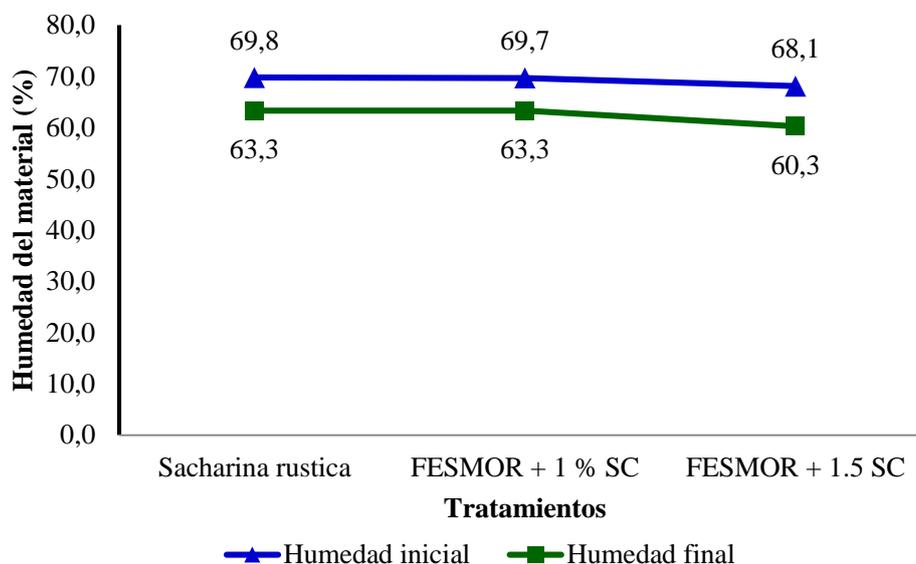
Las levaduras son capaces de captar  $\text{NH}_3$  produciendo como resultado proteína unicelular (Calderón *et al*, 2005), sin embargo, no todo el  $\text{NH}_3$  producido es utilizado, debido a que su producción es más rápida que su asimilación, permitiendo que una parte se pierda en el ambiente (Rodríguez *et al*, 2001).

El comportamiento del pH en el proceso de FES de los tratamientos en estudio sufre una disminución en las primeras horas de fermentación debido a la producción de ácidos orgánicos, y su posterior incremento se explica por pérdidas de ácidos orgánicos y liberación de amoniaco por efecto de la descomposición microbiana (Berradre, 2009), manteniéndose en el rango óptimo para el crecimiento y desarrollo de los microorganismos.

### 4.3. Humedad del sustrato

La importancia del agua en el sistema es debido al hecho que la mayoría de las células viables se caracterizan por su contenido de humedad que va del 70 al 80 %. Se ha establecido que, en caso de bacterias, la humedad en el material deberá tener más del 70%. Para las levaduras el rango puede ser más amplio entre 60 y 70%, y para los hongos, un rango aún más amplio de 20 al 70% (Becerra, 2006). Como se aprecia en la figura 4, el contenido de humedad durante las 36 horas del proceso de fermentación estuvo entre 60.3 y 69.8%, en el rango de lo recomendado para el reproducción y crecimiento de levaduras.

**Figura. 4.** Comportamiento de la humedad al inicio y al final del proceso de 36 horas de FES de la caña de azúcar y forraje fresco de *Moringa oleífera* con diferentes niveles de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae*.



Moyano (2014) por su parte recomienda que el contenido inicial de humedad del sustrato oscile entre el 30 y el 75% y Rodríguez (2009) considera que la humedad óptima para la FES es de un 68% para proporcionar un medio de cultivo ideal para el desarrollo de la levadura *Saccharomyces cereviceae*. Los resultados de contenido de humedad obtenidos en el presente trabajo investigativo están dentro del rango reportados por los autores anteriormente mencionados.

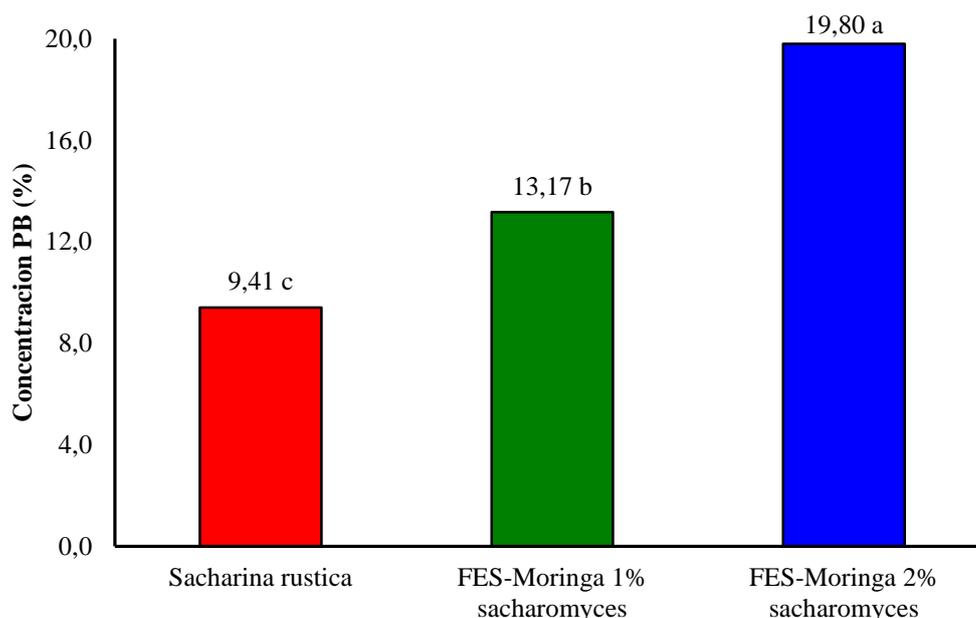
Moyano (2014) plantea que durante el curso de la fermentación ocurre reducción del nivel de humedad del sustrato debido tanto a pérdidas por evaporación, como a la propia actividad metabólica de los microorganismos, esto permite explicar la leve reducción de humedad del sustrato en el producto final después de 36 horas de fermentación ocurrido en el presente trabajo.

#### 4.4. Contenido de Proteína Bruta (PB)

El contenido de proteína bruta del producto final de la FES de la caña de azúcar con 0% de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae* (9.41%) difiere significativamente ( $P < 0.05$ ) del contenido de PB del producto final de la FES de la caña de azúcar y forraje fresco de *Moringa oleífera* con 1 y 1.5% de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae*, con 13.17 y 19.80 %, respectivamente, los que a su vez si difieren estadísticamente entre sí.

Numerosos investigadores coinciden en que la composición bioquímica de las levaduras es variable y que la mayor proporción está representada por las proteínas, aunque difieren en el rango de valores, Tacon (1989) informó que contienen entre 15% y 30% de proteínas, Otero (1999) reporta que representan entre 40-60% y Brown *et al.* (1996) entre 25-37%. Estas proteínas están localizadas en su mayoría en el citoplasma celular y otra porción está integrada a los ribosomas, al núcleo, a la membrana y a la pared celular (Otero, 1999).

**Figura. 5.** Contenido de proteína bruta en el producto final de la FES de la caña de azúcar y forraje fresco de *Moringa oleífera* con diferentes niveles de inclusión de *Sacharomyces cerevisiae*.



Tratamientos con letras distintas significa diferencia entre las medias para ( $p < 0.05\%$ )

Rodríguez *et al.* (2001) en la FES de caña y boniato con adición de 1% de urea (sachaboniato) obtuvieron valores de PB entre 10.1 y 13.7%. Por su parte, Ramos *et al.* (2006) en estudios realizados en FES de caña de azúcar con adición de pulidura de arroz (sachapulido), maíz molido (sachamaíz) y sorgo molido (sachasorgo) encontraron valores de proteína bruta (PB) entre 18.13 a 19.70 %, similares a los obtenidos en este trabajo con niveles de inclusión de 1 y 1.5% de *Saccharomyces cereviceae*.

La FES se desarrolla a partir de la microflora epifítica (levaduras y bacterias) presente en la caña de azúcar, los que se nutren de los azúcares presentes y cuya reproducción y desarrollo se favorece mediante el enriquecimiento del medio de cultivo con los nutrientes requeridos por estos microorganismos y el control que se ejerce sobre el pH y la temperatura de fermentación (Vivas y Carvajal, 2004).

En este estudio la caña de azúcar, pulidura y melaza sirven como fuente de carbono para la reproducción y crecimiento de los microorganismos. La fuente de carbono representa la fuente de energía que estará disponible para el crecimiento microbiano.

Las fuentes de nitrógeno utilizadas fueron urea y sulfato de amonio (como fuente de nitrógeno inorgánico) y follaje fresco de *Moringa oleífera* (como fuente de nitrógeno orgánico). El Nitrógeno es el elemento crucial que determina el crecimiento microbiano. Es importante el suministro de fuentes orgánicas e inorgánicas de nitrógeno debido a que todas las levaduras pueden utilizar el ion amonio para la síntesis de proteína, pero otras pueden absorber aminoácidos intactos en el medio y algunas tienen la capacidad de desaminar aminoácidos individuales.

Por otro lado, durante la FES es común que se produzcan cantidades considerables de ácido acético y láctico por bacterias que pueden favorecer en ciertas circunstancias la retención de nitrógeno y así facilitar su utilización en el sistema para el crecimiento de levaduras y bacterias (Lescano y Elías, 1992).

Además, el azufre, aportado por el sulfato de amonio, es un macromineral esencial en la formación de compuestos sulfurados en las células como metionina, cistina, homocisteína, cistationina, taurina y ácido cistéico, que podrían ser limitantes si el azufre no es disponible o insuficiente (Becerra 2006).

Finalmente, las sales minero-vitamínicas utilizadas garantizan el suministro adecuado de elementos como el fósforo, azufre, otros minerales trazas y vitaminas que son importantes como parte de la célula, y su metabolismo.

Es conocido que para el crecimiento de levaduras y otros microorganismos se deben adicionar vitaminas del complejo B como factores de crecimiento externo. La presencia de ácidos grasos volátiles (AGV) básicamente ácido acético en medio de urea sin elementos traza, inhibe el crecimiento microbiano, por lo que son requeridos para favorecer la fermentación (Pinto *et al.*, 1989).

#### 4.5. Análisis financiero

En la Cuadro 1 se muestra el costo total para la producción de 100 lb (1 qq/fresco/seco) de FES de la caña de azúcar y forraje fresco de *Moringa oleífera* con inclusión de *Sacharomyces cerevisiae* (0, 1.0, 1.5%) respectivamente para cada uno de los tratamientos en estudio.

**Cuadro. 1. Presupuesto de producción de 1 kg de proteína para cada uno de los tratamientos**

Ingredientes	Costos de los tratamientos por kg de proteína producida		
	Sacharina rustica 0% Sacharomyces	FES-Moringa 1% Sacharomyces	FES-Moringa 1.5% Sacharomyces
Caña de azúcar	0.397	0.258	0.256
Follaje fresco <i>Moringa</i>	0.000	0.093	0.093
Semolina	0.000	0.737	0.737
Melaza	0.000	0.196	0.196
Urea	0.344	0.344	0.344
Sulfato de amonio	0.172	0.172	0.172
Sales minero vitamínicas	0.894	0.894	0.894
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	0.000	0.0018	0.0027
Costo Total US\$ / qq	1.81	2.69	2.69
Costo Total US\$ / t-1 humedo	36.2	53.8	53.8
Rendimiento en seco kg t <sup>-1</sup>	398	377	377
Costo Total US\$ / kg t <sup>-1</sup> seco	0.091	0.14	0.14
Rendimiento de proteína kg t <sup>-1</sup>	94.1	131.7	198
Costo por kg de proteína	0.38	0.40	0.27

\*Tasa de cambio oficial BCN C\$ 30.5 (29/01/2018)

El rendimiento en seco de FES *Moringa* con inclusión de 1 y 1.5% de *Sacharomyces cerevisiae* fue 37.7 %, y Sacharina rustica fue de 39.8 % obteniéndose un costo por kg producido de \$ 0.14 y \$ 0.13 respectivamente. Por otra parte, se obtuvieron rendimientos de 9.41 %, 13.17 % y 19.8 % de proteína para los tratamientos, Sacharina rustica, FES *Moringa* al 1% y FES *Moringa* al 1.5 % respectivamente. No obstante, al realizar el análisis de costo de un kg de proteína bajo este proceso, FES *Moringa* con inclusión de levadura *Saccharomyces cerevisiae* al 1.5%, contiene el valor más alto de PB (19.80%) y tiene el costo más bajo de producción por kg de proteína de US\$ 0.27

## V. CONCLUSIONES

La inclusión de *Saccharomyces cereviceae* a niveles de 1 y 1.5% no afecta los indicadores fermentativos (Temperatura de fermentación, pH y Humedad del sustrato), de la FES de caña de azúcar con follaje fresco de *Moringa oleifera*

La inclusión de *Saccharomyces cereviceae* a niveles de 1 y 1.5% mejora significativamente el contenido de PB del producto final de la FES de caña de azúcar con follaje fresco de *Moringa oleifera*, obteniendo mejores resultados con un nivel de inclusión de 1.5% de *Saccharomyces cereviceae* con 19.80% de PB

El análisis financiero nos permite concluir que la FES de caña de azúcar con follaje fresco de *Moringa oleifera* con un el nivel de inclusión de 1.5% de *Saccharomyces cereviceae* permite obtener un producto final de más bajo costo, lo que constituye una alternativa biológica y financieramente viable para que los que pequeños y medianos productores lo utilicen en sus sistemas de producción animal.

## VI. LITERATURA CITADA

- AOAC. 1984. Official methods of analysis. Washington, DC, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- AOAC. 1990. Official Methods of Análisis. (12th Ed.). Association of Official Analytical Chemists. Washington, D. C. 1018 p.
- Becerra, BA. 2006. Aprovechamiento de Subproductos de Manzana Mediante la Producción de Proteína Microbiana con Fermentación en Estado Sólido para la Alimentación Animal. Disertación Doctoral. Facultad de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, MX.
- Berradre, M; Mejías, M; Ferrer, J; Chandler, C; Páez, G; Mármol, Z; Ramones, E; Fernández, V. 2009. Fermentación en estado sólido del desecho generado en la industria vinícola, Laboratorio de Tecnología de Alimentos, Facultad de Ingeniería LUZ. Maracaibo, VZ. 25 p. (en línea), consultado el 09 de oct. Del 2017. Disponible en: <http://www.scielo.org.ve/pdf/rfaz/v26n3/art06.pdf>
- Brown, MR; Barrett, SM; Volkman, JK; Nearhos, SP; Nell, JA. 1996. Biochemical composition of new yeasts and bacteria evaluated as food for bivalve aquaculture. *Aquaculture*, 143 p.
- Calderón Jesús O.; Elías Iglesias, A; Valdivié Navarro, Manuel., 2005. Dinámica de la fermentación en estado sólido de la cama de cascarilla de café en inicio de ponedoras inoculadas con vitafer - Revista Electrónica de Veterinaria REDVET ®, ISSN 1695-7504, Vol. VI, n° 05, Mayo/2005. Veterinaria.org ® - Comunidad Virtual Veterinaria.org ® Veterinaria Organización S.L.® España. Mensual. Disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> y más específicamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050505.html>
- Calderón A, JO; Iglesias, AE; Valdivie, NM. 2005. Dinámica de la Fermentación en Estado Sólido de las camas de Cascarilla de Café en Inicio de Ponedoras Inoculadas con Vitafer. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET. Centro Universitario Guantánamo. Vol.VI, N° 5. CU. 8 p. (en línea), consultado el 6 de oct. Del 2017, Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050505/050521.pdf>.
- Castillo, CY; Barrera, RO. 2013. Fermentación en estado sólido FES de sus productos agroindustriales como alternativa para obtener alimento animal, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Alternativas de cadena de valor. Primer congreso internacional AGROMERCA, primera edición. Ciudad Juárez, Chihuahua. MX. 85 p. (en línea), consultado el 18 de oct. del 2017. Disponible en: <http://www.uacj.mx/DGDCDC/SP/Documents/Documents/Octubre%202013/Memorias%20Agromercaok.pdf>

- Caraveo R, AC. 2008. Efecto de los niveles de urea en la caña fermentada con pulidura de arroz (Sacchapulido), Colegio de Postgraduados, Institucion de Enseñanzas de Ciencias Agricolas, Campus Tabasco, Programa de Produccion Agroalimentaria en el Tropico. Tabasco, MX. 54 p. (en línea). Disponible en: <http://www.biblio.colpos.mx:8080/xmlui/handle/10521/1594>
- INETER (Instituto Nicaragüense de Estudios Territoriales), 2017. Datos Climatológicos de las estaciones meteorológicas. Managua, Nicaragua.
- Krishna. 2005. Critical solid-state fermentation systems-an overview review in biotechnology; ProQuest Agriculture Journals. 30 p. (en línea), consultado el 26 de oct. del 2017. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07388550590925383>
- Lezcano, O. & Elías, A. 1992. Efecto de la temperatura y la urea en la fermentación de la caña de azúcar para producir Saccharina. Rev. Cubana. Cienc. agríc. CU. 291 p.
- Moyano B, MA. 2014. Fermentación estado sólido (FES) de la papa (*solanum tuberosum*), como alternativa tecnológica para la alimentación animal, universidad nacional abierta y a distancia (UNAD) escuela de ciencias agrícolas, pecuarias y del medio ambiente especialización en nutrición animal sostenible. Tunja, CO. 87 p. (en línea), consultado el 11 de nov. Del 2017. Disponible en: <http://repository.unad.edu.co/bitstream/10596/2545/1/2014-06.pdf>
- Otero, MA. 1999. Procedimientos para el incremento del valor agregado de la Biomasa de levadura para el consumo humano, tesis de doctorado, Universidad de La Habana, La Habana, CU. 111 p. (en línea), consultado el 06 de Mar. Del 2016. Disponible en: <http://www.oceandocs.org/bitstream/handle/1834/5666/Tesis%20maestr%C3%ADa%20Comabella,%20Yamil%C3%A9.pdf?sequence=1>
- Pinto J, HH; Cardoso, HC; Leao, YN; Van Uden. 1989. High enthalpy and low enthalpy death in *Saccharomyces cerevisiae* induced by acetic acid. Biotechnol. Biveng. 33 p.
- Ramos, JA; Elias, A; Herrera, F. 2006. Proceso para la producción de un alimento energetico-proteico para animales. Efecto de cuatro fuentes energéticas en la fermentación en estado sólido (FES) de la caña de azúcar. Revista Cubana de Ciencia Agricola. Tomo 40, No 1. CU. 130 p.
- Rincón, A. 2005. Evaluación agronómica y nutricional de variedades de caña de azúcar con potencial forrajero en el piedemonte llanero. revista CORPOICA.6 (2):60-68 [www.corpoica.org.co/.../evaluacinagronmicadevariedades](http://www.corpoica.org.co/.../evaluacinagronmicadevariedades).
- 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. CU. 147-151 p.

- Rodríguez C; Lucero, JF; Meléndez, HE; Rodríguez, C; Hernández Ruiz, O. (2009). “Consumo de forraje y ganancia de peso de becerros comerciales para exportación, suplementados con bloques multinutricionales elaborados con manzarina”, en: *Memorias. Xxxiv Reunión Anual de la Asociación Mexicana de Producción Animal y x Reunión Bienal del Grupo Norte Mexicano de Nutrición Animal*, MX. pp. 195-198.
- Rodriguez, LA; Toro, ME; Vazquez, F; Corea D, ML; Gouiric, S.C; Vallejo, M.D. 2009. Producción de bio-etanol por fermentación en estado sólido sobre orujos de uva y de remolacha azucarera. Instituto de Biotecnología, Facultad de ingeniería – UNSJ. San Juan, AR. 5 p. (en línea), consultado el 06 de Mar. Del 2016. Disponible en: [www.cab.cnea.gov.ar/ieds/images/2009/hyfuseen\\_2009/.../12-138.pdf](http://www.cab.cnea.gov.ar/ieds/images/2009/hyfuseen_2009/.../12-138.pdf)
- Ruiz O; Castillo CY; Arzola, AC; Elías A. (2002). “Efecto de la inclusión de carbonato de calcio en las características fermentativas del bagazo de manzana bajo un proceso de fermentación en estado sólido (fes)”, en: *Agromerca 2012*. Nuevo Casas Grandes, Chihuahua, MX. 33 p.
- Tacon, A. 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados, Manual de capacitación. Programa cooperativo gubernamental. Proyecto Aguila II (GCP/RLA/102/ITA), FAO, Brasilia, BR. 264 – 273 p.
- Vivas. F. R. y Carvajal, J. 2004. Saccharina rustica una aplicación biotecnológica para la alimentación animal. Facultad de Ciencias Agropecuarias Universidad del Cauca. Vol. 2, No.1. marzo 2004.
- Vivas N. J., Carbajal J. 2004. Saccharina rustica una aplicación biotecnológica para la alimentación animal. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cauca. Vol 2, No 1. Cauca, CO. 6 p. (en línea), consultado el 07 feb. 2016, disponible en: [http://nutriciondebovinos.com.ar/MD\\_upload/nutriciondebovinos\\_com\\_ar/Archivos/File/saccharina\\_rustica\\_una\\_aplicaci%3%93n\\_biotecnol%3%93gica\\_para\\_la\\_alimentacion\\_animal\\_\(ica\).pdf](http://nutriciondebovinos.com.ar/MD_upload/nutriciondebovinos_com_ar/Archivos/File/saccharina_rustica_una_aplicaci%3%93n_biotecnol%3%93gica_para_la_alimentacion_animal_(ica).pdf)