

Effect of whey on solid state fermentation of coffee (*Coffea arabica* L.) pulp for feeding ruminants

Efecto del suero de leche en la fermentación en estado sólido de la pulpa de café (*Coffea arabica* L.) para uso en la alimentación de rumiantes

L. A. Aguirre¹, Zoraya Rodríguez², R. Boucourt², V. Saca¹, R. Salazar¹ and M. Jiménez¹

¹Universidad Nacional de Loja, La Argelia, Casilla letra S, Loja, Ecuador

²Instituto de Ciencia Animal, Apartado postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

Email: luis.aguirre@unl.edu.ec

In order to evaluate the effect of the inclusion of different levels of whey in the solid state fermentation of coffee pulp, an experiment was carried out using a completely randomized design with a 4 x 4 factorial arrangement, with three repetitions. Factor A corresponded to whey levels (0, 5, 10 and 15 %) and B, to fermentation time (0, 24, 48 and 72 hours). The fermentation was carried out in Erlenmeyer of 1000 mL, and each flask constituted an experimental unit. The fermentative indicators (pH and NH₃) were measured and the bromatological analysis was carried out: dry matter, ashes, crude protein, crude fiber, true protein, neutral detergent fiber and cellular content. The results showed interaction among the factors under study for the content of NH₃, dry matter, crude protein, crude fiber, neutral detergent fiber and cellular content. There was no interaction for pH, true protein and ashes. The high content of crude protein (28.2 %, P<0.001), true protein (17.21 %, P<0.001) and crude protein / true protein relation (64.7 %, P<0.001) was obtained in the treatment with 10 % of whey until 48 h of fermentation. It is concluded that the inclusion of 10 % of whey in the solid state fermentation of coffee pulp up to 48 h improves the fermentation process, with marked increase of crude protein, true protein, and CP/TP relation. Although fiber components remain high, the use of whey in the preparation of rations for feeding ruminants could be encouraged.

Keywords: *agricultural residues, fermentative indicators, nutrients*

The use of agro-industrial residues by-products in animal feed is a trend in the new millennium (Martin 2009). This practice contributes to reduce environmental pollution (Saval 2012), helps improve the diet of animals and also allows to increase technical and economic indicators in livestock production systems (Gómez *et al.* 2013).

The benefit of moist coffee (*Coffea arabica* L.) generates large volumes of pulp. According to several authors (Bressani *et al.* 1972, Ramírez *et al.* 1999, Morgan 2003, Munguía 2015 and Pinto *et al.* 2017), coffee pulp has an appreciable nutritional value. However, its high content of humidity, fiber and anti-nutritional substances limits its use as a single diet in animal feed (Noriega *et al.* 2009), so it needs a previous process of transformation.

Solid state fermentation (SSF) allows to improve the nutritional quality of agricultural residues. From the use of carbohydrates and in the presence of a nitrogen source,

Para evaluar el efecto de la inclusión de diferentes niveles de suero de leche en la fermentación en estado sólido de la pulpa de café, se realizó un experimento mediante diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 4 x 4, con tres repeticiones. El factor A correspondió a los niveles de suero de leche (0, 5, 10 y 15%) y el B, al tiempo de fermentación (0, 24, 48 y 72 horas). La fermentación se realizó en Erlenmeyer de 1000 mL, cada frasco constituyó una unidad experimental. Se midieron los indicadores fermentativos (pH y NH₃) y se realizó el análisis bromatológico: materia seca, cenizas, proteína cruda, fibra cruda, proteína verdadera, fibra detergente neutro y contenido celular. Los resultados mostraron interacción entre los factores en estudio para el contenido de NH₃, materia seca, proteína cruda, fibra cruda, fibra detergente neutro y contenido celular. No fue así para el pH, proteína verdadera y cenizas. Se destacó el alto contenido de proteína cruda (28.2 %, P<0.001), proteína verdadera (17.21 %, P<0.001) y la relación proteína cruda/proteína verdadera (64.7 %, P < 0.001) en el tratamiento con 10 % de suero de leche hasta las 48 h de fermentación. Se concluye que la inclusión de 10 % de suero de leche en la fermentación en estado sólido de pulpa de café hasta las 48 h mejora el proceso fermentativo, con marcado incremento de la proteína cruda, proteína verdadera, y relación PC/PV. Aunque los componentes fibrosos se mantienen elevados, se podría propiciar el uso del suero de leche en la elaboración de raciones para la alimentación de rumiantes.

Palabras clave: *residuos agrícolas, indicadores fermentativos, nutrientes.*

El uso de residuos agroindustriales en la alimentación animal es una tendencia en el nuevo milenio (Martin 2009). Esta práctica contribuye a disminuir la contaminación ambiental (Saval 2012), ayuda a mejorar el régimen alimentario de los animales y permite además, incrementar los indicadores técnicos y económicos en los sistemas de producción pecuaria (Gómez *et al.* 2013).

El beneficio del café húmedo (*Coffea arabica* L.) genera grandes volúmenes de pulpa. Según varios autores (Bressani *et al.* 1972, Ramírez *et al.* 1999, Morgan 2003, Munguía 2015 y Pinto *et al.* 2017), la pulpa de café posee un valor nutritivo apreciable. Sin embargo, su alto contenido de humedad, fibra y sustancias anti nutricionales limitan su uso como dieta única en la alimentación animal (Noriega *et al.* 2009), por lo que necesita un proceso previo de transformación.

La fermentación en estado sólido (FES) permite mejorar la calidad nutritiva de los residuos agrícolas. A partir del uso de los carbohidratos y en presencia de una fuente

the synthesis of microbial protein, the reduction of anti-nutritional substances, as well as the improvement of their organoleptic characteristics are achieved (Chávez *et al.* 2009, Peláez *et al.* 2011 and Palmerín *et al.* 2011). Growth and development of the epiphytic microflora present in the substrate can be enhanced by the addition of non-protein nitrogen, easily fermented carbohydrates and minerals (Eliás *et al.* 1990, Valiño *et al.* 1998 and Rodríguez 2004). Morgan (2003), through SSF, with addition of 10 % of molasses, 1.5 % of urea and 0.5 % of mineral salts, obtained an enriched coffee pulp, with a chemical composition of 91.15 % of residual DM, 23.5 % of CP, 16.4% of true protein, 20.5 % of CF and 17.8 of ash.

In Loja province, Ecuador, the availability of coffee pulp and by-products like whey, which are low-cost and have a limited use in animal feed, is high. The objective of this study was to evaluate the effect of the inclusion of different levels of whey in the SSF of coffee pulp, to contribute to improve its nutritional value and facilitate its use in ruminant feeding.

Materials and Methods

Location. The experiment was conducted in the bromatology laboratory of the National University of Loja, Ecuador, located at south west of Loja city, at an altitude of 2,160 m.o.s.l., mean temperature of 16.2 °C, mean annual precipitation of 1,338 mm and relative humidity of 76% (INAMHI 2014).

Treatments and experimental design. The effect of the inclusion of whey in the SSF of coffee pulp was evaluated by a completely randomized design, with a 4 x 4 factorial arrangement. Factor A corresponded to whey levels (0, 5, 10 and 15 %) and B, to fermentation time (0, 24, 48 and 72 hours).

Obtaining experimental material. Coffee pulp corresponded to *Coffea arabica* species, Typica variety. It was obtained in the plant of the Asociación Agro-artesanal de Productores Ecológicos de Café Especial (APOCAEL), located in the parish of San Pedro de Vilcabamba, in Loja canton (Ecuador). The residue was obtained on the third day of the pulping by stratified sampling. Later, it was taken to the laboratory in a polyethylene container. Whey, used as a source of easily fermented carbohydrates, corresponded to a fresh by-product, obtained in the processing of cow milk for the production of fresh cheese, with the use of enzymes, which is why it is also known as sweet serum. Table 1 shows the bromatological composition of the fresh coffee pulp and whey used in the experiment.

Experimental procedure. The SSF was carried out in Erlenmeyer flasks of 1000 mL, each one was an experimental unit. Three repetitions were used for each treatment. Based on the experimental treatments, 100 g of the substrate were weighed, which included coffee pulp and whey (W), accordingly. An amount of

nitrogenada, se logra la síntesis de proteína microbiana, la reducción de sustancias anti nutricionales, así como mejora sus características organolépticas (Chávez *et al.* 2009, Peláez *et al.* 2011 y Palmerín *et al.* 2011). El crecimiento y desarrollo de la microflora epífita presente en el sustrato se puede potenciar con la adición de nitrógeno no proteico, carbohidratos de fácil fermentación y minerales (Eliás *et al.* 1990, Valiño *et al.* 1998 y Rodríguez 2004). Morgan (2003) mediante FES, con adición de 10 % de miel, 1.5 % de urea y 0.5 % de sales minerales, obtuvo la pulpa de café enriquecida, con composición química de 91.15 % de MS residual, 23.5 % de PC, 16.4 % de proteína verdadera, 20.5 % de FC y de 17.8 de cenizas.

En la provincia de Loja, Ecuador, es alta la disponibilidad de pulpa de café y subproductos como el suero de leche vacuna, que son de bajo costo y que tienen un uso limitado en la alimentación animal. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la inclusión de diferentes niveles de suero de leche en la FES de la pulpa de café, para contribuir a mejorar su valor nutritivo y facilitar su utilización en la alimentación de rumiantes.

Materiales y Métodos

Localización. El experimento se realizó en el laboratorio de bromatología de la Universidad Nacional de Loja, Ecuador, ubicada al sur occidente de la ciudad de Loja, a una altitud de 2160 msnm, temperatura media de 16.2 °C, precipitación media anual de 1338 mm y humedad relativa de 76 % (INAMHI 2014).

Tratamientos y diseño experimental. Se evaluó el efecto de la inclusión de suero de leche en la FES de la pulpa de café mediante un diseño completamente aleatorizado, con arreglo factorial 4 x 4. El factor A correspondió a los niveles de suero de leche (0, 5, 10 y 15 %) y el B, al tiempo de fermentación (0, 24, 48 y 72 horas).

Obtención del material experimental. La pulpa de café correspondió a la especie *Coffea arabica*, variedad Typica. Se obtuvo en la planta de la Asociación Agro-artesanal de Productores Ecológicos de Café Especial (APOCAEL), ubicada en la parroquia San Pedro de Vilcabamba, del cantón Loja (Ecuador). La obtención del residuo se realizó al tercer día del despulpe mediante muestreo estratificado. Posteriormente, se llevó al laboratorio en recipiente de polietileno. El suero de leche, utilizado como fuente de carbohidratos de fácil fermentación, correspondió a un subproducto fresco, obtenido en el procesamiento de la leche de vaca para la producción de queso fresco con el uso de enzimas, por lo que también se le conoce como suero dulce. La tabla 1 muestra la composición bromatológica de la pulpa de café fresca y del suero de leche utilizados en el experimento:

Procedimiento experimental. La FES se realizó en Erlenmeyer de 1000 mL, cada uno constituyó una unidad experimental. Se emplearon tres repeticiones por cada tratamiento. En función de los tratamientos experimentales, se pesaron 100 g totales del sustrato que incluyó la pulpa de café y el suero de leche (SL), según

Table 1. Bromatological composition of fresh coffee pulp and cow whey.

Nutrients	Fresh coffee pulp	Fresh cow whey
Dry matter	22.38	7.1
Ashes	10.3	0.6
Ether extract	2.23	0.9
Crude protein	10.18	0.7
Crude fiber	18.5	-
Neutral detergent fiber	42.54	-
Cellular content	57.46	-
Lactose	-	4.9

1.5 % of urea and 0.5 % of mineral salts was added to all treatments. It was incubated at 26 °C during the established periods. For the determination of fermentation indicators, samples were taken according to the methodology of Elías *et al.* (1990). The pH was measured with portable digital potentiometer of four digits (ATC brand) and ammonia, according to the McCullough (1967) technique, with absorbance readings at 650 nm. A Shimadzu UV 1800 spectrophotometer was used for this purpose.

The rest of the fermented product was brought to the oven for dehydration at 65 °C. After grinding, the bromatological analysis was carried out. Dry matter (DM), ash (A), crude fiber (CF) and crude protein (CP) were determined according to AOAC (2005) procedures and true protein (PV) by Bernstein (1970). Neutral detergent fiber (NDF) and cellular content (CC) were calculated according to the procedure of Goering and van Soest (1970).

Statistical analysis. Data was processed with Infostat V2 statistical package (Di Rienzo *et al.* 2012). To determine the difference among means, Duncan (1955) test was applied.

Results and Discussion

The SSF of coffee pulp with different whey levels (0, 5, 10 and 15 %) and fermentation time (0, 24, 48 and 72 h) revealed interaction in some indicators such as NH₃, DM, CP, CF, NDF and CC, not so in pH, TP and ash.

Table 2 shows the performance of pH. According to fermentation time, it remained stable until 48 h, and increased 0.77 units at 72 h (P < 0.001). Regarding the levels of inclusion of whey (W), there was no change in pH at lower levels, with values close to 5. This could probably be a result of the accumulation of the pulp in the plant for three days, which favored its natural fermentation. This state generated organic acids from the present carbohydrates, which was evidenced in the metabolic heat in the pile. However, at the 15 % level of W, the pH increased by 1.32 units, with respect to the treatment without W. This could be explained by the increase of NH₃, product of the deamination of urea and other amino acids present in the whey or also by the

correspondía. Se adicionó 1.5 % de urea y 0.5 % de sales minerales a todos los tratamientos. Se incubó a 26 °C durante los períodos establecidos. Para la determinación de los indicadores de fermentación, se realizó la toma de muestras según la metodología de Elías *et al.* (1990). El pH se midió con potenciómetro digital portátil de cuatro dígitos (marca ATC) y el amoníaco, según la técnica de McCullough (1967), con lecturas de absorbancia a 650 nm. Se utilizó para ello un espectrofotómetro marca Shimadzu UV 1800.

El resto del producto fermentado se llevó a la estufa para su deshidratación a 65 °C. Luego del molido, se continuó el análisis bromatológico. La materia seca (MS), cenizas (C), fibra cruda (FC) y proteína cruda (PC) se determinaron según procedimientos de la AOAC (2005); proteína verdadera (PV) por Bernstein (1970). La fibra detergente neutro (FND) y el contenido celular (CC) se calcularon según procedimiento de Van Soest *et al.* (1991).

Análisis estadístico. Los datos se procesaron con el paquete estadístico Infostat V2 (Di Rienzo *et al.* 2012). Para determinar la diferencia entre medias se aplicó la dócima de Duncan (1955).

Resultados y Discusión

La FES de pulpa de café con diferentes niveles de suero de leche (0, 5, 10 y 15 %) y tiempo de fermentación (0, 24, 48 y 72 h) reveló interacción en algunos indicadores como NH₃, MS, PC, FC, FDN y CC, no así en el pH, PV y cenizas.

La tabla 2 muestra el comportamiento del pH. De acuerdo con el tiempo de fermentación, se mantuvo estable hasta las 48 h, y se incrementó 0.77 unidades a las 72 h (P < 0.001). Con respecto a los niveles de inclusión de suero de leche (SL), no hubo modificación del pH en los niveles inferiores, con valores cercanos a 5. Esto se pudo deber, probablemente, a que la pulpa estuvo acumulada en la planta durante tres días, lo que favoreció su fermentación natural. Este estado generó ácidos orgánicos a partir de los carbohidratos presentes, hecho que se evidenció en el calor metabólico en la pila. Sin embargo, en el nivel del 15 % de SL, el pH se incrementó en 1.32 unidades, con respecto al tratamiento sin SL. Esto se podría explicar por el incremento de NH₃, debido a la

decrease in the concentration of short-chain fatty acids (SCFA), as a result of the synthesis of microbial protein.

Pulido *et al.* (2016) also reported of increases in pH over time in the SSF of pear residues (40% pear,

desaminación de la urea y otros aminoácidos presentes en el suero o también por la disminución de la concentración de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), como resultado de la síntesis de proteína microbiana.

Table 2. Effect of whey (W) on pH during the dynamics of SSF of coffee pulp

Indicators	Fermentation time (hours)				SE(±) Sig.
	0	24	48	72	
	4.62 ^a	4.85 ^{ab}	5.18 ^{bc}	5.39 ^c	0.14 P=0.0006
pH	Whey levels				0.14 P<0.0001
	0	5	10	15	
	4.56 ^a	4.77 ^a	4.85 ^a	5.88 ^b	

^{abc} Different superscripts indicate significant differences (P<0.05), Duncan (1955)

25% rice meal, 25 % wheat bran and 10 % urea), as well as Borrás *et al.* (2017) in the SSF of potato residues, inoculated with a microbial preparation and the inclusion of 15 % of fiber materials, although the values at 48 h did not exceed 5.2. However, Morgan (2003), in the SSF of coffee pulp with different levels of final molasses, obtained a pH increase at 48 h, with values close to alkalinity. Brea *et al.* (2015) in the SSF of breadfruit tree meal and Chafra (2016) in cocoa peel with different levels of urea, also reported alkaline pH values.

The pH values obtained in this study are within the appropriate ranges for the growth of microorganisms in SSF processes. According to Pandey *et al.* (2001) and Elías *et al.* (2001), these should be maintained between 3.5 and 6.

The NH₃ content (table 3) was lower (9.66 meq/L) at zero hour in the absence of W (P=0.0013). Meanwhile, at 48 h and with the addition of 15% of W, the highest content was recorded with 48.59 meq/L. In the absence of W, NH₃ was not modified until 48 h. Then, it was increased 2.6 times at 72 h with respect to zero hour. With 5% of inclusion, it was maintained until 24 h and increased at 48 h. It was stable until 72 h. With 10 % of inclusion, it was modified at 24 h and then stabilized until 72 h. Finally, with a 15 % of W inclusion, the highest peak of NH₃ was reached at 48 h, and then, it decreased and stabilized at 72 h.

Morgan (2003) also reported the interaction of the factors under study in the SSF of coffee pulp, with the inclusion of different levels of final molasses (0, 5 and 10 %), as well as Brea *et al.* (2015), although with inferior values. Borrás *et al.* (2017), in the SSF of potato residues, inoculated with a microbial preparation and with the inclusion of 15 % of fiber materials, observed that NH₃ concentration is reduced with the time of fermentation. These differences in the results of cited authors could be related to the nature of the used substrates.

Several studies of SSF in sugarcane and cane

También informaron incrementos del pH en el tiempo, Pulido *et al.* (2016) en la FES de residuos de pera (40 % pera, 25 % harina de arroz, 25 % salvado de trigo y 10 % urea), al igual que Borrás *et al.* (2017) en la FES de residuos de papa, inoculados con un preparado microbial y la inclusión de 15 % de materiales fibrosos, aunque los valores a las 48 h no superaron los 5.2. Sin embargo, Morgan (2003), en la FES de pulpa de café con diferentes niveles de miel final, obtuvo incremento de pH a las 48 h, con valores cercanos a la alcalinidad. Brea *et al.* (2015) en la FES de harina de frutos de árbol del pan y Chafra (2016) en cáscara de cacao con diferentes niveles de urea, también informaron valores alcalinos de pH.

Los valores de pH obtenidos en este estudio se encuentran en los rangos adecuados para el crecimiento de microorganismos en procesos de FES. Según Pandey *et al.* (2001) y Elías *et al.* (2001), estos se deben mantener entre 3.5 y 6.

El contenido de NH₃ (tabla 3) fue más bajo (9.66 meq/L) a la hora cero en ausencia de SL (P=0.0013). Mientras, a las 48 h y con la adición de 15 % de SL se registró el mayor contenido con 48.59 meq/L. En ausencia de SL, no se modificó el NH₃ hasta las 48 h. Luego, se incrementó 2.6 veces a las 72 h con respecto a la hora cero. Con 5 % de inclusión, se mantuvo hasta las 24 h y se incrementó a las 48 h. Estuvo estable hasta las 72 h. Con 10 % de inclusión, se modificó a las 24 h y luego se estabilizó hasta las 72 h. Finalmente, con 15 % de inclusión de SL se alcanzó el mayor pico de NH₃ a las 48 h, para luego disminuir y estabilizarse a las 72 h.

Morgan (2003) también informó interacción de los factores en estudio en la FES de la pulpa de café, con la inclusión de diferentes niveles de miel final (0, 5 y 10 %), así como Brea *et al.* (2015), aunque con valores inferiores. Borrás *et al.* (2017) en la FES de residuos de papa, inoculados con un preparado microbiano y con la inclusión de 15 % de materiales fibrosos, observó que la concentración de NH₃ se reduce con el tiempo de fermentación. Estas diferencias en los resultados de los autores citados podrían estar relacionadas con la

Table 3. Effect of whey (W) on NH₃ content during the dynamics of SSF of coffee pulp

Indicator	Whey (%)	Fermentation time (hours)				SE (±) Sig.
		0	24	48	72	
NH ₃ (meq/L)	0	9.66 ^a	13.77 ^{ab}	18.67 ^{abcd}	24.86 ^{de}	2.80 P=0.0013
	5	9.94 ^a	14.16 ^{abc}	22.54 ^{cde}	26.84 ^{de}	
	10	10.14 ^a	21.7 ^{bcde}	25.88 ^{de}	23.43 ^{de}	
	15	13.43 ^{ab}	29.50 ^e	48.59 ^g	38.52 ^f	

^{abcdefg}Different superscripts indicate significant differences (P<0.05), Duncan (1955)

bagasse (Eliás *et al.* 1990, Valiño *et al.* 1996, Valiño *et al.* 1997, Valiño *et al.* 1998, and Rodríguez *et al.* 2001) affirm that there is a direct relationship between pH and the concentration of NH₃. However, in this experiment, this relationship was not found, which could be due to the presence of organic acids in the substrate. As it was previously stated, a natural fermentation process was started in the pile due to the high content of sugars and pectins of easy and rapid fermentation, which generated SCFA that were not determined, and the combination of both metabolites establish the pH (Rodríguez 2004).

Table 4 shows the variations in DM and CP content. Fermentation began with approximate values of 24 % of DM. At 72 h, the lowest value (17.8) was recorded at the 15 % level of W. In general, there was a decrease of dry matter, as the fermentation time progressed (P < 0.001), which was probably associated to the transformation of soluble carbohydrates into SCFA that are used as an energy source for maintenance and growth of microbial population (Rodríguez 2004). Likewise, Valiño *et al.* (1997), Morgan (2003) and Rodríguez (2004) mentioned that aerobic microbial fermentation of soluble carbohydrates originates CO₂ and H₂O that increase humidity and, consequently, cause the decrease of DM. Another consideration to take into account is that the inclusion of W increases humidity and decreases the DM, which was evident at 15 % of inclusion.

DM performance in this study was also evident in other studies on SSF, developed by Morgan (2003), Brea *et al.* (2015) and Borrás *et al.* (2017). However, they differ from those reported by Chafla (2016), in the SSF of cocoa husk with different levels of urea, where there was an increase of 3.33 percentage units of DM, probably due to the fact that, because of the characteristics of the substrate, part of the contained water could be evaporated by the metabolic heat that is generated during the SSF process, because the studies were carried out for longer times.

The reduction of dry matter in this study caused an effect of relative concentration of the rest of indicators, expressed in percentage values with respect to it. This is the case of the CP, which is explained in table 4.

CP content decreased, approximately, 2.5 units at 72 h (P=0.0040). Meanwhile, the inclusion of W caused an increase (P<0.001) in the superior levels of inclusion,

naturaleza de los sustratos utilizados.

Varios estudios de FES en caña de azúcar y bagazo de caña (Eliás *et al.* 1990, Valiño *et al.* 1996, Valiño *et al.* 1997, Valiño *et al.* 1998 y Rodríguez *et al.* 2001) afirman que hay relación directa entre el pH y la concentración de NH₃. Sin embargo, en este experimento, no se encontró esta relación, lo que podría deberse a la presencia de ácidos orgánicos en el sustrato. Como se manifestó anteriormente, se inició un proceso de fermentación natural en la pila por el alto contenido de azúcares y pectinas de fácil y rápida fermentación, lo que generó AGCC que no se determinaron, y la combinación de ambos metabolitos establecen el pH (Rodríguez 2004).

En la tabla 4 se muestran las variaciones en el contenido de MS y PC. La fermentación se inició con valores aproximados de 24 % de MS. A las 72 h, se registró el valor más bajo (17.8) en el nivel de 15 % de SL. De manera general, se constata disminución de la materia seca, en la medida que avanzó el tiempo de fermentación (P < 0.001), lo que probablemente estuvo asociado a la transformación de los carbohidratos solubles en AGCC que se utilizan como fuente de energía para el mantenimiento y crecimiento de la población microbiana (Rodríguez 2004). Asimismo, Valiño *et al.* (1997), Morgan (2003) y Rodríguez (2004) mencionaron que la fermentación microbiana aeróbica de los carbohidratos solubles da lugar a CO₂ y H₂O que incrementan la humedad y, en consecuencia, ocasionan la disminución de la MS. Otra consideración a tener en cuenta es que la inclusión de SL incrementa la humedad y disminuye la MS, lo que resultó evidente en 15 % de inclusión.

El comportamiento de la MS en este estudio también se manifestó en otros trabajos de FES desarrollados por Morgan (2003), Brea *et al.* (2015) y Borrás *et al.* (2017). Sin embargo, difieren de los informados por Chafla (2016), en la FES de cáscara de cacao con diferentes niveles de urea, donde se produjo incremento de 3.33 unidades porcentuales de la MS, debido probablemente a que, por las características de sustrato, parte del agua contenida pudiera evaporarse por el calor metabólico que se genera durante el proceso de FES, pues los estudios se realizaron por tiempos más prolongados.

La reducción de la materia seca en este estudio provocó efecto de concentración relativo del resto de los indicadores, expresados en valores porcentuales respecto a ella. Este es el caso de la PC, que se explica en la tabla 4.

El contenido de PC disminuyó, aproximadamente, 2.5

Table 4. Effect of whey on DM and CP content in SSF of coffee pulp up to 72 hours

Indicators (%)	Whey (%)	Fermentation time (hours)				SE (±) Sig.
		0	24	48	72	
Dry matter	0	23.63 ⁱ	22.03 ^{gh}	21.97 ^{gh}	20.67 ^f	0.24 P=0.0027
	5	23.02 ⁱ	21.90 ^{gh}	20.29 ^{ef}	19.89 ^{de}	
	10	22.23 ^{abcd}	19.59 ^{cde}	18.99 ^{bc}	18.53 ^b	
	15	21.45 ^g	20.16 ^{ef}	19.3 ^{cd}	17.80 ^a	
Crude protein	0	26.58 ^{def}	26.5 ^{def}	25.90 ^{cde}	24.84 ^{abc}	0.33 P=0.0040
	5	26.88 ^{ef}	25.66 ^{bcd}	24.79 ^{ab}	24.0 ^a	
	10	28.16 ^{gh}	26.07 ^{de}	25.67 ^{bcd}	25.63 ^{bcd}	
	15	28.59 ^h	27.4 ^{fg}	28.20 ^{gh}	25.8 ^{bcd}	

^{abcdehghi}Different superscripts indicate significant differences (P<0.05), Duncan (1955)

but without differences among them. This trend was maintained up to 72 h, probably due to the contribution made by this by-product.

Morgan (2003) and Chafra (2016) also reported a decrease in crude protein content in the SSF of coffee pulp and cocoa husk, respectively. While Brea *et al.* (2015), in the SSF of breadfruit tree meal, and Borrás *et al.* (2017) in the SSF of potato residues, reported a different performance. That is, the CP increased over time, which could also be attributed to the characteristics of the substrates.

TP is directly related to protein synthesis processes at cellular cytoplasm level of microorganisms involved in the SSF, and is one of the nutrients of greatest value in animal nutrition. Table 5 shows the performance of TP, protein synthesis efficiency (Rel. TP/CP*100) and ash content. In this study, greater synthesis of TP was observed at 48 h (P=0.0068), with no difference detected compared to 24 h. While, according to W inclusion levels, 10 and 15 %, revealed higher synthesis activity (P<0.0001), without statistical differences among them.

Conversion indexes from CP to TP, expressed as

unidades a las 72 h (P = 0.0040). Mientras, la inclusión de SL provocó incremento (P < 0.001) en los niveles superiores de inclusión, pero sin diferencias entre ellos. Esta tendencia se mantuvo hasta las 72 h, probablemente debido al aporte que realiza este subproducto.

Morgan (2003) y Chafra (2016) también informaron disminución en el tiempo del contenido de proteína cruda en la FES de pulpa de café y cáscara de cacao, respectivamente. Mientras que Brea *et al.* (2015), en la FES de harina de frutos de árbol del pan, y Borrás *et al.* (2017) en la FES de residuos de papa, refrieron un comportamiento diferente. Es decir, que la PC se incrementó con el tiempo, lo que también se podría atribuir a las características de los sustratos.

La PV se relaciona directamente con los procesos de síntesis de proteína a nivel del citoplasma celular de los microorganismos que participan en la FES, y constituye uno de los nutrientes de mayor valor en la alimentación animal. La tabla 5 muestra el comportamiento de la PV, la eficiencia de síntesis proteica (Rel. PV/PC*100) y el contenido de cenizas. En este estudio se observó mayor síntesis de PV a las 48 h (P=0.0068), sin detectarse diferencia respecto a las 24 h. Mientras, de acuerdo con los niveles de inclusión

Table 5. Effect of whey on the content of TP, TP/CP relation and ashes during the dynamics of SSF of coffee pulp

Indicators (%)	Fermentation time (h)				SE(±)	Prob.
	0	24	48	72		
True protein	15.95 ^a	16.55 ^{bc}	16.69 ^c	16.18 ^{ab}	±0.16	P=0.0068
Rel. TP/CP*100	57.78 ^a	62.59 ^b	63.86 ^{bc}	64.49 ^c	±0.61	P<0.0001
Ashes	11.07	10.97	11.53	11.17	±0.16	P=0.0657
	Whey levels					
	0	5	10	15		
True protein	15.11 ^a	15.99 ^b	17.06 ^c	17.21 ^c	±0.16	P<0.0001
Rel. TP/CP*100	58.30 ^a	63.15 ^{bc}	64.70 ^c	62.58 ^b	±0.61	P<0.0001
Ashes	10.49 ^a	10.54 ^a	11.54 ^b	12.17 ^c	±0.16	P<0.0001

^{abc}Different superscripts indicate significant differences (P<0.05), Duncan (1955)

a percentage, are related to TP values. According to time, greater anabolic activity was recorded as dynamics advanced, and exceeded the initial value by 6.7 units. According to inclusion levels, it is

de SL, 10 y 15 % revelaron mayor actividad de síntesis (P<0.0001), sin diferencias estadísticas entre ellos.

Los índices de conversión de PC a PV, expresados en porcentaje, tienen relación con los valores de PV. De

revealed that with 10 % of W, the maximum synthesis of TP is achieved ($P < 0.001$), which corresponds to 64.7 %. A similar performance of protein synthesis in the time was referred by Morgan (2003) in the SSF of coffee pulp with different levels of final molasses. Likewise, Rodríguez *et al.* (2006), Ramos *et al.* (2007), Rodríguez-Muela *et al.* (2010), Brea *et al.* (2015), Chafra *et al.* (2016) and Borrás *et al.* (2017) found similar responses, although with lower values because they were different substrates.

According to Pandey *et al.* (2001), TP can be an indirect path to measure microbial growth in SSF processes, since the mixed microbiota that is established in the system transforms the non-protein nitrogen (NPN) of urea into protein nitrogen (PN). The increases of TP obtained in this study confirm the effectiveness of microbial synthesis from carbohydrates and urea nitrogen.

According to Elías and Lezcano (1993), the efficiency with which the NPN of urea becomes PN varies in relation to the substrates used and the management of SSF, but above all with the availability of energy and carbon sources (soluble carbohydrates, starch and fats), amino acids, peptides, vitamins and minerals. Several authors (Elías *et al.* 1990, Valiño *et al.* 1996, Valiño *et al.* 1997, Valiño *et al.* 1998 and Rodríguez 2004) highlight the importance of urea as a nitrogen source and the value of easily fermented carbohydrates in the contribution of energy, to achieve superior efficiency in the synthesis of microbial protein. Its performance has a relation to pH dynamics and NH_3 , explained above.

The results indicate that the addition of W could have favored a superior synchronization between the presence of energy (SCFA) from fermentation of carbohydrates from the substrate and the ammonia nitrogen coming from urea hydrolysis. However, the presence of free amino acids, peptides and other growth factors, provided by whey cannot be discarded. All this contributes, possibly, to a higher synthesis of microbial protein.

Ash content (table 5) was not modified during the fermentation time, but it was increased by 1.68 units with 15 % of W inclusion, which could be related to the supply of minerals from the serum and the relative concentration produced by decreasing DM. Similar performances were reported by Morgan (2003), in the SSF of coffee pulp because, with the inclusion of increasing levels of final molasses, there was an increase of mineral content, but it did not vary with time. Pulido *et al.* (2016), in fermentation of pear residues, with inclusion levels of calcium carbonate and addition of rice meal, wheat bran and urea, evidenced a marked increase of ash content in relation to time, which probably was related to processes of relative concentration.

Robinson *et al.* (2001) reported the presence of

acuerdo al tiempo, se registró mayor actividad anabólica en la medida que avanzó la dinámica, y superó en 6.7 unidades al valor inicial. De acuerdo con los niveles de inclusión, se revela que con 10 % de SL se logra la máxima síntesis de PV ($P < 0.001$), que corresponde con 64.7 %. Un comportamiento similar de la síntesis de proteína en el tiempo refirió Morgan (2003) en la FES de pulpa de café con diferentes niveles de miel final. Asimismo, Rodríguez *et al.* (2006), Ramos *et al.* (2007), Rodríguez-Muela *et al.* (2010), Brea *et al.* (2015), Chafra *et al.* (2016) y Borrás *et al.* (2017) encontraron respuestas semejantes, aunque con valores inferiores por tratarse de sustratos diferentes.

Según Pandey *et al.* (2001), la PV puede ser una vía indirecta para medir el crecimiento microbiano en los procesos de FES, ya que la microbiota mixta que se establece en el sistema transforma el nitrógeno no proteico (NNP) de la urea en nitrógeno proteico (NP). Los incrementos de PV obtenidos en este estudio confirman la efectividad de la síntesis microbiana a partir de los carbohidratos y el nitrógeno ureico.

Según Elías y Lezcano (1993), la eficiencia con la que el NNP de la urea se convierte en NP varía en relación con los sustratos utilizados y con el manejo de la FES, pero sobre todo con la disponibilidad de energía y las fuentes de carbono (carbohidratos solubles, almidón y grasas), aminoácidos, péptidos, vitaminas y minerales. Varios autores (Elías *et al.* 1990, Valiño *et al.* 1996, Valiño *et al.* 1997, Valiño *et al.* 1998 y Rodríguez 2004) destacan la importancia de la urea como fuente de nitrógeno y el valor de los carbohidratos de fácil fermentación en el aporte de energía, para lograr mayor eficiencia en la síntesis de proteína microbiana. Su comportamiento guarda correspondencia con la dinámica del pH y NH_3 , explicada anteriormente.

Los resultados indican que la adición de SL pudo haber favorecido mayor sincronización entre la presencia de energía (AGCC) producto de la fermentación de los carbohidratos del sustrato y el nitrógeno amoniacal procedente de la hidrólisis de la urea. Sin embargo, no se puede descartar la presencia de aminoácidos libres, péptidos y otros factores de crecimiento, aportados por el suero de leche. Todo ello contribuye, posiblemente, a mayor síntesis de proteína microbiana.

El contenido de cenizas (tabla 5) no se modificó durante el tiempo de fermentación, pero se incrementó en 1.68 unidades con 15 % de inclusión de SL, lo que podría estar relacionado con el aporte de minerales del suero y por la concentración relativa que se produce por disminución de la MS. Comportamientos similares fueron notificados por Morgan (2003), en la FES de pulpa de café, pues al incluir niveles crecientes de miel final se incrementó el contenido mineral, pero no varió en el tiempo. Pulido *et al.* (2016), en la fermentación de residuos de pera, con niveles de inclusión de carbonato de calcio y adición de harina de arroz, salvado de trigo y urea, evidenciaron un marcado incremento del contenido de cenizas en relación con el tiempo, lo que probablemente estuvo relacionado

phosphorus, sulfur and other minerals among the ashes that, in small quantities, are important for microbiota metabolism. Similarly, Elías and Lezcano (1993) demonstrated the importance of trace elements and vitamins of B complex for the accelerated growth of yeasts established during the SSF of sugarcane. For these reasons, it is necessary to highlight the appreciable presence of ash (from 10 to 12 %) in the coffee pulp, which could favor the synthesis of microbial protein.

The performance of CF, NDF and CC is summarized in table 6. It was observed that in the absence of W up to 48 h, the CF content decreased, and then remained stable until 72 h. However, when W was used, regardless of the level, the CF indicators were not modified with time ($P=0.0134$). The highest increase (5.17 units) was observed at 15 % level at 72 h, which can be explained by the relative concentration of nutrients, which is a result of DM decrease. A similar trend was referred by Morgan (2003) in coffee pulp fermentation, and Pulido *et al.* (2016) in pear residues.

Several authors (Rodríguez *et al.* 2001, Ramos

con procesos de concentración relativa.

Robinson *et al.* (2001) refirieron que entre las cenizas, se encuentran el fósforo, el azufre y otros minerales que, en pequeñas cantidades, son importantes para el metabolismo de la microbiota. De igual manera, Elías y Lezcano (1993) demostraron la importancia de los elementos trazas y vitaminas del complejo B para el crecimiento acelerado de las levaduras que se establecen durante la FES de la caña de azúcar. Por estas razones, resulta necesario destacar la apreciable presencia de cenizas (10 a 12%) en la pulpa de café, lo que pudo favorecer la síntesis de proteína microbiana.

El comportamiento de la FC, FDN y CC se resume en la tabla 6. Se observó que en ausencia de SL hasta las 48 h, el contenido de FC disminuyó, y luego se mantuvo estable hasta las 72 h. Sin embargo, cuando se empleó SL, con independencia del nivel, no se modificaron los tenores de FC en el tiempo ($P=0.0134$). Se observó el mayor incremento (5,17 unidades) en el nivel de 15 % a las 72 h, lo que puede explicarse por la concentración relativa de los nutrientes, que es resultado de la disminución de la MS. Una tendencia similar refirió

Table 6. Effect of whey on the content of CF, NDF and CC in SSF of coffee pulp up to 72 hours (%)

Indicators (%)	Whey (%)	Fermentation time (h)				SE (±) Sig.
		0	24	48	72	
Crude fiber	0	17.45 ^{bcd}	18.01 ^{cdef}	15.40 ^a	15.16 ^a	0.60 $P=0.0134$
	5	16.26 ^{abc}	15.71 ^{ab}	16.10 ^{abc}	16.40 ^{abcd}	
	10	17.38 ^{bcd}	18.32 ^{def}	18.27 ^{def}	17.81 ^{cde}	
	15	18.84 ^{fgh}	19.00 ^{efg}	19.79 ^{fg}	20.33 ^g	
NDF	0	40.13 ^{cdef}	41.42 ^{bcd}	35.42 ^g	34.88 ^g	1.19 $P=0.0070$
	5	37.39 ^{efg}	36.14 ^g	37.04 ^{fg}	37.73 ^{defg}	
	10	39.97 ^{cdef}	42.14 ^{abc}	42.02 ^{abc}	40.96 ^{bcd}	
	15	43.32 ^{abc}	43.96 ^{abc}	45.52 ^a	44.07 ^{ab}	
CC	0	59.88 ^{bcd}	58.59 ^{def}	64.68 ^a	65.13 ^a	1.19 $P=0.0071$
	5	62.61 ^{abc}	63.86 ^a	62.97 ^{ab}	62.27 ^{abcd}	
	10	60.03 ^{bcd}	57.86 ^{efg}	57.98 ^{efg}	59.04 ^{cdef}	
	15	56.68 ^{efg}	56.31 ^{efg}	54.49 ^g	55.93 ^{fg}	

^{abcde fgh} Different superscripts indicate significant differences ($P<0.05$), Duncan (1955)

2005, Berradre *et al.* 2009 and Aranda *et al.* 2012) state that CF tends to increase over time, because the microorganisms present in the system use sugars of easy fermentation of cellular content, which significantly increases the content of cell walls in the substrate. These fiber elements have more complex structures, so they are the least degraded in SSF processes, when they are performed for relatively short periods of time and microorganisms with high cellulolytic capacity are not used.

Results for NDF and CC confirm the previous information. Thus, superior NDF content (45.52 %) was observed at 48 h in the 15% of W level, while the inverse performance is present in CC, with 54.49 % ($P=0.0071$). Similar results were reported by Morgan

(2003) en la fermentación de pulpa de café, y Pulido *et al.* (2016) en la de residuos de pera.

Varios autores (Rodríguez *et al.* 2001, Ramos 2005, Berradre *et al.* 2009 y Aranda *et al.* 2012) afirman que la FC tiende a incrementarse con el tiempo, debido a que los microorganismos que están presentes en el sistema usan los azúcares de fácil fermentación del contenido celular, lo que incrementa significativamente el contenido de paredes celulares en el sustrato. Estos elementos fibrosos presentan estructuras más complejas, por lo que son los menos degradados en los procesos de FES, cuando se realizan por tiempos relativamente cortos y no se utilizan microorganismos con elevada capacidad celulolítica.

Los resultados obtenidos para FDN y CC confirman lo antes expuesto. Así se observó mayor contenido de FDN

(2003) and Chafra (2016) in the fermentation of coffee pulp and cocoa husk, respectively.

Conclusions

It is concluded that the inclusion of 10 % of W in the SSF of coffee pulp up to 48 h improves the fermentation process, with marked increase in CP, TP and CP/TP relation. Although fiber components remain high, their use could be favorable in the preparation of rations for feeding ruminants.

Acknowledgements

Thanks to the National University of Loja for the support provided in the performance of this study, to Verena Torres, PhD, and to the biostatistics group of the Institute of Animal Science, Cuba, for the help in the processing and analysis of the results.

(45.52%) a las 48 h en el nivel 15 % de SL; mientras que el comportamiento inverso se manifiesta en el CC, con 54.49 % (P=0.0071). Resultados similares informaron Morgan (2003) y Chafra (2016) en la fermentación de pulpa de café y cáscara de cacao, respectivamente.

Conclusión

Se concluye que la inclusión de 10 % de SL en la FES de la pulpa de café hasta las 48 h mejora el proceso fermentativo, con marcado incremento de PC, PV y relación PC/PV. Aunque los componentes fibrosos se mantienen elevados, se podría propiciar su uso en la elaboración de raciones para la alimentación de rumiantes.

Agradecimientos

Se agradece a la Universidad Nacional de Loja por el apoyo brindado para la ejecución del presente trabajo, a la Dra. C. Verena Torres y al grupo de bioestadística del Instituto de Ciencia Animal, Cuba, por la ayuda en el procesamiento y análisis de los resultados.

References

- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. 18th Ed. Ass. Off. Anal. Chem. Washington, D.C.
- Aranda, E.M., Georgana, L.E., Ramos, J.A. & Salgado, S. 2012. Elaboración de un alimento basado en cana de azúcar a partir de la fermentación en estado sólido y con diferentes niveles de zeolitas. *Rev Cubana Cienc Agric.* 46 (2):159-163.
- 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. *Rev Fac Agron.* 26(3): 398-422.
- Brea, O., Elías, A., Ortiz, A., Herrera, F., Motta, W. & Hechavarría, S. 2015. Efecto de la urea y del tiempo en la fermentación en estado sólido de la harina de frutos del árbol del pan (*Artocarpus altilis*). *Rev. Cien. Agric.* Vol. 12 (2). Tunja (Boyacá) – Colombia: 91-101.
- Bressani, R., Estrada, E. & Jarquin, R. 1972. Pulpa y pergamino de café. I. Composición química y contenido de aminoácidos de la pulpa de café. *Turrialba* 22: 229-304.
- Chafra, A. 2016. Fermentación en estado sólido de la cáscara del fruto de cacao (*Theobroma cacao*) y su evaluación en dietas para cuyes (*Cavia porcellus*) en etapa de crecimiento. PhD Thesis. Instituto de Ciencia Animal. Cuba.
- Chávez, M., González, L., Rodríguez, D., Rodríguez, H. & Aguilar N. 2009. Aspectos básicos de la fermentación en medio sólido. *Ciencia Cierta, Revista de Divulgación Científica* 20: 7-14.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., González, L., Tablada, M. & Robledo, C.W. 2012. INFOSTAT. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Available: <http://www.infostat.com.ar>. [Consulted: 08/10/2015]
- Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple F-tests. *Biometrics; Jour. Exp. Botanic.* 11:1-42.
- Elías, A. & Lezcano, O. 1993. Efecto de la fuente de N y algunos factores de crecimiento en la población de levaduras que se establecen en la producción de Saccharina. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 28(3): 319-325.
- Elías, A., Lezcano, O. & Herrera, F.R. 2001. Algunos indicadores bromatológicos y productos finales de la fermentación para la obtención de cuatro tipos de Saccharina inoculados con Vitafert. *Rev Cubana Cienc Agríc.* 35(2):153-158.
- Elías, A., Lezcano, O., Lezcano, P., Cordero, J. & Quintana, L. 1990. Reseña descriptiva sobre el desarrollo de una tecnología de enriquecimiento proteínico en la caña de azúcar mediante fermentación sólida (Saccharina). *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 24 (1):3-12
- Gómez, J., Yepes, S. & Barahona, R. 2013. Caracterización nutricional del residuo del cultivo de la seta *Agaricus bisporus* como alimento potencial para bovinos. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 8 (1): 34-56.
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI), 2014. Anuario Meteorológico N°. 51-2011, Quito-Ecuador: 37-60.
- Martin, P. 2009. El uso de residuales agroindustriales en la alimentación animal en Cuba: pasado, presente y futuro. *Revista Avances en Investigación Agropecuaria*, 13 (3): 3-10.
- McCullough, H. 1967. The determination of ammonia in whole blood by direct colorimetric method. *Clinical Chemistry.* 17: 297-304.
- Morgan, S. F. 2003. La Pulpa de café enriquecida. Un aporte al desarrollo sostenible en la zona montañosa de Guantánamo. PhD Thesis. Centro Universitario de Guantánamo. Instituto de Ciencia Animal. Cuba.
- Munguía, A.C. 2015. Comportamiento productivo y características de la canal en ovinos alimentados con pulpa de café. Tesis presentada en opción al grado de Master en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo, México: 72-85.
- Noriega, A., Silva, R. & García, M. 2009. Composición química de la pulpa de café a diferentes tiempos de ensilaje para su uso potencial en la alimentación animal. *Zootecnia Tropical.* 27(2): 135 – 141.
- Palmerín, C., Guevara, L., Villaseñor, F. & Pérez, P. 2011. Identificación de una levadura para la producción de proteína unicelular para consumo humano y determinación de los parámetros cinéticos a nivel de matraces agitados. *Revista Ciencia*

@UAQ 4: 35-46.

- Pandey, A., Soccol, C.R., Rodríguez-León, J.A. & Nigam P. 2001. Solid-state fermentation in biotechnology. Fundamentals and applications. Nueva Delhi: Asia tech Publishers.
- Peláez, A., Meneses, M., Miranda, R., Ayala, M., Crosby, G., Loera, C. & Megías, R. 2011. Enzimas fibrolíticas producidas por fermentación en estado sólido para mejorar los ensilajes de caña de azúcar. *Agrociencia* 45: 1405-1422.
- Pinto, R., Guevara, H. F., Medina J. A., Hernández-Sánchez, D., Ley-de Coss, A. & Guerra-Medina, E. 2017. Conducta ingestiva y preferencia bovina por el ensilaje de Pennisetum y pulpa de café. *Agronomía Mesoamericana*. 28(1):59-67.
- Pulido-Suárez, N.J., Borrás-Sandoval, L.M. & Rodríguez-Molano, C.E. 2016. Elaboración de un alimento energético-proteico para animales, basado en residuos de cosecha de pera (*Pyrus communis*). *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*. 17(1):7-16
- Ramírez, J.R. 1999. Pulpa Ensilada. Producción, caracterización y utilización en alimentación animal. Universidad Nacional Experimental de Táchira – Venezuela: 129 – 139.
- Ramos, J.A., Elías, A., Herrera, F., Aranda, E. & Mendoza, G. 2007. Processes for the production of an energetic-protein animal feed. Effect of final molasses levels on the solid state fermentation of Saccha-sorghum and Saccha-polishing. *Cuban J. Agric. Sci.* 41:131-136.
- Robinson, T., Singh, D. & Nigam, P. 2001. Solid-state fermentation: a promising microbial technology for secondary metabolite production. *Appl Microbiol Biotechnol.* 55(3): 284-289.
- Rodríguez, A. Z. 2004. Uso del boniato (*Ipomoea batata* Lam) en la tecnología de fermentación en estado sólido de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). TPhD Thesis. Universidad Agraria de la Habana. Instituto de Ciencia Animal. Cuba.
- Rodríguez, Z., Boucourt, R., Elías, A., Herrera, F. & Núñez, O. 2006. Efecto del grosor de la capa en la dinámica de fermentación de mezclas de caña (*Saccharum officinarum*) y boniato (*Ipomoea batata* Lam). *Rev. Cubana de Ciencia Agrícola*, 40(2): 173-182.
- Rodríguez, Z., López A., Boucourt R., Savón L. & Madera M. 2001. Nivel y fuente de fibra de la dieta en la concentración y la actividad celulolítica de la microbiota intestinal del cerdo. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 35: 269-274.
- Rodríguez-Muela, C., D. Díaz, F. Salvador, O., Ruiz, C., Arzola, A., Flores, O., La O. & Elías, A. 2010. Efecto del nivel de urea y pasta de soya en la concentración de proteínas durante la fermentación en estado sólido de la manzana (*Malus domestica*). *Rev. Cubana de Cien. Agríc.*, 44(1): 23-26.
- Saval, S. 2012. Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado, Presente y Futuro. *BioTecnología*, 16(2): 14-46.
- Valiño, E., Elías, A. & Albelo, N. 1997. Interacciones entre la microbiota del bagazo de caña de azúcar y cultivos de *Cephalosporium sp.* y *Acinetobacter calcoaceticus* mediante fermentación en estado sólido. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 31: 293-297.
- Valiño, E., Elías, A., Álvarez, E. & Albelo N. 1996. Characteristics of the fermentation chamber for Saccharina production. *Cuban J. Agric. Sci.* 30(1):67-72.
- Valiño, E., Felipe Y., Elías A. & Medina, I. 1998. Diferentes combinaciones de nitrógeno en la fermentación del bagazo de caña de azúcar inoculado con cepa A3 Tricoderma viride. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 32(4):401-407.
- Van Soest, P., Robertson, J. & Lewis B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3596.

Received: December 12, 2017