



Revista Cubana de Ciencia Agrícola

ISSN: 0034-7485

rcca@ica.co.cu

Instituto de Ciencia Animal

Cuba

Savón, Lourdes; Valiño, Elaine; Bell, René; Hernández, Yasmila
Dinámica de las propiedades físicas y fraccionamiento de la fibra de la harina de forraje integral de
dolico (*Lablab purpureus*) biotransformada con *Trichoderma viride* para la alimentación de
monogástricos

Revista Cubana de Ciencia Agrícola, vol. 48, núm. 2, -, 2014, pp. 145-148

Instituto de Ciencia Animal

La Habana, Cuba

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193031101010>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Dinámica de las propiedades físicas y fraccionamiento de la fibra de la harina de forraje integral de dolico (*Lablab purpureus*) biotransformada con *Trichoderma viride* para la alimentación de monogástricos

Lourdes Savón, Elaine Valiño, René Bell y Yasmila Hernández

Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba
Correo electrónico: lsavon@ica.co.cu

Se estudió la dinámica de las propiedades físicas y el fraccionamiento de la fibra de la harina de forraje integral de *Lablab purpureus*, inoculada con las cepas M5-2 y 137 MCX-1 del hongo lignocelulolítico *Trichoderma viride*. El objetivo fue evaluar la calidad nutritiva de la fracción fibrosa de las harinas sometidas a una fermentación en estado sólido (FES). Se utilizaron 50 g del sustrato para determinar los indicadores del fraccionamiento fibroso (fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) lignina, hemicelulosa y celulosa), así como las propiedades físicas: volumen, solubilidad y capacidad de adsorción de agua (CAA) a las 0, 48, 72, 96 y 120 h después de la inoculación. Para el estudio de las mediciones, se utilizó un diseño de parcelas divididas. Se obtuvo interacción significativa tratamiento x horario de muestreo ($P < 0.001$) para FND, FAD, celulosa, hemicelulosa, solubilidad y volumen. Se obtuvo disminución de la FND ($P < 0.001$) de la harina integral inoculada a partir de las 24 h y de las 48 h con las cepas 137MCX-1 y M5-2, respectivamente. La mayor disminución de la FND (8.3 unidades porcentuales), con la inoculación de la cepa M5-2, se obtuvo a las 72 h. Esto coincidió con el mayor incremento ($P < 0.001$) de celulosa y con la disminución de hemicelulosa, de 23.37 a 19.15 %. A las 72 h, se encontró menor contenido de lignina ($P < 0.001$), independientemente de las cepas. Esto coincidió con mayor solubilidad para ambas. Los resultados indicaron incremento de la calidad nutritiva de la fracción fibrosa para la harina de forraje integral de dolicho, inoculada con ambas cepas. Esto posibilita considerar su inclusión como alimento alternativo para especies monogástricas.

Palabras clave: *calidad nutritiva, fracción fibrosa, Trichoderma viride, harina de forraje integral, Lablab purpureus.*

Se conoce la escasez de alimentos convencionales destinados a las especies monogástricas, debido fundamentalmente al desarrollo de nuevas fuentes energéticas producidas a partir de los granos (biocombustibles). Esta realidad aumenta los precios y constituye un obstáculo para la estabilidad y rentabilidad de la producción de carne de esta esfera agropecuaria (Espinosa 2008). El reto es desarrollar alternativas que permitan utilizar recursos disponibles en el trópico.

En Cuba, investigaciones realizadas por Díaz (2000), Díaz *et al.* (2002) y Díaz *et al.* (2004) demostraron la posibilidad de utilizar harinas de forrajes integrales de leguminosas tropicales en las raciones de aves y cerdos. Sin embargo, una de las características fundamentales de estas harinas, es el contenido de fibra, que afecta evidentemente la calidad nutricional, al influir de manera negativa en la digestibilidad de los nutrientes que componen el alimento.

La aplicación de procesos fermentativos que permitan eliminar gran parte de estos componentes, con consecuente incremento de la calidad de la fracción fibrosa resultante, podría ser una solución ante estas limitaciones (Pandey 2000 e Ibarra *et al* 2002).

La fermentación en estado sólido (FES) con hongos lignocelulolíticos es un proceso que se ha utilizado para el reciclaje de materiales voluminosos. Durante estas fermentaciones ocurren modificaciones bioquímicas y estructurales, que resultan en incremento del valor biológico de la proteína dietética y en el mejoramiento de la estructura de los compuestos lignocelulósicos (Kiers *et al.* 2000, Zang y Lynd 2006, Sipos *et al.* 2010 y Wilson 2011). De acuerdo con ello, la composición de

varios de estos compuestos varía en dependencia de la fuente, así lo han informado van Dyk y Pletsche (2012), entre otros autores.

En la literatura disponible, no existen trabajos en los que se analice la dinámica de fermentación de la fracción fibrosa y las propiedades físicas en la harina de forraje integral de *Lablab purpureus* (dolicho), biotransformada con cepas del hongo lignocelulolítico *T. viride*. A partir de esta condición, el objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad nutritiva de esta harina para la alimentación de especies monogástricas.

Materiales y Métodos

La harina de forraje integral de *Lablab purpureus* (dólichos), se elaboró según Savón *et al* (2004).

Microorganismos. Se utilizaron dos cepas del hongo celolítico conidial *Trichoderma viride*, 137MCX-1 y M5-2, ambas pertenecientes al cepario del Laboratorio de Producción de Alimentos del Instituto de Ciencia Animal. Las cepas producen enzimas celulasas, que tienen capacidad hidrolítica en sustratos fibrosos, y harinas de leguminosas temporales mediante la fermentación en estado sólido (FES) (Valiño *et al.* 2004 a).

Proceso de fermentación. Se utilizaron frascos cónicos, de 500 mL, con 50 g de harina de forraje integral de dolicho. Estos se humedecieron con agua destilada hasta 70 % P/V del requerimiento para su crecimiento. El sustrato húmedo se esterilizó a presión de 1 atmósfera, a 121 °C durante 20 min. y se inoculó con 1 cm³ de agar Malta. Las mezclas se homogenizaron y los frascos cónicos se colocaron en incubadora a 30 °C durante siete

días. Cada frasco constituyó una unidad experimental.

Se tomaron muestras del material sólido del mismo frasco cada 24 h de fermentación, hasta las 120 h. Este procedimiento se repitió cuatro veces para cada cepa. El fraccionamiento de la fibra: fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD), hemicelulosa, celulosa y lignina se realizó según Goering y van Soest (1970). Las propiedades físicas (volumen, solubilidad y capacidad de adsorción de agua) se analizaron de acuerdo con Savón *et al.* (1999).

Análisis estadístico. Se aplicó análisis para encontrar la interacción tratamiento x horario de muestreo para los indicadores estudiados. Posteriormente, se efectuó ANAVA de parcelas divididas para las mediciones que mostraron interacción significativa. La parcela principal se correspondió con las horas, y la subparcela con los tratamientos. Para los indicadores que no fueron significativos, se utilizó un modelo lineal con los efectos tratamientos y horario de muestreo. Se aplicó la dócima de Duncan (1955) en los casos necesarios. Para el análisis de los resultados se utilizó el programa estadístico Infostat, versión 1 (Balzarini *et al.* 2001).

Resultados y Discusión

La dinámica de fermentación de las fracciones fibrosas y las propiedades físicas de la harina de forraje integral de dolico (tabla 1) mostraron que hubo interacción tratamiento x tiempo de muestreo para los indicadores de la fracción fibrosa (FND, FAD, hemicelulosa y celulosa) y las propiedades físicas (solubilidad y volumen) de las harinas de forraje integral,

inoculadas con las cepas M5-2 y la 137MCX-1 del hongo celulolítico *Trichoderma viride*.

Se constató disminución ($P < 0.001$) de la FND con la cepa M5-2, a partir de las 24 h de iniciado el proceso de fermentación. A las 72 h, hubo disminución del contenido de la pared celular para esta cepa, aproximadamente 8.30 unidades porcentuales (83.24 vs 74.94). Esto coincidió con el mayor incremento de celulosa, 3.77 unidades porcentuales (38.34 a 42.10), para después disminuir hasta alcanzar concentración similar a la inicial. La disminución en la concentración de la hemicelulosa (4.22 unidades porcentuales) se debe a que el hongo utiliza, preferencialmente, los componentes de más fácil degradación (Valiño *et al.* 2004a). Luego, la concentración de la hemicelulosa continuó su disminución hasta alcanzar el nivel que tenía a las 48 h de iniciado el proceso fermentativo. Esto evidenció la gran actividad celulolítica de esta cepa, contrariamente a lo que señala Valiño *et al.* (2010). Estos autores refieren un crecimiento micelial escaso y poca esporulación en la harina de forraje integral de dolico, hasta las 144 h de fermentación. Debido a esta actividad celulolítica, que propició a las 72 h ruptura de la pared celular, con disminución de FND y FAD con respecto a los valores iniciales, la solubilidad evidenció incremento que se mantuvo de forma no regular hasta las 120 h. La FAD experimentó la mayor disminución, 4.08 unidades porcentuales ($P < 0.001$) a las 72 h de fermentación. Esto sugiere la capacidad de esta cepa M5-2 para producir también enzimas polifenoloxidasas (Valiño 2010), lo que se

Tabla 1. Interacción entre el horario de muestreo (h) y el tratamiento (dolico integral + *T. viride* M5-2 y dolico integral + *T. viride* 137MCX-1) para indicadores de fraccionamiento fibroso y propiedades físicas

Indicador	Cepa	Horas						EE ± Sign
		0	24	48	72	96	120	
FND	M5-2	83.24 ^j	80.12 ⁱ	75.44 ^{de}	74.94 ^{cd}	76.10 ^{ef}	74.16 ^{bc}	$P < 0.001$
	137MCX-1	78.69 ^h	77.80 ^{gh}	69.53 ^a	73.69 ^b	80.97 ⁱ	76.99 ^{fg}	± 0.46 ± 0.43
FAD	M5-2	59.87 ^f	57.24 ^e	59.23 ^f	55.79 ^d	57.89 ^e	57.21 ^e	$P < 0.001$
	137MCX-1	52.65 ^c	48.57 ^a	52.27 ^c	50.37 ^b	52.77 ^c	52.91 ^c	± 0.54 ± 0.52
Celulosa	M5-2	38.34 ^{bc}	37.10 ^b	34.23 ^a	42.10 ^{de}	38.13 ^{bc}	37.46 ^b	$P < 0.001$
	137MCX-1	41.56 ^d	39.22 ^c	42.28 ^{def}	41.15 ^d	43.60 ^f	43.36 ^{ef}	± 0.63 ± 0.65
Hemicelulosa	M5-2	23.37 ^d	22.88 ^d	16.21 ^a	19.15 ^c	18.21 ^{bc}	16.96 ^{ab}	$P < 0.001$
	137MCX-1	26.05 ^e	29.24 ^f	17.27 ^{ab}	23.33 ^d	28.20 ^f	24.07 ^d	± 0.66 ± 0.64
Solubilidad	M5-2	16.66 ^e	15.74 ^{cd}	17.53 ^f	17.56 ^f	15.26 ^{bc}	17.86 ^f	$P < 0.001$
	137MCX-1	14.16 ^a	16.45 ^{de}	15.90 ^{cd}	16.23 ^{de}	15.38 ^c	14.64 ^{ab}	± 0.33 ± 0.34
Volumen	M5-2	5.13 ^a	5.34 ^a	6.69 ^b	8.36 ^d	7.32 ^c	8.62 ^d	$P < 0.01$
	137MCX-1	9.63 ^e	10.48 ^f	10.48 ^f	10.56 ^f	11.45 ^g	11.18 ^g	± 0.22 ± 0.22

abcdefghi Valores con letras no comunes dentro de cada indicador difieren a $P < 0.05$ (Duncan 1955)

El primer EE corresponde a las horas al mismo nivel de los tratamientos

El segundo EE corresponde a los tratamientos al mismo o diferente nivel de las horas

basa en que, al estar constituida la FAD por celulosa y lignina, es evidente que la disminución experimentada en este indicador a las 72 h se deba a la mengua de la lignina presente, como luego se demostró.

En la cepa 137MCX-1 hubo disminución ($P < 0.001$) de nueve unidades porcentuales de FND, a las 48 h de iniciado el proceso de fermentación. Sin embargo, luego la concentración de este indicador se incrementó, mientras que los valores de FAD y celulosa resultaron invariables y la hemicelulosa experimentó disminución de ocho unidades porcentuales con respecto a la concentración inicial. Luego, se incrementó hasta lograr, a las 120 h, concentraciones de dos unidades menos que el valor inicial. El volumen también se incrementó desde las 24 h, y alcanzó 2.55 unidades porcentuales más al final del proceso. Esto se correspondió con la disminución de la solubilidad.

De la Mata (1991) planteó que los materiales lignocelulósicos tienen una estructura muy resistente, debido fundamentalmente a la cristalinidad y a la estructura capilar de la celulosa, así como al grado de polimerización y a la barrera de lignina que la rodea. Si se analizan los resultados anteriores, ambas cepas, la M5-2 y la 137MCX-1, son capaces de ejercer efecto positivo en la ruptura de la pared celular de la harina de forraje de dolico integral. Solo que se diferencian en que M5-2 tiene efecto más inmediato, mayor y más sostenido, debido a su naturaleza mutante, hiperproductora de enzimas celulasas y fenoloxidasas (Valiño *et al.* 2004b), que proporciona una disminución de la hemicelulosa mucho más degradable que la celulosa, la cual se mantuvo hasta el final de la fermentación. Desafortunadamente, no se midieron los azúcares reductores que hubieran podido esclarecer mejor el mecanismo de este proceso.

La cepa 137MCX-1 ejerció su efecto más tardíamente. Mostró, al final de las 120 h, disminución menos marcada de la pared celular, con respecto a la concentración inicial, incremento en la celulosa (que se va acumulando) y poca disminución de la hemicelulosa, en tanto que la FAD no varió prácticamente. En sentido general, los valores más elevados de solubilidad de la

harina de forraje integral de dolico se produjeron con la inoculación de la cepa M5-2. En esto influyó el menor contenido de lignina (tabla 2).

En la tabla 2 se muestran los efectos principales para la lignina y la capacidad de adsorción de agua.

Hubo efecto opuesto entre la lignina y la capacidad de adsorción de agua (CAA) para los tratamientos que, en este caso, fueron la fermentación en estado sólido de la harina de forraje integral con las cepas M5-2 (tratamiento 1) y 137MCX-1 (tratamiento 2). Como resultado del proceso fermentativo, las harinas inoculadas difirieron ($P < 0.001$) en el contenido de lignina (17.20 % vs 8.47 %) para las de las cepas 137MCX-1 y M5-2, respectivamente. Esto demuestra la mayor actividad lignolítica de la primera y mayor actividad celulolítica de la segunda, según plantearon Valiño *et al.* (2010). La lignina fue menor a las 72 h de fermentación en las harinas de forraje de dolico integral, con independencia de la cepa inoculada. Con respecto a la CAA, y de acuerdo con Seoane *et al.* (1981), se conoce que se relaciona con el contenido fibroso y refleja la habilidad de la fibra para hincharse, lo que depende de las proporciones relativas de los polisacáridos que los componen y la lignina. La hemicelulosa posee mayor nivel higroscópico que la celulosa, ya que la lignina de naturaleza fenólica tiene un fuerte carácter hidrófobo. Luego, la CAA de la harina de forraje de dolico, inoculada con la cepa 137MCX-1, disminuyó en la medida que se liberó la lignina, debido al proceso fermentativo. En tanto que, la disminución de este indicador con la inoculación de la cepa M5-2 en la harina de forraje integral de dolico, condiciona incremento de la CAA. Las horas de fermentación no tuvieron efecto en la CAA para las harinas integrales, independientemente de la cepa inoculada.

Los resultados mostraron la posibilidad de mejorar la calidad de la fracción fibrosa en la harina de forraje de dolico, inoculada con las cepas M5-2 y 137MCX-1 del hongo celulolítico *Trichoderma viride*. Por tanto, se pudiera considerar una alternativa potencial para incluirse en la alimentación de especies monogástricos

Tabla 2. Resultados de efectos principales

Indicador	Tratamiento	Efectos						EE± Sign
		1	2	3	4	5	6	
Lignina	Cepa	8.47 ^a	17.20 ^b					$P < 0.001$ ± 0.28
	Horas	14.29 ^d	13.39 ^{cd}	14.60 ^d	10.74 ^a	11.56 ^{ab}	12.42 ^{bc}	$P < 0.001$ ± 0.49
CAA	Cepa	11.11 ^b	9.77 ^a					$P < 0.001$ ± 0.17
	Horas	10.31	10.42	9.94	10.73	10.89	10.33	NS ± 0.29

^{abcd}Valores con letras no comunes por fila difieren a $P < 0.05$ (Duncan 1955)

Tratamientos 1) M5-2; 2) 137MCX-1. Horas: 0, 24, 48, 72, 96 y 120.

CAA: Capacidad de absorción de agua. NS: No significativo

Referencias

- Balzarini, M., Casanoves, F., Di Rienzo, J. A., González, L. A. & Robledo, C. W. 2001. Software estadístico: Infostat, versión 5.1. Manual de usuario. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina
- De la Mata, A. 1991. β -glucosidasa de *Trichoderma reesei* QM9414. Tesis Dr. Universidad Complutense de Madrid, España
- Díaz, M. F. 2000. Producción y caracterización de forrajes y granos de leguminosas temporales para la alimentación animal. Tesis Dr. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba
- Díaz, M.F., González, A., Padilla, C. & Curbelo, F. 2002. Bromatological characterization of grains and forages from the seasonal legumes *Canavalia ensiformis*, *Lablab purpureus* and *Stizolobium niveum* sown at the end of the rainy season. Cuban J. Agric Sci. 86: 395
- Díaz, M.F., Padilla, C. & Cino, D. 2004. ¿Cómo producir forrajes de leguminosas temporales? Revista ACPA. 1:49
- Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F test. Biometrics 11:11
- Eriksson, K.E.L. & Bermek, H 2009. Lignin, lignocelluloses, ligninase. Appl. Microbiol. Ind. Pp. 373-84
- Espinosa, J.D. 2008. Evaluación de dos procesos para mejorar la calidad nutricional de la harina de yuca (raíces y follaje) como alimento para cerdos en la etapa de ceba. Tesis de grado. Universidad de San Buenaventura. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería Agroindustrial. Santiago de Cali, Colombia
- Ibarra, A., García, Y., Valiño, E., Dustet, J., Albelo, N & Carrasco, T. 2002. Influence of aeration on the bioconversion of sugar cane bagasse by *Trichoderma viride* M5-2 in a static bioreactor of solid fermentation. Cuban J. Agric. Sci. 36:53
- Kiers, J. L., Nout, R. M. J. & Rombouts, F.M. 2000. *In vitro* digestibility of processed and fermented soya bean, cowpea and maize. J. Sci Food. Agric. 80: 1325
- Goering, H. & van Soest, P.J. 1970. Agriculture Handbook. Agriculture Res. Serv. No 379. USA.
- Pandey, A., Socool, C.R. & Mitchell, D. 2000. New developments in solid state fermentation. I Bioprocess and product. Process Biochem. 35: 1153
- Savón, L. 2002. High fibrous feed for monogastrics. Characterization of fibrous matrix and its effects on the digestive physiology. Cuban J. Agric. Sci. 36:89
- Savón, L.L., Gutiérrez, O., González, T. & Orta, M. 1999. Manual de caracterización físico-química de alimentos fibrosos. Ed. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba. 33 pp.
- Savón, L., Scull, I., Orta, M. & Torres, V. 2004. Physicochemical characterization of the fibrous fraction of five tropical forage meals for monogastric species. Cuban J. Agric. Sci. 38: 291
- Seoane, J. R., Côté, M., Sewais, P & Laforest, J. P. 1981. Prediction of the nutritive value of alfalfa (Saranoc) Browngrass (Saratoga) and timothy (Champ, Climax, Bourty) feed as hay to growing sheep. Can. J. Anim. Sci. 61:403
- Sipos, B., Benko, Z., Dienes, D., Reczey, K., Viikari, L. & Silka-aho, M. 2010 Characterization of specific activities and hydrolytic properties of cell-wall-degrading enzymes produced by *Trichoderma reesei* Rut C30 on different
- Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 48, Número 2, 2014.
- carbon sources. Appl. Biochem. Biotechnol. 161: 347
- Valiño, E., Elías, A., Torres, V., Carrasco, T. & Albelo, N. 2004b. Improvement of sugarcane bagasse composition by the strain *Trichoderma viride* M5-2 in a solid state fermentation reactor. Cuban J. Agric. Sci. 38:143
- Valiño, E., García, R. & Albelo, N. 2004 a. Effect of the inoculation of the *Trichoderma viride* 137MCX-1 strain on mixtures of *Vigna unguiculata* and sugar cane bagasse for reducing antinutritional factors. Cuban J. Agric. Sci. 38:61
- Valiño, E.C., Ibarra, A., Savón, L.L. & Albelo, N. 2010. Biotransformación de las harinas de follaje de *Lablab purpureus* (dolico) y *Stizolobium niveum* (mucuna) por la cepa *T.viride* M5-2. II Congreso de Producción Animal. CD-ROM. La Habana
- Van Dyk, J.S & Pletschke, B.I. 2012. A reviews of lignocellulose bioconversion using enzymatic hydrolysis and synergistic cooperation between enzymes- factor affecting enzymes, conversion and synergy. Biotech. Adv. 30: 1458
- Wilson, D.B. 2011. Microbial diversity of cellulose hydrolysis. Curr Opin Microbiol 14: 259
- Zhang, Y-H.P., & Lynd, L.R. 2006. A functionally based model for hydrolysis of cellulose by fungal cellulose. Biotechnol Bioeng 94:888

Recibido: 30 de mayo de 2013