

# OBTENCIÓN DE UN ADITIVO MICROBIANO PRODUCTO DE LA FERMENTACIÓN DE LOS DESECHOS DEL PASTIFICIO POR *Aspergillus niger* y *Saccharomyces cerevisiae* Y SU EVALUACIÓN NUTRICIONAL EN POLLOS DE ENGORDE

## Obtaining a Microbial Additive Product of Pasta Waste Fermentation by *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* and its Nutritional Evaluation in Broilers

Gabriela Domínguez<sup>1</sup>, Annalisse Bertsch<sup>1\*</sup>, Claudio Mazzani<sup>2</sup>, Odalis Luzón<sup>2</sup> y Vasco de Basilio<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología Agroindustrial. <sup>2</sup>Laboratorio de Micotoxicología. Instituto de Química y Tecnología.

<sup>3</sup>Instituto de Producción Animal. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela.

Apdo. 4579. Maracay, 2101, Venezuela. E-mail:bertscha@gmail.com

### RESUMEN

En el presente trabajo se obtuvo un aditivo microbiano por fermentación de los residuos del pastificio compuesto por almidón (79,96%) y proteínas (11,96%) utilizando *Aspergillus niger* y *Saccharomyces cerevisiae* en cocultivo y se evaluó el efecto de inclusión en la dieta de pollos de engorde sobre los parámetros productivos. El aditivo se incluyó a (30 (T1); 300 (T2) y 3.000 (T3) mg / kg) respecto a un control sin la adición del aditivo (T0), utilizando un diseño completamente aleatorizado con 3 repeticiones por tratamiento. Durante la fermentación, el almidón fue hidrolizado en 88,89%, resultando en un incremento de glucosa en el caldo de 93,47%. Una vez inoculada levadura *S. cerevisiae*, se evidenció la utilización del 99,16% de los azúcares para su crecimiento, concluyendo que los microorganismos *A. niger* y *S. cerevisiae* pueden coexistir de manera eficiente. El aditivo microbiano estuvo compuesto principalmente por proteína (38,5%) y azúcares (27,6%) y presentó las siguientes actividades enzimáticas: amilolítica 16.000 FAU/g; glucoamilasa 5.328,9 U/g, fitasa 6.819,6 U/g, xilanasa 45,29 U/g y proteasas 39,73 U/g. Adicionalmente, se demostró la viabilidad de las células de la levadura ( $2 \times 10^2$  UFC/mL). El consumo y la conversión alimenticia de los pollos fueron significativamente ( $P < 0,05$ ) más bajos en los tratamientos T1, T2 y T3 en relación con el tratamiento testigo T0. En cuanto a la ganancia de peso no se encontró diferencia estadística ( $P > 0,05$ ). La producción de aditivos microbianos a partir de la fermentación conjunta de *A. niger* y *S. cerevisiae* de los desechos del pastificio es una tecnología limpia, técnicamente viable y su uso es factible en la alimentación de los pollos de engorde.

**Palabras clave:** *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentación, pollos engorde.

### ABSTRACT

In this work was obtained and evaluated an additive by microbial fermentation of pasta waste composed of starch (79.96%) and protein (11.96%) using *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* in coculture and it was evaluated the effect of its inclusion in broilers diets on the productive parameters. The additive was included at different levels (30 (T1) -300 (T2) and 3,000 (T3) mg / kg) and compared to a control (T0) using a completely randomized design. During the fermentation hydrolyzed starch was 88.89%, resulting in an increased of glucose in culture broth of 93.47%. Once inoculated yeast *S. cerevisiae* was evident the use of 99.16% of the sugars for growth, concluding that the microorganism *A. niger* and *S. cerevisiae* can coexist efficiently. The microbial additive was composed mainly of protein (38.5%) and sugar (27.6%), and presented the following enzyme activities: amylases 16,000 FAU/g; glucoamilase 5,328.9 FAU/g; phytase 6,819.6 U/g; xylanase 45.29 U/g and proteases 39.73 U/g. The viability of the cells of the yeast ( $2 \times 10^2$  CFU / mL) was demonstrated. The broilers consumption and feed conversion were significantly ( $P < 0.05$ ) lower in treatments T1, T2 and T3 in relation to the control T0. The weight gain we found no significant differences ( $P > 0.05$ ). The production of microbial additives from the fermentation for *A. niger* and *S. cerevisiae* of pasta waste is a clean technology, technically viable, and its use is feasible in feedstock for broilers.

**Key words:** *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae*, fermentation, broilers.

## INTRODUCCIÓN

El sistema de alimentación avícola en Venezuela se basa en la utilización de materias primas importadas, caracterizadas por ser mayoritariamente importadas, escasas, con altos precios y baja calidad [5]. Durante años, se ha estudiado la utilización de materias primas alternativas, sin embargo, su uso está limitado debido a la presencia de factores antinutricionales y gran variabilidad en cuanto a disponibilidad de sustancias nutritivas [16]. Recientemente, la posibilidad de obtener aditivos enzimáticos a través de procesos biotecnológicos representa una alternativa con un impacto relevante desde los puntos de vista económico, nutricional, industrial y ambiental [15]. La economía de los procesos biotecnológicos depende en gran medida de la disponibilidad y del valor monetario del sustrato utilizado, de tal manera que la correcta selección del medio de cultivo, tiene un fuerte impacto en el éxito del proceso [20]. Por tal razón, la búsqueda de materias primas de bajo costo y fácil adquisición, que puedan ser utilizados como sustratos fermentables (fuentes de Carbono o Nitrógeno) en la preparación de medios de uso microbiológico, constituye uno de los retos más interesantes de la biotecnología actual [7].

En Venezuela, uno de los residuos agroindustriales de fácil adquisición, producido masivamente es el generado durante el procesamiento de pasta alimenticia, conocido como pasta húmeda, cuya limitación para su uso es la alta humedad, que la hace susceptible a la descomposición [19]. Este residuo representa un 0,2% (600 ton/anuales) de la producción nacional de pasta alimenticia y está compuesta principalmente por almidón (72%), proteínas (11,96%) y una proporción menor en glucosa, grasa, fibra y ceniza. En los procesos biotecnológicos a partir de desechos ricos en almidón se requiere de la actividad de microorganismos capaces de degradar ese tipo de sustrato. En este sentido, *Aspergillus var. niger* van Tieghem presenta la capacidad de excretar enzimas amilolíticas capaces de hidrolizar el almidón, hasta azúcares simples. Estos últimos pueden ser utilizados en procesos de fermentación por algunos microorganismos como *Saccharomyces cerevisiae*, obteniendo una amplia gama de productos como etanol, biomasa y aditivos enzimáticos microbianos [19]. Estos dos microorganismos son considerados seguros (*Generally Recognized as Safe* GRAS) por lo que se permite su uso en la alimentación animal [25].

Los aditivos microbianos son ampliamente utilizados en la formulación de los alimentos debido a que facilitan la digestión de los alimentos en los animales, estabilizan la flora intestinal y funcionan como mejoradores del desempeño productivo. En algunas investigaciones se ha reportado que los aditivos microbianos de uso más difundido en las dietas de animales se obtienen por fermentación con *Aspergillus* spp. o cultivos de *S. cerevisiae* [15, 29]. La aplicación del cocultivo o cultivo mixto permite la combinación de las bondades metabólicas de cada microorganismos resultando en la hiperproducción de bioproductos, tales como el etanol, hidrógeno, ácidos orgáni-

cos, biopolímeros, pigmentos, compuestos de aroma y antimicrobianos, biomasa o enzimas [2].

En este sentido, el presente trabajo tuvo como objetivo la obtención y evaluación de las propiedades nutricionales de un aditivo microbiano producto de la fermentación de los desechos del pastificio por el cocultivo de *A. niger* y *S. cerevisiae* así como su efecto en la alimentación de pollos (*Gallus gallus*) de engorde .

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Etapa I. Fermentación del desecho del pastificio

#### Caracterización de la materia prima

Los desechos de pasta húmeda suministrados por una empresa comercial, fueron conservados en un congelador a -2°C Frigidaire (Canadá). Estos residuos fueron analizados en cuanto a su contenido de humedad, cenizas, grasa, proteínas, almidón y fibra, de acuerdo a la metodología señalada por la AOAC [1]. El contenido de (azúcares reductores) glucosa se determinó por espectrofotometría [21].

**Proceso de fermentación.** Se utilizó el aislado de *A. niger* ANM-1 perteneciente a la colección del cepario del laboratorio de Microbiología de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela [19]. Adicionalmente, se utilizó la levadura deshidratada *S. cerevisiae* (Fleischmann).

En el pre-cultivo se utilizó una solución salina compuesta por 5 g de sulfato de magnesio, 2 g de sulfato de amonio, 2 g de fosfato de potasio, 2 g de extracto de levadura y 10 g de sustrato (desecho del pastificio) en un litro de agua. El pH fue ajustado a 4,27 mediante un pHmetro (Hanna 8417 Instruments®, México). Se utilizó un inóculo del 10% de suspensión de esporas de *A. niger* obtenida mediante el raspado con agua destilada estéril de la superficie de una colonia en crecimiento de *A. niger* en papa dextrosa agar en cuña utilizando una asa de platino. La suspensión formada se filtró con gasas estériles eliminando los restos de micelio y conidioforos. La siembra del hongo fue de  $1 \times 10^6$  esporas por mililitro, contabilizada a través de la cámara de Newbauer. El precultivo una vez inoculado fue colocado a 37°C y 90 rpm (Incubadora lab. Companion SI-300, Korea) por 48 horas. En el caso de la levadura, para el precultivo se utilizó la solución salina descrita anteriormente con la adición de 5 g/L de glucosa. El inóculo fue de 20 g/L de levadura seca.

Los microorganismos fueron cultivados en un fermentador Microferm New Brunswick Scientific (EUA), de 4 litros de capacidad, a 38°C, 300 rpm, aireación de 2 vvm, el inóculo fue del 10% y se utilizó el medio antes descrito a pH 4,27 con la adición de 150 g/L del sustrato. La fermentación inicialmente fue realizada por *A. niger* por 19 horas, luego se inoculó la levadura *S. cerevisiae* hasta alcanzar un tiempo total de 48 horas de cocultivo.

### Estudio de la cinética de fermentación

Se realizó el monitoreo de los cambios producidos en el caldo de fermentación durante el proceso mediante la medición de pH (Hanna 8417 Instruments®, Mexico), glucosa, almidón, a través de las metodologías antes mencionadas [1]. Se evaluó la actividad de la glucoamilasa en el caldo. Dicha actividad enzimática fue reportada en unidades internacionales (UI/mL), definiendo esta unidad como la cantidad de enzima que produce un 1µmol de glucosa /mL en 30 minutos a pH 5 y 60°C a partir de una solución con almidón [23]. La actividad enzimática del alfa-amilasa fue reportada en Unidades Amilolíticas (UA/mL), la cual está definida como la capacidad de hidrolizar 0,1mg de almidón/mL en 30 minutos a pH 5 y 37°C [13].

A través de pruebas cualitativas se determinó la presencia de actividad amilásica en el caldo de fermentación mediante su incorporación en placas con 1% de almidón y agar. Adicional a ello, se determinó la capacidad de *A. niger* de excretar enzimas fitasas, evidenciando esto mediante pruebas cualitativas de incorporación en placas cuyo medio estaba compuesto por agar y fosfato [19].

### Etapa II. Procesamiento del caldo de fermentación

El caldo de fermentación fue deshidratado en un secador de bandeja Proctor Schwartz (Philadelphia-EUA) a 50°C por 8 horas. El producto seco se caracterizó en cuanto a humedad, grasa, cenizas, proteínas, glucosa, almidón, fibra cruda, actividades enzimáticas de la glucoamilasa, amilasa, fitasa y proteasas [1, 13, 21, 23,]. De igual forma, se determinó la viabilidad de las células de levadura y del moho mediante recuento por incorporación en placas [19].

### Etapa III. Prueba zootécnica

El experimento se realizó en la sección de aves de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, Núcleo Maracay, la cual se encuentra a 480 m.s.n.m., presentando una temperatura media anual de 25°C y una humedad relativa promedio de 75% [10].

Para ello se utilizó un galpón de 4 metros de ancho y 8 metros de largo, con cuatros salas, de los cuales se utilizaron 2 salas de 6 puestos (1x1m). El galpón poseía piso de concreto, con puestos separados con malla, cortinas móviles en todo el perímetro. Para el suministro del alimento se contó con comederos de plato, así como bebederos de galón para el suministro de agua durante los primeros 7 días, los cuales luego se reemplazaron por comederos de tolva y bebederos de campana, respectivamente. El suministro de calor en la etapa inicial se realizó a través de bombillos de 100 Watts que luego se utilizaron para suministrar luz en régimen 24/24h. Pasado el día 21, se elevó la cortina del galpón a fin de proporcionar una mayor ventilación y aire fresco. Se utilizaron 120 pollitos del híbrido Cobb-500 emplume lento, sin sexar (tal como son criados en forma comercial en Venezue-

la) seleccionados mediante una distribución de frecuencia de peso de una población inicial de 300 pollos cuyo peso promedio inicial fue de 45 gramos [6]. En cada uno de los 12 puestos se colocaron 10 pollitos. El sistema de alimentación fue: un preiniciador comercial (0-7 días), crecimiento (7-21 días) y engorde (22-35 días) (TABLA I). El alimento experimental se mezcló de manera homogénea junto con las proporciones del aditivo microbiano según el tratamiento en una mezcladora Alfa Laval (Suecia) de 70 Kg.

Se llevó un control semanal del peso corporal de las aves empleando una balanza electrónica Thomas Scientific (EUA) con 1g de precisión y capacidad de 65 kg, y el consumo del alimento con base al peso de los residuos del alimento durante 35 días. Con éstos se procedió a calcular la ganancia de peso y los valores de conversión alimenticia.

El ensayo se realizó de acuerdo a un diseño completamente aleatorizado para evaluar el efecto sobre las variables productivas en pollos de engorde, de la incorporación del aditivo en 4 concentraciones (tratamientos) (TABLA II). Cada tratamiento constó de 3 repeticiones, para un total de 12 unidades experimentales. Debido al desbalance, detectado al día 21 de edad entre los sexos, se determinó la diferencia de peso vivo promedio existente entre las aves hembra y machos por tratamiento. Con esta se realizó la corrección de los datos de ganancia de peso a los 35 días considerando que la relación entre macho y hembra sea 1:1. Los resultados obtenidos con o sin el ajuste por sexo, se evaluaron mediante un análisis de varianza (ANAVAR) y en los casos donde se encontró diferencias significativas se aplicó la prueba de medias de Fisher ( $P<0,05$ ) empleando el paquete estadístico StatView 1998 (Apple Mascintosh) [27].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Estudio de la cinética de fermentación

Durante la fermentación se observó la disminución en 88,89% del contenido de almidón y el incremento en 93,47% de la cantidad de glucosa en el caldo (FIG. 1a). Esta hidrólisis del almidón del sustrato fue producto de la acción de las enzimas excretadas por *A.niger*, liberando azúcares fermentables [22]. La concentración de glucosa alcanzó su punto máximo (14,41 g/100mL) a las 19 horas, momento en el cual se inoculó la levadura *S.cerevisiae* y a partir de allí se evidenció la utilización del 99,16% de los azúcares fermentables para su crecimiento. Lo anterior permite evidenciar que *A. niger* y *S. cerevisiae* son capaces de coexistir de manera eficiente. El uso de este cocultivo permitió que los niveles de azúcares no causarían cambios en *A. niger* producto del mecanismo de regulación fisiológica conocido como represión catabólica [12].

Por otra parte, se observó que el pH descendió durante la fermentación de 4,5 a 2,2 representando una disminución en un 51,11% atribuido a la producción de ácidos orgánicos por ambos microorganismos durante el proceso (FIG. 1a) [28].

**TABLA I**  
**FORMULACIÓN Y COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA**  
**DEL ALIMENTO EXPERIMENTAL UTILIZADO**  
**EN EL ENSAYO ZOOTÉCNICO**

Compuesto	Iniciador (%)	Engorde (%)
Maíz	51,66	53,65
Soya	40,10	35,61
Aceite de soya	3,94	6,97
Prem. Min-Vit	0,35	0,33
Sal	0,35	0,38
Carbonato de calcio	0,99	1,08
Fosfato mono cálcico	1,97	1,79
Lisina	0,31	0,03
Metionina	0,33	0,16
Composición bromatológica (% Base seca)		
Proteína	25,49	25,60
Fibra	3,66	3,74
Grasa	6,64	6,93
Ceniza	6,50	5,20

**TABLA II**  
**DIETAS UTILIZADAS EN EL ENSAYO CON POLLOS**  
**DE ENGORDE**

Tratamiento	Relación entre los componentes de la dieta
T0	Alimento experimental + 0 mg/kg aditivo microbiano
T1	Alimento experimental + 30 mg/kg aditivo microbiano
T2	Alimento experimental + 300 mg/kg aditivo microbiano
T3	Alimento experimental + 3.000 mg/kg aditivo microbiano

Se evidenció que la máxima actividad enzimática de las amilasas ocurrió a las 19 horas de fermentación con un valor de 60,50 UA/mL coincidiendo con el punto máximo de glucosa en el caldo. En cuanto a la actividad enzimática de la glucoamilasa se observó un punto máximo a las 45 horas de fermentación con un valor de 11,37 UI/mL (FIG. 1b). Es importante resaltar estas actividades enzimáticas en el caldo crudo aún a valores de pH inferiores ( $2,5 \pm 0,1$ ) a los reportados por otros investigadores [11, 24], ampliando el rango de uso de dichas enzimas. Se observó de manera cualitativa la presencia de amilasas y fitasas, respectivamente, mediante la formación de un halo trasparente en placas con agar-almidón, así como en placas con el medio agar-fosfato [19].

#### Caracterización del aditivo microbiano

Durante el procesamiento del caldo de fermentación se determinó que el rendimiento en el secado fue de 43 gramos

de producto seco/litro de caldo. La composición fisicoquímica y las propiedades enzimáticas del aditivo microbiano obtenido se muestran en la TABLA III. Se observó que el producto está compuesto principalmente por proteína y azúcares, además de minerales y grasa. El enriquecimiento proteico fue de 68,93% del producto respecto al sustrato original debido al aporte de la biomasa microbiana [7, 26]. Asimismo, se obtuvo la disminución en un 70,38% del contenido del almidón con respecto a la materia prima, producto de la hidrólisis por las enzimas excretadas por *A. niger* durante el proceso de fermentación.

Las amilasas en el aditivo mostraron la capacidad de degradar 16.000 mg de almidón/hora por gramo de producto (FAU/g). En cuanto a la glucoamilasa, el producto presentó una actividad capaz de producir 5.328,9 micromoles de azúcares/hora por gramo de producto (U/g), usando como sustrato almidón. También, se confirmó que el aditivo presenta una actividad de las fitasas de 6.819,6 micromoles de fósforo/hora por gramo de producto (U/g), proteasas 39,73 micromoles de tirosina/hora por gramo de producto (U/g) y xilanasas 45,29 micromoles de xilano/hora por gramo de producto (U/g). Debido a que el aditivo presentó estos distintos tipos de actividad enzimática es posible que actúe como un aditivo multi-enzimático. Estudios recientes señalan que, basado en la fracción no digestible en dietas maíz-soya (*Zea mays-Glycine max*) es recomendable para minimizar los requerimientos de mantenimiento y reducir los efectos de los compuestos antinutritivos (fitato y fibra), utilizar aditivos que contengan fitasas, xilanasas, amilasas y glucanasas. Esto contribuye a aprovechar cerca del 30% del almidón no digestible, aminoácidos, grasa, calcio y alrededor del 60% del fósforo no digestible [9].

Adicionalmente y por medio del contaje en placa se pudo corroborar la viabilidad sólo de las células de la levadura ( $2 \times 10^2$  UFC/mL) en el producto. Esta levadura es considerada un probiótico que puede desarrollarse a la temperatura interna de las aves (37°C) y al pH de la molleja, ejerciendo efectos antimicrobianos. Se ha demostrado su efecto en el mejoramiento de la eficiencia productiva de pollos de engorde, debido a la presencia de betaglucanos y mananos en su pared celular [4, 17].

#### Prueba zootécnica

Los resultados obtenidos durante la experiencia se detallan en la TABLA IV. El peso promedio de los pollitos al día 7 fue de 276 gramos. El análisis de los datos para la ganancia de peso en todo el estudio (TABLA IV) no presentó diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,05$ ) con un promedio de ganancia de peso de 0 a 35 días de 1.598,5 g sin ajuste y aún aplicando el factor de corrección que permitió balancear la proporción macho-hembra (1:1) por tratamiento (ganancia de peso de 1.617,6 g) no hubo diferencias significativas. El tratamiento T0 presentó una proporción macho/hembra de 1,167, mientras que los tratamientos T1, T2 y T3 presentaron valores de 0,826; 0,532 y 0,595, respectivamente. Es importante resaltar la gran variabilidad de los promedios reflejados en la desviación, esto pudiera en parte explicar que aún con diferencias

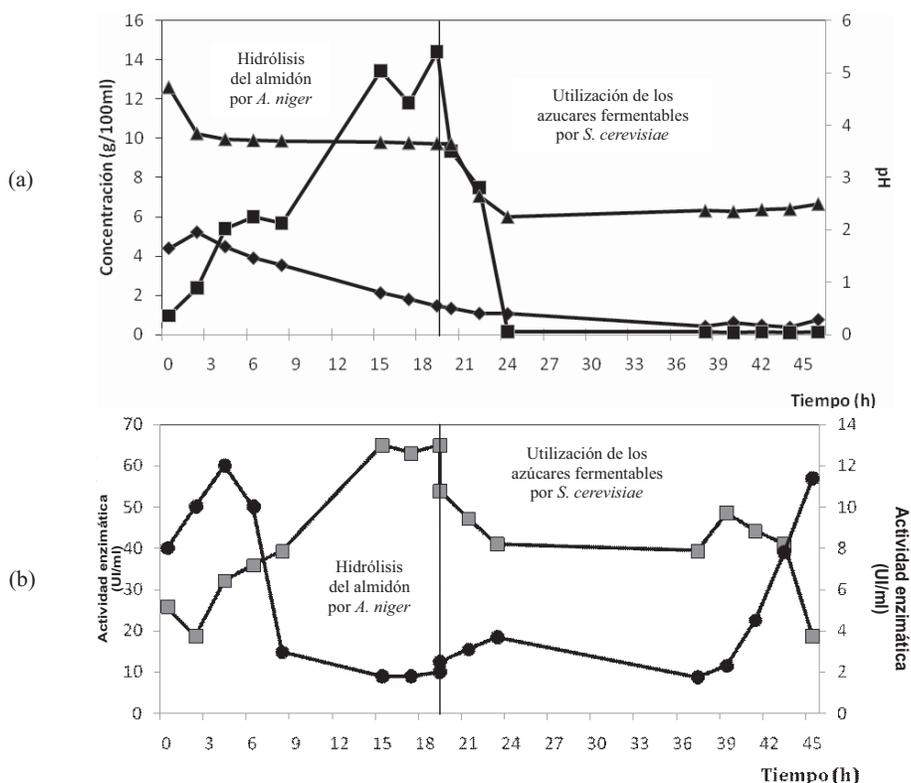


FIGURA 1. (a) DEGRADACIÓN DEL ALMIDÓN (♦), PRODUCCIÓN DE GLUCOSA (■) Y VARIACIÓN DEL pH (▲), (b) VARIACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE AMILASAS (■) Y DE LAS GLUCOAMILASAS (●), DURANTE EL PROCESO DE FERMENTACIÓN MICROBIANA.

TABLA III  
COMPOSICIÓN FÍSICOQUÍMICA Y PROPIEDADES ENZIMÁTICAS DE LA PASTA HÚMEDA Y DEL ADITIVO MICROBIANO

Parámetro % (Base seca)	Sustrato (Desecho del pastificio)	Aditivo microbiano
Almidón	79,96	23,68
Proteína	11,96	38,50
Azúcares reductores	4,13	27,6
Grasa	2,28	2,98
Fibra	0,73	1,93
Ceniza	0,94	5,20
Actividad amilasas (FAU/g)*	-	16.000,0
Actividad glucoamilasas (U/g)**	-	5.328,6
Actividad fitasas (U/g)***	-	6.819,6
Actividad xilanasas (U/g)****	-	45,29
Actividad proteasas (U/g)*****	-	39,73

\*FAU/g = actividad expresada en mg almidón /g.h \*\* U/g= actividad expresada en μmol glucosa/g.h \*\*\* U/g = μmol fosforo/g.h \*\*\*\* U/g= actividad expresada en μmol xilosa /g.h \*\*\*\*\* U/g = actividad expresada en μmol Tirosina/g.h

numéricas no se obtengan diferencias estadísticas. Al realizar la corrección en la ganancia de peso se incrementó numéricamente la tendencia a superar al testigo en la ganancia de peso en 1,9; 0,95 y 1,45% de los tratamientos T1, T2 y T3, respectivamente. En este sentido, el peso corporal promedio de los tratamientos en T1, T2 y T3 resulta ser similar estadísticamente aunque más elevado numéricamente que en el control, aún ajustado para una misma proporción de machos y hembras (TABLA IV).

En este sentido se ha reportado que, el uso de aditivos enzimáticos (amilasas y xilanasas) puede tener efectos no significativos estadísticamente en la ganancia de peso de pollos de engorde y sin embargo, su acción es relevante en el mejoramiento de la digestibilidad de los polisacáridos distintos al almidón (PNA) a nivel de la parte alta del intestino delgado (yeyuno), de los aminoácidos y en la energía metabolizable en dietas maíz-soya [8, 18]. Por otra parte, un factor que determina el 90% de la variabilidad en la respuesta de los parámetros productivos y digestivos al utilizar un aditivo enzimático es el valor nutricional de la dieta utilizada en los ensayos [9].

En cuanto al consumo de alimento por las aves se evidenció en el periodo de evaluación total (7-35 días), diferencias significativamente más bajas entre los tratamientos T1 (14,3%), T2 (16,7%) y T3 (12,6%) con respecto al grupo testigo (T0). Al

**TABLA IV**  
**PARÁMETROS PRODUCTIVOS DE POLLOS DE ENGORDE CON DIETAS SUPLEMENTADAS**  
**CON DISTINTOS NIVELES DE ADITIVO MICROBIANO**

Tratamiento	Crecimiento (7-21 días)	Engorde (21-35 días)	Acumulado (7-35 días)	Acumulado corregido ** (7-35 días)
<b>GANANCIA DE PESO (g ±DE)</b>				
T0	598,7 ± 12,2	955,5 ± 90,1	1554,3 ± 91,2	1541,7 ± 158,2
T1	636,4 ± 19,4	988,7 ± 69,1	1625,2 ± 57,9	1657,2 ± 154,8
T2	642,6 ± 8,8	996,3 ± 21,2	1639,0 ± 16,5	1654,7 ± 32,5
T3	622,7 ± 39,6	952,8 ± 103,8	1575,6 ± 143,5	1598,8 ± 130,7
<b>CONSUMO DE ALIMENTO (g± DE)</b>				
T0	1315,3 ± 46,2	2537,6 <sup>a</sup> ± 124,4	3852,9 <sup>a</sup> ± 92,0	
T1	1241,3 ± 62,8	2060,4 <sup>b</sup> ± 142,5	3301,7 <sup>b</sup> ± 81,1	
T2	1237,4 ± 48,3	1970,7 <sup>b</sup> ± 7,1	3208,1 <sup>b</sup> ± 54,7	
T3	1367,6 ± 89,0	2001,3 <sup>b</sup> ± 137,9	3368,9 <sup>b</sup> ± 210,0	
<b>CONVERSIÓN ALIMENTICIA (g/g ±DE)</b>				
T0	2,1 <sup>a</sup> ± 0,060	2,6 <sup>a</sup> ± 0,124	2,4 <sup>a</sup> ± 0,088	
T1	1,9 <sup>b</sup> ± 0,070	2,0 <sup>b</sup> ± 0,184	2,0 <sup>bc</sup> ± 0,086	
T2	1,9 <sup>b</sup> ± 0,049	1,9 <sup>b</sup> ± 0,049	1,9 <sup>c</sup> ± 0,043	
T3	2,1 <sup>a</sup> ± 0,080	2,1 <sup>b</sup> ± 0,090	2,1 <sup>b</sup> ± 0,062	

<sup>a,b,c</sup>: Valores con letras diferentes dentro de la misma columna para cada parámetro productivo presentan diferencias significativas (P<0,05).

\*\* estos valores fueron corregidos balanceando la proporción macho-hembra (1:1) en los tratamientos.

realizar el análisis por etapas se comprobó que no existen diferencias significativas en el período de 7-21 días, mientras que en el período de 21-35 días, se observó una disminución significativa en el consumo de alimento para T1 (18,8%), T2 (22,3%) y T3 (21,1%) con respecto al tratamiento control. Sin embargo, esta reducción en el consumo de los tratamientos T1, T2 y T3 no pareció afectar el peso final promedio de las aves, ya que fue similar estadísticamente en todos los tratamientos (TABLA IV). Un comportamiento similar se ha reportado en pollos alimentados con dietas maíz-soya suplementados con enzimas xilanasas, pectinasas, celulasas y fitasas donde disminuye el consumo de alimentos respecto al control sin enzimas. Este efecto en el consumo del alimento en dietas suplementadas con complejos multi-enzimáticos ha sido relacionado con la satisfacción de los requerimientos nutricionales por el ave al mejorar la digestibilidad de la energía metabólica y de los aminoácidos [3, 14, 18].

Al realizar el análisis de la conversión alimenticia por etapas se evidenció para el período de 7-21 días que sólo existen diferencias significativas (P<0,05) entre T1 y T2 con respecto al tratamiento testigo. Mientras que para el período de 21-35 días se observó que existen diferencias significativas entre T1, T2 y T3 con respecto al control. En general, la conversión alimenticia durante el período de 7-35 días) mostró diferencias estadísticamente significativas (P<0,05) entre los tratamientos T1, T2 y T3 mejorando en 18,09; 21,11 y en

13,69%, respectivamente, en relación con el tratamiento testigo (T0). El mejoramiento de este índice parece señalar que la adición de los aditivos fue capaz de modificar el ambiente gastrointestinal para mejorar la eficiencia de la utilización del alimento [15]. En dietas basadas en maíz-soya con inclusión de aditivos enzimáticos se ha reportado, el mejoramiento de los parámetros productivos de pollos de engorde, al disminuir los efectos adversos de los factores antinutricionales del maíz (almidones resistentes, fitatos, y polisacáridos no almidones (PNA)) y en la soya (oligosacáridos, PNA, fitatos) al incrementar la digestibilidad de la proteína, almidón y grasa [8].

Con base al análisis de los resultados obtenidos en los parámetros productivos evaluados (TABLA IV), fue posible evidenciar que T2 (300 mg/kg) fue el que presentó mejores resultados, ya que condujo a mayor ganancia de peso, incremento en la conversión de alimentos, a pesar de la disminución del consumo. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas con respecto a la inclusión del aditivo en el nivel T1 (30 mg/kg) a pesar de la diferencia en cuanto a la proporción de machos. Por ello es posible determinar, que T1 representa el nivel recomendable de uso considerando la disminución del costo asociado a un requerimiento menor del aditivo respecto a T2 en las dietas para pollos de engorde.

Existen mejoras en cuanto a los parámetros productivos de las aves en dietas deficientes o bajo condiciones extremas con la inclusión de aditivos microbianos. Sin embargo, la dieta

suministrada en el ensayo no presentó deficiencias en sus componentes, obteniendo de igual forma resultados favorables. Es probable que la efectividad de la adición del aditivo microbiano, en cuanto a los índices de productividad se deba a que favorece la digestibilidad al aportar amilasas y fitasas [29, 30]. Esto último podría atribuirse a la facilidad de obtener mejor interacción sustrato-enzima con una mejor asimilación de nutrientes en el intestino del pollo.

## CONCLUSIONES

A partir de la fermentación de residuos de pasta por el cocultivo de *A. niger* y *S. cerevisiae* es técnicamente viable la producción de aditivos microbianos multi-enzimáticos (amilasas, glucoamilasas, fitasas, xilanasas y proteasas). El efecto de su inclusión en la dieta maíz-soya de pollos de engorde permitió el mejoramiento de la conversión alimenticia y en el consumo de alimentos, mientras que la ganancia de peso fue similar al control. Se recomienda en virtud del desbalance de sexo entre los tratamientos realizar ensayos zootécnicos en aves donde se evalúen los parámetros digestivos y productivos.

## AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (PG-01-00-72003-2008), FUNDACITE-Aragua (2008-DTH-01-15-14-3), al Proyecto LOCTI. SIDCAI N° 6455, a Maella C. A, a la Sección de aves del Instituto de Producción Animal de la Facultad de Agronomía.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official Methods of Analysis of the A.O.AC.** 15 Ed. Washington, D. C. 69-88 pp. 1990.
- [2] BADER, J.; MAST-GERLACH, E.; POPOVIC, M.K.; BAJPAI, R.; STAHL, U. Relevance of microbial coculture fermentations in biotechnology. **J. of Applied Microbiol.** 109 (2):371-389. 2010.
- [3] BALAMURUGAN, R.; CHANDRASEKARAN, D. Effect of multienzyme supplementation on weight gain, feed intake, feed efficiency and blood glucose in broiler chickens. **Indian J. of Sc. and Technol.** 3 (2):193-195, 2010.
- [4] CAMIRUAGA, M.; GARCÍA, M.; ELERA, R.; SIMONETTI, C. Respuesta productiva de pollos broilers a la adición de enzimas exógenas a dietas basadas en maíz o triticale. **Rev. Cien. e Investig. Agr.** 28(1):23-36.2001.
- [5] CHÁVEZ, A. Uso de enzimas exógenas en dietas que contienen niveles crecientes de afrechillo de trigo (AT) y su efecto en el tracto gastrointestinal (TG1), en pollos de engorde. Maracay, Venezuela. Universidad Central de Venezuela. Trabajo de Grado. 1-8 pp. 1999.
- [6] COBB-VANTRESS. Nutrición de Pollos de Engorde. Suplemento informativo de rendimiento y nutrición de pollos de engorde COBB-700. **Brasil.** 5pp. 2008.
- [7] COELLO, N.; BERNAL, C.; BERTSCH, A.; ESTRADA, O.; MOCOO, Y.; HASEGAWA, M. Las plumas como residuo agroindustrial: su utilización biotecnológica para producir insumos de interés industrial. **Rev. Fac. de Ing.-UCV.** 18 (3): 119-126. 2003.
- [8] COWIESON, A. Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. **Anim. Feed Sci. and Technol.** 119(3):293-305. 2005.
- [9] COWIESON, A. Strategic selection of exogenous enzymes for corn/soy based poultry diets. **J. Poult Sci.** 47:1-7. 2010.
- [10] GONZÁLEZ, A. Efecto de la reformulación de una dieta con un complejo enzimático de fermentación en estado sólido sobre parámetros productivos y viscosidad intestinal en pollos de engorde. Maracay, Venezuela. Universidad Central de Venezuela. Trabajo de Grado. Pp 3. 2008.
- [11] HENAO, I.; CORREA, F.; MARIN, G. Evaluación de métodos de conservación para *Aspergillus niger* con actividad enzimática amilolítica. Universidad Javariana **Universitas Scientiarum.** 12(1):95-96. 2006.
- [12] HOLKER, U.; HOFER, M.; LENZ, J. Biotechnology advantages of laboratory-scale solid state fermentation. Part I. **Process Biochem.** 12:24-27. 2004.
- [13] HOPHINS, R.; BIRD, R. The action of some  $\alpha$ -amylases on amylose. **Biochem. J.** 56:86-96. 1954.
- [14] KOSHER, A.; CHOCT, M.; PORTER, M.D.; BROST, J. The Effects of Enzyme Addition to Broiler Diets Containing High Concentrations of Canola or Sunflower Meal. **Poult. Sci.** 79:1767-1774. 2000.
- [15] LAGUNAS, I.; GARCÍA, B.; CASTAÑO, E.; REGALADO, C.; AVILA, E. Producción de enzimas hemicelulolíticas por fermentación sólida y su aplicación en alimentos balanceados para pollos de engorda. **Mex. Vet.** 37 (1):1-13. 2006.
- [16] LEÓN, A.; ANGULO, I.; JARAMILLO, M.; CALÍBRESE, H.; MADRIGAL, J.; REQUENA, F. Valoración nutricional de materias primas alternativas utilizadas en la alimentación de aves. **Fonaip Divulga.** 37:1-3. 1991.
- [17] LÓPEZ, R. Las paredes celulares de levadura *Saccharomyces cerevisiae*: Un aditivo natural capaz de mejorar la productividad y salud del pollo de engorde. Universidad Autónoma de Barcelona. Trabajo de Grado. 78-94 pp. 2007.
- [18] MÉNDEZ, A.; CORTÉS, D.; FUENTE, B.; LÓPEZ, C.; AVILA, E. Efecto de un complejo enzimático en dietas sorgo+soya sobre la digestibilidad ileal de aminoácidos, energía metabolizable y productividad en pollos. **Téc. Pec. Mex.** 47(1):15-25.2009.

- [19] MUJICA, M. Bioconversión de los residuos del procesamiento de pasta alimenticia en etanol por *Aspergillus niger* y *Saccharomyces cerevisiae*. Maracay, Venezuela. Universidad Central de Venezuela. Tesis de Grado. 1-32 pp. 2006.
- [20] NEGRÍN, S.; SOSA, A.; AYALA, M.; DIOSDADO, E.; PÉREZ, M.; PUJOL, M.; FERNÁNDEZ, J.; MUZIO, V.; CASTELLANOS, L.; GONZÁLEZ, L.; CREMATA, J.; QUINTANA, M.; PÉREZ, G.; VALDÉS, J.; RODRÍGUEZ, M.; BORROTO, M.; GONZÁLEZ, C.; MORALES, J.; DUARTE, C.; PÉREZ, R.; UBIETA, R.; COSTA, L.; ROSALES, I.; HERRERA, L.; LAGE, A. Enseñanza popular de la biotecnología. **Rev. Biotecnol. Aplic.** 24:53-57. 2007.
- [21] NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **J. Biol. Chem.** 153:375-380. 1944.
- [22] NIGAM, P.; SINGH, D. Enzyme and microbial systems involved in starch processing. **Enzyme and Microbial Techn.** 17:77-778. 1995.
- [23] OLMOS, A. Enzimas. Reportes de biotecnología. Edit. Universidad Autónoma Metropolitana de Iztalapa. México. 5. 36-39pp.1987.
- [24] SALAS, M.; RODRÍGUEZ, M.; PÉREZ, N.; PÉREZ, R. Amylase production by *Aspergillus niger* in submerged cultivation on two wastes from food industries. **J. Food Engin.** 73:93-100. 2006.
- [25] SCHUSTER, N.; DUNN-COLEMAN, N.; FRISVAD, J.; DIJCK, P. On the safety of *Aspergillus niger*. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 59:426-435. 2002.
- [26] SCRAGG, A. Cinética del crecimiento. **Biotecnología para ingenieros**. 3era impr. Editorial Limusa S.A. de C.V. Mexico. 31 pp. 2000.
- [27] STEEL, D. R. G., TORRIE, J. H.; DICKEY, D. A. Analysis of variance I: one-way classification. **Principles and procedures of statistics a biometrical approach**. McGraw-Hill Co. 3ª Ed. 666 pp. 1997.
- [28] VEGA, A.; FLORES, L.; CADAVID, A. Caracterización de una cepa nativa de *Aspergillus niger* y evaluación de la producción de ácido cítrico. **Rev. Univ. EAFIT.** 128:33-42. 2002.
- [29] WILLIAM, P.; NEWBOLD, C. Rumen probiosis: the effects of novel microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. **Rec. Adv. in Anim. Nutrit.** 14:211-227. 1990.
- [30] ZAKARIA, H.; JALAL, M.; ISHMAIS, M. The influence of supplemental multi-enzymes feed additive on the performance carcass characteristic and meat quality traits of broilers chickens. **Internat. J. of Poult. Sci.** 9 (2): 126-133. 2010.