



MEJORA DEL VALOR NUTRITIVO DE HARINA DE FOLLAJE DE *LUPINUS MUTABILIS* SWEET MEDIANTE FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO CON LAS CEPAS *ASPERGILLUS NIGER* J1 Y *TRICHODERMA VIRIDE* M5-2

IMPROVEMENT OF THE NUTRITIONAL VALUE OF *LUPINUS MUTABILIS* SWEET FOLIAGE MEAL BY SOLID-STATE FERMENTATION WITH *ASPERGILLUS NIGER* J1 AND *TRICHODERMA VIRIDE* M5-2 STRAINS.

David Catagua^{*1,2} , Julio Dustet Mendosa²  y Elaine Valiño Cabrera³ 

¹Escuela Superior Politécnica del Litoral, ESPOL, Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), Campus Gustavo Galindo Km. 30.5 Vía Perimetral, P.O. Box 09-01-5863, Guayaquil, Ecuador.

²Universidad Tecnológica de La Habana “José Antonio Echeverría”. 11901. Calle 114, s/n, Marianao, Ciudad de La Habana, Cuba.

³Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

*Autor para correspondencia: david.catagua@espol.edu.ec, catagua@quimica.cujae.edu.cu

Manuscrito recibido el 12 de mayo de 2022. Aceptado, tras revisión el 14 de septiembre de 2022. Publicado el 1 de marzo de 2025.

Resumen

Para incrementar el valor nutritivo de la harina de follaje de *Lupinus mutabilis* Sweet (chocho) por medio de una fermentación en estado sólido con las cepas *Aspergillus niger* J1 y *Trichoderma viride* M5-2 se efectuaron 2 experimentos a nivel de laboratorio. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con arreglo factorial 2×8 y tres repeticiones. Como factores se seleccionaron las dos cepas de hongos lignocelulolíticos y los tiempos de fermentación (0, 24, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 h). Se tomaron muestras cada 24 h para los análisis enzimáticos (exo β1-4 glucanasa) y composición química (fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD), celulosa y lignina). Se midió el pH y la humedad en el sustrato, así como la composición de contenido fenólico y flavonoides. Se observaron variaciones en las propiedades físico-químicas de la harina estudiada, con disminución de la FND, flavonoides y el contenido fenólico por ambas cepas, alcanzando un máximo de 12, 75 y 84% respectivamente en un tiempo máximo de 168 horas en la fermentación con *A. niger* J1 ($P<0,01$). En la cinética enzimática se observó interacción en todos los factores ($P<0,01$). Se registraron valores altos de enzimas exo β 1-4 glucanasa en *L. mutabilis* Sweet con la cepa *T. viride* M5-2 a las 96 h y sostenida esta actividad en el tiempo para *A. niger* J1 con 0,189 UPF/mL. Las cepas *T. viride* M5-2 y *A. niger* J1 mejoran el valor nutritivo de la harina de leguminosa.

Palabras clave: Leguminosa, Fermentación sólida, antinutrientes, monogástricos.

Abstract

To increase the nutritive value of *Lupinus mutabilis* Sweet (chocho) foliage meal by solid-state fermentation with *Aspergillus niger* J1 and *Trichoderma viride* M5-2 strains, two laboratory experiments were carried out. A completely randomized design with 2×8 factorial arrangement and three replicates was used. The two strains of lignocellulolytic fungi and the fermentation times (0, 24, 48, 72, 96, 120, 144 and 168 h) were selected as factors. Samples were taken every 24 h for enzymatic analyses (exo β 1-4 glucanase) and chemical composition (neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), cellulose and lignin). Substrate pH and moisture, as well as phenolic and flavonoid content composition were measured. Variations in the physicochemical properties of the flour studied were observed, with decreases in NDF, flavonoids and phenolic content by both strains, reaching a maximum of 12, 75 and 84% respectively in a maximum time of 168 hours in the fermentation with *A. niger* J1 ($P<0.01$). In enzyme kinetics, interaction was observed in all factors ($P<0.01$). High values of exo β 1-4 glucanase enzymes were recorded in *L. mutabilis* Sweet with strain *T. viride* M5-2 at 96 h and sustained this activity over time for *A. niger* J1 with 0.189 UPF/mL. *T. viride* M5-2 and *A. niger* J1 strains improve the nutritive value of legume meal.

Keywords: Legume, Solid Fermentation, antinutrients, monogastrics.

Forma sugerida de citar: Catagua, D., Dustet Mendosa, J. y Valiño Cabrera, E. (2025). Mejora del valor nutritivo de harina de follaje de *Lupinus mutabilis* Sweet mediante fermentación en estado sólido con las cepas *Aspergillus niger* J1 y *Trichoderma viride* M5-2. La Granja: Revista de Ciencias de la Vida. Vol. 41(1):140-150. <https://doi.org/10.17163/lgr.n41.2025.09>.

IDs Orcid:

David Catagua: <https://orcid.org/0000-0002-9418-7253>

Julio Dustet Mendosa: <https://orcid.org/0000-0002-2044-0383>

Elaine Valiño Cabrera: <https://orcid.org/0000-0003-4178-3286>

1 Introducción

Lupinus mutabilis Sweet (chocho) es un cultivo con pocas exigencias nutricionales y se desarrolla en suelos marginales. Sus granos tienen un elevado valor nutritivo aportando proteínas muy valiosas en la dieta humana. Además, esta leguminosa preserva la fertilidad del suelo a través de la fijación de nitrógeno, es rica en calcio y proteínas, y su cultivo se ha extendido por todo el Ecuador, convirtiéndose en la protagonista de proyectos de desarrollo en zonas indígenas del país (Martínez Flores et al., 2016).

Se considera que el grano de *L. mutabilis* Sweet posee un alto valor nutricional; de igual forma, las proteínas y aceites componen más de la mitad de su peso en promedio y a partir de los análisis bromatológicos posee 35,5% de proteína, 16,9% de aceites, 7,65% de fibra cruda, 4,15% de cenizas y 35,77% de carbohidratos (Carvajal-Larenas, 2019). Además posee algunas proteínas que tienen la particularidad de reducir los niveles de glucosa en sangre (Vargas-Guerrero et al., 2014; Gulisano et al., 2019).

Por ser un cultivo de ciclo corto y luego de cosechado el grano de *L. mutabilis* Sweet queda un residuo constituido por el follaje y las vainas que pueden llegar a representar el 75% del peso de la planta. Este residuo suele ser incorporado nuevamente al suelo para que por degradación natural sus nutrientes regresen al suelo; por otro lado, este desecho puede también ser utilizado como fuente de alimentación para el ganado. Este residuo generalmente posee un contenido elevado de fibra que está constituido por fibra bruta (FB), fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD).

La fibra puede definirse como el conjunto de componentes de los vegetales que posee baja digestibilidad y promueve el equilibrio ruminal, debido a esto su uso ha estado principalmente dirigido hacia los rumiantes; no obstante, es posible incluirlo en dietas de ganado monogástrico (Savón et al., 2005). Sin embargo, su uso requiere una estrategia apropiada de transformación, para lograr sistemas de producción socialmente deseables y económicamente viables (Savón et al., 2005; Trujillo and Escobar, 2012; Rodríguez García, 2017) debido a la cantidad de compuestos antinutricionales (fibra, contenido fenólico, flavonoides, taninos) que se encuentran presentes en este tipo de harinas

(Molina-Poveda et al., 2013; Díaz Sánchez et al., 2017; Martínez-Pérez et al., 2018). En el caso de la FND se recomienda que su contenido no exceda del 65% y la FAD no sea mayor que 45% (Linn and Martin, 1991), sin embargo, aunque los polifenoles cuentan con efectos beneficiosos para la salud animal, un contenido elevado de estos afecta el valor nutricional del sustrato (Siddhuraju et al., 2000; Besada et al., 2019).

La fermentación en estado sólido (FES) es un método de transformación que consiste en el crecimiento de microorganismos sobre un sustrato y bajo ciertas condiciones de humedad, pH, temperatura, facilita su crecimiento, desarrollo y reproducción (Pandey, 2003). En el caso de estudio, los microorganismos utilizados aprovechan los compuestos antinutricionales (FAD, FND, Polifenoles) como fuente de alimento para su crecimiento, logrando así su reducción. El uso de las FES ha demostrado el incremento del valor nutricional de los sustratos fermentados, así como la inocuidad de estos para su uso en la alimentación animal.

Valiño et al. (2015) incrementaron el valor nutritivo de la harina de cuatro leguminosas usando fermentación sólida con *T. viride* M5-2 para su uso en especies monogástricas. Varadyova et al. (2018) publicaron una revisión en donde demostraban que el uso de sustratos que han sido enriquecidos por un proceso de fermentación sólida puede aumentar la concentración de ácidos grasos poliinsaturados en el rumen. En 2019, Sugiharto y Ranjitkar demostraron que la fermentación además de ser un medio económico para incrementar el valor nutricional de los ingredientes usados en los piensos de pollos de engorde también ejerce una influencia beneficiosa sobre el ecosistema y la morfología del intestino, las funciones inmunitarias y el rendimiento de crecimiento de las aves (Valiño et al., 2015; Varadyova et al., 2018; Sugiharto and Ranjitkar, 2019).

Como objetivo de esta investigación se pretende mejorar el valor nutritivo de la harina de follaje de *L. mutabilis* Sweet mediante la fermentación sólida con las cepas *Aspergillus niger* J1 y *Trichoderma viride* M5-2.

2 Materiales y Métodos

2.1 Diseño experimental y análisis estadístico

Se usó un diseño completamente aleatorizado, con tres repeticiones y dos inóculos (*A. niger* J1 y *T. viride* M5-2), con 8 horarios de muestreo (0, 24, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 h). Cada biodigestor fue considerado como una unidad experimental. Para los análisis estadísticos se usó el programa STATGRAPHICS XV CENTURION.

2.2 Microorganismos

Se utilizaron dos cepas de hongos con características lignocelulolíticas, *Aspergillus niger* J1 aislado a partir del bagazo de caña en la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Tecnológica de La Habana “José Antonio Echeverría”, CUJAE, y *Trichoderma viride* M5-2 que pertenece al banco de cepas del Instituto de Ciencia Animal (Mayabeque – Cuba). Se conoce que estas cepas poseen actividad hidrolítica y secretan enzimas celulasas en sustratos con elevada cantidad de fibra. Ambas cepas fueron evaluadas por medio de una fermentación en estado sólido (Valiño et al., 2004a).

2.3 Sustrato para la fermentación

El sustrato vegetal consistió en plantas de *L. mutabilis* Sweet post cosecha (hojas y tallo), de la hacienda “Lupita” del cantón Riobamba de la provincia de Chimborazo. En el Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE) se procedió a secarlo en una estufa HAFO SERIES 1 600 a temperatura de 65 °C por 48 horas y, posteriormente, se procedió a su molienda con un molino manual marca CORONA

2.4 Proceso de fermentación

Para la realización del presente trabajo se usaron 42 frascos de vidrio de 250 ml como biodigestores (21 para la fermentación con *A. niger* J1 y 21 para la fermentación con *T. viride* M5-2). Se agregó a cada uno 10 g del sustrato seco, posteriormente se humedeció con agua destilada hasta alcanzar una humedad inicial de 70% (25 ml) y se enriqueció con urea 2,5% (0,25 gr), fosfato de potasio (KH₂PO₄) 5% (0,5 gr) y sulfato de amonio ((NH₄)₂SO₄) 10%

(1 gr) (Roussos et al., 1991) y se reguló el pH inicial del sustrato en 6. El sustrato húmedo se esterilizó con vapor saturado en autoclave por 20 min a 121 °C. Para la inoculación del sustrato se prepararon dos suspensiones de esporas, la suspensión de *A. niger* J1 se inoculó en los biodigestores que contenían el sustrato a fermentarse, con una concentración de 10⁶ esporas/g de sustrato seco (Villena and Gutiérrez-Correa, 2003) y la suspensión de *T. viride* M5-2 se inoculó en los restantes biodigestores con una concentración de 10⁷ esporas/g de sustrato seco (Valiño et al., 2004b).

Los frascos inoculados y homogenizados se colocaron en incubación a 30 °C durante 168 h. Se tomaron muestras cada 24 h para realizar los análisis correspondientes y se determinó el crecimiento de los hongos y la colonización del sustrato por observación visual.

2.5 Análisis químicos y enzimáticos

Se pesaron 3 g del material fermentado a las 0, 24, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 h, se añadieron 30 ml de agua destilada, y se colocaron en un agitador mecánico a 140 rpm por 20 min. Posteriormente, se centrifugó la muestra a 5 000 rpm por 10 min y se filtró en papel filtro Whatman número 40 para obtener el extracto enzimático. Se midió el pH y se realizó el análisis enzimático de la actividad exo 1,4 β-D glucanasa (PFasa) utilizando la técnica de la National Renewable Energy Laboratory NREL/TP-510-42628 de enero de 2008 (Adney and Baker, 2008). Esta actividad enzimática se expresó en unidades de papel filtro por mililitro (UPF/ml).

Los indicadores bromatológicos que se estudiaron fueron la conversión de materia seca (MS) calculada por gravimetría por la diferencia entre la masa seca inicial y la masa seca final (Oliva et al., 2018), Fibra Neutro Detergente (FND) y Fibra Acido Detergente (FAD), lignina (LIG) por el método ANSI/ASTM D1106-56 y celulosa (CEL) por el método ANSI/ASTM D1103-60 1977. También se analizó el contenido de compuestos fenólicos (mg de ac. gálico/100 g de sustrato seco) de acuerdo al método de folin ciocalteu (Vera et al., 2022) y el contenido de flavonoides por el método espectrofotométrico (mg de catequinas / 100 g de sustrato seco) (Xu et al., 2017).

3 Resultados y Discusión

La composición bromatológica y la granulometría del sustrato se detallan en las Tablas 1 y 2, respectivamente. La fibra, particularmente la que proviene de los forrajes constituye el componente principal de la alimentación de los rumiantes, y su uso en monogástricos se ven limitados debido a la morfología de su sistema digestivo y a pesar de eso varias investigaciones demuestran la factibilidad del uso de este tipo de sustratos en su alimentación (Savón et al., 2005; Jha et al., 2019).

Los componentes fenólicos, particularmente los taninos, tienen la particularidad de precipitar ciertas proteínas disminuyendo así su digestibilidad y reduciendo la disponibilidad de aminoácidos, comprometiendo el valor nutritivo del sustrato (Bessada et al., 2019).

Tabla 1. Composición de la harina de follaje de *L. mutabilis* Sweet.

Componente	%	mg/100 gr de MS*
Humedad	3,12	
Fibra Neutro	71,05	
Detergente		
Fibra Ácido	53,84	
Detergente		
Lignina	13,28	
Celulosa	40,56	
Hemicelulosa	17,21	
Flavonoides		55,53
Contenido fenólico		9,78

* Materia Seca

Tabla 2. Caracterización granulométrica de la harina de follaje de *L. mutabilis* Sweet

No. de malla (U.S. STD. Sieve)	%
< 5	0,28
5 - 16	22,67
16 - 25	37,39
25 - 60	33,71
> 60	

En la Tabla 3 se observa que ambas cepas mostraron crecimiento en el sustrato elegido, pero las diferencias entre ambas se observaron a nivel de esporulación. Por un lado, la cepa *A. niger* J1 mostró un crecimiento micelial a las 24 horas, empezó la

esporulación a las 48 h y en 72 h ya había colonizado completamente la superficie del sustrato; por el otro, la cepa *T. viride* M5-2 empezó a las 72 h y no llegó a cubrir de esporas el sustrato durante todo el experimento. Un factor importante en el resultado observado del crecimiento micelial podría ser el tamaño de partícula, pues como mencionan Haldar and Purkait (2020) y Gao et al. (2020), la colonización del sustrato y la esporulación se favorecen con la superficie de contacto, es decir, mientras mayor sea esta, mejor será la colonización.

En la Figura 1 se observa la variación del pH durante las 168 h de fermentación. Para ambas cepas se observan valores de pH entre 6 y 8, esto se corresponde con el intervalo de acción de las enzimas celulolíticas en sustratos fibrosos. Se conoce que los valores óptimos de pH iniciales para la acción hidrolítica de las enzimas celulasas se encuentran entre 5 y 6, aunque estos pueden variar en función del sustrato a fermentar, la temperatura de incubación e incluso con la cepa origen de la enzima (Kaschuk et al., 2020).

En esta investigación la cepa de *T. viride* M5-2 mostró baja acción celulolítica entre los pH 6 y 8 durante la fermentación de *L. mutabilis* Sweet a 30 °C, a diferencia de lo que se obtuvo en otros trabajos con leguminosas (*Vigna unguiculata*) en donde el pH se mantuvo en valores entre 5 y 7 (Valiño et al., 2004b) (Figura 2). Se observó también que durante la fermentación con la cepa de *T. viride* M5-2 el pH se elevó hasta niveles por encima de 8 después del tercer día de fermentación. Esto podría estar relacionado con los grupos α amino presentes en las proteínas del sustrato, que al disolverse en agua se ionizan y se elimina un protón del grupo funcional que pudiera elevar el pH, y también que el sustrato es rico en compuestos nitrogenados que podrían contribuir con el incremento del pH (Villacrés et al., 2020).

En la Tabla 4 se observa el proceso de fermentación de *L. mutabilis* Sweet en relación con la conversión de materia seca (MS), y también que existe interacción entre los factores estudiados. La cepa de *A. niger* J1 convierte hasta 7,68 unidades porcentuales en las 168 h de fermentación. Por otro lado, la cepa de *T. viride* M5-2 solo 1,3 unidades porcentuales en el mismo tiempo. Estos valores son un indicativo de la actividad de la fermentación, observándose

una conversión del sustrato por parte de los hongos. La diferencia de la conversión entre las cepas puede deberse al mismo metabolismo de los hongos (Lameiras et al., 2018) así como a la composición de los carbohidratos solubles y, por consiguiente, al carácter de alimento funcional de las leguminosas (Dustet and Izquierdo, 2004).

Tabla 3. Crecimiento de las cepas *A. niger* J1 y *T. viride* M5-2 durante la dinámica de fermentación de *L. mutabilis* Sweet a Temperatura = 30°C, pH=6, Humedad=70%

Cepa	Crecimiento (Horas)						
	24	48	72	96	120	144	168
<i>A. niger</i> J1	X	XX	XXX	XXX	XXX	XXX	XXX
<i>T. viride</i> M5-2		X	XX	XX	XX	XX	XX

X: inicio del crecimiento micelial, XX: esporulación, XXX: esporulación completa

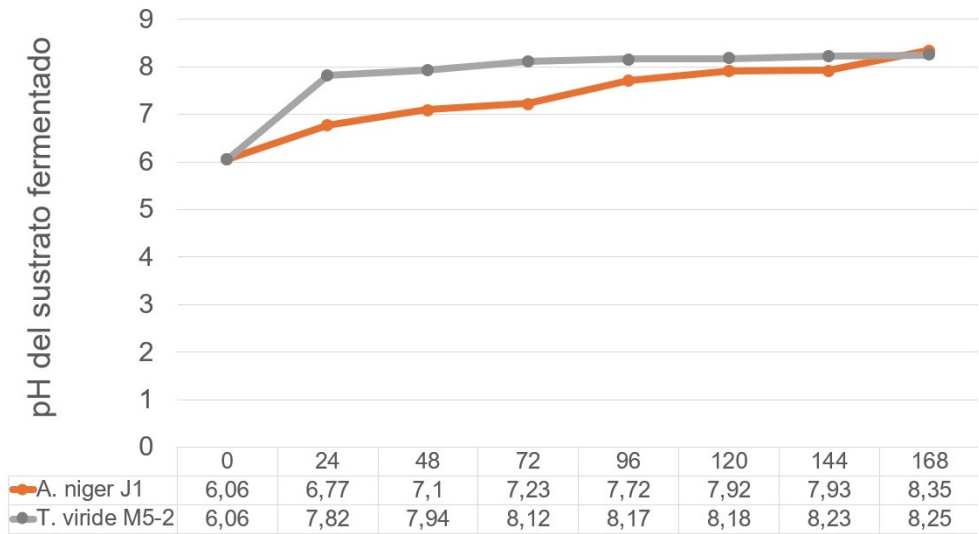


Figura 1. Variación del pH en la dinámica de fermentación del *L. mutabilis* Sweet por las cepas *A. niger* J1 y *T. viride* M5-2 EE (±) 0,168 P<0,001

Las determinaciones de la actividad exo β 1,4-glucanasa (Figura 2) mostraron que los hongos producen enzima celulasa y la actividad de estas enzimas se alcanza en su mayoría durante las primeras horas de fermentación y mantienen actividad durante las 168 h de fermentación. Esta actividad hidrolítica presenta una marcada diferencia. La cepa de *A. niger* J1 tiene mayor actividad celololítica e incrementa durante la fermentación de *L. mutabilis* Sweet desde 0,064 UPF/mL hasta 0,189 UPF/mL al finalizar la fermentación y se corresponde con la colonización del hongo en el sustrato y su esporulación. Sin embargo, en el caso de la cepa de *T. viride* M5-2 no se aprecia un aumento notable de la actividad enzimática, alcanzando los valores máximos de 0,106 UPF/mL en el segundo día de fermentación y posteriormente la actividad se redujo a valores de hasta 0,074 UPF/mL; estos valores de actividad enzimática fueron muy bajos. Este comportamiento pudiera estar relacionado con el tipo de sustrato que no favoreció la acción hidrolítica (Malgas et al., 2017), y a su vez podrían estar relacionados con el pH elevado que afecta la actividad enzimática (Villacrés et al., 2020).

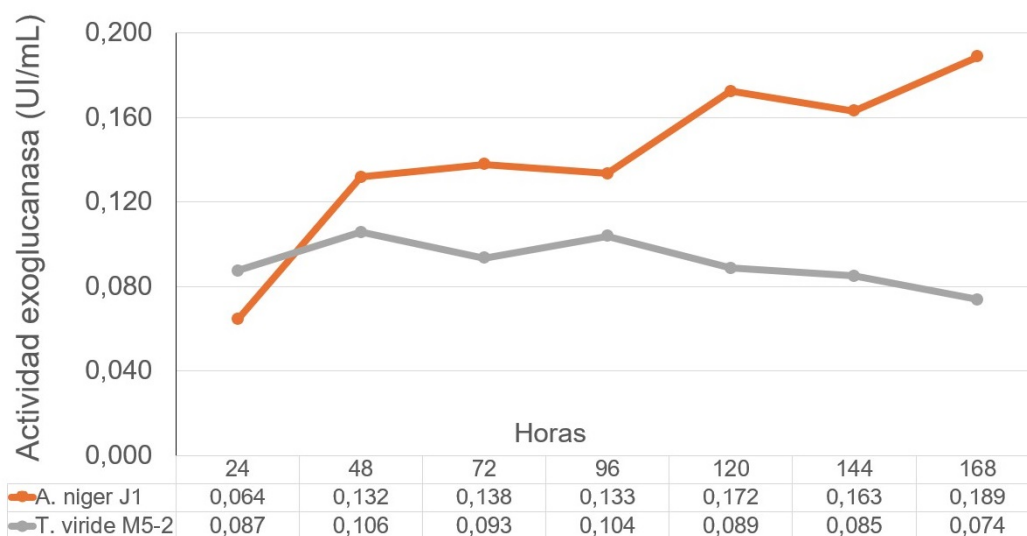


Figura 2. Actividad enzimática exo β 1-4 glucanasa de las cepas *A. niger* J1 y *T. viride* M5-2 durante la dinámica de fermentación en estado sólido de *L. mutabilis* Sweet. EE ($\pm$) 0,038 P<0,001

Tabla 4. Conversión de materia seca durante el proceso de fermentación sólida de *L. mutabilis* Sweet con *A. niger* J1 y *T. viride* M5-2. Condiciones iniciales: Temperatura=30 °C, pH=6, Humedad=70 %

Indicador	Cepa	Tiempo de fermentación (horas)								EE ($\pm$)
		0	24	48	72	96	120	144	168	Sign.
Conversión	<i>A. niger</i> J1	0 ^a	0,17 ^a	0,34 ^a	3,02 ^c	4,46 ^d	5,71 ^e	7,48 ^f	7,68 ^f	0,679
de MS (%)	<i>T. viride</i> M5-2	0 ^a	0,9 ^b	0,93 ^b	0,94 ^b	0,95 ^b	1,16 ^b	1,23 ^b	1,3 ^b	P<0,001

^{a,b,c,d,e,f} Letras distintas indican diferencias significativas P<0,05, según Duncan

En la Tabla 5 se observa el efecto del proceso fermentativo en la fracción fibrosa del sustrato. Se observa una reducción notable de los valores de FND por ambas cepas y de FAD por la cepa *A. niger* J1. Dicha reducción puede estar relacionada con los altos valores de nitrógeno asociado a este indicador (Villacrés et al., 2020) ya que las cepas estudiadas, además de usar los componentes de la pared celular, pudieron metabolizar parte del nitrógeno asociado a la fibra como nutriente, antes de comenzar a degradar la lignina (Valiño et al., 2015).

La FND o también llamada fibra insoluble es la que mejor predice el valor energético del sustrato. Los niveles muy bajos ralentizan el tránsito intestinal, reducen los rendimientos productivos e incrementan el riesgo de padecer patologías digestivas (Jiménez-Moreno et al., 2019), pero un exceso de este valor también está relacionado con la poca digestibilidad del sustrato, especialmente en especies

monogástricas que no tienen el sistema digestivo adaptado al consumo de piensos con niveles de fibra altos. Valiño et al. (2015) demostró que la cepa de *T. viride* M5-2 tenía un potencial valioso para la biotransformación de sustratos fibrosos que pudieran ser incluidos posteriormente en la alimentación animal.

Ambas cepas mostraron capacidad de degradación de la fracción fibrosa del sustrato. *A. niger* J1 redujo la FND y la FAD en 12 unidades porcentuales, mientras que *T. viride* M5-2 redujo la FND en 12 unidades porcentuales, pero la FAD solo en 6 unidades. La actividad celulolítica es mayor en *A. niger* J1 pudiendo degradar la celulosa 11 unidades porcentuales, mientras que *T. viride* M5-2 solo 4 unidades.

El uso de *L. mutabilis* Sweet como sustrato para las fermentaciones sólidas ha sido poco estudiado.

Por el contrario, se han usado otras variedades de *Lupinus* en fermentaciones con bacterias para incrementar sus valores nutricionales (Starkute et al., 2016; Bartkiene et al., 2018).

La Tabla 6 muestra el efecto que produce la fermentación sobre los metabolitos secundarios presentes y asociados a la fracción fibrosa del sustrato analizado. Del análisis del contenido fenólico y su transformación se observó que la cepa de *A. niger* J1 redujo de 9,78 mg hasta 1,83 mg por cada 100 gramos de sustrato seco, alcanzando la mayor reducción durante los tres primeros días. Esta reducción está acorde con lo publicado por Molina et al. (1990) que reduce hasta un 75% el contenido de polifenoles utilizando otra cepa de *A. niger*.

Por otro lado, *T. viride* M5-2 solo redujo el contenido fenólico de 9,78 mg hasta 4,49 mg a lo largo del proceso. La cepa *A. niger* J1 reduce los flavonoides en un 53% con relación al sustrato sin fermentar, mientras que la cepa de *T. viride* M5-2 los reduce

en un 22% durante los cuatro primeros días de la fermentación; sin embargo, a partir del quinto día estos se concentran probablemente por la reducción de la materia seca durante la fermentación.

A diferencia de otros sustratos lignocelulósicos, para la fermentación del Lupino no se requirió un pretratamiento. Esto ya se había observado en experimentos realizados a nivel de laboratorio con otro tipo de leguminosas (Pérez et al., 2016), pero no cuando se usa el bagazo de caña (De la Cruz et al., 2016).

Se observaron resultados similares en estudios fitoquímicos de los compuestos fenólicos realizados por Scull et al. (2015) en forraje de otras leguminosas con varias cepas de hongos. Sin embargo, el potencial enzimático la cepa *T. viride* M5-2 en esta leguminosa temporal tuvo mayor impacto en su transformación, con una reducción 32% de los polifenoles, 18% de los flavonoides y un 3% de fibra, sin adición de otras fuentes minerales.

Tabla 5. Efecto del proceso de fermentación en la fracción fibrosa del sustrato con ambas cepas. Temperatura=30 °C, pH=6, Humedad=70%

Indicadores (%)	Cepa	Tiempo de fermentación (horas)							EE (±)	
		0	24	48	72	96	120	144	168	Signific.
FND	<i>A. niger</i> J1	71,05 ^b	61,26 ^a	59,25 ^a	61,60 ^a	60,73 ^a	60,55 ^a	57,62 ^a	59,37 ^a	0,773
	<i>T. viride</i> M5-2	71,05 ^b	61,67 ^a	59,87 ^a	61,26 ^a	60,14 ^a	60,70 ^a	60,64 ^a	58,97 ^a	P<0,001
FAD	<i>A. niger</i> J1	53,84 ^d	50,84 ^d	47,29 ^{abcd}	47,94 ^{abcd}	48,43 ^{abcd}	42,75 ^{ab}	43,04 ^{abc}	41,77 ^a	0,827
	<i>T. viride</i> M5-2	53,84 ^d	49,34 ^{bcd}	49,08 ^{abcd}	50,23 ^{cd}	48,60 ^{abcd}	49,19 ^{abcd}	47,87 ^{abcd}	47,89 ^{abcd}	P<0,001
Lignina	<i>A. niger</i> J1	13,28 ^c	10,80 ^{abc}	11,36 ^{abc}	12,62 ^{bc}	13,75 ^c	12,15 ^{abc}	13,01 ^c	12,01 ^{abc}	0,320
	<i>T. viride</i> M5-2	13,28 ^c	9,25 ^a	9,83 ^{ab}	11,16 ^{abc}	10,92 ^{abc}	11,62 ^{abc}	11,06 ^{abc}	11,06 ^{abc}	P<0,001
Celulosa	<i>A. niger</i> J1	40,56 ^c	40,04 ^c	35,93 ^{abc}	35,32 ^{abc}	34,68 ^{abc}	30,60 ^{ab}	30,03 ^a	29,76 ^a	0,939
	<i>T. viride</i> M5-2	40,56 ^c	40,09 ^c	39,25 ^c	39,07 ^c	37,68 ^c	37,57 ^c	36,81 ^{bc}	36,83 ^{bc}	P<0,001

^{a,b,c,d} Letras distintas indican diferencias significativas P<0,05, según Duncan

Tabla 6. Efecto de la fermentación sobre los flavonoides y polifenoles.

Indicador (mg / 100 g MS)	Cepa	Tiempo de fermentación (horas)							EE (±)	
		0	24	48	72	96	120	144	168	Signific.
Flavonoides	<i>A. niger</i> J1	55,53 ^{de}	46,82 ^{bc}	30,25 ^a	27,57 ^a	30,62 ^a	27,05 ^a	26,53 ^a	26,01 ^a	3,890
	<i>T. viride</i> M5-2	55,53 ^{de}	53,53 ^{de}	50,31 ^{cd}	44,57 ^b	43,28 ^b	56,35 ^e	64,23 ^f	72,17 ^g	P<0,001
Contenido fenólico	<i>A. niger</i> J1	9,78 ^h	5,35 ^d	1,96 ^{ab}	1,83 ^a	2,61 ^{ab}	2,16 ^{ab}	2,52 ^b	2,52 ^b	0,730
	<i>T. viride</i> M5-2	9,78 ^h	8,74 ^g	8,60 ^g	8,45 ^g	6,90 ^f	6,10 ^e	5,02 ^d	4,49 ^c	P<0,001

^{a,b,c,d,e,f,g,h} Letras distintas indican diferencias significativas P<0,05, según Duncan

4 Conclusiones

Los resultados demuestran que al utilizar una fermentación en estado sólido es posible reducir factores antinutricionales de una harina de follaje de *L. mutabilis* Sweet hasta obtener valores aceptables, lo que incrementa su potencial valor nutricional. En el presente estudio se redujeron considerablemente los valores de FND, FAD, flavonoides y contenido polifenólico durante la fermentación, lo que incrementa su calidad nutritiva, mejorando sus potencialidades para el uso en especies monogástricas, y favoreciendo su posterior procesamiento.

Las cepas *T. viride* M5-2 y *A. niger* J1 permitieron desarrollar un proceso fermentativo biológicamente factible con la harina de follaje en estudio, mejorando su valor nutritivo, obteniéndose los mejores resultados con la cepa de *A. niger* J1. Se recomienda optimizar el proceso para su escalado.

Contribución de los autores

D.J.C.M.: Conceptualización, análisis formal, tratamiento de datos, adquisición de financiación, investigación, administración de proyecto, recursos, supervisión, validación, visualización, Escritura-borrador original. J.C.D.M.: Conceptualización, administración de proyecto, supervisión, escritura-revisión y edición. E.V.C.: Conceptualización, administración de proyecto, supervisión, escritura-revisión y edición.

Referencias

Adney, B. and Baker, J. (2008). Measurement of cellulase activities: laboratory analytical procedure (lap); issue date: 08/12/1996. Technical report, National Renewable Energy Laboratory. Online: <https://n9.cl/049a15>.

Bartkiene, E., Sakiene, V., Bartkevics, V., Juodeikiene, G., Lele, V., Wiacek, C., and Braun, P. (2018). Modulation of the nutritional value of lupine wholemeal and protein isolates using submerged and solid-state fermentation with *Pediococcus pentosaceus* strains. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(8):1896–1905. Online: <https://n9.cl/1o079>.

Bessada, S., Barreira, J., and Oliveira, M. (2019). Pulses and food security: Dietary protein, digestibility, bioactive and functional properties. *Trends in Food Science and Technology*, 93:53–68. Online: <https://n9.cl/meeep>.

Carvajal-Larenas, F. (2019). Nutritional, rheological and sensory evaluation of *Lupinus mutabilis* food products-a review. *Czech Journal of Food Sciences*, 37(5):301–311. Online: <https://n9.cl/4556o>.

De la Cruz, K., Dustet-Mendoza, J., Pérez-Caballero, L., and Anaya-Villalpanda, M. (2016). Caracterización de enzimas celulasas de nuevas cepas fúngicas obtenidas a partir de bagazo de caña de azúcar. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 50(2):35–42. Online: <https://n9.cl/4lvc7>.

Díaz Sánchez, M., Martín-Cabrejas, M., Martínez Pérez, M., Savón Valdés, L., Aguilera, Y., Benítez, V., Torres Cárdenas, V., Coto Valdés, G., González Conde, A., and Sarmiento Menéndez, M. (2017). Germinados de leguminosas temporales: Una alternativa para la alimentación animal. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 51(3):381–390. Online: <https://n9.cl/s4zip>.

Dustet, J. and Izquierdo, E. (2004). Aplicación de balances de masa y energía al proceso de fermentación en estado sólido de bagazo de caña de azúcar con *Aspergillus niger*. *Biotecnología Aplicada*, 21(2):85–91. Online: <https://n9.cl/rxp1c>.

Gao, W., Lei, Z., Tabil, L., and Zhao, R. (2020). Biological pretreatment by solid-state fermentation of oat straw to enhance physical quality of pellets. *Journal of Chemistry*, 2020(1). Online: <https://n9.cl/sed5n>.

Gulisano, A., Alves, S., Martins, J., and Trindade, L. (2019). Genetics and breeding of *Lupinus mutabilis*: An emerging protein crop. *Frontiers in Plant Science*, 10:1385. Online: <https://n9.cl/ol8z4>.

Haldar, D. and Purkait, M. (2020). Lignocellulosic conversion into value-added products: A review. *Process Biochemistry*, 89:110–133. Online: <https://n9.cl/lt7j10>.

Jha, R., Foughse, J., Tiwari, U., Li, L., and Willing, B. (2019). Dietary fiber and intestinal health of monogastric animals. *Frontiers in Veterinary Science*, 6(48). Online: <https://n9.cl/14fl3>.

- Jiménez-Moreno, E., González-Alvarado, J., de Coca-Sinova, A., Lázaro, R., Cámara, L., and Mateos, G. (2019). Insoluble fiber sources in mash or pellets diets for young broilers. 2. effects on gastrointestinal tract development and nutrient digestibility. *Poultry Science*, 98(6):2531–2547. Online: <https://n9.cl/t1bt5>.
- Kaschuk, J., de Alexandria Santos, D., Frollini, E., Canduri, F., and Porto, A. (2020). Influence of pH, temperature, and sisal pulp on the production of cellulases from *Aspergillus* sp. cbmai 1198 and hydrolysis of cellulosic materials with different hemicelluloses content, crystallinity, and average molar mass. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 10:483–494. Online: <https://n9.cl/3mbvf>.
- Lameiras, F., Ras, C., Ten Pierick, A., Heijnen, J., and van Gulik, W. (2018). Stoichiometry and kinetics of single and mixed substrate uptake in *Aspergillus niger*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 41:157–170. Online: <https://n9.cl/uk1et>.
- Linn, J. and Martin, N. (1991). Forage quality analyses and interpretation. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 7(2):509–523. Online: <https://n9.cl/tbn61>.
- Malgas, S., Thoresen, M., van Dyk, J., and Pletschke, B. (2017). Time dependence of enzyme synergism during the degradation of model and natural lignocellulosic substrates. *Enzyme and Microbial Technology*, 103:1–11. Online: <https://n9.cl/pl4kx>.
- Martínez Flores, L., Ruivenkamp, G., and Jongerden, J. (2016). Fitomejoramiento y racionalidad social: los efectos no intencionales de la liberación de una semilla de lupino (*Lupinus mutabilis* sweet) en Ecuador. *Antípoda. Revista de Antropología y Arqueología*, (26):71–91. Online: <https://bit.ly/4fublCu>.
- Martínez-Pérez, M., Sarmiento-Franco, L., Santos-Ricalde, R., and Sandoval-Castro, C. (2018). Chemical composition and *in vitro* protein digestibility of processed *Mucuna pruriens* seeds. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 52(3):313–319. Online: <https://n9.cl/daxg4>.
- Molina, M., Lechuga, O., and Bressani, R. (1990). Valor nutritivo de la pulpa de café sometida a fermentación sólida usando *Aspergillus niger* en pollos y cerdos. *Agronomía Mesoamericana*, 1:79–82. Online: <https://n9.cl/imwd4j>.
- Molina-Poveda, C., Lucas, M., and Jover, M. (2013). Evaluation of the potential of andean lupin meal (*Lupinus mutabilis* sweet) as an alternative to fish meal in juvenile *Litopenaeus vannamei* diets. *Aquaculture*, 410:148–156. Online: <https://n9.cl/pe2tq>.
- Oliva, M., Valqui, L., Meléndez, J., Milla, M., Leiva, S., Collazos, R., and Maicelo, J. (2018). Influencia de especies arbóreas nativas en sistemas silvopastoriles sobre el rendimiento y valor nutricional de *Lolium multiflorum* y *Trifolium repens*. *Scientia Agropecuaria*, 9(4):579–583. Online: <https://n9.cl/z7qw8>.
- Pandey, A. (2003). Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13(2-3):81–84. Online: <https://n9.cl/1413a>.
- Pérez, H., Dustet, J., and Valiño, E. (2016). Incremento de la calidad nutritiva potencial de la harina de follaje de stizolobium niveum (mucuna) mediante fermentación en estado sólido con el hongo trichoderma viride m5-2. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 47:30–33. Online: <https://n9.cl/bbzls>.
- Rodríguez García, I. (2017). Potencialidades de *Tithonia diversifolia* (hemsl.) gray en la alimentación animal. *Livestock Research for Rural Development*, 29(4). Online: <https://n9.cl/k43jr0>.
- Roussos, S., Olmos, A., Raimbault, M., Saucedo-Castañeda, G., and Lonsane, B. (1991). Strategies for large scale inoculum development for solid state fermentation system: conidiospores of *Trichoderma harzianum*. *Biotechnology Techniques*, 5:415–420. Online: <https://n9.cl/yqhhe>.
- Savón, L., Gutiérrez, O., Ojeda, F., and Scull, I. (2005). Harinas de follajes tropicales: una alternativa potencial para la alimentación de especies monogástricas. *Pastos y Forrajes*, 28(1):69–79. Online: <https://n9.cl/dqjuw>.
- Scull, I., Savón, L., Valiño, E., and Ramos, Y. (2015). Composición fitoquímica de la harina de forraje de mucuna (*Stylobium aterrimum*) fermentada con el hongo *Trichoderma viride*. *Multiciencias*, 15(3):265–270. Online: <https://n9.cl/srm4x>.
- Siddhuraju, P., Becker, K., and Makkar, H. (2000). Studies on the nutritional composition and anti-nutritional factors of three different germplasm

- seed materials of an under-utilized tropical legume, *Mucuna pruriens* var. *Utilis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(12):6048–6060. Online: <https://n9.cl/6dy5p>.
- Starkute, V., Bartkiene, E., Bartkevics, V., Rusko, J., Zadeike, D., and Juodeikiene, G. (2016). Amino acids profile and antioxidant activity of different *Lupinus angustifolius* seeds after solid state and submerged fermentations. *Journal of Food Science and Technology*, 53:4141–4148. Online: <https://n9.cl/sh9y7>.
- Sugiharto, S. and Ranjitkar, S. (2019). Recent advances in fermented feeds towards improved broiler chicken performance, gastrointestinal tract microecology and immune responses: A review. *Animal Nutrition*, 5(1):1–10. Online: <https://n9.cl/53y71>.
- Trujillo, A. and Escobar, A. (2012). Evaluación de la sustitución de concentrado comercial por harina de forrajeras en pollos de engorde ross. *Agroecología: Ciencia y Tecnología*, 1(1):6–12. Online: <https://n9.cl/m7jeu>.
- Valiño, E., Elías, A., Torres, V., Carrasco, T., and Albelo, N. (2004a). Improvement of sugarcane bagasse composition by the strain *Trichoderma viride* m5-2 in a solid-state fermentation bioreactor. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 38(2):143–150. Online: <https://n9.cl/peo82j>.
- Valiño, E., García, R., and Albelo, N. (2004b). Efecto de la inoculación de la cepa de *Trichoderma viride* 137 mcxi en mezclas de *Vigna unguiculata* y bagazo de caña de azúcar para disminuir factores antinutricionales. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 38(1):65–72. Online: <https://n9.cl/109v6>.
- Valiño, E., Savón, L., Elías, A., Rodríguez, M., and Albelo, N. (2015). Mejora del valor nutritivo de las leguminosas temporales *Vigna unguiculata*, *Canavalia ensiformis*, *Stizolobium niveum*, *Lablab purpureus* mediante el procesamiento de sus granos con *Trichoderma viride* m5-2. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 49(1):81–89. Online: <https://n9.cl/125tw>.
- Varadyova, Z., Certik, M., and Jalc, D. (2018). The possible application of fungal enriched substrates in ruminant nutrition. a review. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 27(1):3–10. Online: <https://n9.cl/9gn0c>.
- Vargas-Guerrero, B., García-López, P., Martínez-Ayala, A., Domínguez-Rosales, J., and Gurrola-Díaz, C. (2014). Administration of *Lupinus albus* gamma conglutinin (cy) to n5 stz rats augmented *Ins-1* gene expression and pancreatic insulin content. *Plant Foods for Human Nutrition*, 69:241–247. Online: <https://n9.cl/hhs3c3>.
- Vera, J., Dueñas, A., Rodríguez, J., and Radice, M. (2022). Phytochemical characterization of the ethanolic extract, antioxidant activity, phenolic content and toxicity of the essential oil of *Curcuma longa* L. *Revista De La Facultad De Agronomía De La Universidad Del Zulia*, 39(1):1–7. Online: <https://bit.ly/3Ag5diz>.
- Villacrés, E., Quelal, M., Jácome, X., Cueva, G., and Rosell, C. (2020). Effect of debittering and solid-state fermentation processes on the nutritional content of lupine (*Lupinus mutabilis* sweet). *International Journal of Food Science and Technology*, 55(6):2589–2598. Online: <https://n9.cl/4zm84>.
- Villena, G. and Gutiérrez-Correa, M. (2003). Biopeptólisis de *Aspergillus niger* para la producción de celulasas: algunos aspectos estructurales y fisiológicos. *Revista Peruana de Biología*, 10(1):78–87. Online: <https://n9.cl/h1dgl>.
- Xu, C., Wang, B., Pu, Y., Tao, J., and Zhang, T. (2017). Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 15(10):721–731. Online: <https://n9.cl/qdayb>.