



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Valorización del fruto de *Parmentiera aculeata* en nutrición animal: su uso como sustrato para el crecimiento de dos cepas probióticas

Valorization of the fruit of *Parmentiera aculeata* in animal nutrition: its use as substrate for the growth of two probiotic strains

Acuña-Juárez, L.^a, Aguilar-Zárate, P.^a, Muñoz-Márquez, D.B.^b, Wong-Paz, J.E.^b, Veana, F.^{a*}

^a Laboratorio de Análisis de Alimentos, Departamento de Ingenierías, Tecnológico Nacional de México/ IT de Ciudad Valles, C.P. 79010, Ciudad Valles, San Luis Potosí, México.

^b Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, C.P. 79060, Ciudad Valles, San Luis Potosí, México.

lilianaacunajuares@gmail.com; pedro.aguilar@tecvalles.mx; diana.marque@tecvalles.mx; jorge.wong@uaslp.mx; fabiola.veana@tecvalles.mx*

Innovación tecnológica: Involucra la valorización del fruto de *Parmentiera aculeata* como una alternativa en el crecimiento de probióticos a piensos de la formulación de alimentos que benefician la nutrición animal.

Área de aplicación industrial: La innovación tecnológica presentada en este artículo podría ser aplicada en la industria agroalimentaria enfocada en nutrición animal.

Recibido: 03 june 2022

Aceptado: 27 january 2023

Abstract

In Mexico, there are fruits with low biotechnological exploitation, such as the fruit of *Parmentiera aculeata*, whose uses are timber, medicinal and edible for humans and animals. In this sense, it is important to use ingredients that nourish, promote digestive health and improve growth of livestock production systems. Precisely, probiotics are microorganisms that confer health to the host and there is interest in the search for new sources of substrates for them. Therefore, the objective of the present work was to use the fruit of *P. aculeata* as a substrate for the growth of probiotic bacteria in solid-state fermentation (SSF). A chemical-proximal analysis of the fruit was carried out according to AOAC methodology. Two probiotic strains (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* ATCC25302 and *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* ATCC 14917) were used for the development of SSFs using an experimental design with L9 (3³) orthogonal arrangement

proposed by Taguchi. Three parameters were evaluated: pH, humidity and inoculum concentration at three levels: 4.0, 5.0 and 6.0; 50, 60 and 70%; and 5, 10 and 15%, respectively. Incubation was carried out at 37°C for 120 hours. Growth was reported as cells/g dry bagasse (cel/gbs). From the chemical-proximal composition of the fruit, moisture and ash values are similar to those reported; fat and protein values are higher and carbohydrate values are lower than reported. The differences can be attributed to the geographical area and time of fruit harvesting. The optimum growth conditions for both strains was treatment 3: levels 1, 3 and 3 (pH 4.0, 70% moisture and 15% inoculum). The maximum growth value was 1.42×10^9 cells/gbs for the *L. plantarum* subsp. *plantarum* ATCC14917 strain, which exceeded 2.34 times the growth of the *L. paracasei* subsp. *paracasei* ATCC25302 strain. After validation, we observed a value of 3.8 times higher than the value predicted by the Taguchi model. These results provide interesting information for the area of animal nutrition, particularly for the design of feedstuffs that improve growth in livestock production systems.

Keywords: Chote, Solid state fermentation, Probiotics, Taguchi.

Resumen

En México existen frutos de baja explotación biotecnológica, tal como el fruto de *Parmentiera aculeata*, cuyos usos son el maderable, medicinal y comestible (humanos y animales). En este sentido, es importante el uso de ingredientes que nutran, promuevan la salud digestiva y se mejore el crecimiento en los sistemas de producción pecuaria. Precisamente, los probióticos son microorganismos que confieren salud al huésped y existe interés por la búsqueda de nuevas fuentes de sustratos para estos. Por lo cual, el objetivo del trabajo fue utilizar el fruto de *P. aculeata* como sustrato para el crecimiento de bacterias probióticas en fermentación en estado sólido (FES). Los frutos se sometieron a un análisis químico-proximal. Posteriormente se evaluó el crecimiento (células/g bagazo seco, cel/gbs) de dos cepas probióticas en el desarrollo de las FES: *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* ATCC25302 y *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* ATCC 14917. Se aplicó un diseño experimental con arreglo ortogonal L9 (3^3) propuesto por Taguchi. Se evaluaron tres variables con tres niveles: pH (4.0, 5.0 y 6.0), humedad (50, 60 y 70 %) y concentración de inóculo (5, 10 y 15 %) y las FES se desarrollaron a 37 °C por 120 horas. De la composición químico-proximal del fruto, se encontraron diferencias en el contenido de grasas y proteínas con los reportes previos. Las condiciones óptimas de crecimiento en las FES para ambas cepas fueron pH 4.0, 70% de humedad y 15% de inóculo y se observó un máximo crecimiento de 1.42×10^9 cel/gbs para la cepa de *L. plantarum* subsp. *plantarum* ATCC14917 que superó 2.34 veces el crecimiento de la cepa de *L. paracasei* subsp. *paracasei* ATCC25302. Tras la validación, se superó 3.8 veces el valor predicho por el modelo de Taguchi. Estos resultados aportan información interesante para el área de nutrición animal, particularmente para el diseño de alimentos que mejoren el crecimiento en los sistemas de producción pecuaria.

Palabras clave: Chote, Fermentación en estado sólido, Probióticos, Taguchi.

1. Introducción

Los pastos y forrajes son la fuente principal de alimentación en los sistemas de producción pecuaria ya que son económicos y aportan el 40-90% de los nutrientes. Sin embargo, estos son influenciados por las épocas de lluvias observándose una baja o alta cantidad de biomasa (1). Una alternativa para esta situación es el ensilaje, el cual no está limitado por las condiciones climáticas. El ensilaje consiste en someter a una fermentación ácido-láctica el forraje en condiciones anaerobias (1,2). La producción pecuaria para fines comerciales requiere una nutrición animal eficiente con el apoyo de aditivos que logren incrementar la efectividad del alimento, disponibilidad de nutrientes y su absorción en el tubo digestivo, además de modular la microbiota intestinal y promover su crecimiento (3). Dentro de los aditivos que se utilizan se encuentran los antibióticos, enzimas, ácidos orgánicos, vitaminas y minerales, prebióticos y probióticos, entre otros (1,3–5). Los prebióticos se refieren a compuestos bioactivos que, generan sinergia junto con los probióticos y ofrecen salud al huésped (6). Dentro de los prebióticos se pueden encontrar la inulina, mananoligosacáridos, fructooligosacáridos, principalmente (7,8). Mientras tanto, los probióticos se definen como “microorganismos vivos que confieren salud al huésped, cuando son administrados en dosis adecuadas” (9,10). Actualmente, las evidencias científicas han demostrado que los probióticos son una alternativa de aditivos alimentarios que, aplicados en la alimentación de cerdos, son capaces de modular la respuesta inmune y mejorar los parámetros zootécnicos de conversión alimenticia y ganancia de peso en los sistemas agropecuarios (11). Además, existe un efecto positivo en los cerdos destetados cuando son intervenidos con *Lactobacillus plantarum* evidenciando una ganancia de peso (12). *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus*

acidophilus también ha demostrado influencia en la ganancia de peso y peso al destete en cerdos (13). En relación al ensilaje, *Lactobacillus casei* var. *rhamnosus* se aplicó en concentración de 15% y el arroz cocido en la misma concentración para la elaboración de ensilados de residuos de pescado (14). En la temática de encapsulados, se ha evidenciado el efecto de la gelatina y el almidón como matrices transportadoras de *Lactobacillus reuteri* DSPV002C que se suministraron a cerdos, demostrando que los metabolitos de la cepa favorecen al desarrollo de las vellosidades intestinales y por ende mejorar la absorción de nutrientes (15).

En México existen frutos de baja explotación biotecnológica, tal como el fruto de *Parmentiera aculeata* (Kunth) Seem, el cual es conocido en la Huasteca Potosina como “chote”. Los usos son el maderable, medicinal y comestible para humanos y como forraje para animales (16,17). En este sentido, es importante el uso de ingredientes que además de nutrir, promuevan la salud digestiva y se aprovechen los nutrientes para mejorar el crecimiento en los sistemas de producción pecuaria, incluyendo su bajo costo (4). Actualmente existe un interés en la búsqueda de nuevas fuentes de sustratos de bajo costo que funjan como sustratos para el crecimiento de probiótico. Por tal motivo, el objetivo del presente estudio fue utilizar el fruto de *P. aculeata* como sustrato para el crecimiento de bacterias probióticas en fermentación en estado sólido (FES), estableciendo condiciones óptimas de crecimiento.

2. Materiales y Métodos

Microorganismos, medios de cultivo y reactivos químicos

Las cepas probióticas (*Lactobacillus paracasei* subesp. *paracasei* ATCC 25302 y *L. plantarum* subesp. *plantarum* ATCC 14917) que se utilizaron para el desarrollo de

las FES fueron proporcionadas por el Departamento de Investigación en Alimentos de la Universidad Autónoma de Coahuila. El medio de cultivo Man Ragosa Sharpe (MRS) se adquirió en Merck (Darmstadt, Germany). Todos los reactivos químicos se adquirieron en Productos Químicos de Monterrey (Monterrey, Mex) y Jalmek Científica (San Nicolás de los Garza, México).

Recolección de frutos

La recolección de los frutos de *P. aculeata* (H. B. & K.) Seemann se realizó durante el otoño de 2018 en Rascón, S. L. P. (Latitud 21.97466818 Longitud 99.26012278,299 msnm). Se tomó como criterio para su selección la escala de color reportada por Angón-Galván (16) seleccionando aquellos frutos parcialmente-maduros (nivel 3) y maduros (nivel 4) con un intervalo de sólidos solubles entre 8.0-13.0 °Brix. Los frutos se lavaron y desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio 4% durante 10 minutos.

Análisis químico-proximal del fruto

La caracterización del fruto se realizó de acuerdo con las metodologías de la AOAC International (Association of Official Agricultural Chemists) (18,19). La determinación de humedad se realizó por el método 925.09 a 110 °C por 3 h. La determinación de cenizas el método 923.03 a 600 °C por 3 h. La determinación de proteína cruda se cuantificó por el método Kjeldahl (método 954.01). La determinación de grasas se realizó utilizando el sistema Soxhlet por el método 920.39 y, el porcentaje de carbohidratos se obtuvo mediante diferencias

de porcentajes. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Evaluación del crecimiento de dos cepas de *Lactobacillus* en FES

a) Preparación del material vegetal e inóculo

Previo al desarrollo de las FES, el material vegetal se cortó en rodajas y se sometieron a un proceso de secado durante 24 h en un deshidratador NESCO Gardenmaster FD-1010 PC (Wisconsin, USA). En seguida los frutos secos se pulverizaron en una licuadora Oster 6854-13 (Boca Ratón, Florida). Posteriormente el material pulverizado se esterilizó a 121°C, 15 lb de presión durante 20 minutos. Mientras tanto, 100 µL de cada una de las cepas de *Lactobacillus* crio-conservadas en glicerol-leche descremada se activó en 10 mL de caldo MRS. Las cepas se incubaron a 37 °C por 24 h. Posteriormente, se prepararon los inóculos para las FES que consistieron en resembrar las cepas en caldo MRS a 37 °C un periodo estricto de 16 h con una concentración de 8.55×10^8 - 1.04×10^9 cel/mL.

b) Diseño experimental

Se realizó un diseño experimental con arreglo ortogonal L9 (3^3) propuesto por Taguchi (20) con la finalidad de encontrar las condiciones óptimas donde se expresa el mayor crecimiento (mayor concentración celular) durante las FES. Para lo cual se evaluaron tres factores con tres niveles: pH (4.0, 5.0 y 6.0), porcentaje de humedad (50, 60 y 70 %) y concentración de inóculo (5, 10 y 15 %) (Tabla 1).

Tabla 1. Diseño experimental usando un arreglo ortogonal L9 (3^3).

Tratamiento	pH	% Humedad	% inóculo	Ajuste de las variables en los reactores
1	1	1	1	5.0 gbs + 4.5 mL H ₂ O* + 0.5 mL de inóculo
2	1	2	2	4.0 gbs + 5.0 mL H ₂ O* + 1.0 mL de inóculo
3	1	3	3	3.0 gbs + 5.5 mL H ₂ O* + 1.5 mL de inóculo
4	2	1	2	5.0 gbs + 4.0 mL H ₂ O* + 1.0 mL de inóculo
5	2	2	3	4.0 gbs + 4.5 mL H ₂ O* + 1.5 mL de inóculo
6	2	3	1	3.0 gbs + 6.5 mL H ₂ O* + 0.5 mL de inóculo

7	3	1	3	5.0 gbs + 3.5 mL H ₂ O* + 1.5 mL de inóculo
8	3	2	1	4.0 gbs + 5.5 mL H ₂ O* + 0.5 mL de inóculo
9	3	3	2	3.0 gbs + 6.0 mL H ₂ O* + 1.0 mL de inóculo

Nota: Niveles 1, 2 y 3 corresponden a pH 4.0, 5.0 y 6.0; humedad del 50, 60 y 70 %, y concentración de inóculo inicial de 5, 10 y 15 % (v/v), respectivamente. * Para ajustar el valor de pH deseado, el agua destilada estéril se acidificó con HCl 0.1 M.

Fermentación en estado sólido

Se utilizaron tubos cónicos de 15 mL como reactores conteniendo 10 g de material húmedo, los cuales fueron acondicionados con el pH, porcentaje de humedad y concentración de inóculo como se estableció en el diseño experimental (Tabla 1). La incubación se realizó a 37 °C por 120 horas y cada tratamiento se realizó por triplicado. Una vez finalizado el tiempo de fermentación, se realizaron diluciones 1:10, para lo cual se tomó 1 g de bagazo fermentado y se homogenizó en 9 mL de agua estéril. Se realizaron las diluciones seriadas necesarias para realizar el conteo celular en cámara de Neubauer. El crecimiento de las cepas evaluadas se expresó en células por gramo de bagazo seco (Cel/gbs), considerando las concentraciones iniciales de cada tratamiento y los gramos de bagazo utilizados en los tubos cónicos.

Análisis estadístico y validación del experimento

El análisis de varianza (ANOVA) se realizó en el software Statistica 7 (Statsoft, Tulsa, OK, USA). La validación del experimento se realizó para aquella cepa que presentó el mayor crecimiento y con las mejores condiciones de pH, humedad y concentración del inóculo, tras el análisis estadístico y predichas por el modelo de Taguchi.

3. Resultados y Discusión

Los resultados del análisis químico-proximal del fruto (Tabla 2) muestran un contenido de humedad similar a lo que se ha reportado por otros autores (16). Mientras que, el valor de cenizas es de 0.92%, es ligeramente superior al reportado por Angón-Galván (16) con un

intervalo de 0.49-0.62%, pero inferior a lo reportado por Villar-Herrera (21). En cuanto al contenido de proteínas, los resultados obtenidos son 1.23-13 veces superiores a los reportados previamente, los cuales corresponden a valores de 3.46% y 0.33-0.40%, respectivamente (16,21). Por otra parte, el contenido de grasa del fruto analizado es superior a lo que reportan otros autores: 1.3 veces superior (16) y hasta 167-125 veces superior (21). Mientras tanto, el contenido de carbohidratos obtenido es 1.95-2.38 veces inferior a lo reportado anteriormente: 8.7-10.6 % (16). Las diferencias en el análisis químico-proximal pueden deberse a los factores abióticos de las zonas geográficas (Oaxaca y Chiapas) y temporada del año de recolección (primavera-verano), puesto que las condiciones climáticas influyen en la composición nutricional de las frutas, tales como intensidad de la luz, temperatura, lluvias, tipo de suelo donde se desarrolla la planta, por mencionar algunos (22).

Tabla 2. Resultados del análisis químico-proximal del fruto de *P. aculeata*.

Parámetro	Porcentaje (%)
Humedad	85.33 ± 0.82
Cenizas	0.92 ± 0.19
Proteínas	4.29 ± 0.00
Grasas	5.02 ± 1.08
Carbohidratos	4.44 ± 0.00
Total	100.00

Tras el desarrollo de las FES, se observó que las condiciones óptimas de crecimiento para ambas cepas fue el tratamiento 3: niveles 1, 3 y 3 que corresponden a pH 4.0, 70% de humedad y 15% de inóculo (Fig. 1). El valor máximo de crecimiento fue de $1.42 \times 10^9 \pm$

2.03×10^8 cel/gbs para la cepa de *L. plantarum* subesp. *plantarum* ATCC14917, la cual superó 2.34 veces el crecimiento de la cepa de *L. paracasei* subesp. *paracasei* ATCC25302 (Tabla 3). Mientras tanto, el menor crecimiento fue de $9.00 \times 10^7 \pm 2.00 \times 10^7$ Cel/gbs y $1.80 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^7$ cel/gbs para *L. paracasei* subesp. *paracasei* ATCC25302 y *L. plantarum* subesp. *plantarum* ATCC14917 durante el tratamiento 1 (pH 4.0, humedad 50% e inóculo 5%), respectivamente. Para el desarrollo bacteriano, el pH es un factor importante que se puede encontrar en el intervalo neutro (pH 6.5-7.0), o bien, tratándose de lactobacilos en

pH 4.0 (23). Este valor inicial fue el preferido por ambas cepas de *Lactobacillus*. Los microorganismos requieren de agua para su crecimiento. En el caso de las bacterias, los valores necesarios de humedad son superiores a 60%, ya que a porcentajes menores el crecimiento se inhibe (24). Lo anterior se comprobó al observar que las cepas de *Lactobacillus* prefirieron humedades de 70% y los menores crecimientos se observaron en una humedad del 50%. Finalmente, la concentración del inóculo inicial causa un mayor crecimiento y/o variable de respuesta que se esté evaluando cuando la concentración de inóculo es del 15% (25).

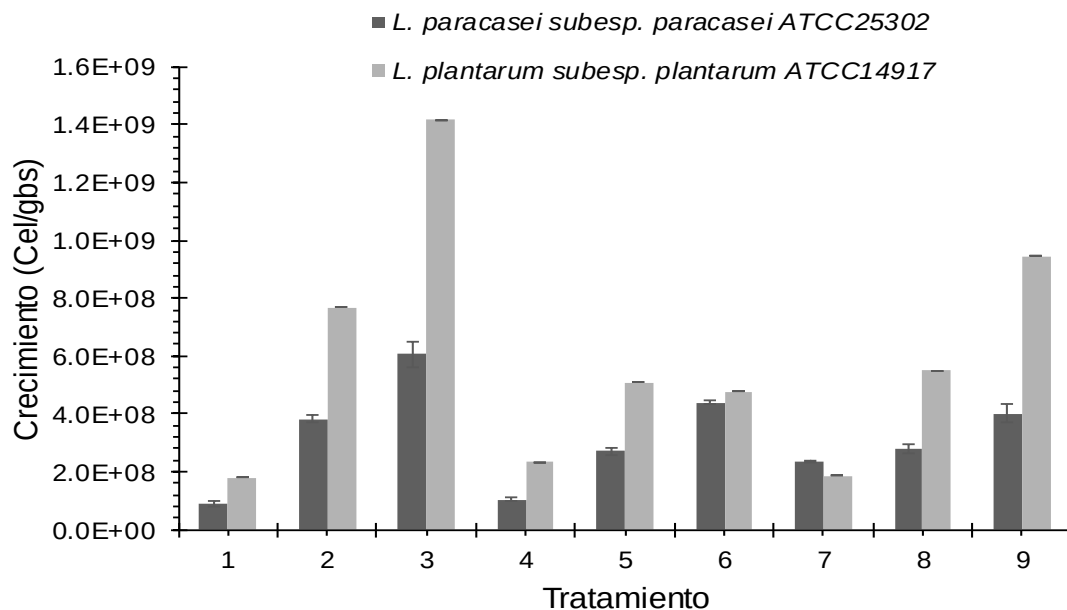


Figura 1. Resultados del diseño experimental del modelo de Taguchi para las FES usando el bagazo de *P. aculeata* como sustrato para el crecimiento de dos cepas probióticas.

Tabla 3. Resultados experimentales de las FES durante la aplicación del modelo de Taguchi y validación del método.

Cepas evaluadas	Cel/ gbs		
	Experimental	Esperado	Validado
<i>L. paracasei</i> subesp. <i>paracasei</i> ATCC25302	6.06×10^8	5.88×10^8	NR
<i>L. plantarum</i> subesp. <i>plantarum</i> ATCC 14917	1.42×10^9	1.26×10^9	4.90×10^9 * 5.06×10^9

NR: no realizado, *valor obtenido a las 144 h

De acuerdo con el ANOVA realizado se obtuvo que la relación señal/ruido de los factores por nivel para la cepa de *L. paracasei* subsp. *paracasei* ATCC25302 se mejoran cuando se utiliza un pH de 4.0, humedad de 70% y una concentración de inóculo de 15% (Fig. 2a). Mientras que, para la cepa de *L. plantarum* subsp. *plantarum* ATCC14917 se aprecia un comportamiento similar con las

mismas condiciones de pH y humedad; y para la concentración de inóculo con 10 o 15% de concentración (Fig. 2b). Para ambas cepas, el factor que mayor aportación tiene en los resultados obtenidos es la humedad con un valor de 63-79% y compartiendo un valor similar de aportación con la concentración de inóculo (8-12%) (Fig. 2b y 2c).

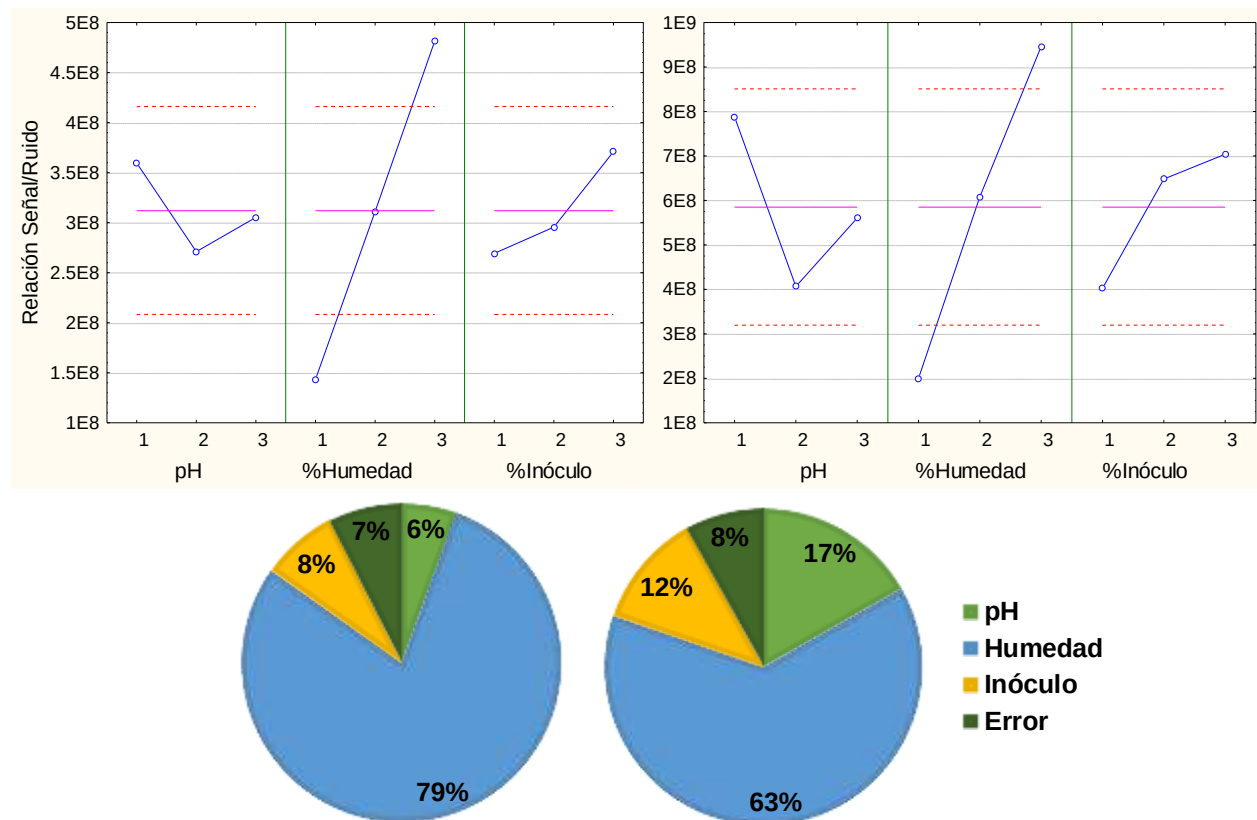


Figura 2. Resultados del análisis de Taguchi durante las FES usando el bagazo de *P. aculeata* como sustrato para el crecimiento de dos cepas probióticas. Relación señal/ruido de los factores por nivel y aportaciones de cada nivel en la variable de respuesta para las cepas de *L. paracasei* subsp. *paracasei* ATCC 25302 (izquierda) y *L. plantarum* subsp. *plantarum* ATCC14917 (derecha). Análisis estadístico para *L. paracasei* Mean=31198E4 Sigma=16446E4 MS Error=8082E12 df=2 y para *L. plantarum* Mean=58488E4 Sigma=40602E4 MS Error=5298E13 df=2

Tras la validación, se observó que se superó 3.8 veces el valor predicho por el modelo de Taguchi ensayo desarrollado en las condiciones óptimas de crecimiento. Estos resultados aportan información interesante para el área de nutrición animal, particularmente para el diseño de alimentos que mejoren el crecimiento en los sistemas de

producción pecuaria. Además, existen pocos reportes acerca del crecimiento de bacterias en medio sólido. Sin embargo, se ha ensayado el crecimiento de cepas probióticas, tales como *L. acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, y dos cultivos mixtos denominados YOMIXTM 205 LYO y CHOOZITTM MY 800, en matrices sólidas

como el polen de abejas donde, *L. acidophilus* registró la mayor supervivencia con valores de 10^8 UFC/mL (26). Otros autores han investigado la viabilidad celular de *Lactobacillus plantarum* LPBM10 y *Lactobacillus casei* ATCC 393 utilizando como sustrato la pulpa de uchuva y glucosa 14% (p/p) que tras 15 días presentaron valores de 3.23×10^9 y 7.88×10^8 UFC/mL, respectivamente. Además, se han realizado barras a base de cereales como matriz sólida para la formulación con probióticos y prebióticos, específicamente *Weissella confusa* (19). En el área de ensilaje, se ha utilizado *Lactobacillus plantarum* para la fermentación, conservación y calidad de ensilaje de maíz y sorgo, por mencionar algunos (27,28). Además del uso de *L. paracasei* para el ensilaje de zacate elefante y palocote tropical (29).

4. Conclusiones

En este estudio del fruto de *P. aculeata* se evidenció su aplicación como única fuente de nutrientes para el crecimiento de *L. paracasei* subesp. *paracasei* ATCC25302 y *L. plantarum* subesp. *plantarum* ATCC14917. Este fruto puede ser una alternativa de sustrato para trabajos futuros en el área de la nutrición animal, particularmente en el ensilaje y por ende mejorar la nutrición y crecimiento en los sistemas de producción pecuaria.

5. Agradecimientos

Los autores agradecen a PRODEP por el financiamiento de este proyecto (ITCVAL-PTC-004) a través del programa de Nuevos Profesores de Tiempo Completo (NPTC).

6. Referencias bibliográficas

1. Rodríguez R, Ontivero Y, García Y, Gómez D, Sosa G. Use of the sweet potato tuber (*Ipomoea batatas* L.) and the *Lactobacillus pentosus* LB-31 strain as additives to mixed silages for ruminants. *Livest Res Rural Dev* [Internet]. 2020 [cited 2022 May 25];23(7):Artículo 117. Available from: <https://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd32/7/rodri32117.html>
2. Flórez-Delgado DF, Rosales-Asensio E. Vista de Uso del ensilaje de pulpa de café en alimentación animal. *Mundo Fesc* [Internet]. 2018 [cited 2022 May 26];15(1):73–82. Available from: <https://www.fesc.edu.co/Revistas/OJS/index.php/mundofesc/article/view/254/385>
3. Molina A. Probiotics and their mechanism of action in animal feed. *Agron Mesoam*. 2019;30(2):601–11.
4. Núñez-Torres OP. Los costos de la alimentación en la producción pecuaria. *J Selva Andin Anim Sci*. 2017;4(2):93–4.
5. Sainz-Ramírez A, Botana A, Pereira-Crespo S, González-González L, Veiga M, Resch C, et al. Efecto de la fecha de corte y del uso de aditivos en la composición química y calidad fermentativa de ensilado de girasol. *Rev Mex Ciencias Pecu* [Internet]. 2020 [cited 2022 May 26];11(3):620–37. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242020000300620&lng=es&nrm=i so&tlng=es
6. Bernal Castro CA, Díaz-Moreno C, Gutiérrez-Cortés C. Probióticos y prebióticos en matrices de origen vegetal: avances en el desarrollo de bebidas de frutas. *Rev Chil Nutr* [Internet]. 2017 [cited 2018 Nov 29];44(4):383–92. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-

- 75182017000400383&lng=en&nrm=i
so&tlng=en
7. Mariño G, Núñez V, Barreto P. Microbiota, probióticos, prebióticos y simbióticos. *Acta Médica Cuba* [Internet]. 2016 Oct 31 [cited 2018 Dec 5];17(1). Available from: <http://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=68527>
8. Davani-Davari D, Negahdaripour M, Karimzadeh I, Seifan M, Mohkam M, Masoumi SJ, et al. Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications. *Foods*. 2019;8(3):92.
9. Guarner F, Sanders M, Eliakim R, Fedorak R, Gangl A, Garisch J, et al. Probióticos y prebióticos. *World Gastroenterol Organ*. 2017;35.
10. Nataraj BH, Ali SA, Behare P V., Yadav H. Postbiotics-parabiotics: The new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microb Cell Fact* [Internet]. 2020;19:168. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01426-w>
11. Flores L, Usca J, Peñafiel S, Tello L. Probióticos Como Aditivos Dietéticos Para Cerdos. Una Revisión/Probiotics as Dietetic Additives for Pigs. A Review. *KnE Eng* [Internet]. 2020 Jan 26 [cited 2022 Apr 26];2020:477–499–477–499. Available from: <http://3.65.204.3/index.php/KnE-Engineering/article/view/6267>
12. Vera-Mejía RR, Vega-Cañizares E, Sánchez-Miranda L. Efecto de *Lactobacillus plantarum* como probiótico en cerdos al destete. *Rev Salud Anim* [Internet]. 2018 [cited 2022 Apr 26];40(3):2224–4700. Available from: <http://opn.to/a/kqa3R>
13. Gutiérrez-Castro L, Güecha-Castillo A. Uso de probióticos en alimentación animal. *Rev Sist Prod uctivos Agroecol*. 2016;7(2):43–55.
14. Lecarnaque Dioses EN. Efecto de tres porcentajes de inóculo de *Lactobacillus cases* y tres concentraciones de arroz sobre la acidez del ensilado de residuos de pescado. Universidad Nacional de Tumbes; 2019.
15. Zimmermann J. Aplicación de diferentes matrices transportadoras de probióticos destinadas a cerdos en producción primaria. Universidad Nacional del Litoral; 2020.
16. Angón-Galván P. Caracterización parcial del fruto *Parmentiera edulis*. Universidad Tecnológica de la Mixteca; 2006.
17. García-Castillo CG, Martínez-Tinajero JJ, Montañez-Valdez OD, Sánchez-Orozco L, Posada-Cruz S, Izaguirre-Flores F, et al. Degradación ruminal de la materia seca del fruto cuajilote (*Parmentiera edulis*). *Zootec Trop*. 2008;26(1):1–8.
18. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. Horwitz W, editor. AOAC International. Maryland, USA: AOAC International; 2005.
19. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International of AOAC International. 20 th. Latimer GW, editor. AOAC International. Maryland, USA: AOAC International; 2016. 3172 p.
20. Aguilar-Zarate P, Cruz-Hernandez MA, Montañez JC, Belmares-Cerda RE, Aguilar CN. Enhancement of tannase production by *Lactobacillus plantarum* CIR1: Validation in gas-lift

- bioreactor. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2014;37(11):2305–16.
21. Villar-Herrera S. Evaluación nutrimental del fruto *Parmentiera edulis* para su posible utilización en la industria alimentaria. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; 2011.
 22. Kader AA, Pelayo-Zaldivar C. Tecnología postcosecha de cultivos hortofrutícola [Internet]. UCANR Publications; 2011 [cited 2022 Aug 18]. 584 p. Available from: <https://books.google.com.mx/books?id=x62K8WYwAt4C&pg=PA321&dq=factores+que+influyen+en+la+calidad+de+las+frutas&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjHs-X2iNL5AhVJnGoFHbOhC20Q6AF6BAGLEAI#v=onepage&q=factores+que+influyen+en+la+calidad+de+las+frutas&f=false>
 23. Negroni M. Microbiología Estomatológica, Fundamentos y guía práctica [Internet]. Segunda. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009 [cited 2022 Aug 19]. 656 p. Available from: https://books.google.com.mx/books?id=Gxmui-vjZBgC&pg=PA45&dq=factores+que+afectan+el+crecimiento+bacteriano&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjB_uzTjtL5AhW3hIkEHU14CNwQ6AF6BAGHEAI#v=onepage&q=humedad&f=false
 24. Díaz-Fernández JM. Ingeniería de Bioprocesos [Internet]. Tercera ed. España: Ediciones Paraninfo, S. A.; [cited 2022 Aug 19]. Available from: https://books.google.com.mx/books?id=eHA-EAAAQBAJ&pg=PA340&dq=actividad+de+agua+para+crecimiento+microbiano&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjy2_eOh9P5AhWGIUQIHWTwCzkQ6AF6BAGHEAI#v=onepage&q=actividad+de+agua+para+crecimiento+microbiano&f=false
 25. Lora Cahuas de Robles CE del R. Efecto de diferentes concentraciones de inóculo de *Pseudomonas aeruginosa* en la degradación de aceite lubricante en laboratorio [Internet]. Biblioteca Digital-Dirección de Sistemas de Informática y Comunicación. Universidad Nacional de Trujillo; 2021. Available from: [http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/14465/Aguilar Ramos Cesar Hilton.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/14465/Aguilar+Ramos+Cesar+Hilton.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
 26. Fuenmayor CA, Quicazán MC, Figueroa J. Desarrollo de un suplemento mnutricional mediante la fermentación en fase sólida de polen de abejas empleando bacterias ácido lácticas rpobióticas. *Aliment Hoy* [Internet]. 2010 [cited 2022 May 30];20(23):18–40. Available from: https://acta.org.co/acta_sites/alimento+shoy/index.php/hoy/article/view/24/24
 27. Agropecuarias C, Ramírez-díaz R, Pinto-ruiz R, Medina-jonapá F, Guevara-hernández F. Efecto de inoculantes y aditivos sobre fracciones de fermentación ruminal y degradación in vitro en ensilaje de sorgo (*Sorghum sp*) Effect of inoculants and additives on fractions of ruminal fermenta- tion and in vitro degradation in sorghum silage (*Sor. Cienc UAT*. 2020;15(1):172–9.
 28. Vera Mendoza AJ, Zambrano Zambrano BA. Inoculación de *Lactobacillus plantarum* para la fermentación y conservación del

ensilaje de maíz (Zea mays)SILAJE
DE MAÍZ (Zea mays). Escuela
Superior Politécnica Agropecuaria
Manuel Félix López; 2019.

29. Holguín VA, Cuchillo-Hilario M, Mazabel J, Quintero S, Mora-Delgado J. sobre la fermentación ruminal in vitro y su emisión de metano en el sistema RUSITEC. Rev Mex Ciencias Pecu. 2020;11(1):19–37.