

EFFECTO DEL TIEMPO DE CONSERVACIÓN SOBRE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE SUPLEMENTOS PROTEICO-ENERGÉTICOS PARA ALIMENTACIÓN ANIMAL

Tolosa S. Mayerly A¹, Abreu S Andrés, Díaz R Martha L², Aguirre F Paola A²

Resumen

El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto del tiempo de conservación sobre la calidad microbiológica de dos suplementos alimenticios con fuentes energéticas en común (melote de caña y heno de pasto estrella), y diferente fuente proteica (semilla de algodón y pollinaza compostada), mediante análisis microbiológicos (coliformes totales y fecales, mohos y levaduras, *Salmonella*). El periodo experimental tuvo una duración de 60 días, en los cuales se tomaron muestras por triplicado cada 15 días. Se observó que los niveles de coliformes totales, mohos y levaduras se encontraron dentro de los límites permisibles que indica el ICA, para coliformes fecales se presentó un desarrollo a partir del día 45, posiblemente por contaminación externa y para *salmonella*, el estudio cualitativo indicó ausencia para ambos suplementos. En conclusión, es posible conservar los suplementos hasta 30 días, con cargas microbianas dentro de los límites permisibles en alimentos balanceados para alimentación animal.

Palabras claves: suplementos balanceados, carga microbiana, melote, pollinaza compostada.

Abstract

With the aim of evaluate the effect of conservation time on the microbiological quality of two food supplements with energy sources in common (cane melote and star-grass hay, in both) and different protein source (cottonseed in one supplement and composted chickpea in the other), this research conducted total and fecal coliforms, molds and yeasts and *Salmonella* microbiological tests. The experimental period lasted 60 days, in which samples were measured in triplicate every 15 days. It was observed that the levels of total coliforms, molds and yeasts stayed within the permissible limits indicated by the ICA, for fecal coliforms a development was presented from day 45, possibly due to external contamination and for salmonella, the qualitative indicative study absence for both supplements. In conclusion, it is possible to keep the supplements for up to 30 days, with microbial loads within the permissible limits for balanced food for animal feeding.

Keywords: food supplements, microbial loads, melote, composted chickpea.

1 Egresada. Programa de Zootecnia. Universidad Libre Seccional Socorro.

2 Docentes programa de Zootecnia e ingeniería Ambiental. Universidad Libre Seccional Socorro. Grupo de investigación Ingeniería Ambiental y Zootecnia GIAM-Z. paola.aguirre@unilibre.edu.co

Introducción

Un elemento fundamental en los sistemas ganaderos es la suplementación, su planificación y la evaluación de sus resultados deben considerarse dentro de la producción y no de forma aislada.(1) La suplementación es el suministro de cantidades adicionales de alimentos con el objeto de mejorar la eficiencia de aprovechamiento del alimento base, aumentar el nivel de producción para cubrir el aporte faltante de nutrientes y prevenir enfermedades nutricionales.(2) Se puede implementar en situaciones de deficiencia de alimentos y/o épocas de sequía. En estos casos el suplemento se proporciona para el mantenimiento y subsistencia, en otros para el aumento de la producción animal cubriendo los periodos de déficit en cantidad y calidad de los pastos que conforman la pradera y/o forrajes base en la alimentación animal.(1)

Dado lo anterior, es indiscutible que la ganadería requiere soluciones que permitan encontrar alimentos para un balance adecuado de la dieta total.(3) Esto ha permitido encontrar estrategias en el uso de subproductos originados en las actividades agropecuarias y agroindustriales. El conocimiento de estos subproductos es importante para su empleo en diversas formas en la suplementación del ganado. Entre ellos se encuentra la pollinaza, utilizada como insumo en alimentación de rumiantes, fuente de proteína y energía(4), aporta una importante cantidad de minerales.(5,6) Subproductos de la industria azucarera como la cachaza que es más bien utilizada como abono orgánico.(7) Su utilización no ha sido racional debido a su rápida fermentación y alto contenido de agua. Sin embargo, la deshidratación por calor como método de conservación, permite obtener un material más estable denominado melote, que, almacenado por un periodo de 3 a 4 meses, conserva sus

características nutricionales,(8) su contenido de proteína es bajo y variable. La semilla de algodón representa una importante fuente de alimento para el ganado, por su alto contenido proteico, de fibra y concentración energética, además de proporcionar minerales.(9)

Para la formulación de raciones el conocimiento del aporte nutricional de las materias primas es primordial. Sin embargo, otro factor importante por considerar en la elaboración de suplementos alimenticios y que es poco estudiado es la contaminación microbiológica, que puede predisponer a la proliferación de poblaciones bacterianas perjudiciales para el animal y el operario; factor que se relaciona con el tiempo de conservación de alimentos, acelerando el crecimiento de poblaciones microbianas, así como la alteración del contenido nutricional. Por consiguiente, el objetivo de la investigación fue evaluar el efecto del tiempo de conservación de dos suplementos alimenticios elaborados con fuentes proteico-energéticas como el melote de caña de azúcar, heno de pasto estrella (*Cynodon nlemfluensis*); cada uno con fuente proteica diferente, pollinaza compostada y semilla de algodón, sobre la calidad microbiológica.

Materiales y Métodos

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de nutrición animal de la Universidad Libre Seccional Socorro, Campus Universitario Majavita, vereda alto de Chochos en el departamento de Santander, ubicada en la latitud 06°28'350"N, longitud 73°14'981, a una altura de 1380 msnm con una temperatura promedio de 24°C.

Elaboración de los suplementos experimentales y preparación de las muestras

Se elaboraron dos suplementos con fuentes energéticas (melote de caña y heno de pasto estrella), cada uno con fuente

proteica diferente (pollinaza compostada o semilla de algodón). El pasto estrella fue cortado y picado en fresco en una pica pastos, para reducir el tamaño de partícula a una longitud de 3 a 4 cm, posteriormente se realizó un pre secado bajo sombra para reducir el contenido de agua y obtener el heno, la semilla de algodón se adquirió en la Finca Tamacara del municipio del Socorro; y se molió para una mejor homogenización; la pollinaza compostada se adquirió en la Hacienda Santa Bárbara del municipio de Pinchote. Se prepararon cinco kilogramos de acuerdo con los porcentajes de inclusión de los ingredientes para cada suplemento (tabla 1) y se mezclaron manualmente; una vez obtenida la mezcla, se tomaron muestras para los análisis iniciales y el excedente se llevó a secado para reducir la humedad, posteriormente se almacenó y toma de muestras.

Tabla 1. Composición de los suplementos con diferentes fuentes proteicas semilla de algodón (SA) y pollinaza compostada (SP)

	Suplementos	
	SA	SP
Ingredientes (%)		
Heno de pasto estrella	56	56
Semilla de Algodón	15	-
Pollinaza Compostada	-	15
Melote de Caña de Azúcar	25	25
Sal Mineralizada	4	4

Análisis de la calidad microbiológica
Periodo experimental

El periodo experimental tuvo una duración de 60 días (tabla 2), en el cual se tomaron muestras cada 15 días para los análisis microbiológicos en el laboratorio de microbiología de la Universidad Libre Seccional Socorro.

Tabla 2. Técnicas para el análisis de calidad microbiológica de los suplementos (SA y SP)

Calidad Microbiológica		
	Técnica	Toma de muestra (día)
Coliformes totales y fecales (UFC/100ml)	Filtración por membrana con dilución seriada	1 - 15 - 30 - 45 - 60
Mohos y Levaduras (UFC/g)	Recuento en placa profunda	1 - 15 - 30 - 45 - 60
<i>Salmonella</i>	Método Salmosyst de aislamiento de identificación	1 - 60

Técnicas y procedimientos para análisis microbiológicos

Recuento de coliformes totales y fecales

La legislación colombiana en la resolución 1056 de 1996, dispone las normas sobre el control técnico de los insumos pecuarios,

en la cual se aporta información técnica y científica que especifica los requisitos necesarios para asegurar la calidad de los insumos que se producen, entre ellos alimentos para animales.(10) La norma técnica colombiana (NTC) 4458/07, recomienda el método horizontal para el recuento de coliformes, presentes en los

productos destinados al consumo humano o alimentos de animales, por medio de la técnica de recuento de colonias.

Se realizó recuento de unidades formadoras de colonia (UFC/100 ml), por el método de dilución seriada, para ello se tomaron 10g de muestra y se disolvieron en 90 ml de solución salina estéril; posteriormente se realizaron diluciones seriadas por triplicado hasta 104 y se filtraron, las membranas fueron puestas en cajas de Petri con medio de cultivo Chromocult; se incubaron por 24 horas a 37°C. Para el conteo se tuvieron en cuenta para coliformes totales y fecales, colonias con coloración rosada y azul violeta, respectivamente.

Determinación de mohos y levaduras

Se realizaron diluciones seriadas de 101 a 106 por triplicado, 1 ml por cada dilución en cajas de Petri, agregando de 15 a 20 ml de agar Platecount para homogenización con la muestra y posterior solidificación e incubación a una temperatura de 25°C durante cinco días.

Para el reporte cuantitativo del análisis, se seleccionaron placas que contenían entre 10 y 150 colonias (representatividad estadística). Para calcular unidades formadoras de colonias por gramo o mililitro dependiendo del estado físico de la muestra. Multiplicando el número de UFC encontradas en la caja representativa, por la dilución correspondiente a misma caja.¹¹ La técnica de recuento para mohos y levaduras está regida por la NTC 4132/97.

Determinación de Salmonella

La técnica para detección de *Salmonella* regida por la NTC 4574/98, está basada en la determinación de la presencia o ausencia de *salmonella* en diferentes matrices¹² y se expresa cualitativamente.

El análisis se realizó en dos etapas:

Etapas de pre enriquecimiento: se pesó 10g de muestra por cada suplemento, a los cuales se le adicionaron 90 ml de agua peptonada, posteriormente llevados a incubación por 24 horas a 37°C; el objetivo de esta etapa es normalizar metabólicamente las células de *Salmonella spp.*, que se encuentren en determinada matriz para su perfecto desarrollo.⁽¹³⁾

Etapas de aislamiento selectivo: una vez incubadas las muestras se realizó la siembra por estría en superficie en agar SS en cajas Petri para incubación por 24 horas a 37°C. Esta etapa permite diferenciar las colonias de *Salmonella* de otras bacterias, la diferenciación radica en la composición de los distintos medios que permiten el crecimiento de las colonias con aspectos característicos. Un indicativo de la presencia de *salmonella* es el desarrollo de colonias con centro negro, según el medio utilizado.⁽¹²⁾

Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar, con un arreglo factorial (2x5), dos suplementos con cinco lecturas (1, 15, 30, 45 y 60) y tres repeticiones por suplemento. Se probaron efectos lineales, cuadráticos y cúbicos a través del tiempo utilizando un análisis de regresión. Para el análisis se utilizó el programa estadístico de SAS (SAS/STAT versión 9.1, 2002; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Modelo estadístico factorial

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + E_{ijk}$$

Dónde:

μ = Media general

α_i = Efecto del tratamiento i

β_j = Efecto del día j

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre tratamiento por día

E_{ijk} = Efecto del error experimental ijk

Resultados y Discusión

Calidad microbiológica de los Suplementos experimentales

Coliformes totales y fecales

No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los suplementos para las variables de coliformes totales y fecales. En general para ambos suplementos el contenido de coliformes totales aumento linealmente a través del tiempo (Tabla 3). Respecto a la interacción no se presentó significancia estadística ($P > 0.05$).

A partir del día 45 se presentó un desarrollo de coliformes fecales para ambos suplementos, posiblemente por una fuente externa de contaminación. En otra investigación.(13), se encontraron niveles de

87 UFC/g en microorganismos coliformes en suplementos con pollinaza inoculada y Vitafert. Castellanos y Murguía(14), hallaron un incremento de coliformes totales y fecales a partir de los 28 días de almacenamiento. Tiempo inferior al observado en la investigación (45 días). Comparando los resultados obtenidos en la investigación, con los niveles permisibles para coliformes totales las UFC no sobrepasaron las 133 UFC/100ml; hay un nivel permisible en recuento de coliformes sobre/g: <1.000.000 en alimentos balanceados para rumiantes(15); mientras que el ICA indica los límites permisibles en recuentos microbiológicos en alimentos para aves (NTC 2107) y cerdos (NTC 1839) en un máximo de 10×10^4 UFC/g ó ml en recuento de microorganismos coliformes.(10)

Tabla 3. Comportamiento de coliformes totales y fecales (UFC/100 ml) para los suplementos experimentales a través del tiempo de conservación.

Variable/ Tiempo	SA	SP	Prom	DS	Tendencia ²	Pr > F ¹		
						Trat.	Día	T*D
<i>Coliformes totales (UFC/100ml)</i>								
Día 1	43.3	26.6	35 ^d					
Día 15	73.3	63.3	68.3 ^c					
Día 30	83.3	73.3	78.3 ^{bc}					
Día 45	103.3	106.6	105 ^{ab}					
Día 60	130	133.3	131.6 ^a					
Promedio	86.6 ^a	80.6 ^a		17.6	L	0.3618	0.0001	0.8153
<i>Coliformes fecales (UFC/100ml)</i>								
Día 1	0	0	0 ^c					
Día 15	0	0	0 ^c					
Día 30	0	0	0 ^c					
Día 45	20	16.6	18.3 ^b					
Día 60	33.3	40	36.6 ^a					
Promedio	10.6 ^a	11.3 ^a		6.05	L	0.7661	0.0001	0.7043

1 T*D, interacción tratamiento x día. abc Filas con diferentes letras difieren significativamente a $P < 0.05$; Prom, promedio/tratamiento; DS, desviación estándar.

2 Efecto lineal (L), del tiempo sobre las variables nutricionales de los suplementos.

Mohos y levaduras

Se observó un aumento en la población de mohos y levaduras a través del tiempo para ambos suplementos (tabla 4),

notándose diferencias significativas entre tratamientos y tiempo ($P < 0.01$) en tanto la interacción no presento diferencias estadísticas ($P > 0.05$).

Tabla 4. Comportamiento de mohos y levaduras en el tiempo de conservación de los suplementos experimentales

Variable/ Tiempo	SA	SP	Prom	DS	Tend ²	Pr > F ¹		
						Trat.	Día	T*D
<i>Mohos y Levaduras (UFC/g)</i>								
Día 1	160000	180000	170000 ^d					
Día 15	196667	216667	206667 ^c					
Día 30	223333	246667	235000 ^c					
Día 45	263333	290000	276667 ^b					
Día 60	306667	353333	330000 ^a					
Prom.	257333 ^a	230000 ^b		18529.2	L	0.0006	0.0001	0.7056

1 T*D, interacción tratamiento x día. abc Filas con diferentes letras difieren significativamente a $P < 0.05$; Prom, promedio/tratamiento; DS, desviación estándar.

2 Efecto lineal (L), del tiempo sobre las variables nutricionales de los suplementos.

Se evaluaron el comportamiento microbiológico en alimentos balanceados para rumiantes elaborados con pollinaza, encontrando que la presencia bacteriana no disminuyó durante su almacenaje.(14)

El nivel máximo de mohos y levaduras para ambos suplementos no superó la cantidad de 257333 UFC/g (tabla 7), Según el ICA indica que los límites permisibles en alimentos para animales son máximo de 10×10^4 UFC/g ó ml en recuento de hongos.

Salmonella

El estudio cualitativo indico ausencia de *Salmonella* en los suplementos. En otra investigación,(14) reportaron ausencia de *Salmonella* en todas las muestras estudiadas de alimentos balanceados para rumiantes elaborados con pollinaza; lo cual es el reflejo de las buenas prácticas sa-

nitarias llevadas a cabo por las empresas avícolas de donde procedieron las excretas. Se han realizado reportes de ausencia de *Salmonella* en suplementos para ovinos elaborados con pollinaza y cuatro niveles de melaza.(13)

Conclusiones

Tanto el estado nutricional, como microbiológico de un suplemento alimenticio a base de subproductos agroindustriales permite conocer el tiempo adecuado de conservación. De acuerdo con los resultados obtenidos en la investigación, se considera que el periodo puede ser de hasta 30 días, con cargas microbianas dentro de los límites permisibles, puesto que un período más prolongado puede generar cargas bacterianas altas perjudiciales para la salud y el bienestar del animal, afectando el rendimiento productivo. Además, que

la composición nutricional puede entrar en detrimento y alterar la calidad de los suplementos.

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a la Universidad Libre Socorro por su apoyo y contribución en este trabajo. Al doctor Guillermo Arturo Corredor por su apoyo y asesoría estadística.

Referencias Bibliograficas

1. Pasinato A & Sevilla G. Sitio Argentino de Producción Animal. Sitio Argentino de Producción Animal. 2002. [internet] disponible en: www.produccion-animal.com.ar
13. Philip T F, Lienau A H, Leung S C, Mui L A, Florence H, Bohnert M, Mooijman K. Detection of Salmonella in Fresh Cheese, Poultry Products, and Dried Egg Products by the ISO 6579 Salmonella Culture Procedure and the AOAC Official Method: Collaborative Study. J. AOAC Int. 2003, 86(2):275-295. [internet] disponible en: [http://lib3.dss.go.th/fulltext/Journal/J.AOAC%201999-2003/J.AOAC2003/v86n2p\(mar-apr\)/v86n2p275.pdf](http://lib3.dss.go.th/fulltext/Journal/J.AOAC%201999-2003/J.AOAC2003/v86n2p(mar-apr)/v86n2p275.pdf)
2. Henao P, Tapasco O & Serna M. Validación de tres suplementos alimenticios elaborados a partir de subproductos agroindustriales de poscosecha en función del incremento en sólidos totales de la leche. 2011. [internet] disponible en: www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612011000200012
3. Sierra, P J O. Fundamentos para el establecimiento de pasturas y cultivos forrajeros, Editorial Universidad de Antioquia. 2002. [internet] disponible en: https://books.google.com.co/books?id=rbezH_RPHVYC
4. Zinn R A, Barajas R, Montañó M, & Shen Y. Protein and energy value of dehydrated poultry excreta in diets for feedlot cattle. Journal of animal science. 1996, 74(10):2331-2335. [internet] disponible en: www.researchgate.net/profile/Martin_Montano/publication/14301734_Protein_and_Energy_Value_of_Dehydrated_Poultry_Excreta_in_Diets_for_Feedlot_Cattle/links/55f85b6108aeba1d9f061428.pdf
5. Segura C V M, Tepal C H J, Carvajal A J, Castellanos R A F. La pollinaza como fuente de fósforo para ruminantes en pastoreo. Livestock Res Rural Development. 2000. [internet] disponible en: www.cipav.org.co/lrrd/lrrd12/2/cas122htm.
6. Cooke J A, Fontenot J P. Utilization of phosphorus and certain other minerals from swine waste and broiler litter. J AnimSci. 1990, 68(9):2852-63. [internet] disponible en: www.animalsciencepublications.org/publications/jas/pdfs/68/9/2852
7. Asquiere E R, Assis E M, Serra G. E. Aprovechamiento del subproducto de la caña de azúcar (cachaça) y la recuperación de ceras y sacarosa. Alimentaria. Revista de tecnología e higiene de los alimentos. 2003, 341:103-110. ISSN 0300-5755. [internet] disponible en: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=308861>
8. Sarria P, Solano A & Preston T R. Utilización de jugo de caña y cachaça panelera en la alimentación de cerdos. Livestock Research for Rural Development, 1990, 2(2):92-100. [internet] disponible en: www.lrrd.org/lrrd2/2/sarria.htm

9. Oviedo C, Pastrana A, Maza L, Salgado R y Vergara O. Supplementation Of Lactation Calves Dual Purpose In the Dry Season In the Middle Sinu Valley, Colombia. Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica. 2011, 14(1):57-62. ISSN 0123-4226. [internet] disponible en: www.scielo.org.co/pdf/rudca/v14n1/v14n1a08.pdf
10. ICA. Directivas técnicas de alimentos para animales y sales mineralizadas. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. (s.f). [internet] disponible en: www.ica.gov.co/getdoc/7d27ee5e-cfe4-47a2-868e-7c53f4e49473/Directivastecnicasalimentosanimales.aspx
11. Camacho A M, Giles A, Ortégón M, Palao B, Serrano y Velázquez O. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México. 2009:9. [internet] disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasic-Diluciones_6526.pdf
12. González J, Pereira N, Soto Z, Hernández E & Villarreal J. Aislamiento microbiológico de *Salmonella spp.* y herramientas moleculares para su detección. Revista Salud Uninorte (online), Barranquilla, Colombia. 2014, 30(1);73-94. ISSN 0120-5552. [internet] disponible en: www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-55522014000100009
13. Calderón JO, Iglesia AE. Contribución a la Suplementación Ovina con Pollinaza Fermentada (Vitafer) y cuatro niveles de Melaza. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET ®. 2006, 7(10). ISSN 1695-7504. [internet] disponible en: www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101006.html
14. Castellanos R A F, Murguía O M L. Comportamiento de la contaminación microbiológica en alimentos balanceados para ruminantes elaborados con pollinaza. RevBiomed. 2002, 13: 171-177. [internet] disponible en: www.uady.mx/~biomedic/rb021333.pdf
15. Zartha J W. Tecnología de alimentos balanceados para animales. Universidad Pontificia Bolivariana. Facultad de Ingeniería Agroindustrial. Medellín, Colombia. 2007, 167. [internet] disponible en: www.academia.edu/4758114/TECNOLOGIA_DE_ALIMENTOS_BALANCEADOS_PARA_ANIMALES