

## Efecto de la inoculación microbiana en ensilajes de residuos agroindustriales: una aproximación biotecnológica al aprovechamiento sostenible

Effect of microbial inoculation on agro-industrial waste silages: a biotechnological approach to sustainable utilization

Lenis Matute-Almeida<sup>1\*</sup>, Mauricio Alcubilla-Guerrero<sup>2</sup>, Ángel Medina-Herrera<sup>3</sup>,  
Mónica Sabino-Rojas<sup>4</sup>

Laboratorio de Biotecnología Agroindustrial, Instituto de Química y Tecnología. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela,  
Apdo. 4563. Maracay, 2101-A. Venezuela

### RESUMEN

La valorización nutricional y ambiental de residuos agroindustriales de papa (*Solanum tuberosum* L.) y de naranja (*Citrus sinensis* L.) se evaluó en ensilajes con inoculación microbiana. Se formularon microsilos con harina deshidratada de estos residuos, inoculándolos con cultivo puro (*Saccharomyces cerevisiae* o *Limosilactobacillus fermentum*), o con cultivo mixto, y fermentados durante 72 horas. El experimento se llevó a cabo bajo un arreglo factorial  $3 \times 2 \times 4$  completamente aleatorizado, y los datos fueron analizados mediante ANOVA y la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ). Se determinaron parámetros bromatológicos, cinéticos y ambientales (estimación de emisiones de GEI según PAS 2050). Los resultados demostraron que los ensilajes con harina de residuos de papa presentaron menor estabilidad fermentativa y rendimiento nutricional, mientras que los tratamientos con residuos de naranja fermentados mostraron parámetros de calidad. El ensilado de residuos de naranja y fermentado con *L. fermentum*

### ABSTRACT

The nutritional and environmental valorization of agro-industrial waste from potatoes (*Solanum tuberosum* L.) and oranges (*Citrus sinensis* L.) was evaluated in silages with microbial inoculation. Microsilos were formulated with dehydrated flour from these residues, inoculating them with a pure culture (*Saccharomyces cerevisiae* or *Limosilactobacillus fermentum*), or with a mixed culture, and fermented for 72 hours. The experiment was carried out under a completely randomized  $3 \times 2 \times 4$  factorial arrangement, and the data were analyzed by ANOVA and Tukey's test ( $p < 0.05$ ). Bromatological, kinetic, and environmental parameters (estimation of GHG emissions according to PAS 2050) were determined. The results showed that silages with potato waste flour presented lower fermentative stability and nutritional yield, while treatments with fermented orange waste showed quality parameters. The orange silage fermented with *L. fermentum* for 48 h presented a CP content of 7.44 %, NDF and ADF of approximately 22.00

\*Autor de correspondencia: Lenis Matute-Almeida

E-mail: lenis.matute.ucv@gmail.com; Telf: +58 414-3874422

ORCID: <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9815-318>

<sup>2</sup> <https://orcid.org/0009-0004-2539-5608>

<sup>3</sup> <https://orcid.org/0009-0004-2657-8262>

<sup>4</sup> <https://orcid.org/0009-0006-2301-5688>

Recepción: 01-10-2025

Aceptado: 19-11-2025

Publicado: enero, 2026

<https://doi.org/10.63327/RFA/2025.51.2.01>

Esta Revista se publica bajo el auspicio del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, UCV

durante 48 h presentó un contenido de PC de 7,44 %, FDN y FDA de aproximadamente 22,00 %, y menos de 4,00 % de grasa y cenizas. Todos los ensilados con naranja demostraron ser un complemento alimenticio de alto valor energético para la dieta animal. Finalmente, la estimación de la reducción de la huella de carbono evidenció una disminución potencial de más del 80% en las emisiones de GEI respecto a los residuos sin tratamiento. Estos resultados respaldan el uso de residuos agroindustriales ensilados como un complemento valioso en la dieta animal y como una estrategia bioeconómica y ambientalmente sostenible.

**Palabras clave:** bioeconomía, fermentación, GEI, huella de carbono, valorización.

%, and less than 4.00 % of fat and ash. All orange silages proved to be a high-energy feed supplement for the animal diet. Finally, the estimation of the carbon footprint reduction evidenced a potential decrease of more than 80% in GHG emissions compared to the untreated residues. These results support the use of ensiled agro-industrial waste as a valuable supplement in the animal diet and as a bioeconomic and environmentally sustainable strategy.

**Key words:** bioeconomy, fermentation, GHG, carbon footprint, valorization.

## INTRODUCCIÓN

El aprovechamiento de los residuos agroindustriales es una prioridad global, dado que su composición posibilita la obtención de productos con valor agregado promoviendo la bioeconomía (Puglia *et al.*, 2021; Capanoglu y Tomás-Barberán, 2022). En Venezuela, se ha estimado que para el 2023, cultivos como la papa (*Solanum tuberosum* L.) y la naranja (*Citrus sinensis* L.) generaron más de 95.000 y 141.000 t de residuos, respectivamente (Bedoya *et al.*, 2021; Chauhan *et al.*, 2023; FAO, 2023). El uso de estos residuos además de dar acceso a una fuente de nutrientes para la alimentación animal, contribuye a la sostenibilidad y a reducir los costos de producción (Malenica *et al.*, 2022; Nath *et al.*, 2023).

No obstante, su variabilidad nutricional y alto contenido de humedad limitan su uso directo (García Rodríguez *et al.*, 2024). Para superar estos desafíos, la biotecnología ha implementado técnicas de ensilaje que mejoran la calidad y estabilidad de los residuos agroindustriales, inoculando microorganismos benéficos que permiten su preservación efectiva y la mejora de sus propiedades nutricionales (Liao *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2024). En este contexto, el presente trabajo evaluó el efecto del ensilaje de residuos agroindustriales de papa y naranja, inoculados con *Saccharomyces cerevisiae* y *Limosilactobacillus fermentum*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar de la investigación

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Agroindustrial (LBA), ubicado en el Instituto de Química y Tecnología de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, en Maracay, estado Aragua.

### Acondicionamiento de los residuos

Los residuos de papa se obtuvieron de una agroindustria de *snacks* de la región, mientras que los de naranja se recolectaron de comercios locales. Ambos materiales fueron lavados minuciosamente para eliminar impurezas y posteriormente se deshidrataron en un secador de bandejas a 50 °C hasta alcanzar peso constante. Los residuos deshidratados fueron molidos y almacenados para su apropiada conservación (Matute *et al.*, 2012).

### Preparación de los inóculos

Para la elaboración de los inóculos se emplearon aislamientos de *Limosilactobacillus fermentum* (BAL) y *Saccharomyces cerevisiae* M1 (SC), ambas pertenecientes a la colección del LBA. Se rasparon cuñas de cada cepa con 10 mL de agua peptonada estéril, y las suspensiones se incorporaron en soluciones *starter*: suero desproteinizado para BAL y caldo glucosado al 12 % para SC, esterilizadas a 121 °C durante 15 minutos. Los precultivos se incubaron a 38 °C por 72 horas con agitación constante a 300 rpm (Aguirre-Ezkauriatza *et al.*, 2010; Parlione *et al.*, 2019; Shah *et al.*, 2023).

## Proceso de Ensilaje

El ensilaje se llevó a cabo siguiendo la metodología de los microsilos (Mugoti *et al.*, 2023), empleando como sustrato la harina resultante del secado y molienda de los residuos de papa (*Solanum tuberosum* L.) o de naranja (*Citrus sinensis* L.). Para cada microsilo, se utilizó 1 kg de sustrato (uno u otro), al cual se le añadió el precultivo en una proporción del 10% del peso del microsilo diluido en 200 mL de una solución de melaza al 11%. Se incubaron en condiciones de anaerobiosis a una temperatura promedio de 32°C durante 72 horas. Las muestras de los diferentes tratamientos se recolectaron a las 0, 24, 48 y 72 horas de fermentación para su posterior análisis.

## Métodos Analíticos

Las muestras recolectadas fueron analizadas por triplicado para determinar su composición bromatológica, considerando: humedad (AOAC International, 2005, método 925.10), grasa (AOAC International, 2005, método 922.06), cenizas (AOAC International, 2005, método 942.05), proteína cruda (AOAC International, 2005, método Kjeldahl 984.13). La materia seca se calculó directamente a partir de la humedad de la muestra en base seca (Martines y Lira, 2010). Adicionalmente se realizó un análisis estructural mediante la determinación de fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA), siguiendo la metodología de Van Soest y Wine (1967). Además, se determinaron el pH (Cherney y Cherney, 2003), el contenido de azúcares (Miller, 1959), y la concentración de proteína soluble (Lowry *et al.*, 1951).

## Diseño Experimental

La investigación se llevó a cabo bajo un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 3x2x4 (Field, 2009), en el que se evaluaron 24 tratamientos con 2 repeticiones cada uno. Los tratamientos consistieron en el empleo de SC, BAL, o el cultivo mixto de SC y BAL como inóculos de un sustrato a base de harina de residuos de papa (P) o de naranja (N), fermentadas durante 72 horas (0, 24, 48 y 72).

## Análisis Estadístico

Se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, que mostró que los datos recolectados seguían una distribución normal ( $p > 0,05$ ). Para determinar la influencia de los factores estudiados en los ensilajes, los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA). Mientras que, para conocer las diferencias entre los tratamientos, se aplicó la prueba de medias de Tukey con un 95% de confianza. El procesamiento de los datos se realizó con el programa JASP (JASP Team 2025, JASP versión 0.95.1), siguiendo los procedimientos descritos por Navarro *et al.* (2025).

## Reducción potencial de emisiones por tratamiento en ensilaje

La reducción potencial de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) asociadas al tratamiento de los residuos agroindustriales en ensilaje, se estimó aplicando un instrumento de cálculo diseñado con base en la metodología de la norma PAS 2050 (BSI, 2008). Esta norma permite evaluar el impacto ambiental de productos y procesos a lo largo de su ciclo de vida, incluyendo etapas de valorización como el tratamiento biotecnológico de residuos.

El cálculo se realizó comparando dos escenarios: uno sin tratamiento (disposición convencional) y otro con tratamiento por ensilaje. Para cada caso, se estimaron las emisiones aplicando la ecuación:

$E = M \times FE$ , en donde E representa a las emisiones estimadas en Kg de dióxido de carbono equivalente ( $CO_2$ -eq), M es la masa del residuo generado, y FE es el factor de emisión correspondiente al tipo de residuo empleado.

Los FE fueron tomados de estudios previos. Para los residuos sin tratamiento se empleó un FE de 0,90 kg  $CO_2$ -eq.kg<sup>-1</sup>, de acuerdo con los datos de Eriksson y Strid (2013), para residuos hortofrutícolas. Mientras que, para el ensilaje de los residuos de papas, considerando su similitud energética con el maíz (Nath *et al.*, 2023), se utilizó un valor de 0,18 kg  $CO_2$ -eq.kg<sup>-1</sup>, conforme

al trabajo de Wiltshire *et al.* (2009). En cuanto a los residuos de naranja ensilados, se aplicó un FE de 0,10 kg CO<sub>2</sub>-eq.kg<sup>-1</sup> para la digestión anaerobia de residuos alimentarios (IPCC, 2006). Aunque el ensilaje no genera biogás ni involucra metanogénesis activa, ambos procesos comparten condiciones anaerobias que limitan la emisión de GEI. Estudios recientes sobre la estabilización de residuos cítricos en ambientes anaerobios (Guerrero-Martin *et al.*, 2024) respaldan esta equivalencia, al demostrar que la presencia de compuestos como el limoneno inhibe la producción de metano sin comprometer la estabilidad del material. En consecuencia, el valor adoptado tiende a sobreestimar las emisiones reales del ensilaje, lo que refuerza su utilidad en contextos comparativos.

Finalmente, para valorar la disminución en la huella de carbono de los residuos revalorizados en esta investigación, se calculó la reducción porcentual de emisiones a través de la siguiente ecuación:

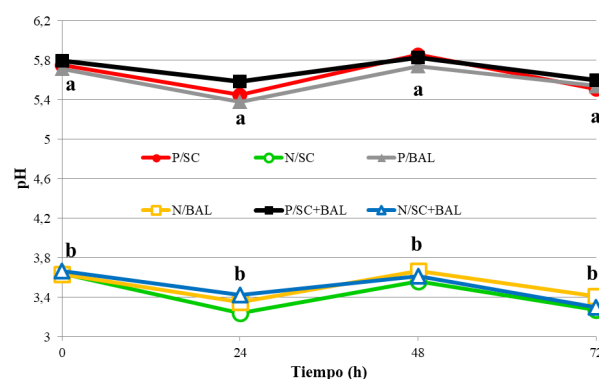
$$RHC = ((E_0 - E_c) / E_0) \times 100$$
, donde  $E_0$  representa las emisiones sin tratamiento y  $E_c$  las emisiones tras el ensilaje.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Cinética fermentativa del ensilaje como estrategia de valorización de los residuos agroindustriales

El análisis del pH, un parámetro fundamental para evaluar la calidad y conservación de los ensilajes (Ren *et al.*, 2022), exhibió dos patrones de comportamiento de acuerdo con el sustrato empleado, como se observa en la Figura 1. El análisis de varianza demostró que la principal fuente de variación fue el sustrato ( $p < 0,01$ ), y el efecto combinado del microorganismo y el sustrato ( $p < 0,01$ ), lo que sugiere que la diferencia en la complejidad del sustrato fue determinante para lograr la acidificación necesaria en los tratamientos. De igual forma se comprobó la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los valores de pH de los microsilos con residuos de papas (P) y los formulados con residuos de naranja (N). Los ensilajes con residuos de naranja mantuvieron un pH ácido (entre 3,64 y 3,67) similar a los valores reportados para ensilajes de calidad (Jiang

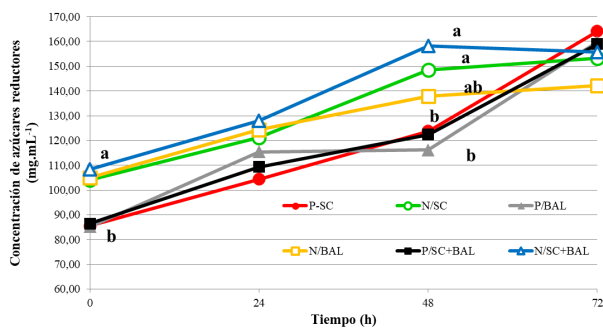
*et al.*, 2020; Muck *et al.*, 2020); mientras que los tratamientos con residuos de papa no alcanzaron la acidificación necesaria ( $pH > 5$ ), indicativo de una fermentación deficiente. Un valor de  $pH > 4$  promueve el crecimiento de bacterias productoras de ácido butírico, como las del género *Clostridium*, y aminas, lo que causa pérdida de materia seca, reduce el valor nutricional y disminuye el consumo de alimento por parte de los animales (Muck *et al.*, 2020; Lu *et al.*, 2021). Esta diferencia de pH es inherente a la naturaleza de los sustratos, ya que es conocida la naturaleza ácida de los cítricos (Twinomuhwezi *et al.*, 2020). El pH bajo es necesario no solo para inhibir microorganismos indeseables sino, también para preservar los nutrientes del medio. El bajo pH inicial favoreció el rápido establecimiento de la fermentación deseada y la producción de ácidos orgánicos debido a la actividad microbiana fue determinante para mantener el  $pH < 4$  (Muck *et al.*, 2020; Luo *et al.*, 2021).



**Figura 1.** Variación del pH en los ensilajes durante 72 horas de fermentación. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en cada tiempo de medición ( $p < 0,05$ ).

Con respecto a la concentración de azúcares reductores, el análisis de varianza evidenció que el sustrato y el tiempo de fermentación, tanto por separado como por su efecto combinado ( $p < 0,01$ ), fueron las principales fuentes de variación. Si bien, los residuos de papas y de naranjas antes de la formulación de los ensilajes presentaron contenidos basales de 0,015 y 26,9 mg.mL<sup>-1</sup>, respectivamente (Cuadro 1), se registró una elevada disponibilidad de carbohidratos fermentables en los tratamientos (Figura 2). Las altas concentraciones de azúcares reductores en los ensilados pueden atribuirse a la adición de la melaza (Hajji *et al.*, 2021; Bujacsek, 2025).





**Figura 2.** Variación de la concentración de azúcares reductores ( $\text{mg.mL}^{-1}$ ) en los ensilajes durante 72 horas de fermentación. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en cada tiempo de medición ( $p < 0,05$ ).

Además de la dinámica observada en los azúcares reductores, otros parámetros bioquímicos evolucionaron durante el proceso de fermentación, aportando información relevante sobre la transformación del sustrato. En particular, el comportamiento de la proteína cruda (PC) y la proteína soluble permitió evaluar la disponibilidad de nitrógeno y la posible actividad proteolítica en los tratamientos ensilados.

Al respecto, el análisis de varianza reveló que tanto el tipo de sustrato como el tiempo de fermentación ejercieron efectos significativos sobre el contenido de PC en los ensilajes ( $p < 0,01$ ), mientras que no se detectaron efectos combinados significativos entre los factores evaluados.

**Cuadro 1.** Composición proximal de los residuos empleados como sustrato fermentable (valores porcentuales expresados en base seca).

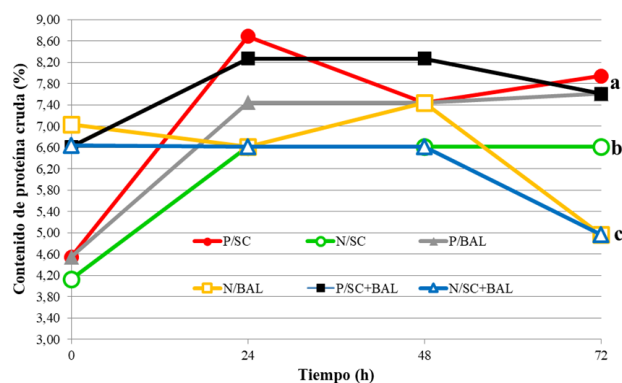
| Componente                        | Harina de residuos de naranja | Harina de residuos de papas |
|-----------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| Humedad (%)                       | 9,55                          | 9,005                       |
| Proteína cruda (%)                | 7,44                          | 9,92                        |
| Grasa cruda (%)                   | 4,31                          | 1,705                       |
| Ceniza (%)                        | 3,49                          | 4,41                        |
| Azúcares reductores (mg/mL)       | 26,9                          | 0,015                       |
| Almidón (%)                       | -                             | 61,7                        |
| Fibra detergente neutra (FDN) (%) | 27,20                         | 44,04                       |
| Fibra detergente ácida (FDA) (%)  | 22,73                         | 9,53                        |

En la Figura 2, también puede observarse el incremento progresivo en la concentración de azúcares en todos los tratamientos a lo largo del proceso de fermentación, lo que concuerda con estudios previos que reportan la liberación de azúcares simples como resultado de procesos de hidrólisis de la sacarosa presente en la melaza e hidrólisis enzimática de polisacáridos estructurales que componen a los residuos durante la fermentación (Hajji *et al.*, 2021; Ricci *et al.*, 2023). Los patrones observados abren la posibilidad de explorar con mayor profundidad la interacción entre los residuos y los procesos de hidrólisis durante el ensilaje. Estudios futuros podrían esclarecer el grado de participación de los polisacáridos estructurales en la generación de azúcares fermentables.

Estos resultados indican que las diferencias observadas en la PC se deben principalmente a las características del residuo utilizado y a la evolución temporal del proceso fermentativo.

La fracción de PC exhibió un comportamiento variable en los tratamientos estudiados (Figura 3), reflejando la complejidad de la dinámica de la fermentación. El incremento observado en el contenido de PC, más pronunciado a las 24 h de ensilaje, en los tratamientos formulados con harina de residuos de papas, así como en el tratamiento con harina de residuos de naranja inoculado con la levadura, y a las 48 h en el tratamiento con harina de residuos de naranjas inoculado con BAL, puede atribuirse a la síntesis de proteína microbiana, enriqueciendo el sustrato fermentado con nitrógeno

orgánico. Se ha señalado que este proceso, donde los microorganismos aprovechan compuestos nitrogenados no proteicos para formar biomasa celular, puede ocasionar aumentos transitorios en la fracción de PC que no refleja una transformación del sustrato original, sino una acumulación de biomasa con alto valor nutricional (Cheng *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2023; Ma *et al.*, 2024).



**Figura 3.** Variación en el contenido de proteína cruda (%) en los ensilajes durante 72 horas de fermentación. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en cada tiempo de medición ( $p < 0,05$ ).

En cuanto a la disminución del contenido de PC observada en otros tratamientos, esta podría estar asociada a procesos de proteólisis catalizados por enzimas microbianas. Cheng *et al.* (2021), han señalado que, en estos casos, la síntesis de proteína microbiana puede no ser suficiente para contrarrestar la degradación proteica inducida por la actividad enzimática.

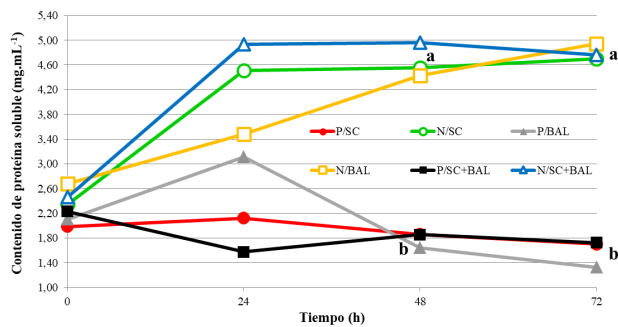
La estabilización de los valores de PC en ciertos tratamientos sugiere que se alcanzó un equilibrio entre la degradación proteica y la síntesis de nueva biomasa microbiana. La rápida acidificación del sustrato durante la fermentación pudo inhibir progresivamente la actividad de las enzimas proteolíticas en estos tratamientos (residuos de naranja en monocultivo), favoreciendo la conservación de la proteína y contribuyendo a la estabilidad de su contenido (Ma *et al.*, 2024).

Similar al comportamiento de la PC, la fracción de proteína soluble (PS) también mostró

una respuesta significativa a la evolución de los factores evaluados. El análisis de varianza demostró que la composición del residuo y el tiempo de ensilaje ejercieron un efecto altamente significativo, por separado y en conjunto, sobre el contenido de PS ( $p < 0,01$ ).

Los tratamientos con mayor contenido de proteína soluble fueron los formulados con harina de residuos de naranja ( $p < 0,05$ , Figura 4), lo que sugiere que la composición bioquímica de este sustrato favoreció la liberación de fracciones nitrogenadas solubles durante el proceso fermentativo. Este comportamiento guarda relación con lo reportado por Li *et al.* (2023), quienes observaron incrementos significativos en la proteína soluble al aplicar fermentación en residuos de alimentos bajo condiciones controladas. En su estudio, el aumento de este parámetro se asoció con la generación de péptidos y aminoácidos libres, destacando su utilidad como indicador funcional de calidad fermentativa, dada su relación directa con la digestibilidad proteica y su potencial como complemento en formulaciones destinadas a la dieta animal.

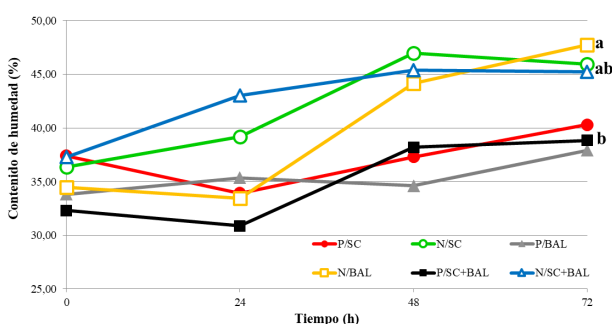
Durante la fermentación de ensilajes elaborados con harina de residuos de papa, se observó la disminución del contenido de PS, a excepción de un incremento transitorio en el tratamiento inoculado con BAL a las 24 horas (Figura 4). Se ha señalado que este comportamiento es ocasionado por la liberación inicial de fracciones proteicas solubles como patatina e inhibidores de proteasa, descritas como las principales proteínas globulares de la papa, sensibles a condiciones físico-químicas del medio (Pęksa y Miedzianka, 2021), así como a la hidrólisis enzimática por acción microbiana (Fonseca *et al.*, 2020). Por otra parte, la reducción general en los valores de PS puede atribuirse a la asimilación de PS como fuente de nitrógeno por los microorganismos fermentativos (Cheng *et al.*, 2021), así como a posibles interacciones con componentes de la matriz, como el almidón, que reducen su detectabilidad (Montoya-Anaya *et al.*, 2023). Esta dinámica tiene implicaciones directas en el valor nutricional de los ensilajes como complemento alimentario ya que el consumo microbiano durante la fermentación puede limitar el aporte final de nitrógeno soluble en la dieta animal (Li *et al.*, 2023).



**Figura 4.** Variación en el contenido de proteína soluble ( $\text{mg.mL}^{-1}$ ) en los ensilajes durante 72 horas de fermentación. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en cada tiempo de medición ( $p < 0,05$ ).

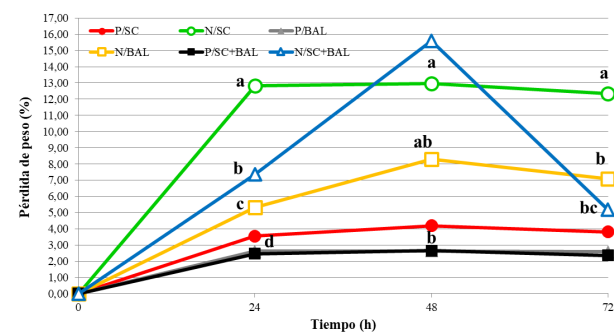
Por otra parte, el análisis de varianza reveló que tanto el tipo de sustrato como el tiempo de fermentación tuvieron efectos altamente significativos en el contenido de humedad y en la pérdida de peso en los ensilajes ( $p < 0,01$ ).

Para el contenido de humedad (Figura 5), no se encontraron efectos combinados significativos entre los factores, lo que sugiere que las variaciones se deben principalmente a las características individuales de cada factor: la naturaleza del residuo y la evolución temporal del proceso fermentativo. En contraste, el análisis para la pérdida de peso (Figura 6) presentó diferencias altamente significativas atribuibles al efecto conjunto (interacción) del tiempo de incubación y el sustrato. Esto indica que la pérdida de peso no solo depende de cada factor por separado, sino también de la forma en que interactúan entre sí.



**Figura 5.** Variación de la humedad (%) en los ensilajes durante 72 horas de fermentación. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en cada tiempo de medición ( $p < 0,05$ ).

Asimismo, la prueba de Tukey identificó grupos significativamente diferentes entre sí para ambos parámetros (Figuras 5 y 6). Específicamente, el contenido de humedad mostró estas diferencias estadísticas a las 72 horas de ensilaje, mientras que la reducción de peso en los tratamientos estudiados presentó grupos significativamente distintos desde las primeras 24 horas del proceso.



**Figura 6.** Variación en la pérdida de peso (%) en los ensilajes durante 72 horas de fermentación. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en cada tiempo de medición ( $p < 0,05$ ).

La reducción en el peso y el aumento en el contenido de humedad de los ensilajes están intrínsecamente relacionados, puesto que se ha informado que ambos fenómenos son ocasionados por la pérdida de materia seca durante el proceso de fermentación (Xu *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2024). Zhang *et al.* (2022) y Zhao *et al.* (2022), han señalado que el aumento en el contenido de humedad podría explicarse por la disminución relativa de la materia seca, la que a su vez contribuye a la pérdida de peso observada en los tratamientos. Este fenómeno ha sido atribuido a la fermentación del sustrato, en la que se consumen los azúcares solubles, otros carbohidratos y proteínas (Xu *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2024). La actividad metabólica de los microorganismos promueve la transformación de estos compuestos, generando productos como ácidos orgánicos, amoníaco y dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), lo que contribuye a la pérdida de sólidos y al aumento relativo de humedad (Zhang *et al.*, 2022; Zhao *et al.*, 2022). En este sentido, Xu *et al.* (2022), y Costa Nunes *et al.* (2024), documentaron pérdidas de materia seca en ensilajes de aproximadamente el 5%, mientras que Zhang *et al.* (2022) y Yang *et al.* (2024), reportaron disminuciones del 5,2% y 6,1%, respectivamente, valores similares a los obtenidos en esta investigación (Figura 6) y que respaldan la relación entre la degradación microbiana y la merma física del sustrato.

Los resultados expuestos son el reflejo de la dinámica observada en los parámetros de fermentación, la actividad microbiana y su capacidad para estabilizar el material. No obstante, para valorar la viabilidad de estos tratamientos como complemento en la dieta animal, es necesario analizar su composición nutricional.

### Composición proximal y viabilidad nutricional de los ensilajes

Según Jian *et al.* (2020), Muck *et al.* (2020) y Li *et al.* (2023), la calidad de los ensilajes se asocia con valores de  $\text{pH} < 4$  y concentraciones de PS que favorecen la digestibilidad proteica. En función de estos criterios, la cinética del proceso de ensilado evidenció que únicamente los tratamientos elaborados con harina de residuos de naranja fermentados durante 48 y 72 horas alcanzaron niveles compatibles con parámetros de inocuidad y digestibilidad. En el Cuadro 2 se presenta la composición proximal de los tratamientos que cumplen con los requerimientos de calidad; todos mostraron  $\text{pH}$  ácidos y concentraciones de PS significativamente superiores ( $p < 0,05$ ) a las observadas en los tratamientos con residuos de papa. Por ello, se considera su potencial como complemento en formulaciones destinadas a la dieta animal.

La caracterización bromatológica del ensilado de residuos de naranja demuestra que este subproducto

puede ser revalorizado como un complemento alimenticio de alto valor energético para rumiantes y no rumiantes apoyando el crecimiento y la lactancia (Melo-Camacho *et al.*, 2017). Si bien todos los tratamientos mostraron un perfil nutricional favorable, el ensilado fermentado durante 48 horas con bacterias ácido-lácticas (N/BAL) presentó la combinación más ventajosa de calidad y eficiencia; este tratamiento presentó el mayor contenido de PC ( $p < 0,05$ ), lo cual, aunque es bajo para una ración completa, representa un aporte superior de aminoácidos, reduciendo la necesidad de suplementación proteica externa y optimizando el costo-beneficio del producto (Cabrera-Núñez *et al.*, 2020; Lee *et al.*, 2022).

Asimismo, este ensilado se destaca por su bajo contenido de grasa ( $p < 0,05$ ) y ceniza ( $p < 0,05$ ), indicativo de una materia prima de alta pureza y baja materia inorgánica, lo cual es deseable en la alimentación animal para evitar la indigestión y garantizar la calidad (Robles-Jiménez *et al.*, 2024). En cuanto al contenido de grasa, este se encuentra por debajo del 6% recomendado para rumiantes y así evitar efectos negativos sobre la fermentación ruminal y contribuyendo a reducir las emisiones de metano sin comprometer la digestibilidad del alimento (Vargas *et al.*, 2020; Boudalia *et al.*, 2024). La baja concentración de FDN y FDA en todos los tratamientos maximiza la digestibilidad de los nutrientes y los convierte en una fuente de energía altamente aprovechable para rumiantes, cerdos y aves

**Cuadro 2.** Caracterización bromatológica de los tratamientos estudiados en los días en los que presentaron mayor concentración de proteína soluble (valores expresados en base seca).

|                                | N/SC               | N/BAL             | N/SC+BAL           | N/SC               | N/BAL             | N/SC+BAL          |
|--------------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
|                                | 48 h               | 48 h              | 48 h               | 72 h               | 72 h              | 72 h              |
| pH                             | 3,42               | 3,66              | 3,61               | 3,28               | 3,41              | 3,30              |
| PS (mg/mL)                     | 4,93               | 4,43              | 4,96               | 4,70               | 4,93              | 4,76              |
| PC (%)                         | 6,61 <sup>ab</sup> | 7,44 <sup>a</sup> | 6,61 <sup>ab</sup> | 6,62 <sup>ab</sup> | 4,96 <sup>b</sup> | 4,96 <sup>b</sup> |
| Ceniza (%)                     | 3,91 <sup>a</sup>  | 2,51 <sup>c</sup> | 2,65 <sup>b</sup>  | 2,46 <sup>d</sup>  | 1,88 <sup>f</sup> | 2,27 <sup>e</sup> |
| Grasa (%)                      | 2,47 <sup>a</sup>  | 2,46 <sup>a</sup> | 2,49 <sup>a</sup>  | 2,44 <sup>a</sup>  | 2,45 <sup>a</sup> | 2,00 <sup>b</sup> |
| FDN (%)                        | 25,51              | 22,00             | 23,76              | 23,16              | 21,83             | 21,96             |
| FDA (%)                        | 23,41              | 21,94             | 20,82              | 22,92              | 21,58             | 21,37             |
| MS (%)                         | 69,92              | 69,38             | 68,79              | 68,03              | 67,68             | 68,87             |
| Humedad (%)                    | 43,01              | 44,13             | 45,37              | 46,99              | 47,74             | 45,20             |
| Az. red.(mg.mL <sup>-1</sup> ) | 148,47             | 137,86            | 158,16             | 153,27             | 142,14            | 155,61            |

\* PS: proteína soluble; PC: proteína cruda; Az. red.: azúcares reductores

\*\* Letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0,05$ ) de acuerdo con la Pruebas de medias de Tukey.



(Cabrera-Núñez *et al.*, 2020; Singh y Kim, 2021; Liu *et al.*, 2022; Castañeda-Serrano *et al.*, 2023; Grześkowiak *et al.*, 2023). En cuanto al contenido de azúcares se ha reportado que estos estimulan la palatabilidad y en combinación con los compuestos generados por las bacterias ácido lácticas enriquecen el sustrato, mejorando el sabor y estimulando el olfato animal (Cabrera-Núñez *et al.*, 2020).

De acuerdo con los resultados obtenidos, aun cuando todos los ensilados de residuos de naranja pueden emplearse como un complemento energético eficiente, el tratamiento N/BAL a 48 horas representa la opción más prometedora para su uso, al combinar un óptimo perfil nutricional con la eficiencia de un proceso de corta duración, ofreciendo una alternativa nutricional viable para complementar las dietas convencionales.

### **Ensilaje de residuos agroindustriales como estrategia de mitigación ambiental**

La estimación de la reducción de la huella de carbono permitió cuantificar el beneficio ambiental potencial del ensilaje como estrategia de valorización de residuos agroindustriales, específicamente en términos de mitigación de las emisiones de GEI. La aplicación del instrumento diseñado con base en la metodología PAS demostró que el empleo de los residuos agroindustriales de papas y de naranjas puede disminuir en más del 80% la huella de carbono atribuible a estos materiales. Esta estrategia no solo revaloriza subproductos agroindustriales, sino que también contribuye a la mitigación de las emisiones del sector ganadero. En este contexto, se ha recomendado la optimización de las dietas animales como una vía para reducir los GEI. Al respecto, Boudalia *et al.* (2024) reportan que las explotaciones de pequeños rumiantes representan cerca del 6,5% de las emisiones globales del sector agrícola, siendo la fermentación entérica el principal contribuyente a la generación de gas metano, afirmando que la incorporación de hasta un 10% de residuos de frutas y hortalizas en la dieta ovina contribuye a reducir la emisión de gas CH<sub>4</sub> sin comprometer la digestibilidad de las raciones.

En síntesis, desde una perspectiva bioeconómica, el empleo de residuos agroindustriales ensilados como complemento de la dieta animal se presenta como una alternativa productiva y económicamente viable.

## **CONCLUSIONES**

El ensilaje de residuos agroindustriales de naranja inoculados con cultivos microbianos mostró mejoras en la calidad fermentativa y en los parámetros bromatológicos del sustrato, especialmente en los tratamientos con *Limosilactobacillus fermentum*. Estos resultados evidencian el potencial del proceso de ensilaje como estrategia de valorización para subproductos agroindustriales en sistemas de alimentación animal. Es recomendable profundizar en la evaluación de la digestibilidad y en el análisis de la viabilidad económica del uso de estos residuos ensilados como complemento en la dieta animal para garantizar su aplicabilidad en sistemas productivos.

## **AGRADECIMIENTO**

Los autores agradecen el financiamiento al CDCH/UCV y al FONACIT a través del proyecto 2024PGP555, y el apoyo del personal técnico del Laboratorio de Biotecnología Agrindustrial, la Ing. Hazel Román y la TSU Ariany Paredes, por su invaluable apoyo.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Aguirre-Ezkauriatza, E. J.; J. M. Aguilar-Yáñez; A. Ramírez-Medrano; M. M. Alvarez; M. M. 2010. Production of probiotic biomass (*Lactobacillus casei*) in goat milk whey: Comparison of batch, continuous and fed-batch cultures. *Bioresour. Technol.* 101(8): 2837-2844.
- AOAC International. 2005. Official methods of analysis of AOAC International (18th ed., Vol. I). Gaithersburg, MD: AOAC International.
- Bedoya Betancur, S.; S. Amar Gil; R. Barrera; E. Arriola; A. N. Ardila. 2021. Escenario técnico y económico para la valorización integral a pequeña escala de residuos de naranja en Colombia. *Ingeniería.* 26(3): 367–380.
- Boudalia, S.; S. Smeti; M. Dawit; E.K. Senbeta; Y. Gueroui; V. Dotas; A. Bousbia; G.K. Symeon. 2024. Alternative approaches to feeding small ruminants and their potential benefits. *Animals.* 14 (6): 904.

- British Standards Institution (BSI). 2008. Guide to PAS 2050: How to assess the carbon footprint of goods and services. British Standards Institution. London, UK. 59 p.
- Bujaczek, R. 2025. Analysis of the process of applying molasses to grass and clover green fodder in terms of silage quality for biogas plants. *Rocz. Ochr. Sr.* 27: 219-228.
- Cabrera-Núñez, A.; M. Lammoglia-Villagómez; C. Martínez-Sánchez; R. Rojas-Ronquillo; R.; F. Montero-Solís. 2020. Utilización de subproductos de naranja (*Citrus sinensis* var. valencia) en la alimentación para rumiantes. *Abanico Vet.* 10.
- Capanoglu, E.; F. A. Tomás-Barberán. 2022. Introduction to novel approaches in the valorization of agricultural wastes and their applications. *J. Agric. Food Chem.* 70(23): 6785-6786.
- Castañeda-Serrano, R. D.; J. F. González-Bermeo; A. Velez-Giraldo. 2023. Suplementación con ensilaje de frutas en vacas doble propósito: digestibilidad y producción láctea. *BSAA.* 21(1): 51-61.
- Chauhan, A.; F. Islam; A. Imran; A. Ikram; T. Zahoor; S. Khurshid; M. A. Shah. 2023. A review on waste valorization, biotechnological utilization, and management of potato. *Food Sci. Nutr.* 11(10): 5773-5785.
- Chen, Q.; P. Li; B. Xiao; F. Yang; D. Li; G. Ge; Y. Jia; S. Bai. 2021. Effects of LAB inoculant and cellulase on the fermentation quality and chemical composition of forage soybean silage prepared with corn stover. *Grassl. Sci.* 67(1): 83-90.
- Cherney, J.H.; D.J.R. Cherney. 2003. Assessing silage quality. In: J. K. Moore & D.R. Mertens (Eds.); *Silage science and technology*. The American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA. pp. 141-198.
- Costa Nunes, F.; K. Cylene Guimarães; F.O. Abrão Pessoa; F. Pereira Cunha; V.C. Rafael de Souza Pereira; T. do Prado Paim; P. Bezerra Fernandes. 2024. Use of bacterial inoculant in rehydrated corn grain silage. *J. Appl. Anim. Res.* 52(1): 2400534.
- Eriksson, M.; I. Strid. 2013. Svinreducerande åtgärder i butik: Effekter på kvantitet; ekonomi och klimatpåverkan. Naturvårdsverket, Rapport 6594.
- Field, A. 2009. *Discovering statistics using SPSS* (3rd ed.). SAGE Publications. London, England. 821 pp.
- García Rodríguez, V.; L. Vandestroet; V.C. Abeysekara; K. Ominski; E.W. Bumunang; T. McAllister; K. Stanford. 2024. Optimizing silage strategies for sustainable livestock feed: preserving retail food waste. *Agric.* 14(11): 1718.
- Grześkowiak, T.; E.M. Saliu; B. Martínez-Vallespín; J.R. Aschenbach; G.A. Brockmann; M. Fulde; S. Hartmann; B. Kuhla; R. Lucius; J. Zentek. 2023. Dietary fiber and its role in performance; welfare; and health of pigs. *Anim. Health Res. Rev.* 23(2): 165-193.
- Guerrero-Martin, C.A.; F. López-González; J.M. Romero-García; P. Manzanares. 2024. The advantage of citrus residues as feedstock for biogas production: A two-stage anaerobic digestion system. *Energies.* 17(6): 1315.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2006. 2006 Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories: Volume 5 – Waste. IGES for the IPCC National Greenhouse Gas Inventories Programme. Hayama, Japan.
- Jiang, F.G.; H.J. Cheng; D. Liu; C. Wei; W. J. An; Y.F. Wang; H.T. Sun; E.L. Song. 2020. Treatment of whole-plant corn silage with lactic acid bacteria and organic acid enhances quality by elevating acid content, reducing pH, and inhibiting undesirable microorganisms. *Front. Microbiol.* 11: 593088.
- Lee Rangel, H.A.; G.D. Mendoza Martínez; P.A. Hernández García; F.X. Plata Pérez; J.A. Martínez García; J.L. Arcos García. 2022. *Nutrición animal cuantitativa*. Universidad Nacional Autónoma de México. Unidad Xochimilco, División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Ciudad de México, México. 616 p.

- Li, Q.; P. Yi; J. Zhang; Y. Shan; Y. Lin; M. Wu; K. Wang; G. Tian; J. Li; T. Zhu. 2023. Bioconversion of food waste to crayfish feed using solid-state fermentation with yeast. *ESPR*. 30(6): 15325-15334.
- Liao, C.; X. Tang; M. Li; G. Lu; X. Huang; L. Li; P. Li. 2022. Effect of lactic acid bacteria; yeast; and their mixture on the chemical composition; fermentation quality; and bacterial community of cellulase-treated *Pennisetum sinense* silage. *Front. Microbiol.* 13: 1047072.
- Liu, J.; Y. Luo; X. Kong; B. Yu; P. Zheng; Z. Huang; X. Mao; J. Yu; J. Luo; H. Yan; J. He. 2022. Effects of dietary fiber on growth performance, nutrient digestibility and intestinal health in different pig breeds. *Animals*. 12(23): 3298.
- Lowry, O.H.; N.J. Rosenbrough; A. Farr; U. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Lu, Y.; Q. Zhang; X. Wang; X. Zhou; J. Zhu. 2020. Effect of pH on volatile fatty acid production from anaerobic digestion of potato peel waste. *Bioresour. Technol.* 316: 123851.
- Luo, R.; Y. Zhang; F. Wang; K. Liu; G. Huang; N. Zheng; J. Wang. 2021. Effects of sugar cane molasses addition on the fermentation quality, microbial community, and tastes of alfalfa silage. *Animals*. 11(2): 355.
- Ma, J.; L. Lin; Y. Lu; B. Weng; Y. Feng; C. Du; C. Wei; R. Gao; S. Gan. 2024. The influence of silage additives supplementation on chemical composition, aerobic stability, and *in vitro* digestibility in silage mixed with *Pennisetum giganteum* and rice straw. *Agric.* 14(11): 1953.
- Malenica, D.; M. Kass; R. Bhat. 2022. Sustainable management and valorization of agrifood industrial wastes and by-products as animal feed: for ruminants; non-ruminants and as poultry feed. *Sustainability*. 15(1): 117.
- Martines, E.; L. Lira. 2010. Análisis y aplicación de las expresiones del contenido de humedad en sólidos. En: Centro Nacional de Metrología. Simposio de metrología. Querétaro, México. pp. 27-29.
- Matute, L.; A. Bertsch; I. Díaz. 2012. Evaluación de la actividad amilolítica de *Aspergillus niger* ANM-1 en fermentaciones en estado sólido y sumergido para la obtención y caracterización de aditivos enzimáticos. *Revista Fac. Agron. (UCV)*. 38(1): 9-17.
- Melo-Camacho, E. P.; J.A. Bermúdez-Loaiza; J.E. Álvarez. 2017. Ensilaje de naranjas enteras (*Citrus sinensis*) como suplemento para alimentación de rumiantes. *Rev. Vet. Zoot.* 11(1): 24-36.
- Miller, G. 1959. Use of Dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31(3): 426-428.
- Muck, R.E.; L. Kung Jr; M. Collins; M. 2020. Silage production. In: Moore, K.J., Collins, M., Nelson, C.J., & Redfearn, D.D. (Eds.). *Forages: The Science of Grassland Agriculture*. Vol. 2. John Wiley & Sons. UK. pp. 767-787.
- Mugoti, A.; N. Chikumba; A. Munengwa; L. Dziwanyika; S. Moyo; C. Mgumba. 2023. Associative effects of a mixed *Brachiaria decumbens* and *Pennisetum purpureum* grass feed on the ensiling properties. *Biotech. Anim. Husb.* 39(1): 103-116.
- Nath, P. C.; A. Ojha; S. Debnath; M. Sharma; P. K. Nayak; K. Sridhar; B. S. Inbaraj. 2023. Valorization of Food Waste as Animal Feed: A Step towards Sustainable Food Waste Management and Circular Bioeconomy. *Animals*. 13: (1366).
- Navarro, D.J.; D.R. Foxcroft; T.J. Faulkenberry. 2025. Learning statistics with JASP: A tutorial for psychology students and other beginners (Version 2.0).
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2023. FAOSTAT. Producción de cultivos. Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL>. [Consultado: 22 agosto 2025].
- Parlione Arrayago, V.; L. Matute Almeida; H. Román Rojas. 2019. Utilización de un aislado de *Trichoderma* sp. para la fermentación de residuos de papas (*Solanum tuberosum* L.) y harina de girasol (*Heliantus annuus* L.) en procesos de ensilaje. *Revista Fac. Agron. (UCV)*. 43(1): 15-24.

- Puglia, D.; D. Pezzolla; G. Gigliotti; L. Torre; M. L. Bartucca; D. Del Buono; D. 2021. The opportunity of valorizing agricultural waste; through its conversion into biostimulants; biofertilizers; and biopolymers. *Sustainability*. 13(5): 2710.
- Ren, X.; H. Tian; K. Zhao; D. Li; Z. Xiao; Y. Yu; F. Liu; F. 2022. Research on pH value detection method during maize silage secondary fermentation based on computer vision. *Agric*. 12(10): 1623.
- Ricci, A.; A. B. Díaz; C. Lazzi; A. M. Blandino Garrido. 2023. Valorization of orange peels exploiting fungal solid-state and lacto-fermentation. *J. Sci. Food Agric*. 103(9): 4614-4624.
- Robles-Jiménez, L.E.; J.O. Avalos; O.A. C. Ortega; J.C.A. Hernández; M.G. Ronquillo. 2024. Forage yield; chemical composition and potential milk yield using maize silage from asia; europe; north and south american continents: A systematic review. *Trop. Subtrop. Agroecosyst*. 27(3).
- Shah, S.T.; U.H. Ria; A. Al Mamun; M.I. Miah; S.R. Rahman; M.M. Rahman. 2023. Characterization of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains for their potential use as Baker's yeast. *Dhaka Univ. J. Biol. Sci*. 32(2): 211-223.
- Singh, A.K.; W.K. Kim. 2021. Effects of dietary fiber on nutrients utilization and gut health of poultry: a review of challenges and opportunities. *Animals*. 11(1): 181.
- Twinomuhwezi, H.; A C. Godswill; D. Kahunde. 2020. Extraction and characterization of pectin from orange (*Citrus sinensis*); lemon (*Citrus limon*) and tangerine (*Citrus tangerina*). *Am. J. Phys. Sci*. 1(1): 17-30.
- Van Soest, P.J.; R.H. Wine. 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *J. Assoc. Off. Anal. Chem*. 50(1): 50-55.
- Vargas, J.E.; S. Andrés; L. López-Ferreras; T.J. Snelling; D.R. Yáñez-Ruiz; C. García-Estrada; S. López. 2020. Dietary supplemental plant oils reduce methanogenesis from anaerobic microbial fermentation in the rumen. *Sci. Rep*. 10(1): 1613.
- Wiltshire, J.; S. Wynn; J. Clarke; B. Chambers; B. Cottrill; D. Drakes; J. Gittins; C. Nicholson; K. Phillips; R. Thorman; D. Tiffin; O. Walker; G. Tucker; R. Thorn; A. Green; A. Fendler; A. Williams; P. Bellamy; E. Audsley; J. Chatterton; D. Chadwick; C. Foster. 2009. Scenario building to test and inform the development of a BSI method for assessing greenhouse gas emissions from food: Technical annex to the final report (Informe de proyecto No. FO0404). ADAS; Campden BRI; Cranfield University; North Wyke Research; EuGeos. Disponible en: <https://repository.rothamsted.ac.uk/item/8q33x/scenario-building-to-test-and-inform-the-development-of-a-bsi-method-for-assessing-greenhouse-gas-emissions-from-food-technical-annex-to-final-report-on-defra-project-no-fo0404> [Consultado: 31 de agosto 2025].
- Xu, H.; N. Wu; N. Na; L. Sun; Y. Zhao; H. Ding; Y. Fang; T. Wang; Y. Xue; J. Zhong. 2022. Fermentation weight loss; fermentation quality; and bacterial community of ensiling of sweet sorghum with lactic acid bacteria at different silo densities. *Front. Microbiol*. 13: 1013913.
- Yang, B.; N. Na; N. Wu; L. Sun; Z. Li; M. Qili; H. Han; Y. Xue. 2024. Impact of Additives and Packing Density on Fermentation Weight Loss; Microbial Diversity; and Fermentation Quality of Rape Straw Silage. *Microorganisms*. 12(10): 1985.
- Zhang, Y.; X. Tao; X.; Q. Liu; Y.J. Zhang; J. Xu; W. Zhang; J. Wang; D.; Zhang; B. Li; J. Cheng; Y.Q. Zhang. 2022. Succession changes of fermentation parameters; nutrient components and bacterial community of sorghum stalk silage. *Front. Microbiol*. 13: 982489.



- Zhao, J.; X.J. Yin; S.R. Wang; J.F. Li; Z.H. Dong; T. Shao. 2022. Changes in the fermentation products; taxonomic and functional profiles of microbiota during high-moisture sweet sorghum silage fermentation. *Front. Microbiol.* 13: 967624.
- Zhao, X.; Y. Sun; Z. Chang; B. Yao; Z. Han; T. Wang; R. Wang. 2024. Innovative lactic acid production techniques driving advances in silage fermentation. *Fermentation*. 10(2): 70.70.