

Physical-chemical and microbiological characterization of the concentrated vinasse from alcohol distillery

Caracterización físico-química y microbiológica de la vinaza concentrada de destilería de alcohol

Katia Hidalgo, R. Bocourt, L. Mora, and A. Albelo

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

Email: khsalomon@ica.co.cu

The concentrated alcohol distillery vinasse was studied for its possible use as an additive in animal feeding. Samples from different deposits were selected and the chemical, physical, microbiological composition and stability (pH and specific weight) were analyzed. In each deposit, samples were taken in triplicate in sterile 25 mL bottles and the sampling was carried out for five months. For the stability study, which lasted twelve months, the vinasse stored in the laboratory was used. The results show that concentrated vinasse has a low pH value and approximately 30 % of dry matter, being higher than those produced before in Cuba. With the microbiological study, the vinasse safety was showed, since no *E. Coli* or fungi were reported. The stability analysis showed that the vinasses did not suffer transformations in the analyzed indicators (pH 4.2 to 5.21 and specific weight 1.02 to 1.14 g / cm³) during the five months. With the results obtained in the study, the potentiality of concentrated vinasse as an additive in animal feeding is showed.

Key words: *vinasse, composition, dry matter, stability, additive*

According to Potter and Hotchkiss (1995), the definition of "quality and safety" of a food is based on knowledge of the nutritional and hygienic-toxicological processes on which its production is based. That is why, the physical-chemical evaluation of food products, according to Doorenbos *et al.* (2004), is one of the most important aspects in the nutritional assessment. This will allow knowing the possible effects on the gastrointestinal and metabolic functions of the animal organism, which will contribute to formulate more balanced and adequate diets to obtain better productive efficiency.

In Cuba, products, by-products and waste products are studied that, due to their chemical and nutritional properties, can constitute a nutritional complement and provide nutrients for the animals' diet. Among these is distillery vinasse, waste of alcohol production, which stands out for its organic acids, yeasts, vitamins and minerals (Mc-Pherson *et al.* 2002). These components can increase resistance to stress and infectious diseases, by functioning as substances stimulating the innate immune response.

In response to its use in pigs and ducks, decreases in feeding costs and more efficient production results are reported (Lewicki 2001 and Stemme *et al.* 2005). It also refers to a stimulating effect on intake and animal

Se estudió la vinaza concentrada de destilería de alcohol para su posible utilización como aditivo en la alimentación animal. Para ello se seleccionaron muestras de diferentes depósitos y se analizó la composición química, física, microbiológica y estabilidad (pH y peso específico). En cada depósito se tomaron muestras por triplicado en frascos esterilizados de 25 mL y se realizó el muestreo durante cinco meses. Para el estudio de estabilidad, que se extendió doce meses, se utilizó la vinaza almacenada en el laboratorio. Los resultados indican que la vinaza concentrada presenta bajo valor de pH y 30 % aproximadamente de materia seca, siendo superior a las producidas antes en Cuba. Con el estudio microbiológico se demostró la inocuidad de la vinaza, al no informarse presencia de *E. Coli* ni de hongos. El análisis de estabilidad mostró que las vinazas no experimentan transformaciones en los indicadores analizados (pH 4.2 a 5.21 y peso específico 1.02 a 1.14 g/cm³) durante los cinco meses. Con los resultados obtenidos en el estudio se demuestra la potencialidad de la vinaza concentrada como aditivo en la alimentación animal.

Palabras clave: *vinaza, composición, materia seca, estabilidad, aditivo*

Según Potter y Hotchkiss (1995), la definición de "calidad y seguridad" de un alimento se fundamenta en el conocimiento de los procesos nutritivos e higiénico-toxicológicos en los que se basa su producción. De ahí que la evaluación físico-química de los productos alimentarios, según Doorenbos *et al.* (2004), es uno de los aspectos más importantes en la valoración nutritiva. Esta permitirá conocer los posibles efectos en las funciones gastrointestinales y metabólicas del organismo animal, lo que contribuirá a formular dietas más equilibradas y adecuadas para obtener mejor eficiencia productiva.

En Cuba se estudian productos, subproductos y residuales que por sus propiedades químicas y nutricionales pueden constituir un complemento alimenticio y proveer de nutrientes la dieta de los animales. Entre estos se encuentra la vinaza de destilería, residual de la producción de alcohol, que se destaca por presentar ácidos orgánicos, levaduras, vitaminas y minerales (Mc-Pherson *et al.* 2002). Estos componentes pueden incrementar la resistencia al estrés y enfermedades infecciosas, al funcionar como sustancias estimulantes de la respuesta inmune de tipo innata.

Como respuesta a su utilización en cerdos y patos, se informan disminuciones en los costos de alimentación y resultados productivos más eficientes (Lewicki 2001 y Stemme *et al.* 2005). Se refiere además, efecto

performance, in response to the high content of B vitamins in the vinasse (Gohl 1991).

Sarria and Serrano (2008) describe the variability of the vinasse composition, taking into account the different points of the productive chain. However, they are referred to as animal food. However, the existing literature is not comprehensive in terms of its chemical-physical composition.

Therefore, it is necessary to deepen in the study of the chemical-physical and microbiological composition of the concentrated distillery vinasse, produced in the International Havana Club Rum factory, located in San José de las Lajas, Mayabeque, for its use as additive in animal feeding.

Materials and Methods

Biological material. Samples of concentrated vinasse were collected from the International Havana Club Rum factory, located in San José de las Lajas. The samples (table 1) were taken in four storage tanks, vertical factory silo (P-1), tank truck (P-2), horizontal tank from the Instituto de Ciencia Animal (P-3) and laboratory tank (P-4).

The sampling was randomly conducted in the outlets faucets and every 10 min. for P-1 and P-2. In the case of P-3 and P-4, the content was removed for 15 min. and the surface, the center and the bottom were sampled. The samples were taken in quintuple at each moment, stored in 250 mL sterile plastic bottles and kept at room temperature until further analysis.

estimulante en el consumo y el comportamiento animal, como respuesta al alto contenido de vitaminas del complejo B presentes en la vinaza (Gohl 1991).

Sarria y Serrano (2008) describen la variabilidad de la composición de las vinazas, al tener en cuenta los diferentes puntos de la cadena productiva. No obstante, se hace referencia a ellas como alimento animal. Sin embargo, la literatura existente no es abarcadora en cuanto a su composición químico-física.

Por lo anterior, es necesario profundizar en el estudio de la composición químico-física y microbiológica de la vinaza concentrada de destilería, producida en la Ronera Havana Club Internacional, ubicada en San José de las Lajas, Mayabeque, para su utilización como aditivo en la alimentación animal.

Materiales y Métodos

Material biológico. Se colectaron muestras de vinaza concentrada procedente de la Ronera Havana Club Internacional, ubicada en San José de las Lajas. Las muestras (tabla 1) se tomaron en cuatro depósitos de almacenaje, Silo vertical de la fábrica (P-1), camión cisterna (P-2), tanque horizontal del Instituto de Ciencia Animal (P-3) y tanque laboratorio (P-4).

El muestreo se realizó de forma aleatoria en las llaves de salida y cada 10 min. para P-1 y la P-2. En el caso de la P-3 y P-4, se removió el contenido durante 15 min. y se muestreó la superficie, el centro y el fondo. Las muestras se tomaron por quintuplicado en cada momento, se almacenaron en frascos plásticos esterilizados de 250

Table 1. Sampling for the characterization of the concentrated vinasse.

Analysis	Origin			
	P1-Silo factory	P2-Tank truck	P3-Horizontal tank	P4- Laboratory tank*
Stability				X
Physical-chemical	X	X	X	X
pH	X	X	X	X
°Bx	X	X	X	X
Minerals	X	X	X	X
Amino acids	X			X
Volatile compounds	X	X	X	X
Reducing carbohydrates	X	X	X	X
Microbiology	X			X

*Sample used in the stability study

Physical-chemical analysis of concentrated vinasse. The composition and fractionation of the chemical compounds was carried out in samples prepared for this purpose. The indicators of dry matter (DM), crude protein (CP) and ash were determined, according to AOAC (2016). Neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) were determined according to van Soest (1994) and the true protein (TP) according to Bernstein *et al.* (1977).

Determination of pH. Digital potentiometer with

mL y se conservaron a temperatura ambiente hasta su posterior análisis.

Análisis físico-químico de la vinaza concentrada. La composición y fraccionamiento de los compuestos químicos se realizó en muestras preparadas para ese fin. Se determinaron los indicadores de materia seca (MS), proteína bruta (PB) y cenizas, según AOAC (2016). La fibra detergente neutro (FDN) y la fibra detergente ácido (FDA) se determinaron según van Soest (1994) y la proteína verdadera (PV) de acuerdo con Bernstein *et al.* (1977).

glass electrode, buffer solutions of pH 4 and 7, and an electromagnetic stirrer were used.

Measurement of Brix degrees (°Bx). Three drops of each sample were taken and placed in the hand-held refractometer, with a scale of 0 to 80 %.

Determination of minerals (macro and micro). The identification and quantification of P, Ca, Na, Fe, As and Pb was performed by atomic emission with inductive plasma, K by atomic absorption and S by turbidimetry at 10 % and glycerin, according to the techniques described in the AOAC (2016).

Determination of amino acids. It was carried out in two samples of concentrated vinasse (P-1 and P-4) and in the soybean cake (as reference standard). The analysis was performed by high pressure liquid chromatography (HPLC) according to the Krishnamurti *et al.* (1984) technique. The hydrolysis of the sample was carried out with 6N HCl at 110 °C temperature (Knecht and Chang 1986).

Determination of direct reducing carbohydrates. The technique described by Dubois *et al.* (1956) and Mancilla (2006) was used and the absorbance was read on an UV-Visible spectrophotometer at 490 nm.

Microbiological characterization. Two samples were used (P-1 and P-4), of which 1 mL of each was used and 9 mL of the dilution medium (1:10). It was shaken for one minute and then three samples of each dilution were taken for culturing under anaerobiosis or aerobiosis conditions, taking into account that there are groups of facultative microorganisms that can live in the presence or absence of oxygen.

For counting total viable, it was cultured on silver agar and for *Escherichia coli* on MacConkey agar, both under aerobiosis conditions at 36 °C. For the yeasts and fungi, the malt extract was used under aerobic conditions at 25 °C. For *Lactobacillus spp.* Agar M.RS was used under anaerobiosis conditions at 36 °C and the methodology described by the United States Department of Agriculture (USDA-FSIS 2008) was used.

Stability indicators. The sample P-4 was used, in which the pH values and specific weight (weight / volume) were analyzed. For the specific weight reading, a digital scale with an accuracy of ± 1 g and a graduated cylinder was used.

Data registration and statistical analysis. The data record was monthly performed for five months for physical-chemical studies. For stability, data was recorded during twelve months of storage.

For the analysis of the results, the Infostat computer system was applied, according to Di Rienzo *et al.* (2008). In the physical-chemical characterization, the variance analysis method was used, according to one-way model, and Duncan's test for $P < 0.05$ was applied. In the case of the stability study, a descriptive analysis was carried out.

Results and Discussion

The results (table 2) show that there are no differences

Determinación de pH. Se utilizó potenciómetro digital con electrodo de vidrio, soluciones reguladoras de pH 4 y 7, y un agitador electromagnético.

Medición de grados Brix (°Bx). Se tomaron tres gotas de cada muestra y se colocaron en el refractómetro de mano, con escala de 0 a 80 %.

Determinación de minerales (macro y micro). La identificación y cuantificación de P, Ca, Na, Fe, As y Pb se realizó por emisión atómica con plasma inductivo, el K por absorción atómica y el S por turbidimetría al 10 % y glicerina, según las técnicas descritas en la AOAC (2016).

Determinación de aminoácidos. Se realizó en dos muestras de vinaza concentrada (P-1 y P-4) y en la torta de soya (como patrón de referencia). El análisis se realizó por cromatografía líquida de alta presión (CLAP) según la técnica de Krishnamurti *et al.* (1984). La hidrólisis de la muestra se realizó con HCl 6N a 110 °C de temperatura (Knecht y Chang 1986).

Determinación de carbohidratos reductores directos. Se utilizó la técnica descrita por Dubois *et al.* (1956) y Mancilla (2006) y se leyó la absorbancia en un espectofotómetro UV-Visible a 490 nm.

Caracterización microbiológica. Se utilizaron dos muestras (P-1 y P-4), de las que se empleó 1 mL de cada una y 9 mL del medio de dilución (1:10). Se agitó durante un minuto y luego se tomaron tres muestras de cada dilución para la siembra en condiciones de anaerobiosis o aerobiosis, al tener en cuenta que existen grupos de microorganismos facultativos que pueden vivir en presencia o ausencia de oxígeno.

Para el conteo de viables totales, se sembró en agar plata y para la *Escherichia coli* en agar MacConkey, ambas en condiciones de aerobiosis a 36 °C. Para las levaduras y hongos, se empleó el extracto de malta en condiciones aeróbicas a 25 °C. Para los *Lactobacillus spp.* se utilizó Agar M.RS en condiciones de anaerobiosis a 36 °C y se utilizó la metodología descrita por la United States Department of Agriculture (USDA-FSIS 2008).

Indicadores de estabilidad. Se utilizó la muestra P-4, en la que se analizaron los valores de pH y peso específico (peso/volumen). Para la lectura de peso específico, se usó una balanza digital con precisión de ± 1 g y una probeta graduada.

Registro de datos y análisis estadístico. El registro de datos se realizó mensualmente durante cinco meses para los estudios físico-químicos. Para la estabilidad se registraron datos durante doce meses de almacenamiento.

Para el análisis de los resultados se aplicó el sistema de cómputo Infostat, según Di Rienzo *et al.* (2008). En la caracterización físico-química se usó el método de análisis de varianza, según modelo de clasificación simple y se aplicó dócima de Duncan para $P < 0.05$. En el caso del estudio de estabilidad, se realizó análisis descriptivo.

Resultados y Discusión

Los resultados (tabla 2) muestran que no existen

in the composition of the vinasse between the different storage tanks. They corroborate that the concentrated vinasse from the International Havana Club Rum factory has a low pH value, characteristic of this type of waste. These data coincide with those reported by Christofolletti *et al.* (2013), Moraes *et al.* (2014), Vázquez *et al.* (2014) and Camacho *et al.* (2016) and show that its storage is possible for a prolonged period and its use in food preservation.

diferencias en la composición de la vinaza entre los diferentes depósitos de almacenaje. Corroboran que la vinaza concentrada de la Ronera Havana Club International presenta valor bajo de pH, característico en este tipo de residual. Estos datos coinciden con lo informado por Christofolletti *et al.* (2013), Moraes *et al.* (2014), Vázquez *et al.* (2014) y Camacho *et al.* (2016) e indican que es posible su almacenamiento por un período prolongado y su utilización en la conservación de alimentos.

Table 2. Physical-chemical indicators of the studied concentrated vinasse (g/100g dry matter)

Indicators	Storage tanks of concentrated vinasse				SE and Signif.
	P1-Silo factory	P2- Tank truck	P3- Horizontal tank	P4- Laboratory tank	
pH	4.45	4.50	4.46	4.48	±0.15 P=0.9963
°Bx	32.00	3.20	33.00	32.20	±3.27 P=0.9965
Reducing carbohydrates, mg/mL	3.27	3.18	3.28	3.34	±0.93 P=0.9995
DM	30.46	30.85	30.15	30.90	±2.67 P=0.9967
CP	12.58	12.13	12.85	12.70	±1.42 P=0.9857
TP	10.67	10.65	10.77	10.64	±0.98 P=0.9997
NDF	3.47	3.26	3.38	3.19	±0.12 P=0.3579
ADF	0.07	0.05	0.04	0.02	±0.02 P=0.3041
Ash	6.16	6.14	6.34	6.74	±0.73 P=0.9320

Brix degrees in the samples were between 32 and 33 %, higher values than those reported in the literature (Aristizábal 2015). These values are related to the concentration of total soluble solids in the vinasse. That is to say, with the sugars coming from the walls of the yeasts and with the salts in the ashes, unlike other vinasses in which the yeast is collected for the protein production.

The vinasse showed low content of direct reducing carbohydrates, which could be related to the presence of glucans and mannan from the yeast used in the alcohol fermentation process. Similar results were described by Tungland and Meyer (2006), who suggest direct evaluations in animals, since vinasse contains oligosaccharides resistant to digestion, which reach the caecum and provoke a positive physiological response.

These compounds could have a positive effect on the immune system of animals, in addition to preventing the colonization of pathogenic bacteria in the gastrointestinal tract. According to Urias and López (2006), the fermentation of these in the caecum generates short chain fatty acids (SCFA), which are attributed positive

Los grados brix en las muestras estuvieron entre 32 y 33 %, valores superiores a los que se informan en la literatura (Aristizábal 2015). Estos valores se relacionan con la concentración de sólidos solubles totales existentes en la vinaza. Es decir, con los azúcares provenientes de las paredes de las levaduras y con las sales presentes en las cenizas, a diferencia de otras vinazas en las que se colecta la levadura para la producción de proteína.

Las vinazas mostraron bajo contenido de carbohidratos reductores directos, lo que pudiera estar relacionado con la presencia de glucanos y mananos provenientes de la levadura utilizada en el proceso de fermentación de alcohol. Resultados similares describieron Tungland y Meyer (2006), quienes sugieren la realización de evaluaciones directas en animales, pues la vinaza contiene oligosacáridos resistentes a la digestión, los que llegan al ciego y provocan una respuesta fisiológica positiva.

Estos compuestos podrían tener un efecto positivo en el sistema inmune de los animales, además de prevenir la colonización de bacterias patógenas en el tracto gastrointestinal. Según Urias y López (2006), la fermentación de estos en el ciego genera ácidos grasos de cadena corta (AGCC), a los que se le atribuyen efectos

health effects, such as increased absorption of inorganic nutrients and decreased glucose, triglycerides and blood cholesterol (Gibson and Roberfroid 2008).

The chemical indicators show that the DM values are higher than those reported in the vinasses from other distilleries in Cuba. Bermúdez *et al.* (2000) refer ranges of DM between 5 and 8 %, which is why we call concentrated vinasse to that obtained in the International Havana Club Rum factory.

Similar results were found by Sarria and Serrano (2008), who describe the concentration of these residuals in Valle del Cauca (15.4 to 47.6 % of DM). These authors report that the concentration process allows increasing the content of nutrients that the vinasse would contribute to the animals diets. They also emphasize that this characteristic is one of the most important for its management, since it reduces transportation costs and facilitates its conservation and storage.

Referring to the values for crude and true protein (table 2), they are similar to those obtained by Scull *et al.* (2012) when studying the vinasse coming from this factory during the process of technology standardization. However, they are superior to those reported in Cuba until now and are related to the content of yeast in this residual.

García *et al.* (1991) point out that this waste allows making important contributions to the diet of adult animals, if it is used as dehydrated meal at 90 %.

The ash content in the samples has values between 6.14 and 6.74 %, which represents low variability. These values are directly related to the degree of concentration of vinasse. According to Lugo (2017), the ash content can be 6 % in vinasse, with 22 % of DM and 16.4 % in vinasse with 47.1 % of DM.

Another important aspect is the mineral content in the vinasse (table 3). This showed low values, except for K, Fe and P. The P could be available almost entirely by coming from the yeast used in the fermentation process. Conversely, Berón (2005) found that the mineral content in the vinasses studied in Colombia showed lower results, in terms of phosphorus content, but higher in relation to potassium, being this, one of the biggest problems for the use of high volumes in animal feeding. However, Zuñiga and Gandini (2013) describe the vinasse as a residual that has low or adequate mineral content, which does not lead to physiological disorders in the animals when performing low intake. Ponce de León (2008) emphasizes in the contribution of minerals of great importance in animal feeding for the formation of organs, tissues, body fluids or as controllers of metabolic, enzymatic and hormonal reactions.

The amino acid composition of the vinasse under study determines that it is a low quality protein source (table 4). The lowest values corresponded to the sulfurized aa: methionine (0-0.08) and cysteine (0.03-

positivos en la salud, como mayor absorción de nutrientes inorgánicos y disminución de glucosa, triglicéridos y colesterol en sangre (Gibson y Roberfroid 2008).

Los indicadores químicos muestran que los valores de MS son superiores a los informados en los mostos de otras destilerías de Cuba. Bermúdez *et al.* (2000) refieren rangos de MS entre 5 y 8 %, razón por la que denominamos vinaza concentrada a la obtenida en la Ronera Havana Club Internacional.

Resultados similares hallaron Sarria y Serrano (2008), quienes describen la concentración de estos residuales en el Valle del Cauca (15.4 a 47.6 % de MS). Estos autores refieren que el proceso de concentración permite elevar el contenido de nutrientes que aportarían las vinazas a las dietas de los animales. Resaltan además, que esta característica es una de las más importantes para su manejo, pues permite disminuir los costos de transportación y facilita su conservación y almacenamiento.

En cuanto a los valores para la proteína bruta y verdadera (tabla 2), son similares a los obtenidos por Scull *et al.* (2012) al estudiar la vinaza proveniente de esta fábrica durante el proceso de estandarización de la tecnología. Sin embargo, resultan superiores a los informados en Cuba hasta el momento y se relacionan con el contenido de levadura presente en este residual.

García *et al.* (1991) señalan que este residuo permite hacer aportes importantes a la dieta de los animales adultos, si se emplea en forma de harina deshidratada al 90 %.

El contenido de cenizas en las muestras tiene valores entre 6.14 y 6.74 %, lo que representa baja variabilidad. Estos valores se relacionan de forma directa con el grado de concentración de la vinaza. Según Lugo (2017), el contenido de cenizas puede ser de 6 % en vinazas, con 22 % de MS y 16.4 % en vinazas con 47.1 % de MS.

Otro aspecto de importancia es el contenido de minerales en la vinaza (tabla 3). Este presentó bajos valores, excepto para K, Fe y P. El P podría estar disponible casi en su totalidad por provenir de la levadura utilizada en el proceso de fermentación. Contrariamente, Berón (2005) halló que el contenido mineral en las vinazas estudiadas en Colombia presenta resultados inferiores, en cuanto al contenido de fósforo, pero superiores en relación con el potasio, siendo este uno de los mayores inconvenientes para la utilización de altos volúmenes en la alimentación animal. Sin embargo, Zuñiga y Gandini (2013) describen a las vinazas como un residual que presenta contenido de minerales bajo o adecuado, que no conducen a trastornos fisiológicos en los animales al realizar bajos consumos. Ponce de León (2008) enfatiza en el aporte de minerales de gran importancia en la alimentación animal para la formación de órganos, tejidos, fluidos corporales o como controladores de reacciones metabólicas, enzimáticas y hormonales.

La composición aminoacídica de la vinaza en estudio determina que sea una fuente proteica de baja calidad (tabla 4). Los valores más bajos correspondieron a los

Table 3. Mineral content in the studied vinasse (DB)

Minerals	Storage tanks of concentrated vinasse				SE and Signif
	P1-Silo factory	P2- Tank truck	P3- Horizontal tank	P4- Laboratory tank	
Calcium (%)	0.61	0.58	0.60	0.62	±0.13 P=0.9965
Phosphorus (%)	1.69	1.66	1.69	1.63	±0.20 P=0.9987
Potassium (%)	1.83	1.76	1.81	1.79	±0.32 P=0.9957
Sodium (%)	0.13	0.13	0.13	0.12	±0.02 P=0.9913
Sulfur (%)	1.5	1.32	1.32	1.25	±0.24 P=0.9933
Iron (ppm)	695.22	686.60	698.72	675.00	±185.79 P=0.9997

0.07), which coincides with those described by Gallo *et al.* (1986). However, they mention that the rest of the amino acid were in relatively high concentrations, unlike those recorded in this study.

According to the Fundación Española para el

amino ácidos azufrados: metionina (0-0.08) y cisteína (0.03-0.07), lo que coincide con lo descrito por Gallo *et al.* (1986). Sin embargo, mencionan que el resto de ellos se encontraban en concentraciones relativamente altas, a diferencia de los que se registran en este estudio.

Table 4. Amino acid profile in the studied vinasses, g/100 mL

Amino acids	Sample collection area	
	P1-Silo factory	P4-Laboratory tank
Aspartic acid	0.38	0.14
Glutamic acid	0.56	0.23
Alanine	0.10	0.07
Arginine	0.45	0.14
Cysteine	0.07	0.03
Phenylalanine	0.27	0.09
Glycine	0.15	0.07
Histidine	0.20	0.09
Isoleucine	0.24	0.13
Leucine	0.13	0.08
Lysine	0.39	0.19
Methionine	0.0	0.08
Proline	0.25	0.09
Serine	0.20	0.09
Tyrosine	0.21	0.12
Threonine	0.31	0.11
Valine	0.30	0.11

Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA 2017), the aa that are contributed by beet vinasse has real low digestibility in birds and pigs. It is inferred that they must have the same performance in the vinasses obtained from the cane molasses. Therefore, this disadvantage, join to the low level of inclusion in the diet, allows concluding that the amino acid included in the diet do not influence on the results.

The microbiological results are shown in

Según la Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA 2017), los amino ácidos que se aportan por las vinazas de remolacha presentan digestibilidad baja real en aves y cerdos. Se infiere que deben tener el mismo comportamiento en las vinazas obtenidas a partir de las melazas de caña. Por tanto, esta desventaja unida al bajo nivel de inclusión en la dieta permite concluir que los amino ácidos incluidos en la dieta no influyen en los resultados.

table 5. The safety of the product should be highlighted, as the presence of *Escherichia coli* and fungi are not recorded in the samples. De Blas *et al.* (2010) commented that the microbiological evaluation of the products or foods to be used in animals is of great importance, since it allows confirming the sanitary quality of them.

Los resultados microbiológicos se muestran en la tabla 5. Se debe destacar la inocuidad del producto, al no registrarse la presencia de *Escherichia coli* ni de hongos en las muestras. De Blas *et al.* (2010) comentaron que la evaluación microbiológica de los productos o alimentos a utilizar en los animales es de gran importancia, pues permite confirmar la calidad sanitaria de los mismos.

Table 5. Microbiological characterization, UFC/mL

Indicators	Sample 1	Sample 2
Total bacteria counting	5×10^3	13×10^4
<i>E. Coli</i>	neg.	neg.
<i>Lactobacillus spp.</i>	6×10^5	5×10^5
Yeasts	10×10^8	96×10^7
Fungi	neg.	neg.

The lactobacilli in the vinasse are found in low concentrations (5 to 6×10^5) and, on the contrary, the yeasts are in high concentrations (10×10^8).

Regarding the use of yeasts in animal production, it can be mention that they offer great advantages. These are used as micro-ingredients due to their prophylactic action (Anon 2007) and among the main advantages it is highlighted that they are sources of nucleotides, a natural source of the B complex, including inositol, which is considered a growth promoter. It is also mentioned that they improve the quality of the ration and the intestinal integrity due to the presence of mannan oligosaccharides (MOS) and have a high mycotoxin absorption capacity.

Yeasts are composed between 20 and 40 % of carbohydrates in the cell wall represented mostly by glucans and mannan, which have an impact on the immune system and the ability to prevent the colonization of pathogenic bacteria in the gastrointestinal tract (Gibson and Roberfroid 2008).

The indicators under study to determine the stability of the vinasse (pH and specific weight) did not show variation, being an aspect of great importance, since the low stability of the liquid compounds that are used in animal feeding constitutes a disadvantage when using alternative sources (Valdivié *et al.* 2010).

For the pH, the values fluctuated between 4.2 and 5.21 (figure 1), which is a characteristic feature of the distilleries vinasse (Saura 2008). This stability could be related to the presence of short-chain acids, which according to Leeson (2006) are considered food preservatives.

According to Gómez (2009), pH control is an important aspect in the elaboration of food products, as an indicator of hygienic conditions and for the control of transformation processes. It is also comments that pH, joins to temperature and humidity is important for the preservation of food and for the inhibition of the

Los lactobacilos en las vinazas se encuentran en bajas concentraciones (5 a 6×10^5) y por el contrario, las levaduras se encuentran en altas concentraciones (10×10^8).

Con respecto al empleo de levaduras en la producción animal, se puede comentar que brindan grandes ventajas. Estas se utilizan como microingredientes por su acción profiláctica (Anon 2007) y entre las principales ventajas se destaca que son fuentes de nucleótidos, fuente natural del complejo B, inclusive inositol que se considera un promotor de crecimiento. Se menciona además, que mejoran la calidad de la ración, que mejoran la integridad intestinal por la presencia de manano oligosacáridos (MOS) y que tienen alto poder de absorción de micotoxinas.

Las levaduras están compuestas entre 20 a 40 % de carbohidratos en la pared celular representadas en su gran mayoría por glucanos y mananos, los cuales tienen impacto en el sistema inmunológico y la habilidad de prevenir la colonización de bacterias patógenas en el tracto gastrointestinal (Gibson y Roberfroid 2008).

Los indicadores en estudio para determinar la estabilidad de la vinaza (pH y peso específico) no mostraron variación, siendo un aspecto de gran importancia, pues la baja estabilidad de los compuestos líquidos que se emplean en la alimentación animal constituye una desventaja al utilizar fuentes alternativas (Valdivié *et al.* 2010).

Para el pH, los valores fluctuaron entre 4.2 y 5.21 (figura 1), lo que es un rasgo característico de las vinazas de destilerías (Saura 2008). Esta estabilidad pudo estar en relación con la presencia de ácidos de cadena corta, que según Leeson (2006) se consideran agentes conservantes de los alimentos.

Según Gómez (2009), el control del pH es un aspecto importante en la elaboración de los productos alimentarios, como indicador de las condiciones higiénicas y para el control de los procesos de transformación. Comenta además, que el pH unido a la temperatura y la humedad, son importantes para la conservación de los

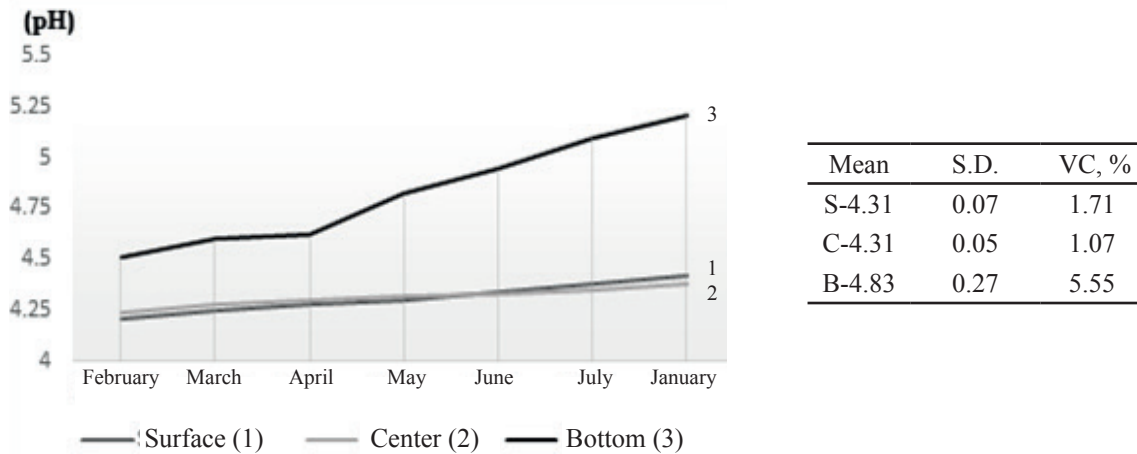


Figure 1. PH values in the stability study of concentrated vinasse

multiplication of pathogens. This author reports that the fermented products have better stability, due to the formation of final products in the oxidation that takes place in the fermentation process, among which are quinones and acetaldehydes (Gómez 2009).

The study of the specific weight was related to the variation of the DM due to the possible evaporation of the liquid content of the vinasse, taking into account the high temperatures that characterize Cuba (figure 2).

alimentos y para la inhibición de la multiplicación de agentes patógenos. Este autor refiere que los productos fermentados llegan a tener mejor estabilidad, debido a la formación de productos finales en la oxidación que se lleva a cabo en el proceso de fermentación, entre los que menciona las quinonas y los acetaldehídos (Gómez 2009).

El estudio del peso específico se relacionó con la variación de la MS por la posible evaporación del contenido líquido de la vinaza, al tener en cuenta las altas temperaturas que caracterizan a Cuba (figura 2).

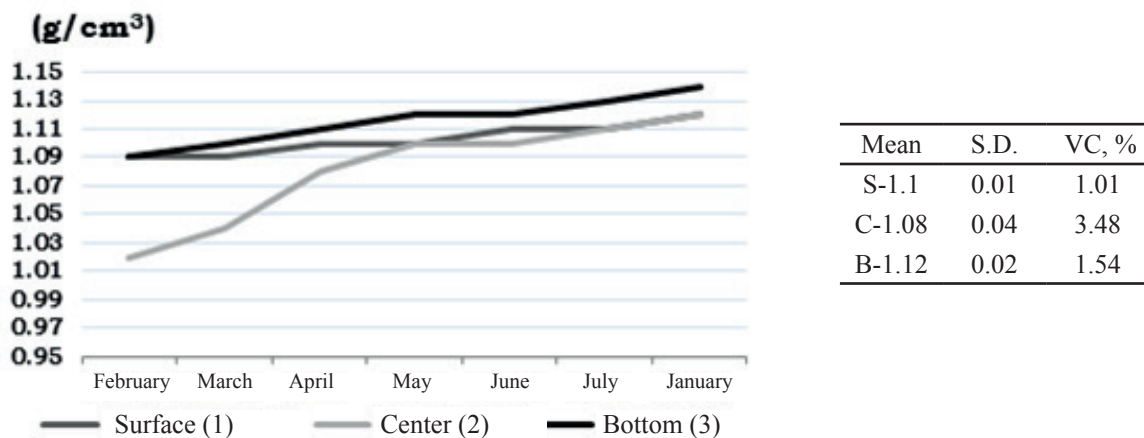


Figure 2. Value of specific weight in the stability study of concentrated vinasse

It should be highlighted that the composition of the vinasses is similar regardless of the raw material. However, the variability in the values will always be related to the source of sugars used to produce alcohol or aguardiente (juice or molasses of sugarcane, beet, agave, corn or barley). To this aspect is added the efficiency of the industry and the collection or not of the yeast used in the fermentation process.

In general, the results described allow classifying the waste as concentrated vinasse, taking into account the DM values. It also highlights the safety of vinasse and its stability over time. Likewise, the physico-chemical characterization of concentrated vinasse allows its evaluation as a candidate for additive, since it contains compounds and microorganisms

Cabe resaltar que la composición de las vinazas es semejante sin importar la materia prima. Sin embargo, la variabilidad en los valores estará siempre relacionada con la fuente de azúcares empleada para producir alcohol o aguardiente (jugo o mieles de caña, mieles de remolacha, de agave, de maíz o cebada). A este aspecto se le adiciona la eficiencia de la industria y la colecta o no de la levadura utilizada en el proceso de fermentación.

De manera general, los resultados descritos permiten catalogar al residual como vinaza concentrada, al tener en cuenta los valores de MS. Se destaca además, la inocuidad de la vinaza y su estabilidad en el tiempo. Igualmente, la caracterización físico-química de la vinaza concentrada permite su valoración como candidato a aditivo, ya que contiene compuestos y

that could cause positive effects on health and animal performance.

microorganismos que podrían causar efectos positivos en la salud y en el comportamiento animal.

Acknowledgments

The authors thank Dr.C. Mercedes G. López and the MSc. Ana S. García from CINVESTAV, Irapuato, Mexico, for the support in the performing of these researchers. Likewise, it is expressed gratitude to Dr.C. Christine Iben from the University of Vienna and the entire team involved in this project.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dr.C. Mercedes G. López y la MSc. Ana S. García del CINVESTAV, Irapuato, México, por el apoyo en la realización de estas investigaciones. Asimismo, se expresa gratitud a la Dr.C. Christine Iben de la Universidad de Vienna y a todo el equipo involucrado en este proyecto.

References

- AOAC, G. W. 2016. Official methods of analysis of AOAC International. 20th ed., Rockville, MD: AOAC International, ISBN: 978-0-935584-87-5, Available: <<http://www.directtextbook.com/isbn/9780935584875>>, [Consulted: September 22, 2016].
- Aristizábal, A. C. E. 2015. "Caracterización físico-química de una vinaza resultante de la producción de alcohol de una industria licorera, a partir del aprovechamiento de la caña de azúcar". *Ingenierías USBMed*, 6(2): 36–41, ISSN: 2027-5846, DOI: 10.21500/20275846.1729, Available: <<http://www.revistas.usb.edu.co/index.php/IngUSBmed/article/view/1729>>, [Consulted: February 4, 2018].
- Bermúdez, R. C., Hoyos, J. A. & Rodríguez, S. 2000. "Evaluación de la disminución de la carga contaminante de la vinaza de destilería por tratamiento anaerobio". *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 16(3): 103–107, ISSN: 0188-4999, Available: <<http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=37016302>>, [Consulted: February 4, 2018].
- Bernstein, F. C., Koetzle, T. F., Williams, G. J. B., Meyer, E. F., Brice, M. D., Rodgers, J. R., Kennard, O., Shimanouchi, T. & Tasumi, M. 1977. "The Protein Data Bank". *European Journal of Biochemistry*, 80(2): 319–324, ISSN: 1432-1033, DOI: 10.1111/j.1432-1033.1977.tb11885.x, Available: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1432-1033.1977.tb11885.x/abstract>>, [Consulted: February 4, 2018].
- Berón, M. G. 2005. "Usos alternativos de la vinaza de acuerdo con su composición química". *Tecnicaña*, 17(9): 15–19, ISSN: 0123-0409.
- Camacho, L. L., Díaz, de los R. M., Pérez, B. I., Sánchez, G. N. & Ribas, G. M. 2016. "Recuperación del potasio en vinazas de destilerías mediante su precipitación con sulfato de amonio". *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 50(2): 24–28, ISSN: 0138-6204, 1025-3076.
- Christofoletti, C. A., Escher, J. P., Correia, J. E., Marinho, J. F. U. & Fontanetti, C. S. 2013. "Sugarcane vinasse: Environmental implications of its use". *Waste Management*, 33(12): 2752–2761, ISSN: 0956-053X, DOI: 10.1016/j.wasman.2013.09.005, Available: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956053X1300408X>>, [Consulted: February 21, 2018].
- De Blas, C., Mateos, G. & García-Rebollar, P. 2010. *Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la formulación de piensos compuestos*. 3rd ed., Madrid, España: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA), 502 p., Available: <<http://www.fundacionfedna.org/ingredientes-para-piensos>>, [Consulted: February 4, 2018].
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M. & Robledo, C. W. 2008. *InfoStat*. version 2008, [Windows], Córdoba, Argentina: Grupo InfoStat, Available: <<http://www.infostat.com.ar/>>.
- Doorenbos, J., Rijken, M., Van Laa, H. & Flores, M. A. 2004. "Valoración nutritiva de materias primas en los países bajos". In: *XX Curso de especialización FEDNA*, Barcelona, España: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA), p. 27, Available: <http://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/16_14_20_04CAP_2.pdf>, [Consulted: February 4, 2018].
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. & Smith, F. 1956. "Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances". *Analytical Chemistry*, 28(3): 350–356, ISSN: 0003-2700, DOI: 10.1021/ac60111a017, Available: <<https://doi.org/10.1021/ac60111a017>>, [Consulted: February 4, 2018].
- FEDNA (Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal). 2017. *Tablas de ingredientes para piensos. Vinazas de remolacha azucarera*. FEDNA, Available: <http://www.fundacionfedna.org/ingredientes_para_piensos/vinazas-de-remolacha-azucarera>, [Consulted: January 4, 2017].
- Gallo, J. D., Ospina, H. & Santos, E. 1986. "Evaluación preliminar de la vinaza, un desecho de destilería, como posible fuente de nutrientes en la alimentación de aves". *Acta Agronómica*, 36(2): 207–220, ISSN: 2323-0118, 0120-2812, Available: <http://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/14751>, [Consulted: February 4, 2018].
- García, A., Duarte, F. & Magaña, A. 1991. "Crecimiento y finalización de cerdos con diferentes niveles de vinaza". *Livestock Research for Rural Development*, 3(1), ISSN: 0121-3784, Available: <<http://www.lrrd.org/lrrd3/1/mexico.htm>>, [Consulted: February 4, 2018].
- García, C. Y., López, M. G. & Bocourt, R. 2009. "Fructans in *Agave fourcroydes*, potentialities for its utilization in animal feeding". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 43(2): 169–171, ISSN: 0034-7485, Available: <<http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=193015425013>>, [Consulted: February 21, 2018].
- Gibson, G. R. & Roberfroid, M. B. 2008. *Handbook of prebiotics*. Boca Raton: CRC Press, 485 p., ISBN: 978-0-8493-8171-3.
- Gómez, P. J. F. 2009. "Nutrición líquida de la caña de azúcar con vinuera". *Revista Tecnicaña*, 13(21): 31–32, ISSN:

- 0123–0409.
- Hidalgo, K., Rodríguez, B., Valdiviá, M. & Febles, M. 2009. “Utilization of distillery vinasse as additive of broiler chickens”. Cuban Journal of Agricultural Science, 43(3): 273–276, ISSN: 0034-7485, 2079-3472, Available: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193015481011>>, [Consulted: February 21, 2018].
- Knecht, R. & Chang, J. Y. 1986. “Liquid chromatographic determination of amino acids after gas-phase hydrolysis and derivatization with (dimethylamino) azobenzenesulfonyl chloride”. Analytical Chemistry, 58(12): 2375–2379, ISSN: 0003-2700, DOI: 10.1021/ac00125a006, Available: <<https://doi.org/10.1021/ac00125a006>>, [Consulted: February 4, 2018].
- Krishnamurti, C. R., Heindze, A. M. & Galzy, G. 1984. “Application of reversed-phase high-performance liquid chromatography using pre-column derivatization with o-phthaldialdehyde for the quantitative analysis of amino acids in adult and fetal sheep plasma, animal feeds and tissues”. Journal of Chromatography A, 315: 321–331, ISSN: 0021-9673, Available: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6526901>>, [Consulted: February 7, 2018].
- Leeson, E. 2006. “Temas de interés presentes y futuros en nutrición de aves”. In: XXII Curso De Especialización FEDNA, Barcelona, España: Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA), pp. 143–150, Available: <http://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/wpsa1164028526a.pdf>, [Consulted: February 4, 2018].
- Lugo, P. 2017. Evaluación del uso de la vinaza (residuo industrial) para la obtención de ácido cítrico empleando *Aspergillus niger*. M.Sc. Thesis, Universidad de Carabobo, Venezuela, 173 p., Available: <<http://mriuc.bc.uc.edu.ve/bitstream/handle/123456789/4386/plugo.pdf?sequence=1>>, [Consulted: March 6, 2018].
- Mancilla, N. A. 2006. Caracterización molecular de fructanos en Agave y *Dasyliirion spp.* identificación de fructosyl transferasas y su expresión en *Pichia pastoris*. Ph.D. Thesis, CINVESTAV - IPN, México, 192 p.
- Mc-Pherson, D., Reyes, K. & Socarrás, Y. 2002. “Evaluación de alternativas para el aprovechamiento del mosto alcohólico de destilerías y la reducción de la contaminación ambiental”. Tecnología Química, 22(1): 5–9, ISSN: 2224-6185.
- Moraes, B. S., Junqueira, T. L., Pavanello, L. G., Cavalett, O., Mantelatto, P. E., Bonomi, A. & Zaiat, M. 2014. “Anaerobic digestion of vinasse from sugarcane biorefineries in Brazil from energy, environmental, and economic perspectives: Profit or expense?”. Applied Energy, 113: 825–835, ISSN: 0306-2619, DOI: 10.1016/j.apenergy.2013.07.018, Available: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306261913005849>>, [Consulted: February 4, 2018].
- Otero, M. A., Estévez, R., Saura, G., Martínez, J. A., García, R. & Bello, D. 2010. “Experiencias en la producción de etanol a partir de jugos de caña mezclados. Parte II. Efecto de la temperatura y la concentración de azúcares”. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, 43(1): 29–34, ISSN: 0138-6204, 1025-3076, Available: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120681004>>, [Consulted: February 21, 2018].
- Pérez, L. H. 2007. “Beneficios de las levaduras vivas en la obtención de productos con actividad probiótica”. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, 41(3): 35–41, ISSN: 0138-6204, 1025-3076, Available: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120666005>>, [Consulted: February 21, 2018].
- Potter, N. N. & Hotchkiss, J. H. 1995. Food science. 5th ed., New York: Chapman & Hall, 608 p., ISBN: 978-0-412-06451-7.
- Rostagno, H., Teixeira, L., Lopes, J., Kazue, N., Guiherme, F., Saraiva, A., Lobão, M., Borges, P., De Oliveira, R., De Toledo, S. & De Oliveira, C. 2017. Tablas brasileñas para aves y cerdos. Composición de Alimentos y Requerimientos nutricionales. 4th ed., Brasil: Departamento de Zootecnia, Universidad Federal de Viçosa, 488 p., ISBN: 978-85-8179-122-7, Available: <<https://eliasnutri.files.wordpress.com/2012/04/tablas-brasilec3blas-aves-y-cerdos-cuarta-edicion-2017-1.pdf>>, [Consulted: February 7, 2018].
- Scull, I., Savón, L., Gutiérrez, O., Valiño, E., Orta, I., Mora, P. O., Orta, H., Ramos, Y., Molidena, A., Coto, G. & Noda, A. 2012. “Physic - chemical composition of concentrated vinasse for their assessment in animal diets”. Cuban Journal of Agricultural Science, 46(4): 385–389, ISSN: 0034-7485, Available: <<http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=193027579008>>, [Consulted: February 4, 2018].
- Stemme, K., Gerdes, B., Harms, A. & Kamphues, J. 2005. “Beet-vinasse (condensed molasses solubles) as an ingredient in diets for cattle and pigs – nutritive value and limitations”. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 89 (3-6): 179–183, ISSN: 1439-0396, DOI: 10.1111/j.1439-0396.2005.00554.x, Available: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0396.2005.00554.x/full>>, [Consulted: February 4, 2018].
- Tungland, B. c. & Meyer, D. 2002. “Nondigestible Oligo- and Polysaccharides (Dietary Fiber): Their Physiology and Role in Human Health and Food”. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 1(3): 90–109, ISSN: 1541-4337, DOI: 10.1111/j.1541-4337.2002.tb00009.x, Available: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1541-4337.2002.tb00009.x/abstract>>, [Consulted: February 21, 2018].
- USDA (United States Department of Agriculture) & FSIS (Food Safety and Inspection Service) 2008. Detection, Isolation and Identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products and Carcass and Environmental Sponges. USA: USDA - FSIS, 14 p., Available: <<https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/51507fdb-dded-47f7-862d-ad80c3ee1738/MLG-5.pdf?MOD=AJPERES>>, [Consulted: February 4, 2018].
- Valdiviá, M., Rodríguez, B. & Bernal, H. 2012. Utilización del jugo de caña como fuente de energía. En: Alimentación de aves, cerdos y conejos con yuca, batata, banano, arroz, caña, DDGS y amaranto. 1st ed., Mayabeque, Cuba: EDICA, 149 p., ISBN: 978-959-7171-20-1, Available: <<http://cedia.fausac.usac.edu.gt/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=8482>>, [Consulted: February 4, 2018].
- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2nd ed., Ithaca, NY: Cornell University Press, 488 p., ISBN: 978-0-8014-2772-5, Available: <<http://www.cornellpress.cornell.edu/book/?GCOI=80140100037050>>, [Consulted: February 4, 2018].
- Vázquez, B. Y. L., Castro, L. I. & López, O. 2014. “Efecto de la aplicación de vinaza sobre algunos indicadores físicos de un suelo Pardo Sialítico carbonatado cultivado con tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Amalia”. Revista Ingeniería

Agrícola, 4(4): 24–29, ISSN: 2227-8761, Available: <<http://www.rcta.unah.edu.cu/index.php/IAgric/article/view/662>>, [Consulted: February 4, 2018].

Zúñiga, C. V. & Gandini, A. M. A. 2013. “Caracterización ambiental de las vinazas de residuos de caña de azúcar resultantes de la producción de etanol”. DYNA, 80(177): 124–131, ISSN: 2346-2183, Available: <<https://revistas.unal.edu.co/index.php/dyna/article/view/27518>>, [Consulted: February 4, 2018].

Received: february 2, 2017