UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

ESCUELA DE ZOOTECNIA

Enriquecimiento proteico de pasto Taiwán, sorgo negro y cáscara de piña por medio de fermentación en estado sólido con inoculación microbiana y evaluación del método de conservación.

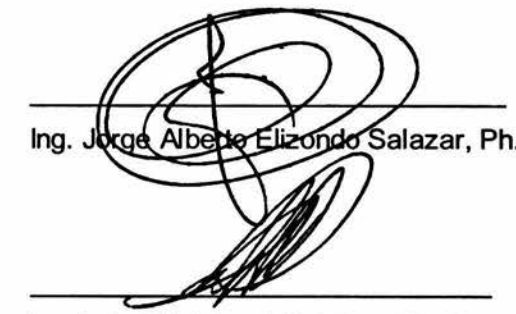
David Jiménez Alfaro

Tesis presentada para optar por el título en el grado académico de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

2018

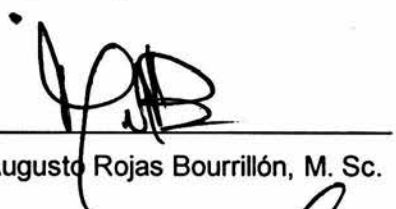
Zootecnia de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia.



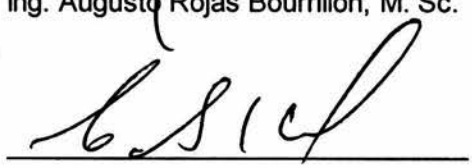
Ing. Jorge Alberto Elizondo Salazar, Ph. D. — Director de la Tesis

Ing. Luis Villalobos Villalobos, Ph. D. — Miembro del Tribunal

Ing. Michael López Herrera, M. Sc. — Miembro del Tribunal



Ing. Augusto Rojas Bourrillón, M. Sc. — Miembro del Tribunal



Ing. Carlos Arroyo Oquendo, M. Sc. — Director Esc. de Zootecnia

Ing. David Jiménez Alfaro — Sustentante

DEDICATORIA

A mis padres, Carlos Jiménez y Helen Alfaro, por su incondicional amor y apoyo con todas mis metas personales y profesionales, por ser la base y motor de mi vida y por siempre brindarme todo y más de lo que necesite.

A mi hermano, Jorge Jiménez, por ser un gran ejemplo a seguir como persona y como profesional y por todas las experiencias vividas juntos.

AGRADECIMIENTOS

A mi profesor tutor, Ing. Jorge Alberto Elizondo Salazar, por brindarme su total apoyo y confianza para la realización del presente proyecto de tesis, así como su ayuda durante todo el proceso, práctico y teórico, para lograr una satisfactoria culminación del mismo.

A mi colega, Ing. Jorge Sobalvarro Mena, por brindarme la oportunidad de desarrollar el tema de la presente tesis, así como por su ayuda durante la realización y culminación de la misma.

A mi amigo, Willy Hernández Arce, por toda la ayuda brindada durante el proceso del análisis de laboratorio de las muestras, así como por su amistad y los buenas experiencias vividas.

A todos mis amigos, compañeros y colegas, en especial al Ing. Daniel Villegas Le-Maître y la Ing. Grethel Solano Mora, por la ayuda brindada para poder realizar todos los procedimientos necesarios para una exitosa realización de los experimentos y los análisis de laboratorio, así como por su amistad durante todos los años de estudio y por todos los años venideros.

ÍNDICE

Contenido Página

DEDICATORIA iii

AGRADECIMIENTOS iv

ÍNDICE DE CUADROS viii

ÍNDICE DE FIGURAS ix

RESUMEN xii

1. INTRODUCCIÓN 14

2. ESTADO DEL CONOCIMIENTO 16

2.1. Pasto Taiwán (*Pennisetum purpureum*) 16

2.2. Sorgo negro forrajero (*Sorghum almum*) 18

2.3. Desechos de la piña 19

2.4. Fermentación en estado sólido (FES) 22

2.5. Ventajas y desventajas de la FES 24

2.6. Parámetros de la FES 25

2.6.1. Sustrato 25

2.6.2 Temperatura 25

2.6.3. Aireación y agitación 26

2.6.4. Valores de pH 27

3. MATERIALES Y MÉTODOS 28

3.1. Ubicación 28

3.2. Especies forrajeras utilizadas en el proceso de fermentación 28

3.3. Preparación del fermentado sólido con inoculación microbiana 28

3.4. Preparación de los inóculos microbianos 30

3.4.1. Levadura de pan 30

3.4.2. Vitafert 30

3.4.3. Probiolac 30

3.5. Procedimiento experimental 31
3.6. Variables evaluadas 33
3.7. Composición química 33
3.8. Indicadores de fermentación 33
3.9. Características fermentativas y organolépticas del ensilado 34
3.10. Diseño Experimental 34
3.11. Modelo estadístico 34
3.12. Análisis Estadístico 35
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 36
4.1. Composición nutricional de los sustratos antes del proceso de fermentación 36
4.2. Composición química y nutricional de los sustratos inoculados durante y luego del proceso de fermentación 37
4.2.1. Temperatura de fermentación de los sustratos 37
4.2.2. pH de fermentación de los sustratos 41
4.2.3. Composición nutricional de los sustratos fermentados 46
4.2.3.1. Materia seca 46
4.2.3.2. Proteína cruda 49
4.2.3.3. Componentes de la pared celular 53
4.2.3.4. Cenizas 59
4.3. Composición química y nutricional de los sustratos fermentados en estado sólido luego del secado 61
4.3.1. Valores de pH 61
4.3.2. Materia seca 63
4.3.3. Proteína cruda 64
4.3.4. Componentes de la pared celular 66
4.3.5. Cenizas 71
4.4. Características organolépticas y composición química y nutricional de los sustratos fermentados en estado sólido luego del proceso de ensilaje 72

4.4.1. Olor 72
4.4.2. Color 73
4.4.3. Textura 73
4.4.4. Composición química y nutricional 75
4.4.4.1. Valores de pH y nitrógeno amoniacal 75
4.4.4.2. Materia seca 80
4.4.4.4. Proteína cruda 83
4.4.4.5. Componentes de la pared celular 86
4.4.4.6. Cenizas 98
4.5. Estimación de los costos de preparación de los sustratos fermentados en estado sólido y de los métodos de conservación 100
5. CONCLUSIONES 103
6. RECOMENDACIONES 105
7. LITERATURA CITADA 107

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Composición nutricional de diferentes partes y subproductos de la piña reportada en la literatura. 21
Cuadro 2. Ingredientes utilizados para preparar el fermentado en estado sólido rústico con inoculación microbiana. 29
Cuadro 3. Composición química del mineral Fosbovinho de la empresa DSM®. 29
Cuadro 4. Descripción de tratamientos del experimento. 32
Cuadro 5. Composición nutricional de los sustratos antes de iniciar el proceso de fermentación en estado sólido. 36
Cuadro 6. Valores obtenidos de los componentes intracelulares en los tres sustratos inoculados durante el proceso de fermentación. 46
Cuadro 7. Valores obtenidos de los componentes de la pared celular en los tres sustratos inoculados durante el proceso de fermentación. 54
Cuadro 8. Valores de cenizas obtenidos durante el proceso de fermentación con los tres sustratos inoculados 60
Cuadro 9. Valores de pH obtenidos con los tres sustratos fermentados en estado sólido luego del proceso de secado. 62
Cuadro 10. Valores obtenidos de los componentes intracelulares en los tres sustratos fermentados en estado sólido luego del proceso de secado. 63
Cuadro 11. Valores obtenidos de los componentes de la pared celular en los tres sustratos fermentados en estado sólido luego del proceso de secado. 67
Cuadro 12. Valores de cenizas obtenidos luego del proceso de secado con los tres sustratos fermentados en estado sólido. 72
Cuadro 13. Valores de pH y nitrógeno amoniacal obtenidos con los tres sustratos fermentados en estado sólido luego del ensilaje. 75
Cuadro 14. Valores obtenidos de los componentes intracelulares en los tres sustratos fermentados en estado sólido luego del proceso de ensilaje. 81
Cuadro 15. Valores obtenidos de los componentes de la pared celular en los tres sustratos fermentados en estado sólido luego del proceso de ensilaje. 87
Cuadro 16. Composición química y nutricional de la cáscara de piña fermentada en estado sólido luego del proceso de ensilaje. 99
Cuadro 17. Costos de preparación de los tres sustratos fermentados en estado sólido y costos según el método de conservación. 102

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mezcla de los ingredientes para la elaboración del inóculo Vitafert (a- mezcla de agua, yogurt y melaza, b- adición de ingredientes sólidos, c- mezcla final de todos los ingredientes). 30
Figura 2. Mezcla de los ingredientes para la elaboración del inóculo Probiolac (a- mezcla de suero de leche y yogurt, b- adición de ingredientes sólidos, c- adición de melaza, d- digestor anaerobio artesanal con trampa de agua). 31
Figura 3. Marcos de 1 m^2 hechos con blocks de concreto y utilizados para depositar cada una de las réplicas de los cuatro inóculos evaluados por sustrato. 31
Figura 4. Temperaturas alcanzadas durante 36 horas de fermentación en el pasto Taiwán con los distintos inóculos utilizados (n=4). 38
Figura 5. Temperaturas alcanzadas durante 36 horas de fermentación en el sorgo negro forrajero con los distintos inóculos utilizados (n=4). 38
Figura 6. Temperaturas alcanzadas durante 36 horas de fermentación en la cáscara de piña con los distintos inóculos utilizados (n=4). 39
Figura 7. Valores de pH alcanzados durante 36 horas de fermentación en el pasto Taiwán con los distintos inóculos utilizados (n=4). 42
Figura 8. Valores de pH alcanzados durante 36 horas de fermentación en el sorgo negro con los distintos inóculos utilizados (n=4). 42
Figura 9. Valores de pH alcanzados durante 36 horas de fermentación en la cáscara de piña con los distintos inóculos utilizados (n=4). 43
Figura 10. Valores promedio de materia seca obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación. 47
Figura 11. Valores promedio de proteína cruda obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación. 50
Figura 12. Valores promedio de FDN obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación. 55
Figura 13. Valores promedio de FDA obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación. 55
Figura 14. Valores promedio de celulosa obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación. 56
Figura 15. Valores promedio de hemicelulosa obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación. 56

Figura 16. Valores promedio de lignina obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación. 57
Figura 17. Valores promedio de cenizas obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación. 60
Figura 18. Valores promedio de pH obtenidos con los tres sustratos fermentados en estado sólido antes y luego del proceso de secado. 62
Figura 19. Valores promedio de materia seca obtenidos con los tres sustratos fermentados en estado sólido antes y luego del proceso de secado. 64
Figura 20. Valores promedio de proteína cruda obtenidos con los tres sustratos fermentados en estado sólido antes y luego del proceso de secado. 65
Figura 21. Valores promedio de FDN obtenidos con los tres sustratos fermentados en estado sólido antes y luego del proceso de secado. 68
Figura 22. Valores de FDA obtenidos luego del proceso de secado con los distintos tratamientos al utilizar cáscara de piña fermentada en estado sólido (n=4). 69
Figura 23. Valores promedio de hemicelulosa obtenidos con los tres sustratos fermentados en estado sólido antes y luego del proceso de secado. 70
Figura 24. Pasto Taiwán (a) y sorgo negro (b) fermentados en estado sólido luego del proceso de ensilaje. 74
Figura 25. Cáscara de piña fermentada en estado sólido luego del proceso de ensilaje (a. color obtenido con los tratamientos testigo y Vitafert, b- color obtenido con los tratamientos Probiolac y levadura, c- capa ennegrecida obtenida en algunas bolsas de ensilaje. 74
Figura 26. Valores de pH obtenidos con el sorgo negro fermentado en estado sólido antes (azul) y luego del ensilaje (rojo) (n=4). 76
Figura 27. Valores de pH obtenidos con el pasto Taiwán fermentado en estado sólido antes (azul) y luego del ensilaje (rojo) (n=4). 76
Figura 28. Valores de pH obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego del ensilaje (rojo) (n=4). 77
Figura 29. Valores de nitrógeno amoniacal obtenidos con el pasto Taiwán fermentado en estado sólido luego del ensilaje (n=4). 78
Figura 30. Valores de nitrógeno amoniacal obtenidos con el sorgo negro fermentado en estado sólido luego del ensilaje (n=4). 78
Figura 31. Valores de PC obtenidos con el pasto Taiwán fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del ensilaje (n=4). 83

Figura 32. Valores de PC obtenidos con el sorgo negro fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del ensilaje (n=4). 84
Figura 33. Valores de PC obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del ensilaje (n=4). 84
Figura 34. Valores de FDN obtenidos con el pasto Taiwán fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4). 88
Figura 35. Valores de FDN obtenidos con el sorgo negro fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4). 88
Figura 36. Valores de FDN obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4). 89
Figura 37. Valores de FDA obtenidos con el pasto Taiwán fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4). 90
Figura 38. Valores de FDA obtenidos con el sorgo negro fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4). 91
Figura 39. Valores de FDA obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4). 91
Figura 40. Valores de celulosa obtenidos con el pasto Taiwán fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4). 92
Figura 41. Valores de celulosa obtenidos con el sorgo negro fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4). 93
Figura 42. Valores de celulosa obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4). 93
Figura 43. Valores de hemicelulosa obtenidos con el pasto Taiwán fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4). 94
Figura 44. Valores de hemicelulosa obtenidos con el sorgo negro fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4). 95
Figura 45. Valores de hemicelulosa obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4). 95
Figura 46. Valores de lignina obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4). 96
Figura 47. Valores de cenizas obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4). 99

RESUMEN

Debido al aumento en la producción de leche y al alto costo de la compra de alimentos balanceados para la alimentación, es necesario desarrollar estrategias alimenticias que permitan reducir los costos y mantener estable la producción. La fermentación en estado sólido es una biotecnología que permite desarrollar alimentos de buena calidad utilizando productos o subproductos agrícolas como sustratos. El objetivo del presente estudio fue determinar los indicadores de fermentación y la composición nutricional del pasto Taiwán, sorgo negro y cáscara de piña una vez inoculados y luego del proceso de fermentación en estado sólido, además evaluar el secado y el ensilaje como método de conservación sobre los sustratos fermentados. Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones y cuatro tratamientos por sustrato en arreglo trifactorial 3 x 4 x 2. El primer factor correspondió a los tres sustratos (pasto Taiwán, sorgo negro forrajero o cáscara de piña), el segundo a los cuatro inóculos utilizados (Vitafert, Probiolac, levadura y un testigo sin inóculo) y el tercero los dos métodos de conservación (secado y ensilado). A cada tratamiento se le añadió 5% melaza, 1,5% urea, 0,7% sulfato de amonio, 0,5% mezcla mineral y 1% del inóculo correspondiente. Se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) en los valores de composición nutricional entre los sustratos originales y luego de la adición de los ingredientes para la fermentación (pasto Taiwán antes 27,5% MS y 8,3% PC y luego de adición 30,4% MS y 23,8% PC; sorgo negro antes 11,6% MS y 17,9% PC y luego de adición 17,6% MS y 38,2% PC; cáscara de piña antes 13,8% MS y 8,6% PC y luego de adición 19,5% MS y 41,7% PC). Sin embargo no se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre tratamientos ni entre los distintos tiempos de fermentación, excepto con la cáscara de piña donde los valores de PC descienden a las 36 horas de fermentación de forma significativa ($p<0,05$). Los valores de los componentes fibrosos aumentan levemente a lo largo del proceso por un efecto de concentración. El punto máximo de temperatura y el mínimo de pH se alcanzó a las 12 horas con el pasto Taiwán (29,6°C y 4,61) y con la cáscara de piña a las 24 horas (40,7°C y 4,6). Con el sorgo negro no hubo aumento de temperatura y el pH descendió durante todo el proceso (4,75 a 36 horas). Con respecto a los métodos de conservación se concluye que el secado fue eficiente, ya que los valores de composición nutricional se mantienen constantes; por su parte el ensilaje fue menos eficiente ya que el pH no disminuyó rápidamente en los primeros días y ocasionó una mayor degradación proteica y generación de nitrógeno amoniacal, lo cual concuerda con los resultados del análisis organoléptico. Además esto ocurrió de manera más marcada al utilizar los tratamientos de Probiolac y levadura con respecto al testigo y al Vitafert, con los

últimos hubo menos pérdidas y la calidad de los ensilajes fue mejor. Con los valores de composición nutricional obtenidos se concluye que los sustratos fermentados en estado sólido pueden ser utilizados en la alimentación de rumiantes, ya sea frescos o conservados, y que podrían sustituir de manera parcial el uso de concentrados y así reducir los costos de producción.

1. INTRODUCCIÓN

La producción láctea ha ido en aumento durante las últimas tres décadas, donde en 1980 se produjo 308 millones kilogramos de leche, para el 2011 aumentó a los 953 millones de kilogramos (Elizondo y Jiménez 2014) y en el año 2012 se reportaron 1055 millones de kilogramos, que representó el 11,8% del valor agregado agropecuario del país (Madriz 2013). La tendencia de incremento en la producción de leche es un 7% anual y sigue creciendo año tras año, dicho aumento (aunado a diversas prácticas productivas) hace necesaria la importación de materias primas para la elaboración de los alimentos balanceados utilizados en las fincas con el fin de mantener estable la producción de leche (Elizondo y Jiménez 2014).

Sin embargo, el aumento en el uso de concentrados encarece la producción láctea (Vivas y Carvajal 2004). Madriz (2013) menciona que el precio internacional de los granos es determinante en el costo de los alimentos balanceados, lo cual repercute en la rentabilidad de las fincas lecheras. Wing Ching y Rojas (2006) indican que la mayoría de las fincas lecheras del país basan su producción en consumos altos de alimento balanceado, lo que representa alrededor de un 48% de los costos de producción de un litro de leche.

En los países en desarrollo, las fuentes de proteína para producción animal poseen un alto costo (Ramos *et al.* 2006). Vargas y Elizondo (2015) mencionan que la proteína cruda es uno de los nutrientes más caros en las dietas para ganado de leche, por lo que es necesario proponer distintas estrategias alimenticias que permitan bajar los costos sin mermar la producción de leche. Una alternativa al uso de alimentos balanceados es enriquecer el valor nutricional de los alimentos forrajeros y subproductos agrícolas ya utilizados en las dietas de las vacas a través de procesos fermentativos aeróbicos.

La fermentación en estado sólido (FES) es un proceso biotecnológico para preservar y desarrollar nuevos alimentos a partir de productos o subproductos agroindustriales ricos en carbohidratos solubles y estructurales, en donde a través del uso de microorganismos se genera un incremento de biomasa microbiana que aumenta el contenido proteico del material (Moyano 2014, Blandino y Pineda 2015). Este proceso se realiza casi en su totalidad con ausencia de agua libre, generalmente solo se contempla la que contiene el producto a fermentar (Vivas y Carvajal 2004).

La biomasa microbiana se genera en el proceso de fermentación a partir de la microflora epífita (levaduras y bacterias) presente en el sustrato y su desarrollo se favorece con los azúcares presentes en el material y con el aporte de pequeñas cantidades de urea y sales minerales, manteniendo controlados los niveles óptimos de humedad, aireación, pH y temperatura (Vivas y Carvajal 2004, Moyano 2014, Blandino y Pineda 2015). Este procedimiento se ha realizado principalmente sobre la biomasa de la caña de azúcar y del maíz, pues estos poseen buena concentración de carbohidratos no estructurales y dan un gran aporte energético, pero son limitantes en su contenido proteico (López 2008, Castillo *et al.* 2009).

En el presente estudio se plantea realizar este tipo de fermentación y desarrollar suplementos de alta calidad, que mejoren el contenido de proteína de los residuos agrícolas como la cáscara de piña y materiales forrajeros, como el pasto Taiwán (*Pennisetum purpureum*) y el sorgo negro forrajero (*Sorghum almum*), altamente disponibles durante gran parte del año para el sector lechero del país, con el objetivo de proponer una alternativa alimenticia con materiales de bajo costo, enriquecidos proteicamente y que permitan reducir parcialmente el uso de alimentos balanceados.

Esto es importante pues en los sistemas de ganado bovino la principal fuente de alimentación debería basarse en el uso de forrajes y pastos debido a su bajo costo y que llena parte de los requerimientos nutricionales de los animales (Vargas 2008). Además, al realizar este trabajo se le facilita al sector ganadero una tecnología de fácil aplicación a nivel de finca, con poco requerimiento de equipo y que permita obtener alimentos de alto valor nutricional.

2. ESTADO DEL CONOCIMIENTO

2.1. Pasto Taiwán (*Pennisetum purpureum*)

Esta gramínea es una especie perenne originaria de África tropical, por lo que se adapta a nuestras condiciones de trópico. Es de porte erecto y tamaño similar al King Grass (*Pennisetum purpureum*), crece formando macollas, con tallos altos y robustos que pueden crecer hasta tres metros según las condiciones de manejo (riego y fertilización). Sus hojas son largas y anchas (30-120 cm y 3-5 cm respectivamente), con forma de lanceta y cubiertas de vellosidades y sus raíces son gruesas con gran cantidad de rizomas. Además, crece en suelos profundos y drenados y se adapta desde los 0 hasta los 2300 msnm. Logra resistir la sequía y en cierto grado el encharcamiento, se desarrolla de mejor manera en climas cálidos y aunque también soporta temperaturas bajas, si baja de 10°C la planta deja de crecer, pues no tolera las heladas (Bemhaja 2000, Araya y Boschini 2005, Guillén 2009).

Al ser una planta del tipo C_4 tiene una alta tasa fotosintética y como consecuencia una alta producción de biomasa, se puede aprovechar en épocas de poca disponibilidad de forrajes mediante la corta y acarreo, aunque también se puede utilizar para pastoreo directo e incluso conservar mediante ensilaje o como heno (Bemhaja 2000), además tiene una buena relación hoja:tallo (Vázquez *et al.* 2008).

Una desventaja del pasto Taiwán es que posee una menor concentración de proteína comparada con otros pastos tropicales C_3 y con leguminosas (Guillén 2009). Aunado a esta baja concentración proteica, la tasa de maduración de los forrajes tropicales es más rápida, lo que hace que aumente la cantidad de fibra y la lignificación de las paredes celulares, esto genera una disminución en la digestibilidad (González *et al.* 2011b) y en la calidad nutricional que disminuye con la edad y se nota de manera significativa después de los 50 días, llegando hasta un 7% de proteína cruda (González *et al.* 2011a).

El aporte proteico del pasto Taiwán oscila entre 7,2 hasta 9,6% PC con valores entre los 17 a 23% MS, donde los mejores rendimientos se obtienen cuando hay época seca y según la edad de corte y la relación hoja:tallo (Will y Valle 1990, Araya y Boschini 2005, Vázquez *et al.* 2008, González *et al.* 2011a). Debido a su bajo contenido proteico es frecuente combinarlos con otros suplementos o fuentes forrajeras, como arbustivas y leguminosas, que den un mayor aporte de este nutriente, cumplan los requerimientos y mejoren la productividad del animal (González *et al.* 2011a).

La reproducción de esta planta se debe hacer de manera vegetativa y la siembra se hace con estacas o macollas en surcos (Bemhaja 2000). Además requieren de riego y fertilización al momento de la siembra y al menos una aplicación anual (principalmente nitrogenada) para alcanzar las altas producciones de materia seca esperadas y poder mantener la carga animal, ya que esta planta extrae una alta cantidad de nutrientes del suelo (Bemhaja 2000). La fertilización es aún más necesaria en sistemas de corte y acarreo, pues no hay devolución de nutrientes al suelo mediante excretas de animales y dependen únicamente de sus reservas para rebrotar ya que la mayoría de las hojas son removidas para su aprovechamiento (Araya y Boschini 2005).

Vázquez *et al.* (2008) reportan que en la región subtropical de Morelos en México se obtuvo un mayor crecimiento y producción de materia seca del pasto Taiwán durante la época de invierno cuando hubo fertilización y riego (cerca de 1,6 ton MS/ha/mes) comparado a cultivos donde solo hubo alguna de las dos prácticas y su producción fue menor cuando no se hizo ningún tipo de práctica cultural (cerca de 1,1 ton MS/ha/mes). Así mismo Vázquez *et al.* (2009) indican que la producción de biomasa es mayor cuando hay aplicación de fertilizante, ya sea químico u orgánico.

La frecuencia de corte o pastoreo la definen las necesidades de cada finca, aunque se recomienda cosechar entre los 40 y 50 días pues es el momento en que hay una moderada producción de biomasa con una calidad nutricional mayor (Will y Valle 1990). Si se hace luego de este punto se gana en mayor cantidad de materia seca pero se compromete la calidad y digestibilidad de la misma. Vázquez *et al.* (2008) reportan que una frecuencia de corta de 30 días permite obtener un forraje de alto valor nutricional, aunque se disminuye la cantidad de material vegetal cosechado.

Los rendimientos productivos de este pasto son muy variados y dependen de factores como la altura, precipitación, fertilización y riego (Vázquez *et al.* 2008, Vázquez *et al.* 2009). Guillén (2009) reporta producciones en Brasil de 120 a 170 ton MV/ha/año en época lluviosa y de 230 a 250 ton MV/ha/año en época seca con fertilización. Will y Valle (1990) mencionan que puede llegar a producir entre 15 a 36,5 ton MS/ha/año con distintos niveles de fertilización nitrogenada, valor menor al reportado por González *et al.* (2011b) de 40 a 50 ton MS/ha/año. Por su parte, Araya y Boschini (2005) obtuvieron valores de 80,5 ton MV/ha/corte y 13,8 ton MS/ha/corte con fertilización, además de una relación hoja:tallo de 0,65.

2.2. Sorgo negro forrajero (*Sorghum almum*)

Esta gramínea pertenece a la familia Poaceae y ha adquirido una gran importancia en la alimentación de ganado en el país, ya que se utiliza picado para su consumo fresco y como reserva para la época seca mediante ensilaje (Amador y Boschini 2000, Elizondo 2004b), pues permite la conservación con facilidad debido al alto contenido de azúcares solubles (Boschini y Elizondo 2005, Alpízar *et al.* 2014).

Posee altos valores de producción de biomasa y nutricionales, tiene buena palatabilidad, posee gran habilidad para recuperarse de la sequía, lo que ayuda a mantener e incluso aumentar la producción de leche y carne en periodos de escasez de forrajes (Elizondo 2004b, Boschini y Elizondo 2005) Además hace un uso más eficiente del agua, pues su sistema radicular es más fibroso y ramificado, lo que le permite acumular gran cantidad de reservas (Araya *et al.* 1997, Oliver *et al.* 2004). El sorgo se adapta bien desde el nivel del mar hasta los 1900 msnm, a partir de allí su crecimiento es lento y baja la germinación. También se desarrolla de manera óptima en temperaturas entre 21 a 30 °C y su crecimiento es limitado en temperaturas menores a 13°C (Araya *et al.* 1997).

No es una especie forrajera permanente, sin embargo el cultivo se mantiene durante 3 a 5 años, con frecuencias de corte regulares cada 70 a 150 días bajo un sistema de buenas prácticas de manejo (Boschini y Elizondo 2005, Vargas 2005), es decir, permite de cuatro a cinco cortes por año conservando buenas características, alta aceptabilidad y consumo por los animales (Elizondo 2004b). Existe una respuesta positiva ante la fertilización nitrogenada, donde aumenta su productividad y contenido nutricional (Araya *et al.* 1997) y su principal desventaja es que la calidad nutricional se ve limitada por su bajo contenido de proteína cruda (Alpízar *et al.* 2014).

La producción de biomasa, el aporte proteico y el contenido de humedad varía según la edad a la cual se realice la cosecha y la altitud, donde el rendimiento productivo varía entre 16 a 35 ton MV/ha/corte y 1,9 a 6,5 ton MS/ha/corte, el contenido proteico oscila entre 7 y 14% y el de materia seca entre 12 y 26% (Araya *et al.* 1997, Boschini 2000, Boschini y Amador 2001, Elizondo 2004a, Elizondo 2004b, Boschini y Elizondo 2005, Alpízar *et al.* 2014).

Por ejemplo, se pueden obtener valores de 12,5% PC a los 45 días y 9,5% PC a los 55 días en zonas bajas, mientras 18 a 22% PC en el mismo periodo en zonas altas (Boschini

y Amador 2001). Araya *et al.* (1997) mencionan que a los 63 días se alcanzan producciones de 4,12 ton MS/ha/corta con 11,6% PC y 15,6% MS, mientras que Amador y Boschini (2000) indican que entre los 60 y 150 días se alcanzan producciones de 21,8 a 34,7 ton MV/ha/corte.

Boschini y Elizondo (2005) encontraron la mejor calidad del forraje a los 91 días, con 12% MS y 14% PC. Cuando el objetivo del productor es aprovechar o conservar la máxima cantidad de forraje, la mayor cosecha se logra a los 133 días, con una cantidad de PC cercana al 8% y 21% MS aún apto para ensilar. Esto concuerda con lo propuesto por Amador y Boschini (2000) donde comentan que a partir de los 85 días la calidad empieza a bajar por la lignificación del tallo y recomiendan realizar la cosecha entre los dos a tres meses de establecido el cultivo. Además, entre los 3 y 4 meses se encontraron degradabilidades de MS mayores a 58% en 24 horas de incubación ruminal, esto indica el potencial del sorgo para ser ensilado en edades tardías de corte (Boschini y Elizondo 2005).

2.3. Desechos de la piña

La pulpa de cítricos y los desechos de la piña son los residuos agroindustriales de mayor disponibilidad en el país. Estos subproductos tienen un buen contenido nutricional, además son abundantes y baratos, lo que los convierte en una alternativa importante para la alimentación animal, principalmente durante épocas de escasez (Gutiérrez *et al.* 2003).

En Costa Rica, principalmente en la Región Huetar Norte, se ha experimentado un acelerado crecimiento durante los últimos años en la industria de la piña y de cítricos, principalmente la naranja (Rojas *et al.* 2001, Gutiérrez *et al.* 2003, Rojas 2011). López (2008) menciona que para el año 2007 se utilizaron cerca de 40.000 ha para la producción de piña y aumentó a 45.000 ha en el año 2011 (Maglianesi 2013), además Rojas (2011) indica que este mismo año en la zona norte del país se estima el uso de 22.500 ha para esta actividad. También, el INEC (2015) indica que en el año 2014 se reportan cerca de 9 100 fincas dedicadas al cultivo de frutas, principalmente naranja y piña.

Proporcional al incremento en área cultivada de piña, se genera una mayor cantidad de rastrojos al final de cada periodo de cosecha y este material encarece la producción del nuevo ciclo y representa un problema ambiental (López *et. al* 2009). Luego de la cosecha de la piña se obtienen entre 200-250 ton/ha de desechos, los cuales no tienen uso para la

plantación, sin embargo pueden aprovecharse en la alimentación de rumiantes, tanto frescos como ensilados. (Gutiérrez *et al.* 2003, López 2008).

Los desechos de la piña (pulpa y cáscara) se han utilizado en la alimentación de ganado de carne y leche, dando buenos resultados en producción láctea y condición corporal de los animales y generando una solución a la contaminación ambiental generada por estos residuos, como la proliferación de la mosca de los establos (*Stomoxis calcitrans*) estimulada por un manejo inadecuado de los desechos de la planta de piña en los campos agrícolas (Gutiérrez *et al.* 2003, Rojas 2011).

Además, dichos subproductos permiten sostener la carga animal por hectárea en épocas de deficiencia de forrajes (Gutiérrez *et al.* 2003), aunque su bajo contenido de materia seca es una limitante en el consumo y aporte para los animales (López *et al.* 2014b). Sánchez (2010) indica que vacas con producciones de leche de 15 a 18 kg/día consumen entre 6 y 8 kg de rastrojo fresco o ensilado, lo que representa un 5 a 7% de la MS contenida en la ración total diaria. Al utilizar cantidades crecientes de pulpa de cítricos deshidratada el contenido de materia seca y la energía en la ración total tiende a mejorar (López *et al.* 2009).

En nuestro país se han realizado varias investigaciones que demuestran que los subproductos del cultivo de la piña poseen una composición nutricional similar a forrajes empleados en sistemas ganaderos y que también pueden ser conservados por medio de la técnica del ensilaje para su posterior utilización (Gutiérrez *et al.* 2003, López *et al.* 2009, Rojas 2011, Elizondo y Campos 2014, López *et al.* 2014a, López *et al.* 2014b, Rodríguez *et al.* 2014, López *et al.* 2016), donde los altos contenidos de carbohidratos no fibrosos facilitan la fermentación a pesar del alto contenido de humedad (Rojas 2011). No obstante, al ser limitados en proteína es necesario agregarle ese faltante incorporando fuentes nitrogenadas como urea o desechos avícolas previamente tratados con calor (Gutiérrez *et al.* 2003, Rojas 2011, López *et al.* 2014b).

Los subproductos de piña (planta entera, cáscaras, coronas y rastrojos) se consideran bajos en materia seca y proteína, con valores entre 7 y 13% MS y 7,5 y 11% PC, sin embargo poseen altos contenidos de carbohidratos fibrosos y no fibrosos y un contenido energético similar o superior a forrajes tropicales, con valores de 53 a 60% FDN, 21 a 24% CNF y 62 a 66% de TND, respectivamente (López *et al.* 2016). En el Cuadro 1 se puede observar información correspondiente a valores de la composición nutricional de diferentes subproductos y partes de la piña reportadas en la literatura.

Cuadro 1. Composición nutricional de diferentes partes y subproductos de la piña reportada en la literatura.

Composición nutricional	Rastrojo (Rodríguez *et al.* 2014)	Rastrojo (López 2008)	Rastrojo (López *et al.* 2009)	Cáscara (Elizondo y Campos 2014)	Cáscara (López *et al.* 2014a)	Pulpa y cáscara (Gutiérrez *et al.* 2003)	Corona (Sánchez 2010)	Corona (López *et al.* 2014a)
MS, %	10,0	11,2	12,3	13,8	26,6	8,0	11,1	17,0
PC, %	8,7	7,4	8,1	7,5	6,9	6,6	10,9	11,0
FDN, %	69,7	57,7	56,0	50,5	54,8	77,6	54,8	59,3
FDA, %	37,9	32,1	35,0	31,9	20,8	26,0	32,6	35,5
CNF, %	14,4	24,1	23,5	-	37,5	12,0	24,9	22,8
DIVMS, %	67,0	-	74,9	-	-	86,2	-	-

2.4. Fermentación en estado sólido (FES)

La fermentación es un proceso metabólico de degradación, el cual puede ser aeróbico o anaeróbico. Durante la fermentación, los microorganismos utilizan los carbohidratos de la materia orgánica y facilitan esqueletos de carbono y energía en forma de ATP para el crecimiento de los mismos. En la fermentación aeróbica se libera dióxido de carbono, amonio, nitrógeno y agua, mientras que en el proceso anaeróbico es liberado metano, dióxido de carbono, amoniaco, ácido sulfhídrico, nitrógeno e hidrógeno (Moyano 2014).

Los procesos fermentativos se pueden dividir en fermentación líquida sumergida y fermentación en estado sólido. En la líquida existe agua libre en el sistema mientras que en la sólida se desarrolla en sustratos sólidos húmedos, donde no existe agua libre, solo se contempla la que contiene el producto a fermentar (Vivas y Carvajal 2004, Moyano 2014). Los procesos fermentativos en estado sólido toman más tiempo que los sumergidos en líquidos (Rodríguez *et al.* 2001).

La FES es un proceso biotecnológico para preservar y desarrollar nuevos alimentos a partir de productos o subproductos agroindustriales ricos en carbohidratos solubles y estructurales, en donde a través del uso de microorganismos se genera un incremento de biomasa microbiana que aumenta a su vez el contenido proteico del material (Moyano 2014, Blandino y Pineda 2015).

La biomasa microbiana, que es proteína unicelular, se genera en el proceso de fermentación a partir de la microflora epífita (levaduras y bacterias) presente en el sustrato y su desarrollo se favorece con los azúcares presentes en el material y con el aporte de pequeñas cantidades de urea y sales minerales, manteniendo controlados los niveles óptimos de humedad, aireación, pH y temperatura (Vivas y Carvajal 2004, Díaz *et al.* 2010, Moyano 2014, Blandino y Pineda 2015).

En términos energéticos, la fermentación realizada bajo condiciones aeróbicas es más eficiente en cuanto a síntesis de ATP con respecto a la fermentación anaeróbica, pues se logran 30 moles de ATP por mol de carbohidrato fermentado mientras que sin presencia de oxígeno se generan alrededor de 3 moles de ATP por mol de carbohidrato fermentado. Con estas condiciones se puede mejorar la relación proteína:energía baja de algunos materiales, como por ejemplo la caña de azúcar y forraje del maíz (Vivas y Carvajal 2004).

El desarrollo de esta tecnología ha tenido un interés creciente en los últimos años, particularmente en países como Cuba (Elías *et al.* 1990, ICA 1990, Elías *et al.* 2001, Rodríguez *et al.* 2001, Ramos *et al.* 2006, Rodríguez *et al.* 2006, Torres *et al.* 2007, Aranda *et al.* 2012) y Nicaragua (Blandino y Pineda 2015), utilizando principalmente la caña de azúcar como sustrato y en Colombia utilizando la papa como base para la fermentación (Moyano 2014).

Las principales limitantes de la caña son el bajo contenido proteico (entre 2-3%), la poca digestibilidad de la fibra (50-60%) y un reducido contenido mineral (3-4%), por lo que al suministrar caña fresca a los animales se debe ofrecer una fuente proteica para corregir dicha deficiencia (Rosales 2006, Torres *et al.* 2007, Aranda *et al.* 2012). Lo anterior también se puede lograr con la FES al producir proteína unicelular de buena calidad y mejorar la digestibilidad del material (Elías *et al.* 1990, Torres *et al.* 2007).

Elías *et al.* (2001) reportan incrementos en la concentración de proteína en caña de azúcar fermentada por 24 horas de hasta 15,3% PC sin inoculación, 17,2% PC con inclusión al 10% del inóculo Vitafert y 21,1% PC agregando la misma cantidad de inóculo y un 4% de soya desgrasada, en donde todos los tratamientos recibieron una inclusión de 1,67% de urea y 0,5% de una mezcla mineral. Esto concuerda con lo propuesto por Elías *et al.* (1990) donde mencionan que con este procedimiento se pueden aumentar los valores de 3,5% PC de la caña hasta un 13,5% PC con el uso de inóculos. Por su parte, Rodríguez *et al.* (2001) reportan un incremento de 1,8% PC en 24 horas de fermentación de una mezcla 50:50 de caña molida y camote molido sin el uso de inóculos.

Lo anterior refleja como la aplicación de la técnica de FES permite aprovechar desechos de cosechas y excedentes de cultivos como materia prima, los cuales mediante procesos de fermentación aeróbica, con inoculación microbiana y sin adición de agua se convierten en fuentes alimenticias de alto valor energético y proteico, a un bajo costo (Vivas y Carvajal 2004, Moyano 2014).

Al producto final fermentado y enriquecido de la caña de azúcar se le conoce como saccharina y se puede utilizar en la alimentación de rumiantes y monogástricos. Este es un alimento energético-proteico, con compuestos nitrogenados proteicos y no proteicos (Elías *et al.* 1990, Elías *et al.* 2001, Ramos *et al.* 2006). La elaboración de la saccharina es una tecnología accesible para pequeños y medianos productores, ya que requiere de pocas instalaciones cuando es elaborada de forma rústica, triturando en máquina los tallos de caña

y fermentándose en piso de concreto, provisto de sombra, en capas de 10-15 cm de grosor (ICA 1990).

Durante la FES de la caña se desarrollan principalmente hongos filamentosos, levaduras y bacterias ácido lácticas por lo que el proceso es más eficiente si se incorporan inóculos microbianos (Elías *et al.* 2001). Según Escudero *et al.* (2013) los hongos filamentosos se caracterizan por la formación de hifas, esto les permite colonizar matrices sólidas y ser más eficientes y competitivos; esto se potencia además por su gran potencial de secreción de enzimas hidrolíticas, su tolerancia a baja actividad del agua y su resistencia a condiciones de alta presión osmótica.

2.5. Ventajas y desventajas de la FES

Este tipo de fermentación presenta ventajas para su implementación ya que no requiere una adición de agua, no genera residuos, el producto retiene metabolitos como vitaminas y enzimas que el animal aprovecha, reduce el contenido de carbohidratos solubles (Vivas y Carvajal 2004), podría bajar los costos de alimentación (que supone la compra de alimentos concentrados) y permite el aprovechamiento de subproductos agrícolas al convertirlos en fuentes de alimentos con alto valor energético y proteico, a un bajo costo (Moyano 2014). Además, Rodríguez *et al.* (2001) reportan que se logra mejorar el balance de aminoácidos y la digestibilidad de las materias primas.

Aparte de generar ventajas en la producción de alimento animal, también genera beneficios para el medio ambiente (Castillo y Ruiz 2013). La disposición en el terreno de los subproductos agrícolas de las cosechas conlleva a una descomposición del material, el cual se fermenta al aire libre, lo que genera la proliferación de plagas y focos de contaminación (Castillo y Ruiz 2013, Moyano 2014). Además, su empleo como abono para los suelos así como en la industria es limitado, por lo que se considera de bajo valor comercial (Moyano 2014). Utilizar estos productos para la alimentación animal representa un beneficio para los productores de las cosechas y productores aledaños que se ven afectados por las plagas, además elimina el impacto ambiental generado por la fermentación de los productos (López 2008).

Una desventaja de utilizar subproductos y algunas especies como las leguminosas es un posible contenido de compuestos secundarios con efectos anti nutricionales, como la cafeína, los taninos, la teobromina, que pueden interferir con el aprovechamiento del

alimento directamente (Moyano 2014). La principal limitante de la implementación de esta tecnología en el país es la falta de conocimiento y experiencias propias.

2.6. Parámetros de la FES

2.6.1. Sustrato

Los sustratos para la FES deben ser insolubles en agua para mantener la condición de cultivo en estado sólido, contener solamente la humedad necesaria para favorecer el crecimiento y actividad metabólica de los microorganismos, tener una estructura granular que permita la adhesión y penetración del microorganismo, tener un alto contenido de carbohidratos y ser ricos en vitaminas y minerales que favorecen el crecimiento microbiano (Costa *et al.* 2010, Moyano 2014).

El contenido de humedad del sustrato es un factor decisivo a la hora de la fermentación. La actividad de agua (Aw) tiene una influencia sobre el crecimiento y las actividades metabólicas de los microorganismos (requerimientos de Aw: hongos 0,65-1, levaduras 0,75-1 y bacterias 0,88-1) (Pastrana 1996), debido a esto los microhongos son los más adecuados para este tipo de fermentación ya que sus requerimientos de Aw son bajos y puede desarrollarse en sistemas en estado sólido (Pastrana 1996, Moyano 2014).

El nivel adecuado de humedad está en función de la naturaleza del sustrato, el tipo de producto final y los requerimientos del microorganismo (Pastrana 1996). Generalmente el contenido de humedad inicial del sustrato oscila entre 30 y 75% (forrajes con valores de 75-88% humedad) pero durante la fermentación hay pérdidas por evaporación y por la actividad metabólica de los organismos (Moyano 2014). Un contenido muy alto de humedad provoca descensos en la porosidad y difusión de oxígeno, lo que aumenta el riesgo de contaminación bacteriana y formación indeseable de micelio aéreo. Por contraparte con Aw muy baja los microorganismos producen esporas (Pastrana 1996, Moyano 2014). El límite en que cesa la actividad metabólica es 12% de humedad (Castillo y Ruiz 2013).

2.6.2 Temperatura

Como consecuencia de la actividad metabólica de los microorganismos se produce una elevación de la temperatura en el proceso de fermentación, sobre todo en las zonas internas del sustrato (Pastrana 1996). Los valores óptimos de temperatura durante la fermentación son entre el rango de 20 a 40°C según el microorganismo utilizado, donde

50°C es el límite máximo (Castillo y Ruiz 2013), pues se afecta el crecimiento, la germinación de esporas y la formación del producto final (Pastrana 1996). Debido a esto se deben establecer mecanismos que permitan disipar el calor, principalmente hacer circular aire a lo interno del sustrato. Cultivos con alta porosidad, con poco grosor de la capa de sustrato y con partículas de tamaño adecuado para generar una buena compactación disipan el calor sin dificultad, sin irse al extremo de que sea necesario dar un aporte externo de energía para mantener una buena temperatura (Pastrana 1996).

2.6.3. Aireación y agitación

Al agitar y airear el sustrato se permite la transferencia de masa a nivel inter e intraparticular. Los procesos de transferencia de masa intraparticulares son principalmente la difusión de nutrientes al micelio y la degradación de los sustratos sólidos por las enzimas (Pastrana 1996). A nivel interparticular el proceso más importante es la difusión de gases, en especial la transferencia de oxígeno, lo cual depende de la proporción de espacios huecos en la masa de fermentación y de la aireación. La cantidad de espacios huecos depende de la forma de las partículas del sustrato, del contenido de humedad y de la naturaleza química del sustrato. Debe representar al menos un 30% del volumen total de la masa de fermentación (Pastrana 1996).

Las tasas de aireación se establecen según el tipo de microorganismos, los requerimientos para la síntesis del producto, el grado de eliminación de calor y CO_2, el espesor de la capa de sustrato y el número de espacios intersticiales que dejan las partículas de sustrato, sin embargo el mayor interés es aumentar la transferencia de O_2 y CO_2 y se puede lograr mediante la agitación del material (Pastrana 1996).

Rodríguez *et al.* (2006) mencionan que en la FES el intercambio de calor y oxígeno es una de las principales dificultades, en donde los procesos de disipación de calor metabólico generado en lechos mayores a 15 cm de altura generan un problema que se debe resolver con aireación forzada y agitación. Además determinan que los mejores resultados se lograron con el grosor de la capa de 15 cm.

Aplicar agitación al sistema mantiene constante la distribución de oxígeno y humedad y genera un sustrato más homogéneo (Castillo y Ruiz 2013). Algunos autores señalan que es indispensable realizar la agitación del material con el fin de permitir la eliminación del CO2

y la renovación del aire en los espacios intersticiales, sin embargo esto se pone en duda por las lesiones ocasionadas al micelio al someterlo a agitación (Pastrana 1996).

2.6.4. Valores de pH

El pH es uno de los factores críticos durante los procesos fermentativos, sin embargo en la FES su seguimiento y control se hace complicado. Una ventaja de la FES es que suele poseer valores estables de pH, debido a la elevada capacidad buffer de los sustratos usados, por lo que ajustar al inicio del proceso el valor de pH del sustrato hace posible eliminar la necesidad de controlarlo durante el proceso (Pastrana 1996). El rango de pH en que se desarrollan los microorganismos varía según la especie y se busca que soporten rangos amplios, generalmente básicos (entre 5-9) (Castillo y Ruiz 2013). Rodríguez (2005) reporta que valores bajos de pH (4,5-5) pueden afectar el proceso y producto final.

Algunas veces es conveniente realizar un humedecimiento de los sustratos con soluciones tampón para evitar cambios de pH en áreas localizadas. Esta estrategia se utiliza en caso de que los cultivos no se sometan a agitación y la fuente de nitrógeno se suministre como sales de amonio, lo que genera descensos bruscos en el pH (Pastrana 1996).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El experimento se llevó a cabo durante los meses de febrero a agosto del 2017 en la Estación Experimental de Ganado Lechero Alfredo Volio Mata de la Universidad de Costa Rica, en el Alto de Ochomogo de Cartago, ubicada 1.542 msnm, precipitación media anual de 2.050 mm, temperatura media 19,3°C y humedad relativa media de 84%. El suelo del área es de origen volcánico, clasificado como Typic Distrandepts (Araya y Boschini 2005).

Los análisis de laboratorio se realizaron en el Laboratorio de Bromatología de la Estación Experimental de Ganado Lechero Alfredo Volio Mata y parcialmente en el Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA) ubicado en la Ciudad Universitaria Rodrigo Facio de la Universidad de Costa Rica, en San Pedro de Montes de Oca, San José.

3.2. Especies forrajeras utilizadas en el proceso de fermentación

Las especies seleccionadas para esta investigación fueron el pasto Taiwán y el sorgo negro forrajero, ambas especies provinieron de plantaciones separadas establecidas en la Estación Experimental Alfredo Volio Mata, fertilizadas con urea o nitrato de amonio a razón de 250 kg N/ha/año. El pasto Taiwán se cosechó a los 120 días de edad y el sorgo a los 60 días de edad. La cáscara de piña se obtuvo picada de la planta de proceso Florida Productos S.A. ubicada en Barreal, Heredia.

3.3. Preparación del fermentado sólido con inoculación microbiana

Para la preparación de los fermentados en estado sólido se utilizaron los ingredientes descritos en el Cuadro 2. La biomasa del pasto Taiwán, del sorgo negro o la cáscara de piña se depositó en una mezcladora de forrajes (JayLor® Modelo A50), en donde se redujo el tamaño de partícula a 2,5 cm y se mezcló con los demás ingredientes. Se utilizó como fuente de minerales la mezcla Fosbovinho de la empresa DSM® (Cuadro 3).

Cuadro 2. Ingredientes utilizados para preparar el fermentado en estado sólido rústico con inoculación microbiana.

Ingrediente	Cantidad, kg	Inclusión, %
Sustrato (pasto Taiwán, sorgo negro forrajero o cáscara de piña)	112,0	91,3
Melaza de caña de azúcar	6,1	5,0
Urea	1,8	1,5
Sulfato de amonio	0,9	0,7
Mezcla Mineral	0,6	0,5
Inóculo microbiano	1,2	1,0
Peso total en húmedo	122,5	100,0

Cuadro 3. Composición química del mineral Fosbovinho de la empresa DSM®.

Compuesto mineral	Cantidad
Humedad, max	10,00 %
Calcio, max	14,40 %
Calcio, min	12,00 %
Azufre, min	3,80 %
Fósforo, min	9,68 %
Zinc, min	4.298,50 mg/kg
Manganeso, min	1.774,50 mg/kg
Cobre, max	1.810,00 mg/kg
Hierro, min	2.846,00 mg/kg
Flúor, max	968,00 mg/kg
Yodo, min	89,50 mg/kg
Cobalto, min	66,00 mg/kg
Selenio, max	14,90 mg/kg
Sal, min	8,00 %
Sal, max	8,50 %

3.4. Preparación de los inóculos microbianos

3.4.1. Levadura de pan

Se utilizó levadura con el fin de lograr una adecuada generación de proteína unicelular y enzimas en el producto final (Sánchez *et al.* 2007). Se utilizó levadura fresca de pan (*Sacharomyces cerevizae*) y se mezcló uniformemente con los sustratos.

3.4.2. Vitafert

Se preparó una mezcla de fermentación de melaza, urea, minerales, yogurt, harina de soya, semolina de arroz y sulfato de amonio, donde el yogurt se utilizó como inoculante microbiano. Se mezcló en un recipiente plástico durante 5 minutos, por cada 4 horas durante 48 horas, así se obtuvo el fermentado conocido como Vitafert (Figura 1), rico en levaduras (10^7-10^8 UFC), lactobacilos (10^9-10^{10} UFC), ácidos orgánicos de cadenas de carbono cortas, ácido láctico (450-600 mmol L^{-1}) y ácido acético (225-230 mmol L^{-1}) (Gutierrez *et al.* 2012).

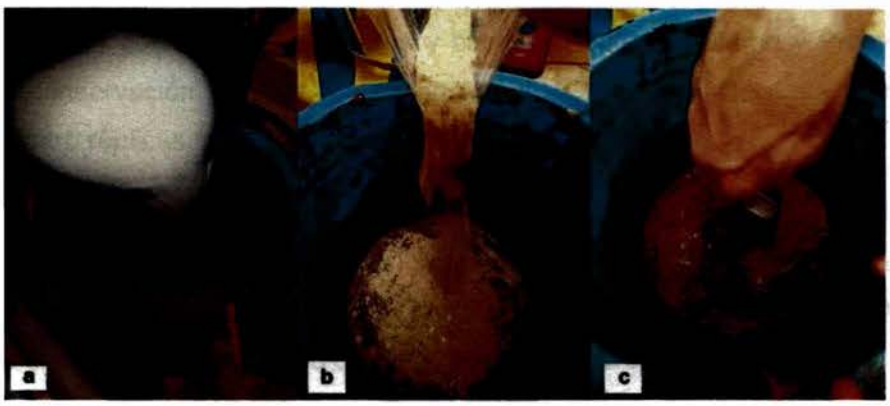


Figura 1. Mezcla de los ingredientes para la elaboración del inóculo Vitafert (a- mezcla de agua, yogurt y melaza, b- adición de ingredientes sólidos, c- mezcla final de todos los ingredientes).

3.4.3. Probiolac

Se preparó una mezcla de fermentación de suero de leche, melaza, minerales, yogurt y levadura, donde los dos últimos se utilizaron como inoculantes microbianos. Se vertió la mezcla en un digestor anaeróbico artesanal provisto con trampa de agua para evitar el ingreso de aire en su interior (Figura 2). Se dejó fermentar por 24 horas, así se obtuvo el fermentado conocido como Probiolac, el cual es rico en bacterias ácido lácticas (Sobalvarro 2017[1]).

[1]SOBALVARRO J. 2017. Comunicación personal. Universidad Nacional Agraria, Nicaragua.

Figura 2. Mezcla de los ingredientes para la elaboración del inóculo Probiolac (a- mezcla de suero de leche y yogurt, b- adición de ingredientes sólidos, c- adición de melaza, d- digestor anaerobio artesanal con trampa de agua).

3.5. Procedimiento experimental

Se utilizó un diseño multifactorial completamente al azar con tres sustratos (pasto Taiwán, sorgo negro forrajero o cáscara de piña) cuatro inóculos (un testigo, uno con levaduras de pan y dos ricos en levaduras y bacterias lácticas, Vitafert y Probiolac) y dos métodos de conservación (ensilaje y secado al sol) (Cuadro 4). De cada tratamiento se elaboraron cuatro réplicas.

Para realizar la FES se utilizaron marcos de 1 m^2, elaborados con blocks de concreto, para delimitar y separar cada una de las réplicas (Figura 3). Cada marco representó una unidad experimental y la distancia entre cada una de ellas fue de 30 cm. Además, se aseguró una cama de biomasa de 15 cm dentro de cada marco.

Figura 3. Marcos de 1 m^2 hechos con blocks de concreto y utilizados para depositar cada una de las réplicas de los cuatro inóculos evaluados por sustrato.

Cuadro 4. Descripción de tratamientos del experimento.

Tratamiento	Sustrato	Inóculo	Método de conservación
1	Pasto Taiwán	Probiolac	Secado
2	Pasto Taiwán	Probiolac	Ensilado
3	Pasto Taiwán	Vitafert	Secado
4	Pasto Taiwán	Vitafert	Ensilado
5	Pasto Taiwán	Levadura	Secado
6	Pasto Taiwán	Levadura	Ensilado
7	Pasto Taiwán	Sin inóculo	Secado
8	Pasto Taiwán	Sin inóculo	Ensilado
9	Sorgo negro forrajero	Probiolac	Secado
10	Sorgo negro forrajero	Probiolac	Ensilado
11	Sorgo negro forrajero	Vitafert	Secado
12	Sorgo negro forrajero	Vitafert	Ensilado
13	Sorgo negro forrajero	Levadura	Secado
14	Sorgo negro forrajero	Levadura	Ensilado
15	Sorgo negro forrajero	Sin inóculo	Secado
16	Sorgo negro forrajero	Sin inóculo	Ensilado
17	Cáscara de piña	Probiolac	Secado
18	Cáscara de piña	Probiolac	Ensilado
19	Cáscara de piña	Vitafert	Secado
20	Cáscara de piña	Vitafert	Ensilado
21	Cáscara de piña	Levadura	Secado
22	Cáscara de piña	Levadura	Ensilado
23	Cáscara de piña	Sin inóculo	Secado
24	Cáscara de piña	Sin inóculo	Ensilado

Para el proceso de fermentación, se mezclaron 490 kg de cada uno de los sustratos con los ingredientes descritos en el Cuadro 2 (excepto los inóculos), una vez mezclado se separaron cuatro partes iguales de 122,5 kg y a cada una se le añadió un inóculo distinto y se mezclaron para distribuirlo de manera uniforme. Luego se procedió a separar los 122,5 kg en cuatro partes iguales de 30,6 kg cada una (esto representó las réplicas de cada inóculo), estas se depositaron en los marcos y se procedió a realizar el proceso de fermentación

sobre piso de concreto desinfectado y provisto de sombra. Además cada 6 horas se volteó el material en los marcos durante las 36 horas de fermentación.

Una vez fermentado el material se destinaron 15 kg de cada una de las réplicas para ser ensilados y 15 kg para ser secados al sol. El secado del material se efectuó en camas sobre concreto y bajo un invernadero, por 5 a 7 días según las condiciones climáticas y con 2 volteos diarios. Para la elaboración del ensilado del material fermentado en estado sólido, se realizó mediante la técnica de microsilos (López 2008) en donde se utilizaron 15 kg de biomasa, la cual se depositó, compactó y selló en bolsas de polietileno de 0,603 mm de grosor. El material se ensiló durante 60 días para su posterior apertura y toma de muestras.

3.6. Variables evaluadas

Antes de iniciar el proceso fermentativo se tomaron tres muestras de cada sustrato y se determinó su composición química. Una vez iniciado el proceso se tomó una muestra de cada réplica (n=4) a las 0, 24 y 36 horas de fermentación, de las cuales se determinaron las variables de composición química y los indicadores de la fermentación.

También, una vez concluido el método de conservación se tomó una muestra de cada una de las réplicas (n=4) y se determinó las variables de composición química y las características fermentativas del ensilado. Además se calcularon los costos de la preparación de cada uno los fermentados frescos y los costos de conservación (secado y ensilaje) del material.

3.7. Composición química

Se determinó el contenido de materia seca en una estufa a 105 °C, la concentración de proteína cruda y las cenizas por el método Kjeldahl (AOAC 2002). La fibra detergente neutro (FDN), la fibra detergente ácida (FDA) y la lignina se analizaron con el método descrito por Van Soest *et al.* (1991). La hemicelulosa, celulosa y lignina se determinaron con la metodología descrita por Van Soest y Robertson (1985).

3.8. Indicadores de fermentación

Durante la fermentación el valor de pH se determinó en cada una de las réplicas (n=4) cada 6 horas a través de un potenciómetro digital, se tomó una muestra de 10 g de material y se sumergió en 50 ml de agua destilada. La temperatura se midió en cada una de

las réplicas (n=4) cada 6 horas utilizando un termómetro durante 1 minuto para una buena lectura.

3.9. Características fermentativas y organolépticas del ensilado

El valor de pH se determinó en cada una de las réplicas (n=4) a través de un potenciómetro digital al momento de la apertura de cada silo y la concentración de nitrógeno amoniacal se estimó según el método oficial 941.04 establecido por la AOAC (1990). Se determinaron las características organolépticas del material ensilado por medio de los indicadores planteados por López *et al.* (2009) para color, olor y textura.

3.10. Diseño Experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), trifactorial 3 x 4 x 2 con tres sustratos (pasto Taiwán, sorgo negro forrajero o cáscara de piña), cuatro inóculos microbianos (*Sacharomyces cerevisiae*, Vitafert, Probiolac y un testigo sin inóculo), dos métodos de conservación (secado y ensilado) y cuatro réplicas por tratamiento, para un total de 96 réplicas.

3.11. Modelo estadístico

A través de un diseño trifactorial completamente al azar

$$Yijkl = \mu + Si + Ij + Ck + Slij + SCik + ICjk + SICijk + Eijkl$$

En donde:

Yijk: es la j-ésima respuesta en el i-ésimo sustrato, j-ésimo inóculo y k-ésimo método de conservación,

μ: es la media poblacional de la variable respuesta,

Si: es el efecto del i-ésimo sustrato,

Ij: es el efecto del j-ésimo inóculo,

Ck: es el efecto del k-ésimo método de conservación,

Slij: es la interacción entre el efecto i-ésimo sustrato con el efecto del j-ésimo inóculo,

SCik: es la interacción entre el efecto i-ésimo sustrato con el efecto del k-ésimo método de conservación,

ICjk: es la interacción entre el efecto del j-ésimo inóculo con el efecto del k-ésimo método de conservación,

SICijk: es la interacción entre el efecto i-ésimo sustrato con el efecto del j-ésimo inóculo y con el efecto del k-ésimo método de conservación,

Eijkl: es el error experimental, i=1,2,3 sustratos, j=1,2,3,4 inóculos, k= 1,2 métodos de conservación, l= 1,2,3,4 repeticiones.

3.12. Análisis Estadístico

Se realizó un análisis de varianza y separación de medias con la prueba de rangos múltiples de Tukey, esto se hizo mediante el comando PROC GLM del software Statitical Analisys System (SAS) version 9.1 del año 2004.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Composición nutricional de los sustratos antes del proceso de fermentación

La composición nutricional del pasto Taiwán, el sorgo negro y la cáscara de piña se presentan en el Cuadro 5. El pasto Taiwán presentó un valor de MS mayor al reportado por Araya y Boschini (2005) de 23,03%, con una edad de corte de 126 días cosechado durante la época seca. Dichos autores también obtuvieron un valor de 0,57 puntos porcentuales menor al contenido proteico obtenido en este estudio y el mismo contenido de cenizas.

Chacón y Vargas (2009) cosecharon pasto del género *Pennisetum purpureum cv.* King Grass a 90 días durante la época lluviosa y obtuvieron cantidades menores de MS (14,43%), cenizas (13,61%), y celulosa (38,28%), mientras que la FDN (76,91%), hemicelulosa (24,71%) y lignina (13,59%) fueron mayores. Por su parte, Sánchez y Quesada (1998) cosecharon pasto King Grass entre 50 a 60 días en varias fincas de la Zona Norte del país durante la época semiseca y obtuvieron valores similares a los obtenidos por Chacón y Vargas (2009) con 18,31% MS, 8,19% PC y 73,42% FDN.

Cuadro 5. Composición nutricional de los sustratos antes de iniciar el proceso de fermentación en estado sólido.

Composición nutricional (%)	Pasto Taiwán	Cáscara de piña	Sorgo negro forrajero
MS	27,53[a]	13,85[b]	11,64[c]
PC	8,27[b]	8,61[b]	17,93[a]
FDN	69,52[c]	53,83[a]	58,13[b]
FDA	51,21[c]	34,26[a]	40,87[b]
Celulosa	44,23[c]	23,56[a]	35,51[b]
Hemicelulosa	18,30	19,57	17,27
Lignina	6,98[a]	10,70[b]	5,16[a]
Cenizas	14,37[a]	4,98[b]	14,12[a]

[abc] Letras diferentes en la misma fila indican diferencia significativa ($p<0,05$).

n=3.

MS= materia seca. PC= proteína cruda. FDN= fibra detergente neutro. FDA= fibra detergente ácida.

La cáscara de piña presentó una composición nutricional muy similar a la obtenida por Elizondo y Campos (2014). Los valores de PC (+1,10%), FDN (+3,34%), FDA (+2,40%) y

celulosa (+4,15%) fueron ligeramente superiores en este estudio, mientras que la lignina (-1,75%) alcanzó una concentración menor. Gutiérrez *et al.* (2003) reportan, para cáscara y pulpa, valores menores de MS (8,04%), PC (6,56%), FDA (26,07%) y cenizas (3,49%). La FDN (77,61%) tuvo un valor mayor.

Amador y Boschini (2000) y Vargas (2005) cosecharon sorgo negro a 66 y 77 días respectivamente, y obtuvieron valores mayores de MS (+0,46% y +2,47%), FDN (+5,02% y +15,78%) y hemicelulosa (+7,53% y +16,12%). Mientras que la PC (-0,14% y -3,16%), FDA (-2,52% y -0,35%), lignina (-1,88% y -0,33%) y cenizas (-0,35% y -2,74%) fueron levemente inferiores. Con respecto a la concentración de celulosa, no hubo una diferencia numérica apreciable.

4.2. Composición química y nutricional de los sustratos inoculados durante y luego del proceso de fermentación

4.2.1. Temperatura de fermentación de los sustratos

En las Figuras 4, 5 y 6 se presentan las temperaturas alcanzadas en los distintos sustratos durante las 36 horas de fermentación. Al utilizar sorgo negro y cáscara de piña como sustratos para la fermentación no hubo diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$). El pasto Taiwán luego de las 24 horas tuvo diferencias significativas ($p<0,05$) al utilizar levadura y Vitafert como inóculos para el proceso fermentativo, alcanzando temperaturas superiores al utilizar la levadura y menores con el Vitafert. Entre el testigo y el Probiolac no hubo diferencias significativas ($p>0,05$).

Cárdenas *et al.* (2008) no encontraron diferencias significativas al fermentar por 24 horas bagacillo de caña de retorno, con 0 o 20% de pulido de arroz y sin inóculo (41,5°C) o utilizando como inóculos saccharina (42,6°C), Vitafert (41,8°C) y levadura (43,3°C). Dichos autores reportan temperaturas similares a las medidas en este estudio con la cáscara de piña y mayores que las obtenidas en el pasto Taiwán y el sorgo negro.

Las temperaturas máximas se obtuvieron a las 12 horas con el pasto Taiwán y a las 24 horas con la cáscara de piña. Luego de alcanzar el punto máximo la temperatura decrece y se estabiliza, a excepción de cuando se utilizó levadura como inóculo en el pasto Taiwán, que luego de las 24 horas aumentó hasta el final de la fermentación (Figura 4).

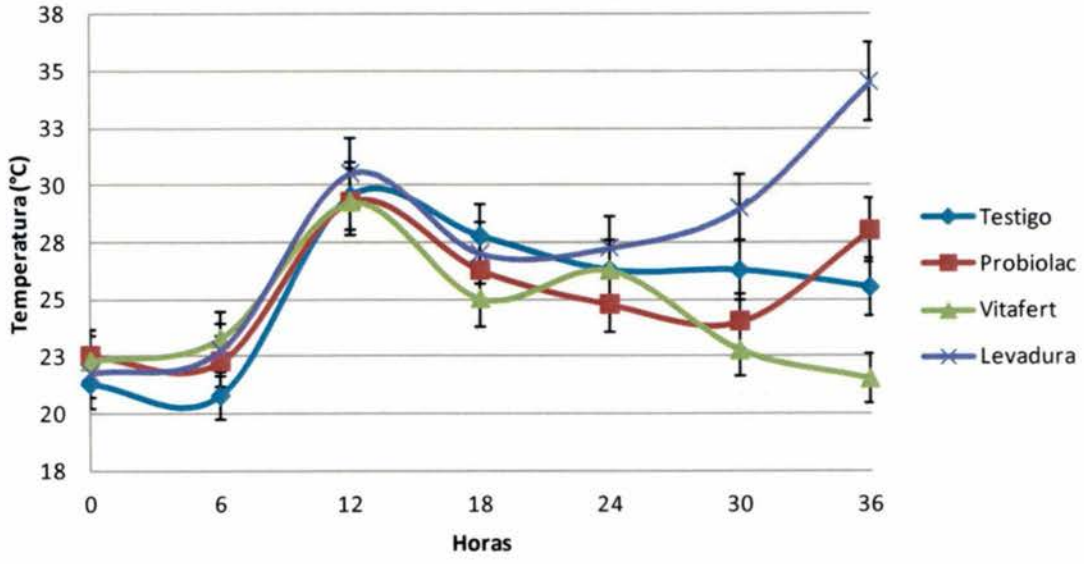


Figura 4. Temperaturas alcanzadas durante 36 horas de fermentación en el pasto Taiwán con los distintos inóculos utilizados (n=4).

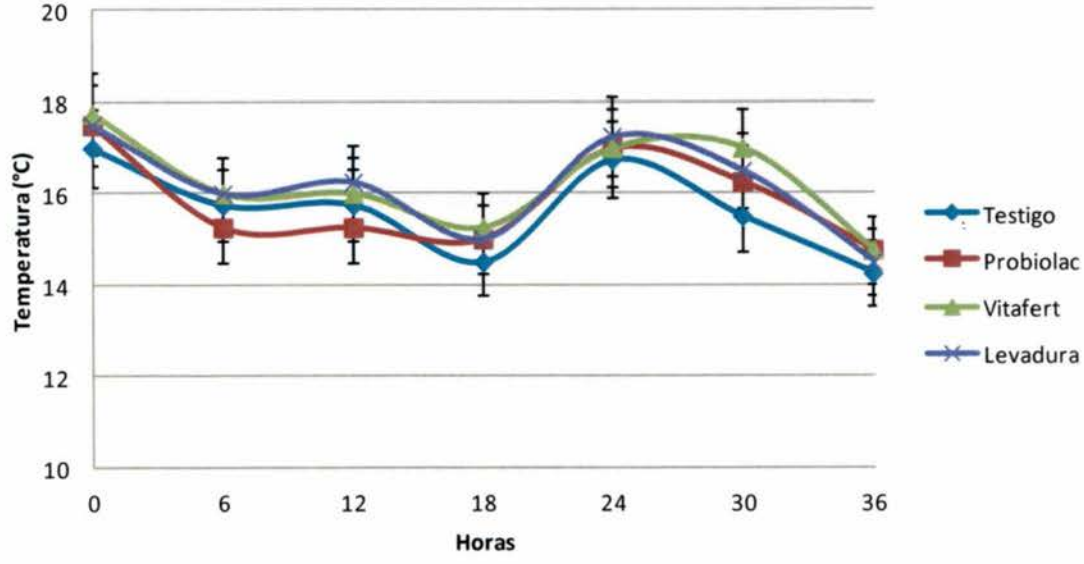


Figura 5. Temperaturas alcanzadas durante 36 horas de fermentación en el sorgo negro forrajero con los distintos inóculos utilizados (n=4).

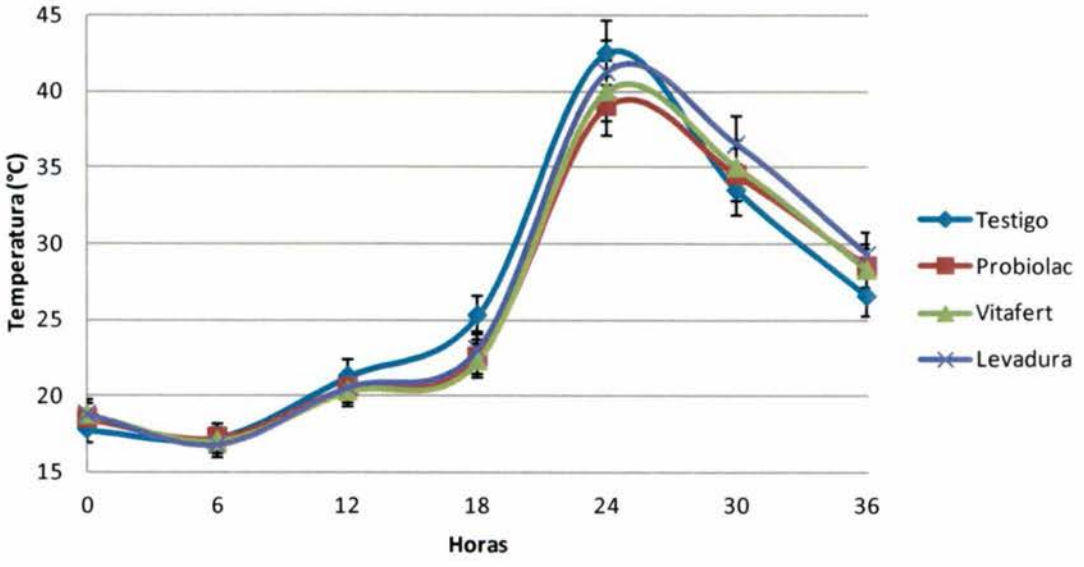


Figura 6. Temperaturas alcanzadas durante 36 horas de fermentación en la cáscara de piña con los distintos inóculos utilizados (n=4).

Aranda *et al.* (2012) utilizaron tallos limpios de caña de azúcar molidos para realizar un proceso de FES con Vitafert como inóculo y la mayor temperatura de fermentación (45°C) la obtuvieron a las 24 horas, luego disminuyó y a las 48 horas se estabilizó. Blandino y Pineda (2015) también utilizaron tallos limpios de caña de azúcar picados y obtuvieron la temperatura más alta (38,8°C) a las 28 horas de fermentación, luego bajó y se mantuvo constante.

Alcanzar el punto máximo a las 12 horas con el pasto Taiwán sugiere que el sustrato no aportó suficientes carbohidratos disponibles para una sincronización con el nitrógeno no proteico y una mayor síntesis de biomasa microbial, esto debido a que en la edad que fue cortado el pasto (120 días) el contenido celular es menor y mayor la pared celular, lo que limita la degradación del material.

Con el sorgo negro no hubo aumento de temperatura y osciló en un rango de 14 a 18°C, esto podría deberse a que en el momento de la corta hubo una fuerte lluvia, por lo que el material cargaba una gran cantidad de agua (tanto superficial como de manera interna) que fue difícil de remover durante el proceso de fermentación y no permitió la subida de temperatura del material.

Las temperaturas más altas se registraron al utilizar la cáscara de piña como sustrato, ya que brinda un mayor aporte de carbohidratos de fácil fermentación comparada con los otros sustratos. Estos son aprovechados de manera más eficiente por los microorganismos durante la fermentación y se genera una mayor producción de biomasa microbial, lo que deriva en generación de calor metabólico y el aumento de la temperatura (Rodríguez *et al.* 2007). Además, la consistencia de la cáscara de piña hace que el volteo y la aireación sean menos efectivos para remover el calor.

La temperatura se mantuvo entre 20 y 30°C para el pasto Taiwán y llegó hasta los 40°C con la cáscara de piña. Rodríguez *et al.* (2006) fermentaron en condiciones rústicas mezclas 50:50 de caña y camote y obtuvieron valores de 25°C a las 0 horas y 40°C a las 24 y 48 horas; valores similares a los obtenidos en el presente estudio cuando se utilizó cáscara de piña como sustrato. Esto pudiera deberse al uso del camote como fuente amilácea, que genera un efecto similar al producido al utilizar cáscara de piña. Por su parte, Monroy *et al.* (2006) al fermentar de forma rústica caña con diferentes niveles de melaza o pulidura de arroz, obtuvieron valores a las 24 horas entre 27,4 a 29,9°C en los diferentes tratamientos, cifras ligeramente superiores a las observados en este estudio a las 24 horas al utilizar pasto Taiwán como sustrato.

Además, los valores registrados en este estudio (excepto el sorgo) concuerdan con los resultados obtenidos por diversos autores (Lezcano y Elías 1992, Lezcano y Martí 1997, Rodríguez *et al.* 2006) donde concluyen que el rango óptimo de temperatura para que los microorganismos presenten una alta actividad metabólica y se produzca una fermentación eficiente es entre 30 a 34°C. También, Rodríguez *et al.* (2006) mencionan que una temperatura menor a 40°C favorece el metabolismo de las bacterias ácido lácticas y de las levaduras.

A temperaturas mayores a los 40°C, los microorganismos podrían entrar en estrés calórico y provocar la activación de mecanismos de defensa que pueden disminuir o detener su actividad. Además, sus requerimientos nutricionales se ven afectados y son superiores a temperaturas más altas debido a inactivación de ciertas enzimas, esto hace que no puedan sintetizar ciertos metabolitos esenciales para su desarrollo (Rodríguez *et al.* 2006). También, se podría considerar que haya reducción del valor nutritivo de los sustratos si son sometidos a altas temperaturas por un tiempo prolongado, ya que puede ocurrir la reacción de Maillard y esta disminuye la biodisponibilidad de aminoácidos esenciales (Pastoriza 2013).

El incremento en la temperatura se debe a la acumulación de calor como resultado de la alta actividad metabólica de los microorganismos, sobre todo en las zonas internas del sustrato (Pastrana 1996, Rodríguez *et al.* 2006, Aranda *et al.* 2012). Esto se ve favorecido por la baja conductividad térmica de los materiales biológicos, el poco contenido de humedad en los sustratos y el desarrollo de microorganismos termófilos y se regula por medio de la aireación y el volteo. Cabe destacar que a una mayor altura de la capa, mayor capacidad de aislamiento térmico, lo que impide la disipación del calor metabólico generado y la temperatura es superior (Rodríguez *et al.* 2006).

4.2.2. pH de fermentación de los sustratos

En las Figuras 7, 8 y 9 se presentan los valores de pH obtenidos en los distintos sustratos durante 36 horas de fermentación. No hubo diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$) al utilizar sorgo negro y cáscara de piña como sustratos para la fermentación. El pasto Taiwán a las 36 horas tuvo un pH significativamente mayor ($p<0,05$) al utilizar levadura con respecto a los demás inóculos. Cárdenas *et al.* (2008) al fermentar bagacillo de caña por 24 horas, con o sin pulido de arroz, y utilizando saccharina, levadura y Vitafert como inóculos no encontraron diferencias significativas en el efecto que estos tuvieron sobre el pH respecto a no utilizar inóculo.

Con el pasto Taiwán como sustrato y para todos los tratamientos, el pH inicial promedio fue de 5,94, tuvo un descenso abrupto a las 12 horas de fermentación (mismo tiempo en que se registró la máxima temperatura) alcanzando un valor promedio de 4,68. Aumentó de forma leve y mantenida hasta las 36 horas con un valor promedio de 4,98, a excepción de la levadura que alcanzó un valor cercano a 6,70. El pH al utilizar sorgo negro como sustrato disminuyó de forma lenta y progresiva a lo largo de todo el proceso fermentativo, con un valor promedio inicial de 5,98, 4,91 promedio a las 24 horas y al finalizar la fermentación un promedio de 4,75.

Resultados similares presentan Elías *et al.* (2001) donde obtuvieron un pH promedio de 4,43 en 24 horas de fermentación, a nivel de laboratorio, con caña sola o adicionada con maíz, soya o ambas, con Vitafert como inóculo, además no obtuvieron diferencias significativas en la caña sola con o sin inóculo. Elías *et al.* (1990) obtuvieron valores de pH que fluctuaron entre 3,50 y 4,50 en caña mezclada con urea. Por su parte, Cárdenas *et al.* (2008) presentaron valores entre 3,8 y 4,7 y Monroy *et al.* (2006) entre 4,60 a 5,00. Ambos

utilizaron caña con inclusión de pulido de arroz y sugieren que esta tiende a incrementar el pH debido a que disminuye las cantidades producidas de ácido láctico y acético.

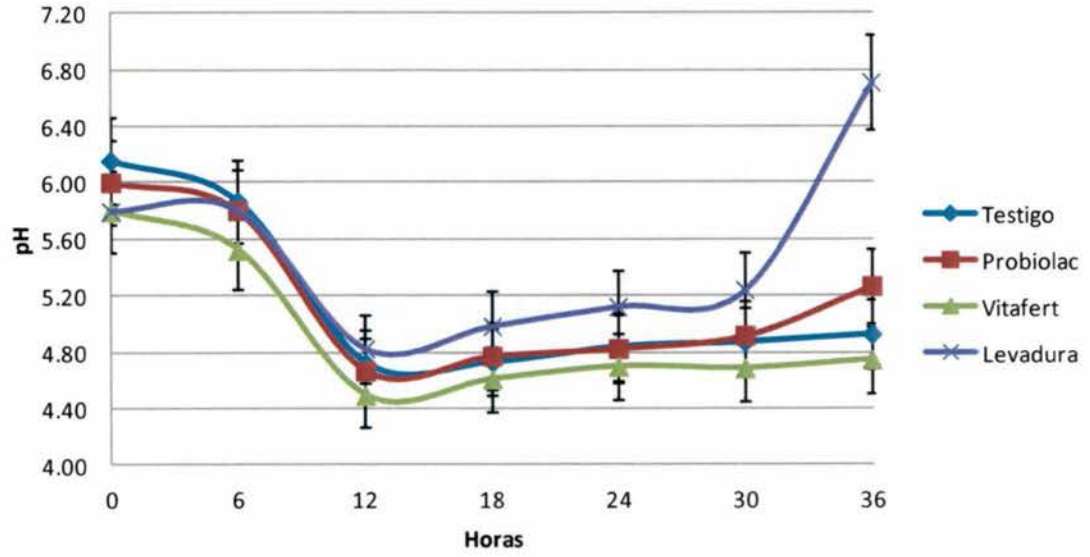


Figura 7. Valores de pH alcanzados durante 36 horas de fermentación en el pasto Taiwán con los distintos inóculos utilizados (n=4).

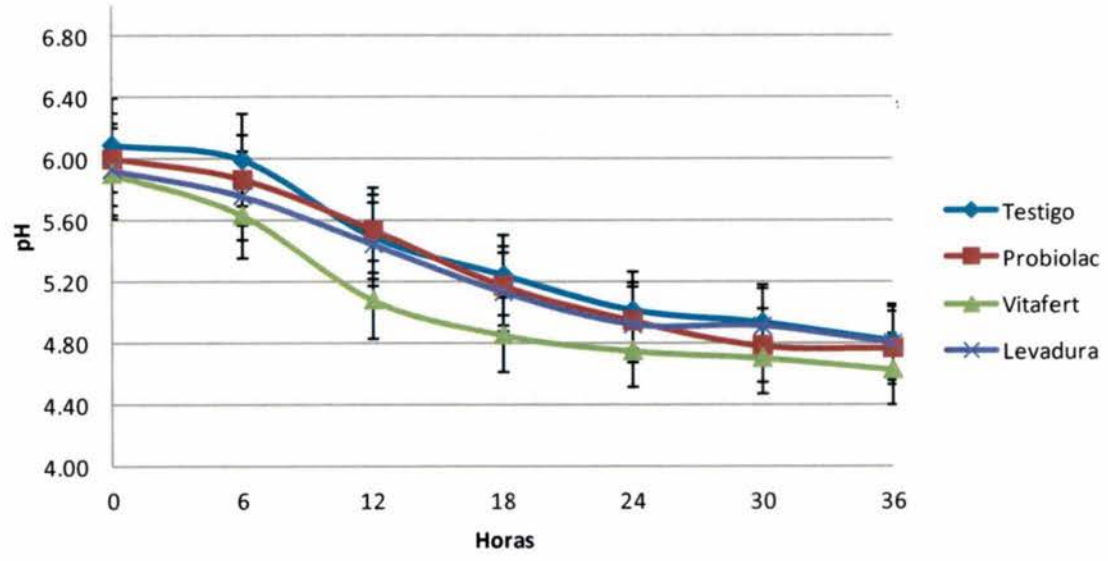


Figura 8. Valores de pH alcanzados durante 36 horas de fermentación en el sorgo negro con los distintos inóculos utilizados (n=4).

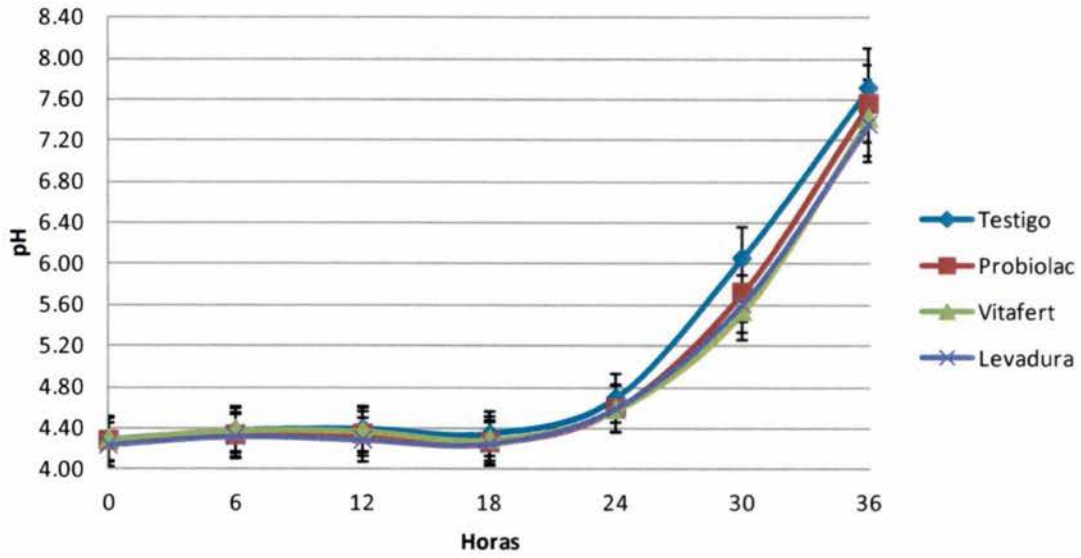


Figura 9. Valores de pH alcanzados durante 36 horas de fermentación en la cáscara de piña con los distintos inóculos utilizados (n=4).

Asimismo, Díaz (2006) realizó la fermentación sobre mezclas de manzana de desecho molida en incubadoras con temperaturas controladas y a las 24 horas de iniciado el proceso el pH se encontraba entre 4,40 y 4,60 con 36°C. Mientras que Moyano (2014) efectuó FES de papa a temperaturas entre 20 y 30°C por 24 horas y 48 horas, donde obtuvo un valor inicial de 5,70 y disminuyó a 4,70 y 4,40, respectivamente. También, Peñafiel *et al.* (2015) utilizaron una mezcla 50:50 de cáscara de maracuyá y banano maduro entero con adición de melaza, yogurt natural y diferentes niveles de suero láctico (0%, 5%, 10%, 15%) para el proceso de fermentación a nivel de laboratorio. Obtuvieron un pH a las 0 horas de 5,28 y a 36 horas de 4,30.

Por último, Ramos *et al.* (2006) realizaron procesos de FES, a nivel de laboratorio, con tallos limpios de caña y diferentes niveles de inclusión de varias fuentes energéticas (maíz, sorgo, pulpa de cítricos y pulidura de arroz) y obtuvieron un valor promedio de pH de 5,80 a las 24 horas de fermentación. Ramos *et al.* (2007) al fermentar a nivel de laboratorio sacchasorgo (caña con sorgo) y sacchapulido (caña con pulido de arroz) con diferentes niveles de melaza tuvieron un promedio de 5,20 a 24 horas, datos ligeramente mayores a los generados en el presente estudio al mismo tiempo de fermentación.

El descenso en el pH se puede deber a volatilización del nitrógeno amoniacal por el calor generado o a una menor concentración de amoniaco (NH_3) en la mezcla debido a una incorporación más eficiente a las células durante la síntesis proteica (Ramos *et al.* 2006). Moyano (2014) indica que el nitrógeno amoniacal disminuyó tanto a las 24 como a las 48 horas a medida que aumentó la temperatura, atribuido a una mayor utilización por parte de los microorganismos a temperaturas más altas, lo que generó el descenso en el pH. Sin embargo, Rodríguez *et al.* (2001) sugieren que este proceso es más lento que el proceso de hidrólisis, por lo que normalmente hay excedentes de NH_3.

Las variaciones de pH están relacionadas con la temperatura (presencia de distintos tipos de levaduras y bacterias), los niveles de urea y otras fuentes nitrogenadas utilizadas (Díaz 2006) y la cantidad de ácidos grasos volátiles generados (Moyano 2014, Peñafiel *et al.* 2015). En estudios donde se ha incluido Vitafert, se ha reportado disminución del pH debido al desarrollo de las bacterias lactogénicas que se encuentran en el inóculo (Moyano 2014).

La cáscara de piña tuvo un comportamiento inverso, siendo el pH inicial promedio de 4,27 y se mantuvo constante hasta las 24 horas con 4,61 en promedio, luego aumentó de manera rápida y sostenida a lo largo de las 12 horas restantes de fermentación alcanzando un valor promedio de 7,51 al finalizar el proceso. Resultados similares obtuvieron Aranda *et al.* (2012) al fermentar tallos limpios de caña de azúcar molidos utilizando Vitafert como inóculo, donde el pH se incrementó a mayor tiempo de fermentación, iniciando en 4,91, aumentó a 5,95 a las 24 horas y finalizó en 7,39 a las 48 horas.

Blandino y Pineda (2015) al preparar saccharina obtuvieron un valor inicial de pH de 5,77, el cual ascendió a 6,90 en 4 horas, posteriormente decreció hasta 5,63 a las 24 horas y luego subió a 8,70 a las 36 horas. También, Elías *et al.* (2009) al realizar FES de caña con harina de granos de canavalia por 24 horas reportaron un pH de 8,40 y de 4,30 para el tratamiento control, donde atribuyen este aumento tan marcado a la presencia de ureasa en el grano de canavalia que provoca mayor liberación de amoniaco al hidrolizar la urea.

Además, Rodríguez *et al.* (2001) y Rodríguez *et al.* (2006) fermentaron mezclas 50:50 de caña y camote a nivel de laboratorio y de manera rústica, respectivamente. Ambos coinciden en que conforme avanza el tiempo de fermentación se duplica la producción de amoniaco, pues obtuvieron valores de pH de 6,00 y 5,91 a las 0 horas, 7,17 y 5,56 a las 48 horas y por último 7,90 y 7,11 a las 96 horas, respectivamente.

El incremento del pH se debe a un aumento en la concentración de amoniaco que supera la producción de ácidos orgánicos por parte de los microorganismos, esto ocurre debido a la hidrólisis de la urea por medio de la ureasa generada por la actividad de bacterias ureolíticas, que liberan y utilizan el nitrógeno amoniacal como fuente proteica para su desarrollo, el cual es aprovechado también por otras bacterias no ureolíticas. (Elías *et al.* 2001, Ramos *et al.* 2006, Elías *et al.* 2009, Aranda *et al.* 2012). Además, los ácidos grasos volátiles (acético, butírico, láctico y propiónico) generados son incorporados en el protoplasma de los microorganismos como cadenas carbonadas de aminoácidos sintetizados durante el crecimiento microbial (Rodríguez *et al.* 2001) y también son generados en niveles muy bajos, lo que no permite contrarrestar el pH (a través de formación de sales orgánicas) del NH_3 que es una base más fuerte (Rodríguez *et al.* 2001, Sánchez *et al.* 2007). También un alto contenido de cenizas podría actuar como buffer (Ramos *et al.* 2006, Ramos *et al.* 2007).

El comportamiento del pH al utilizar cáscara de piña se puede deber a que al inicio del proceso ya era ácido, lo que podría cambiar la microflora que se genera en las primeras horas de fermentación. Además, es un material con mayor cantidad de azúcares disponibles que el pasto Taiwán y el sorgo negro, por lo que la síntesis celular de los microorganismos es más eficiente, consumiendo una mayor cantidad de carbohidratos y nitrógeno amoniacal y de forma más rápida durante las primeras 24 horas de fermentación. Luego de este punto se han consumido la mayoría de carbohidratos y disminuye la actividad microbial, esto se ve reflejado en la temperatura registrada (Figura 6), que a su vez provoca una disminución en la producción de ácidos orgánicos, una mayor liberación de ureasa y un subsecuente aumento en la concentración de amoniaco (Ramos *et al.* 2006, Moyano 2014).

El incremento en el pH también se ve afectado por el nivel de inclusión de urea. Elías *et al.* (1990) utilizaron niveles crecientes de urea en FES de caña y observaron que los tratamientos con mayor porcentaje de urea tenían concentraciones de amoniaco y pH mayores. Rodríguez *et al.* (2001) también utilizaron niveles crecientes de urea en la FES de caña con camote y obtuvieron las mismas conclusiones.

En términos generales, el pH en el presente estudio se mantuvo entre intervalos de 4 a 6, que está dentro del rango adecuado para el crecimiento de los microorganismos en procesos fermentativos, esto concuerda con Elías *et al.* (1990) y Sánchez *et al.* (2007) que proponen rangos entre 3,5 a 6,0 y entre 3,0 a 7,0, respectivamente. Cabe destacar que con un pH muy bajo (menor a 3) el cambio en la membrana celular afecta la entrada de los

nutrientes a las células y el rendimiento de producción de biomasa disminuye (Sánchez *et al.* 2007).

4.2.3. Composición nutricional de los sustratos fermentados

4.2.3.1. Materia seca

En el Cuadro 6 se presentan los valores de materia seca (MS) obtenidos con los distintos sustratos durante 36 horas de fermentación. No hubo diferencias significativas ($p>0,05$) para ningún sustrato entre tratamientos ni a las distintas horas de fermentación en que se realizó el muestreo. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) entre el sustrato solo y con la aplicación de los distintos tratamientos, donde hubo un aumento de la MS antes de iniciar el proceso fermentativo con respecto a los valores obtenidos en los tres sustratos originales (Figura 10). El pasto Taiwán aumentó en 5,17 unidades porcentuales, el sorgo negro lo hizo en 5,78 unidades porcentuales y la cáscara de piña en 6,81 unidades porcentuales.

Cuadro 6. Valores obtenidos de los componentes intracelulares en los tres sustratos inoculados durante el proceso de fermentación.

Variables	Tratamientos											
	Testigo			Probiolac			Vitafert			Levadura		
	0 h	24 h	36 h	0 h	24 h	36 h	0 h	24 h	36 h	0 h	24 h	36 h
	Pasto Taiwán											
MS, %	31,16	32,80	32,47	30,22	31,91	32,66	31,04	33,11	33,05	29,30	32,05	32,51
PC, %	23,40	24,37	22,84	24,63	24,16	21,61	23,46	24,35	23,18	23,72	24,80	21,32
	Sorgo negro											
MS, %	17,55	17,34	17,82	18,10	17,83	17,47	17,58	18,22	17,63	17,36	17,11	16,60
PC, %	38,31	39,23	38,19	37,56	38,18	35,97	38,17	37,62	37,47	38,89	39,07	38,90
	Cáscara de piña											
MS, %	20,13	19,70	20,75	19,44	20,12	21,09	18,92	19,95	21,04	19,38	20,64	19,58
PC, %	40,48^{a}	43,40^{a}	33,43^{b}	41,78^{a}	37,17^{b}	34,13^{b}	43,27^{a}	44,34^{a}	36,40^{b}	41,48^{a}	37,11^{b}	29,38^{c}

^{abc} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p<0,05$).

n=4.

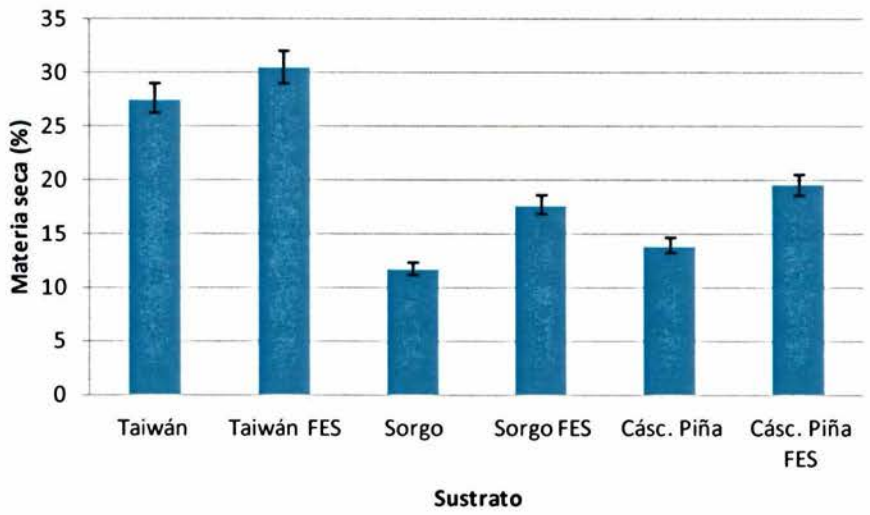


Figura 10. Valores promedio de materia seca obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación.

Resultados similares obtuvieron Elías *et al.* (2001) donde al utilizar caña sola o con Vitafert, por 24 horas de fermentación y a nivel de laboratorio, no encontraron diferencias significativas en la MS (32,53% y 31,69%, respectivamente). Por su parte, Aranda *et al.* (2012) al fermentar de forma rústica tallos de caña de azúcar utilizando Vitafert no reportaron diferencias entre la MS inicial (32,42%) y a 48 horas (33,54%), sin embargo a las 72 y 96 horas de fermentación si hubo un aumento significativo (37,76 y 44,89%, respectivamente).

También, Díaz (2006) realizó una fermentación sobre mezclas de manzana de desecho en incubadoras con temperaturas controladas de 28 y 36°C y la pérdida de humedad durante la fermentación fue constante a lo largo del proceso. Esto concuerda con Peñafiel *et al.* (2015) que al utilizar una mezcla de banano y maracuyá obtuvieron valores promedio de MS de 73,65% a las 0 horas y 78,22% a las 36 horas y con Moyano (2014), que al efectuar FES de papa a temperaturas entre 20 y 30°C obtuvo una MS inicial de 17,70% y MS final promedio de 32,40% y 25,00% a 24 y 48 horas, respectivamente.

Blandino y Pineda (2015) utilizaron tallos de caña de azúcar y varios niveles de harina de grano de canavalia para la fermentación de forma rústica y reportan que hubo diferencias significativas entre tratamientos en la MS inicial, mientras que en la MS final no fue así. Además, la MS aumentó durante las 36 horas de proceso, aunque se le atribuyó principalmente al alto valor de MS que aporta el grano (86 a 91%). Igualmente, Elías *et al.* (2009) al utilizar granos de canavalia en FES de caña obtuvieron un promedio de 52,60% MS

las 24 horas, mientras el control tuvo 33,20% MS y Cárdenas *et al.* (2008) indican que la MS se incrementa a medida que aumenta el nivel de inclusión de pulido de arroz.

El aumento inicial de la MS con respecto a los sustratos originales se debe a la adición de los ingredientes (melaza, urea y minerales) que tienen un contenido muy bajo de humedad. Mientras que el aumento de la MS durante el proceso fermentativo ocurre principalmente a causa de la generación y acumulación de calor, que genera evaporación del agua del sustrato y la producida durante la oxidación de las moléculas (Ramos *et al.* 2006, Rodríguez *et al.* 2006), este fue el caso al utilizar pasto Taiwán y cáscara de piña, donde hubo un marcado aumento de temperatura. Además, el efecto de la aireación ayuda a la remoción de agua (Aranda *et al.* 2012), lo que podría explicar en parte el aumento al utilizar sorgo negro, ya que no hubo una subida en la temperatura durante el proceso. La MS también podría aumentar según el nivel de inclusión y los distintos tipos de ingredientes utilizados en la fermentación.

Cabe destacar que hay estudios que presentan un efecto contrario al ocurrido en el presente trabajo, donde la MS disminuye conforme avanza el tiempo de fermentación. Ramos *et al.* (2006) al fermentar a nivel de laboratorio por 24 horas tallos de caña con cuatro fuentes energéticas distintas, la MS inicial osciló entre 36,50% y 37,60% y la final entre 34,70% y 35,50% para los diferentes tratamientos, sin embargo el descenso ocurre debido a la adición de agua al sistema en la dilución de la urea. Además, Ramos *et al.* (2007) al fermentar sacchasorgo (caña con sorgo molido) y sacchapulido (caña con pulido de arroz) con diferentes niveles de melaza y a nivel de laboratorio, tuvieron un promedio de 41,88% MS a las 0 horas y disminuyó a 38,09% a las 24 horas.

Rodríguez *et al.* (2006) al fermentar en condiciones rústicas mezclas de caña y camote reportaron un valor de MS inicial de 33,50%, la cual se mantuvo constante las primeras 48 horas (32,20%) y bajó a las 96 horas (29,10%). Rodríguez *et al.* (2001) realizaron fermentación de los mismos materiales pero a nivel de laboratorio y también obtuvieron una reducción de MS con el transcurso del tiempo, donde la MS inicial (30,47%) bajó las primeras 24 horas (26,97%), se mantuvo constante hasta las 72 horas (26,86%) y luego ocurrió otra disminución y se mantuvo así hasta finalizar el proceso.

La reducción de la MS puede ocurrir debido a la adición de agua libre al sistema (como diluyente de algún ingrediente) y a la liberación de agua durante el proceso debido a la utilización de los carbohidratos solubles como fuente energética del proceso (Rodríguez *et*

al. 2001, Moyano 2014). La disminución se atribuye en menor medida a la hidrólisis de la urea y desaminación de péptidos y aminoácidos que generan amoniaco, el cual puede volatilizarse según el pH y la temperatura final del proceso (Ramos *et al.* 2006, Rodríguez *et al.* 2006, Ramos *et al.* 2007, Moyano 2014).

4.2.3.2. Proteína cruda

En el Cuadro 6 se presentan los valores de proteína cruda (PC) obtenidos con los distintos sustratos durante 36 horas de fermentación. No hubo diferencias significativas ($p>0,05$) para ningún sustrato entre tratamientos. Si hubo diferencias significativas ($p<0,05$) a las distintas horas de fermentación en que se realizó el muestreo (0, 24 y 36 horas) al utilizar cáscara de piña, donde a las 36 horas siempre se disminuyó el contenido de PC con respecto al valor inicial (Cuadro 6); con el pasto Taiwán y el sorgo esto no fue así, pues no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) en este aspecto. Además, hubo diferencias significativas ($p<0,05$) entre el sustrato original y con la aplicación de los distintos tratamientos, donde hubo un aumento de la PC con respecto a los valores obtenidos en los tres sustratos antes de iniciar la fermentación (Figura 11).

El pasto Taiwán aumentó aproximadamente en 13,94 unidades porcentuales con respecto al sustrato original. El sorgo negro forrajero aumentó en 19,73 unidades porcentuales con respecto al valor inicial. Mientras que la cáscara de piña fue 24,73 unidades porcentuales mayor que el material original. Además, el nivel máximo de proteína siempre se alcanzó a las 24 horas y disminuyó a las 36 horas (en promedio -2,18% en el pasto Taiwán, -0,90% en el sorgo negro y -7,17% en la cáscara de piña). Esto concuerda con lo propuesto por Díaz (2006) donde menciona que a las 24 horas de fermentación es tiempo suficiente para lograr la máxima síntesis proteica con un pH de 4,4 a 4,6 y temperaturas entre 35 y 36°C.

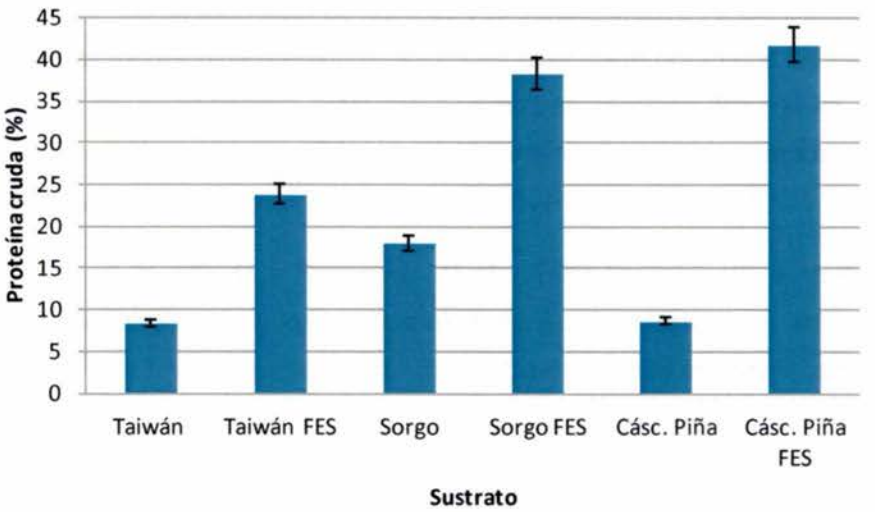


Figura 11. Valores promedio de proteína cruda obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación.

Diversos estudios demuestran el aumento en la PC y proteína verdadera (PV) con el transcurso del tiempo durante los procesos de fermentación, sin embargo en el presente estudio los resultados obtenidos son significativamente mayores (principalmente al utilizar sorgo negro y cáscara de piña) a los reportados por otros autores. Aranda *et al.* (2012) al fermentar de forma rústica tallos de caña con Vitafert obtuvieron incrementos a las 24 horas desde 2 hasta 5% en el contenido de PC con respecto a la hora 0, con valores que fluctuaron cerca de 16 a 22% PC. Resultados similares obtuvieron Elías *et al.* (2001) con los mismos ingredientes y al mismo tiempo de fermentación, pero a nivel de laboratorio (17,22% PC).

Valdivié *et al.* (1997) al realizar FES de caña de azúcar con diferentes ingredientes (leucaena, camote, maíz soya con maíz, con o sin inóculo), los valores de PC aumentaron de 11,50 a 16,30% y los de PV de 4,70 a 9,70% sin inóculo y 9,80% con inóculo. También, Ramos *et al.* (2006) al utilizar tallos de caña y diferentes niveles de inclusión de varias fuentes energéticas (maíz, sorgo, pulpa de cítricos y pulidura de arroz), a nivel de laboratorio, obtuvieron como resultado final entre 18,00-19,00% PC e incrementos desde 2,70 hasta 4,60% de PV.

Por su parte, Monroy *et al.* (2006) al fermentar de forma rústica caña integral con diferentes niveles de melaza o pulidura de arroz por 24 horas, obtuvieron valores entre 13,70 a 15,20% PC y 8,90 a 11,60% PV. Asimismo Elías *et al.* (2009) obtuvieron incrementos en la PC al añadir harina de canavalia, con un promedio de 19,10% y el control de 11,30%,

mientras que la PV fue en promedio de 13,10% y el control 6,40%. Ambos autores coinciden en que el aumento (principalmente en PV) se da en gran parte por el alto aporte de proteína de la pulidura y de la canavalia. Resultados similares reportan Ramos *et al.* (2007) al producir sacchasorgo y sacchapulido con diferentes niveles de melaza (a nivel de laboratorio), donde obtuvieron un promedio de 19,10% PC y 11,80% PV.

Rodríguez *et al.* (2001) y Rodríguez *et al.* (2006) fermentaron mezclas de caña y camote a nivel de laboratorio y de manera rústica, respectivamente, y ambos obtuvieron incrementos de PC y PV con el tiempo de fermentación, donde la mayor concentración se obtuvo a las 96 horas. Rodríguez *et al.* (2001) reporta un aumento de 5,27% PV a las 96 horas, mientras que Rodríguez *et al.* (2006) obtuvo un incremento promedio cercano a 5% PC a las 96 horas.

También se reportan incrementos proteicos luego de procesos de FES al utilizar como sustratos otros materiales distintos a la caña, que también son limitantes en proteína y con buen aporte de carbohidratos solubles. Gómez *et al.* (2000) fermentaron desechos de garbanzo y obtuvieron incrementos en PC (22,50% a 25,60%) y PV (19,70% a 23,20%), asimismo Díaz (2006) fermentó mezclas de manzana de desecho con distintos niveles de urea y harina de soya y obtuvo valores promedio de 42,90% y 46,90% PC a 36°C, y de 61,90% y 69,80% PC a 28°C, ambos a 240 horas de fermentación. Estos resultados son mayores a los reportados en la presente investigación al utilizar cáscara de piña como sustrato, que tiene características similares a la manzana, sin embargo cabe destacar que dicho estudio se llevó a cabo en incubadoras con temperatura y aireación controlada y por un tiempo de fermentación más prolongado, lo que permite una mayor síntesis de biomasa microbial.

Por su parte, Peñafiel *et al.* (2015) al fermentar mezclas de banano y maracuyá tuvieron valores promedio de PC de 5,48% al iniciar el proceso y subieron a 11,72% a 36 horas, mientras que la PV inicial fue 2,64% y aumentó a 5,35% al finalizar la fermentación. Por su parte, Moyano (2014) al realizar FES de papa obtuvo un valor inicial de 15,50% PC y subió a 19,20% y 16,90% PC a 24 y 48 horas de fermentación y a temperaturas entre 20 y 30°C. Bajo las mismas condiciones, la PV aumentó a 10,30% y 9,70% (8,80% PV inicial).

El aumento en la PC y PV se debe a la síntesis de proteína microbial durante el proceso fermentativo, en donde la microbiota del sustrato y del inóculo desdoblan la urea en amoniaco y transforman el nitrógeno no proteico (NNP) en nitrógeno proteico (NP), pues se

incorpora parcialmente al protoplasma celular (Elías *et al.* 2001, Rodríguez *et al.* 2006, Aranda *et al.* 2012), esto es demostrado mediante conteos de levaduras y otras especies microbianas. Rodríguez *et al.* (2001) encontraron que las levaduras aumentaron significativamente con el tiempo hasta las 96 horas, ahí alcanzan el punto máximo y luego disminuyen. Además, cuando hay una mayor disponibilidad de NNP se favorece el crecimiento de levaduras, lo que aumenta el contenido de PV (Díaz 2006). Cabe destacar que a las levaduras se les adjudica la actividad ureolítica para aportar amoniaco a la síntesis proteica, mientras que las bacterias actúan sobre la pared celular de las levaduras y producen lisis de estas (Vivas y Carvajal 2004).

Durante este proceso los microorganismos requieren tanto de fuentes de nitrógeno como de carbohidratos solubles para convertir de manera eficiente, a través de reacciones metabólicas, el NNP en NP y generar el aumento de la biomasa microbial (Moyano 2014), es por esto que si hay algún limitante de estos nutrientes se puede afectar la síntesis proteica. Esto explica los resultados obtenidos en el presente estudio, donde a todos los tratamientos se les añade la misma cantidad de urea y melaza, sin embargo el pasto Taiwán debido a su edad de corta tiene un menor contenido de carbohidratos solubles con respecto a los otros dos sustratos y por eso el resultado final de PC es menor, mientras que el sorgo y la cáscara de piña obtuvieron valores mayores.

Además del aumento proteico por la síntesis de biomasa microbiana, los remanentes de NH_3 producto de la ureólisis pueden volatilizarse o pueden quedar retenidos en el producto final según el pH y la temperatura (Ramos *et al.* 2006, Aranda *et al.* 2012), esto podría explicar los altos valores de PC obtenidos al utilizar sorgo negro (35 a 39%) y cáscara de piña (36 a 44%). La alta humedad y la textura de estos sustratos provocó que menores cantidades de amoniaco se volatilizaran y más bien se retuvo con mayor facilidad en el producto final. Elías *et al.* (2001) y Moyano (2014) mencionan que el aporte de la urea puede alcanzar casi el 50% del valor final de la PC y hasta un 60% del NNP de la urea podría convertirse en PV. También, en el presente estudio luego de 24 horas de fermentación los valores de PC decrecieron en los tres sustratos, aunado a la volatilización del amoniaco luego de este punto.

Con los valores obtenidos en este estudio se concluye que los sustratos luego de la FES brindan al animal altos aportes tanto de nitrógeno proteico como de nitrógeno no proteico, los cuales son aprovechados por los microorganismos del rumen para síntesis microbial así como por el animal una vez que pasan el rumen y llegan al abomaso y el

intestino delgado para la digestión enzimática y posterior absorción. Es importante destacar que el proceso de FES aumenta la solubilidad de la proteínas debido a la fuerte capacidad hidrolizante de las enzimas secretadas por los hongos, que hidrolizan parcialmente las proteínas a péptidos de menor peso molecular y favorece la digestibilidad del alimento luego del consumo (Gómez *et al.* 2000).

4.2.3.3. Componentes de la pared celular

En el Cuadro 7 se presentan los valores de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácida (FDA), celulosa, hemicelulosa y lignina obtenidos con los distintos sustratos durante 36 horas de fermentación. No hubo diferencias significativas ($p>0,05$) con ningún sustrato entre tratamientos ni a las distintas horas de fermentación en que se realizó el muestreo (0, 24 y 36 horas). Sin embargo, si hubo diferencias significativas ($p<0,05$) entre el sustrato original y con la aplicación de los distintos tratamientos, donde los valores de todos los componentes celulares siempre fueron mayores en el sustrato original (Figuras 12, 13, 14, 15 y 16).

Los valores de FDN aumentaron a las 36 horas con respecto al valor inicial con todos los sustratos. Al utilizar pasto Taiwán el valor inicial promedio de FDN presentó una reducción de 12,49% con respecto al valor original del pasto, mientras que a las 36 horas de fermentación tuvo un aumento promedio de 2,44% con respecto a las 0 horas. Cuando se utilizó sorgo negro el valor promedio de FDN a las 0 horas fue 16,15 unidades porcentuales menor que el valor del sorgo solo, y al finalizar el proceso aumentó un promedio de 3,55%. Con respecto a la cáscara de piña, el valor inicial promedio de FDN disminuyó en 11,79% comparado con el sustrato original, y alcanzó un aumento promedio de 3,38% al finalizar la fermentación.

El comportamiento de los valores de FDA fue similar, donde hubo un aumento a las 36 horas con respecto al valor inicial cuando se utilizó cáscara de piña y sorgo (en menor medida). Al utilizar sorgo negro el valor inicial promedio de FDA fue 10,57% menos que el sorgo sin ningún tratamiento y aumentó en promedio 1,81% a las 36 horas; con la cáscara de piña el valor inicial promedio estuvo 8,71 unidades porcentuales por debajo del sustrato inicial y subió en promedio 3,86% al finalizar el proceso. Cuando se utilizó pasto Taiwán la FDA se mantuvo constante durante la fermentación con el tratamiento testigo y el Probiolac, mientras que con el Vitafert y la levadura aumentó en promedio 4,30% al final de la fermentación.

Cuadro 7. Valores obtenidos de los componentes de la pared celular en los tres sustratos inoculados durante el proceso de fermentación.

Variables	Tratamientos											
	Testigo			Probiolac			Vitafert			Levadura		
	0 h	24 h	36 h	0 h	24 h	36 h	0 h	24 h	36 h	0 h	24 h	36 h
	Pasto Taiwán											
FDN, %	57,00	58,60	57,86	58,60	60,74	60,78	54,47	56,71	56,33	58,01	62,03	62,89
FDA, %	41,38	41,66	42,75	44,15	46,05	45,29	38,10	43,67	42,29	41,63	44,75	46,04
Celulosa, %	36,65	36,79	37,43	38,62	40,56	39,75	33,42	38,60	37,30	36,00	39,37	40,18
Hemicelulosa, %	15,62	16,94	15,11	14,45	14,69	15,49	16,37	13,04	14,03	16,38	17,28	16,84
Lignina, %	4,74	4,87	5,31	5,52	5,49	5,54	4,68	5,07	5,00	5,63	5,38	5,86
	Sorgo negro											
FDN, %	42,04	45,95	45,54	42,63	45,07	46,31	41,94	44,05	43,91	41,31	48,25	46,34
FDA, %	29,58	32,92	32,29	29,26	32,29	31,72	30,54	31,15	30,94	31,80	33,51	33,46
Celulosa, %	26,88	29,37	29,30	26,21	29,07	28,99	27,54	27,93	27,16	27,08	30,25	30,05
Hemicelulosa, %	12,46	13,03	13,26	13,37	12,78	14,59	11,40	12,91	12,97	9,51	14,74	12,88
Lignina, %	2,70	3,55	2,99	3,05	3,22	2,74	3,00	3,22	3,78	4,72	3,26	3,41
	Cáscara de piña											
FDN, %	43,37	45,51	46,82	41,65	42,96	45,51	41,63	44,52	42,25	41,51	43,50	47,10
FDA, %	27,10	28,99	30,23	24,53	28,06	28,83	25,36	27,78	29,20	25,23	29,12	29,42
Celulosa, %	20,73	21,66	22,46	20,10	19,44	21,40	19,13	22,34	19,21	19,98	21,29	21,29
Hemicelulosa, %	16,27	16,52	16,58	17,12	14,90	16,68	16,27	16,73	13,06	16,27	14,38	17,67
Lignina, %	6,37	7,32	7,77	4,43	8,63	7,42	6,24	5,44	9,99	5,25	7,83	8,13

n=4.

Los valores de lignina, celulosa y hemicelulosa disminuyeron al agregar los tratamientos con respecto a los tres sustratos originales. Cuando se utilizó pasto Taiwán disminuyeron en promedio 1,84%, 8,06% y 2,60% respectivamente; al utilizar sorgo negro se redujeron en promedio 1,79%, 8,58% y 5,58% respectivamente y con la cáscara de piña bajaron en promedio 5,13%, 3,58% y 3,09% respectivamente. Al finalizar la fermentación, con el sorgo negro la celulosa y hemicelulosa aumentaron ligeramente y la lignina se mantuvo constante comparados con los valores iniciales. Con la cáscara de piña la lignina tuvo un leve aumento mientras que la celulosa y hemicelulosa se mantuvieron contantes. Al utilizar pasto Taiwán todos los valores se mantuvieron constantes.

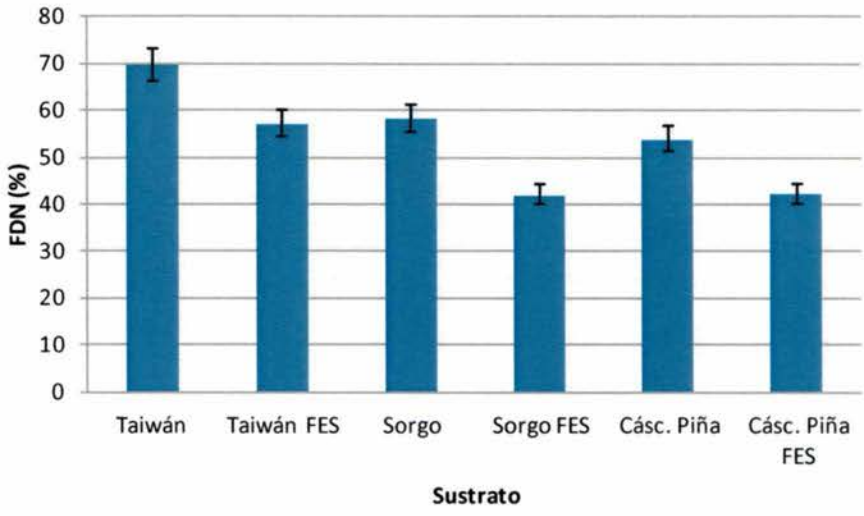


Figura 12. Valores promedio de FDN obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación.

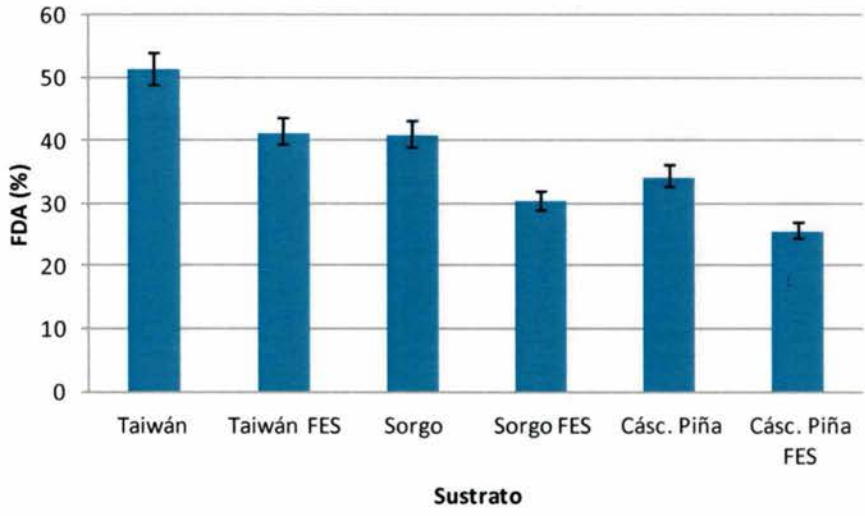


Figura 13. Valores promedio de FDA obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación.

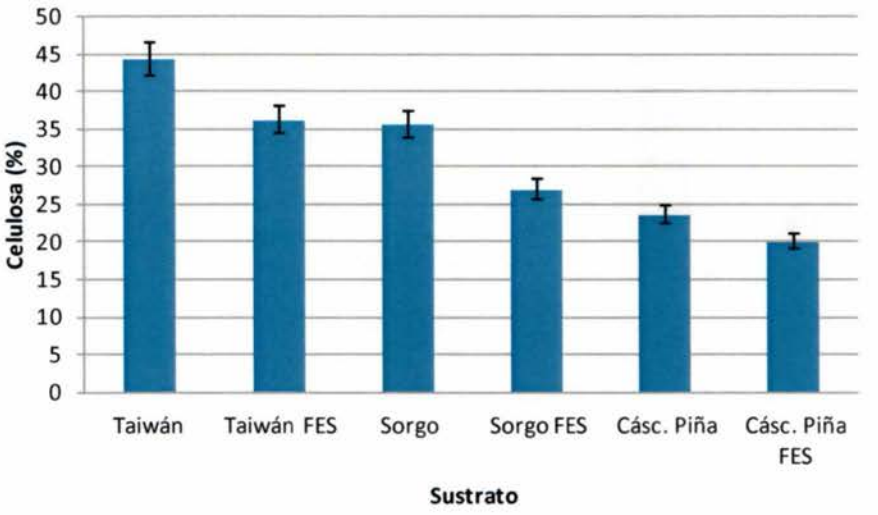


Figura 14. Valores promedio de celulosa obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación.

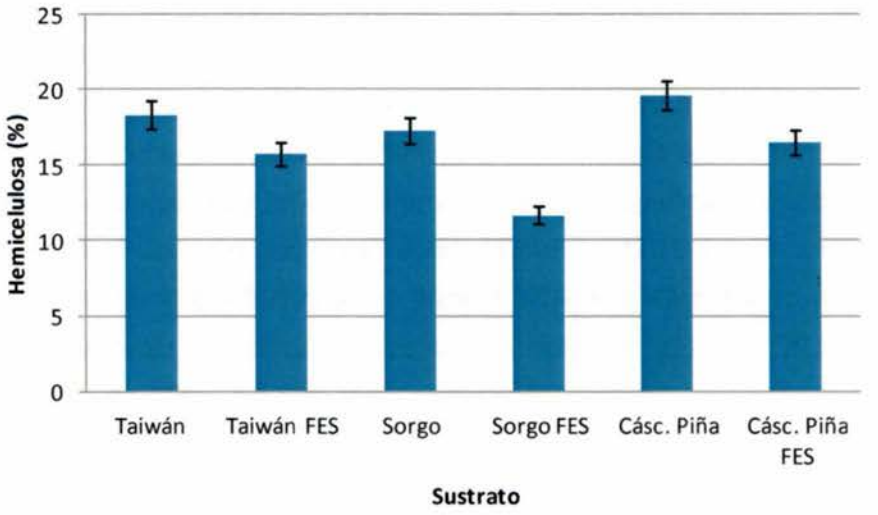


Figura 15. Valores promedio de hemicelulosa obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación.

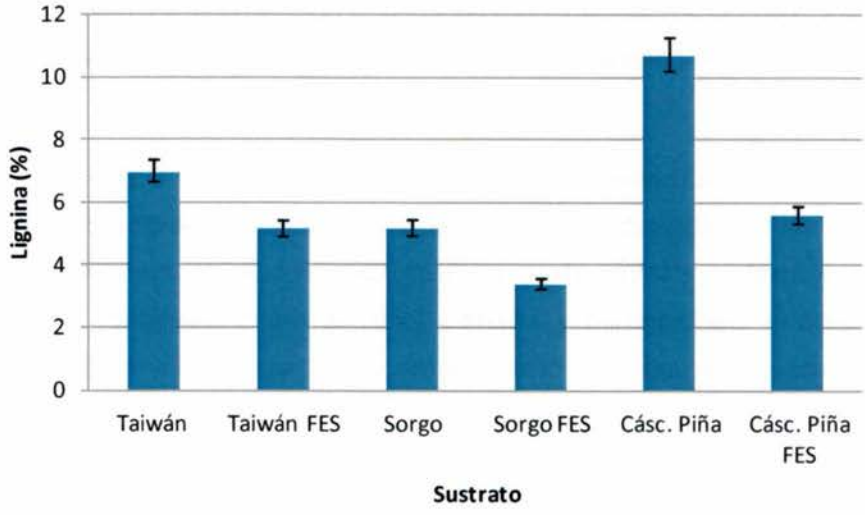


Figura 16. Valores promedio de lignina obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación.

Resultados similares reportan Aranda *et al.* (2012) que también obtuvieron un aumento en las paredes celulares al fermentar de forma tradicional tallos de caña de azúcar inoculados con Vitafert, donde la FDN aumentó de 63,16% inicial a 69,08% y 74,66% a 24 y 48 horas respectivamente. Ramos *et al.* (2006) utilizaron tallos de caña a nivel de laboratorio con varias fuentes energéticas y no encontraron diferencias significativas entre tratamientos para los valores de FDN, que fluctuaron entre 46,30% y 47,70%; sin embargo si hubo diferencias significativas entre tratamientos para la FDA, que se mantuvo entre 17,80% y 25,80%. Además reportan valores de hemicelulosa, celulosa y lignina de 20,50% a 28,70%, 15,10% a 20,70%, y de 2,30% a 4,60% respectivamente.

Rodríguez *et al.* (2001) y Rodríguez *et al.* (2006) fermentaron mezclas de caña y camote, a nivel de laboratorio y de manera rústica, y obtuvieron aumentos en la FDN, donde a las 0 horas presentan valores de 34,30 y 35,10% y aumentan a 40,70 y 51,00% a las 48 horas y a 43,00 y 43,70% a las 96 horas. Moyano (2014) al realizar la fermentación en papa de desecho con un valor de fibra cruda (FC) entre 3,00 y 4,00%, obtuvo valores promedio superiores de 10,50% y 11,50% a 24 y 48 horas de fermentación con temperaturas entre 20 y 30°C.

La disminución inicial en los valores de todos los componentes de la pared celular que se reportan en los sustratos con los tratamientos en relación a los sustratos originales se debe a la dilución en la concentración debido a la inclusión de los demás ingredientes,

principalmente la melaza y la urea, que aportan un menor contenido de fibra a la mezcla y aportan una alta cantidad de azúcares de rápida fermentación y nitrógeno no proteico, respectivamente.

El aumento en los valores de FDN, FDA, celulosa, hemicelulosa y lignina a las 36 horas de fermentación se debe a que los microorganismos utilizan primero los azúcares que se encuentran disponibles en el contenido celular para la síntesis proteica y quedan los carbohidratos más complejos, como almidón, celulosa y hemicelulosa, que requieren de acción enzimática para volverlas azúcares simples, esto hace que el contenido celular se reduzca mientras que las paredes celulares se concentren e incrementen (Rodríguez *et al.* 2001, Rodríguez *et al.* 2006, Aranda *et al.* 2012, Moyano 2014). Moyano (2014) indica que la eficiencia de conversión de carbohidratos solubles a proteína microbial puede llegar a valores cercanos al 60%.

Elías *et al.* (2001) indican que si hay un aumento en los valores de fibra, la PV y la digestibilidad del material podrían disminuir y afectar la calidad nutricional final del producto, lo que podría limitar su uso en la alimentación de rumiantes. Sin embargo, con los valores obtenidos en el presente estudio luego de la FES no se afectaría la calidad de los sustratos ni el consumo en los animales, ya que el aumento en los componentes de la pared celular es muy leve.

Los niveles de FDN (42 a 47% en sorgo y cáscara de piña y 56 a 62% en pasto Taiwán) y FDA (25 a 33% en sorgo y cáscara de piña y 42 a 46% en pasto Taiwán) se mantienen dentro de los rangos normales. Son mayores en el pasto Taiwán debido a su edad de cosecha, por lo que se podría ver afectado el consumo y la digestibilidad del material podría ser menor. Cabe destacar que los tres sustratos proveen un aporte de fibra efectiva, además que los valores de lignina son bajos y esto permite una mayor degradabilidad y aprovechamiento de la celulosa y hemicelulosa a nivel de rumen (Sánchez 2012).

Se reportan estudios que presentaron un comportamiento diferente al ocurrido en el presente trabajo, donde los contenidos de fibra disminuyen con el transcurso del tiempo. Elías *et al.* (2009) al realizar FES de caña con harina de granos de canavalia por 24 horas obtuvieron un valor promedio de FDN de 33,20% y el control fue de 46,40%, mientras que la FDA estuvo en 15,60% y el control en 27,90%. La lignina disminuyó de 5,00% en el control a 2,30% y la celulosa de 22,40% en el control a 13,40%. Por su parte, Ramos *et al.* (2007)

fermentaron a nivel de laboratorio sacchasorgo y sacchapulido y tuvieron un promedio de 40,19% FDN sin melaza y 37,19% FDN con diferentes niveles de melaza, mientras que la celulosa presentó un valor promedio de 14,44% y la lignina de 3,19%.

Monroy *et al.* (2006) al fermentar de forma rústica caña con diferentes niveles de melaza o pulidura de arroz por 24 horas reportan valores entre 31,30 a 41,80% de FDN, mientras los valores de FDA oscilaron entre 14,40 a 21,30%. Asimismo Peñafiel *et al.* (2015) al fermentar a nivel de laboratorio mezclas de banano y maracuyá con adición de melaza, yogurt natural y suero láctico obtuvieron valores promedio FC inicial de 32,11% y bajó a 30,17% a las 36 horas.

Distintos autores (Monroy *et al.* 2006, Ramos *et al.* 2007, Cárdenas *et al.* 2008, Elías *et al.* 2009, Peñafiel *et al.* 2015) concuerdan que hubo disminución en los valores de fibra con el paso del tiempo en la fermentación y conforme aumenta el nivel de inclusión de otros ingredientes, debido a la disgregación de los componentes fibrosos que causan los distintos ingredientes utilizados (harina de canavalia, melaza, pulido de arroz, sorgo), ya que aportan un menor contenido de fibra que el sustrato sustituido. Además, indican que durante el proceso de fermentación puede haber degradación de la fibra y utilización de polisacáridos estructurales, lo que generaría un aumento en la digestibilidad del sustrato, pero generalmente este efecto es menor.

4.2.3.4. Cenizas

En el Cuadro 8 se presentan los valores de cenizas obtenidos con los distintos sustratos durante 36 horas de fermentación. No hubo diferencias significativas ($p>0,05$) con ningún sustrato entre tratamientos ni a las distintas horas de fermentación en que se realizó el muestreo (0, 24 y 36 horas). Sin embargo, cuando se utilizó cáscara de piña si hubo diferencias significativas ($p<0,05$) entre el sustrato original y con la aplicación de los distintos tratamientos antes de iniciar la FES (Figura 17), donde aumentó el contenido de cenizas al mezclar los ingredientes con respecto a la cáscara de piña sola. Con el pasto Taiwán y el sorgo negro no hubo diferencias significativas en este aspecto ($p>0,05$).

Cuadro 8. Valores de cenizas obtenidos durante el proceso de fermentación con los tres sustratos inoculados.

Sustrato	Cenizas, %											
	Testigo			Probiolac			Vitafert			Levadura		
	0 h	24 h	36 h	0 h	24 h	36 h	0 h	24 h	36 h	0 h	24 h	36 h
Pasto Taiwán	14,54	15,07	15,25	15,09	15,15	16,26	15,11	16,28	15,57	15,13	15,41	15,66
Sorgo negro	14,38	15,15	13,96	14,26	14,45	14,47	14,06	14,09	13,95	14,58	15,01	14,99
Cáscara de piña	8,24	8,75	8,70	8,27	8,64	8,87	8,05	8,49	8,53	7,90	8,44	9,14

n=4.

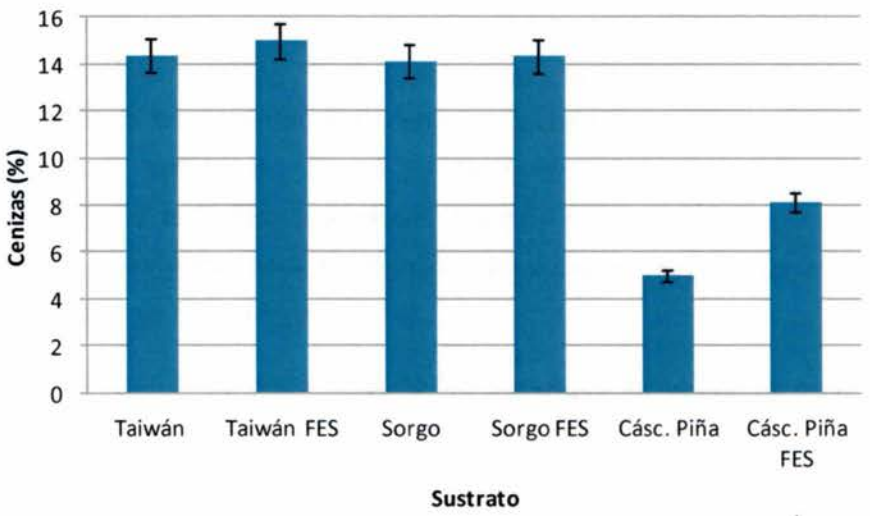


Figura 17. Valores promedio de cenizas obtenidos con los tres sustratos originales y antes de iniciar el proceso de fermentación.

Elías *et al.* (2009) realizaron FES de caña por 24 horas con distintos niveles de inclusión de harina de granos de canavalia y obtuvieron un valor promedio de cenizas de 6,05% y el control fue 6,04%. No encontraron diferencias significativas entre tratamientos atribuido al uso de sulfato de magnesio y sales minerales en todos los tratamientos incluido el testigo. Ramos *et al.* (2006) al fermentar a nivel de laboratorio tallos de caña con diferentes fuentes energéticas obtuvieron valores desde 4,00 hasta 7,00% de cenizas; mientras que Ramos *et al.* (2007) al fermentar sacchasorgo y sacchapulido con diferentes niveles de melaza a nivel de laboratorio tuvieron un promedio de 5,32% cenizas. Estos valores concuerdan con lo propuesto por Vivas y Carvajal (2004) donde mencionan que el nivel de cenizas en la saccharina es de 4,40%. En el presente estudio los valores reportados

de cenizas son mayores debido a que los sustratos utilizados dan un mayor aporte de minerales que el brindado por la caña de azúcar.

Moyano (2014) al realizar fermentación de papa cruda obtuvo un aumento, donde pasó de 6,40% de cenizas a las 0 horas a 10,00% y 11,20% de cenizas a 24 y 48 horas entre 20 y 30°C. Efecto contrario reportan Gómez *et al.* (2000) al fermentar desechos de garbanzo por 42 horas a 35,8°C, donde disminuyó de 2,90% a 1,00%, sin embargo esta reducción se atribuye a lixiviación y pérdida de minerales por un lavado del grano con solución ácida antes del proceso y además de la remoción de la cáscara.

Las diferencias en los contenidos de cenizas se deben principalmente al aporte que brinde el sustrato utilizado y al aporte de las diversas fuentes utilizadas (Ramos *et al.* 2006, Elías *et al.* 2009, Moyano 2014). En el presente estudio el contenido de cenizas aumenta (principalmente en la cáscara de piña) debido a la adición de los ingredientes ricos en minerales (melaza, sulfato de amonio y la mezcla mineral). Cabe destacar que microelementos como el fósforo y el azufre, además de elementos traza y vitaminas del complejo B son importantes para el metabolismo y crecimiento de los microorganismos durante los procesos de FES (Moyano 2014).

4.3. Composición química y nutricional de los sustratos fermentados en estado sólido luego del secado

4.3.1. Valores de pH

En el Cuadro 9 se presentan los valores de pH obtenidos con los distintos sustratos fermentados en estado sólido luego del proceso de secado. No hubo diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$) con ningún sustrato luego del proceso de secado. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) en los valores de pH con el pasto Taiwán fermentado en estado sólido antes y luego del secado (Figura 18), donde el pH aumentó luego del proceso conservativo. No hubo diferencias significativas ($p>0,05$) al utilizar sorgo negro y cáscara de piña, donde se mantuvo constante al finalizar el secado.

Cuadro 9. Valores de pH obtenidos con los tres sustratos fermentados en estado sólido luego del proceso de secado.

	Tratamientos			
Sustrato	Testigo	Probiolac	Vitafert	Levadura
Pasto Taiwán	6,57	6,48	6,00	7,03
Sorgo negro	5,14	4,93	4,89	5,01
Cáscara de piña	7,38	7,52	7,79	7,83

n=4.

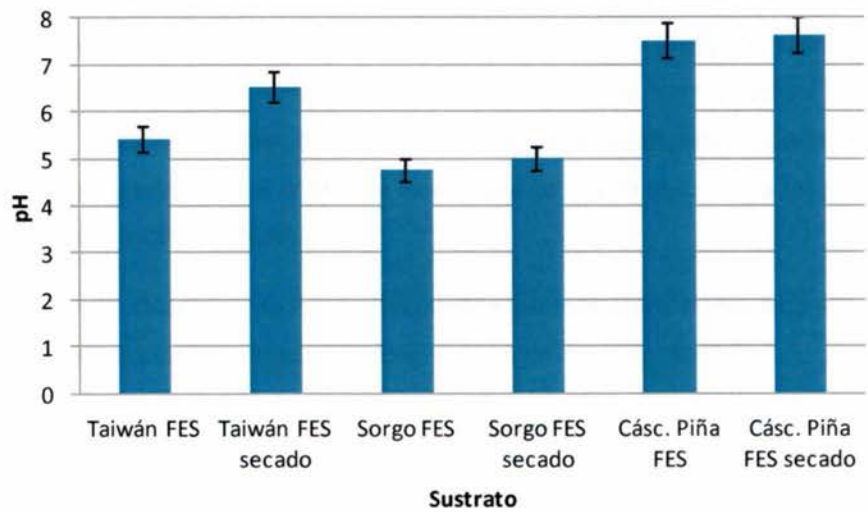


Figura 18. Valores promedio de pH obtenidos con los tres sustratos fermentados en estado sólido antes y luego del proceso de secado.

Se esperaba que hubiera cierto descenso en el pH como resultado de la pérdida de amoniaco por volatilización (Ramos *et al.* 2006) durante el secado de los sustratos; principalmente con el sorgo negro y la cáscara de piña que tuvieron altos valores de PC luego de la FES, indicando mayor retención de amoniaco. No obstante esto no ocurrió y solamente con el tratamiento testigo al utilizar cáscara de piña hubo una leve disminución del pH luego del secado.

El incremento que hubo en el pH al utilizar pasto Taiwán y en menor medida con el sorgo negro y con la cáscara de piña (al usar Vitafert y levadura como inóculos), puede deberse a un efecto de concentración del amoniaco, ya que debido a la gran pérdida de agua durante el secado los demás componentes tienden a concentrarse (Rodríguez *et al.*

2006). Incluso se podría considerar que pudo haber cierto de grado de fermentación durante el proceso de secado que permitió hidrólisis de restos de urea y acumulación de amoniaco (Elías *et al.* 2001, Ramos *et al.* 2006, Aranda *et al.* 2012).

4.3.2. Materia seca

En el Cuadro 6 se presentan los valores de MS al final de la fermentación y en el Cuadro 10 se presentan los valores de MS luego del secado para el pasto Taiwán, el sorgo negro forrajero y la cáscara de piña con los distintos tratamientos. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$) con ningún sustrato luego del proceso de secado. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) en los valores de MS de los tres sustratos fermentados en estado sólido antes y luego del secado (Figura 19), donde hubo un aumento importante al finalizar el proceso de conservación. Al utilizar pasto Taiwán hubo un aumento promedio de 47,14 unidades porcentuales, con el sorgo negro la MS aumentó en promedio 63,33 unidades porcentuales y con la cáscara de piña el aumento fue de 67,62 unidades porcentuales.

Cuadro 10. Valores obtenidos de los componentes intracelulares en los tres sustratos fermentados en estado sólido luego del proceso de secado.

	Tratamientos			
Variables	Testigo	Probiolac	Vitafert	Levadura
		Pasto Taiwán		
MS, %	77,44	80,64	80,49	80,68
PC, %	21,39	22,22	23,54	20,39
		Sorgo negro		
MS, %	81,12	80,98	80,24	80,53
PC, %	35,76	37,37	36,02	35,30
		Cáscara de piña		
MS, %	88,69	88,12	87,44	88,68
PC, %	23,85	24,75	25,40	25,12

n=4

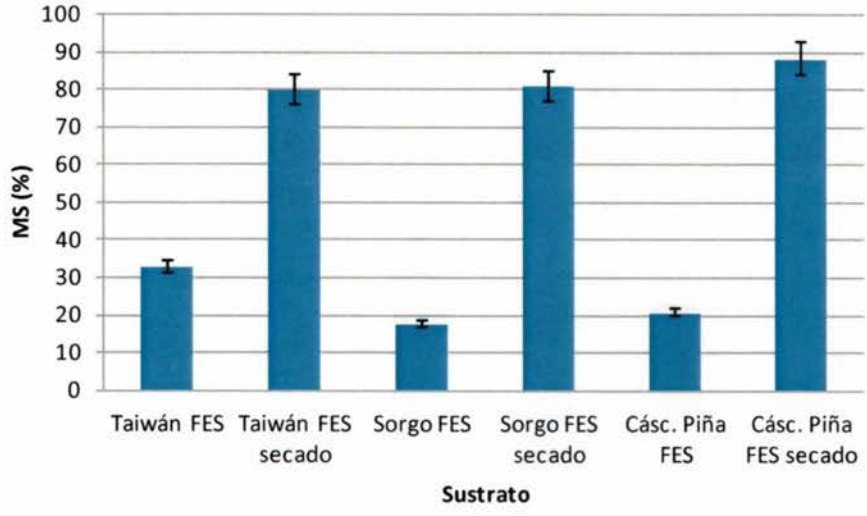


Figura 19. Valores promedio de materia seca obtenidos con los tres sustratos fermentados en estado sólido antes y luego del proceso de secado.

Con el proceso de secado se logró reducir significativamente los contenidos de humedad a un 20% con el pasto Taiwán y con el sorgo y a menos de 15% con la cáscara de piña, lo que indica que la deshidratación fue eficiente y permitiría la conservación del material de forma segura por un largo periodo de tiempo (Hernández-Pérez y Ramírez-Nader 2016). Además, hubo mayor pérdida de agua con el sorgo negro y la cáscara de piña que con el pasto Taiwán debido a la alta carga de humedad inicial de dichos sustratos.

Hernández-Pérez y Ramírez-Nader (2016) realizaron un proceso de secado de follaje de yuca para la obtención de heno utilizando un método de secado natural y otro artificial. Luego de 48 horas con el secado natural la humedad no bajó del 50%, atribuido a la circulación del viento, la humedad del aire, la temperatura y la alta humedad del follaje de yuca. En el presente estudio la circulación del viento y la humedad del aire no afectaron al secado debido a que se realizó dentro de un invernadero, por lo que el proceso fue más eficiente y no hubo reincorporación de humedad.

4.3.3. Proteína cruda

En el Cuadro 6 se presentan los valores de PC al final de las 36 horas de fermentación y en el Cuadro 10 se presentan los valores de PC luego del secado para el pasto Taiwán, el sorgo negro forrajero y la cáscara de piña con los distintos tratamientos. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$) en ningún sustrato luego

del proceso de secado. Además, no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) en los valores de PC del pasto Taiwán y del sorgo negro fermentados en estado sólido y luego del proceso de secado, mientras que con la cáscara de piña si se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$), donde los valores de proteína decrecieron luego de la deshidratación (Figura 20).

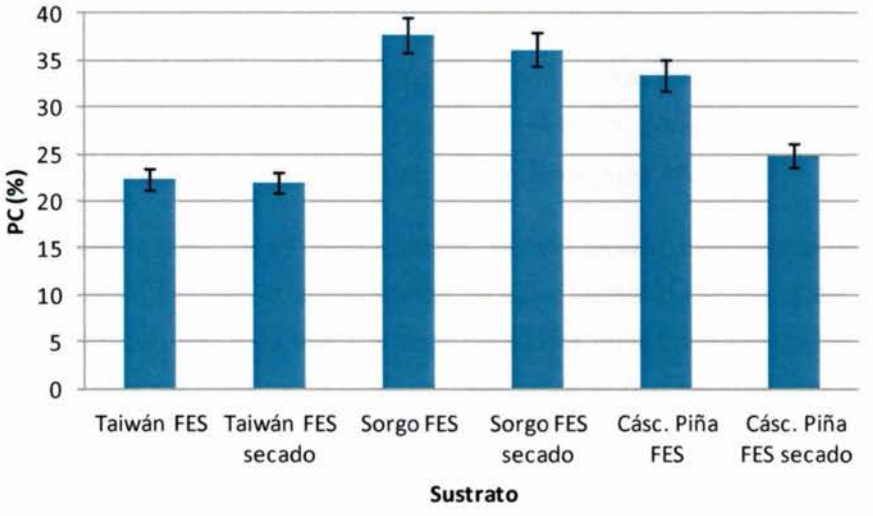


Figura 20. Valores promedio de proteína cruda obtenidos con los tres sustratos fermentados en estado sólido antes y luego del proceso de secado.

Con el pasto Taiwán no hubo cambios en los valores de PC una vez finalizado el secado, donde al utilizar el tratamiento testigo el valor de PC disminuyó ligeramente (1,45%) y los tratamientos restantes se mantuvieron constantes. Al utilizar sorgo negro la proteína también disminuyó de forma leve con el testigo (2,42%), con el Vitafert (1,45%) y con la levadura (3,61%), mientras que con el Probiolac aumentó poco (1,40%). Esto indica que el proceso de secado fue efectivo y no hubo pérdidas importantes del valor nutritivo de los sustratos, por lo que es una buena opción para conservar este tipo de materiales.

Resultados similares reportan Hernández-Pérez y Ramírez-Nader (2016), que realizaron un proceso de secado de follaje de yuca para la obtención de heno utilizando un método de secado natural y otro artificial, donde obtuvieron un promedio de 13,70% PC en el follaje de la yuca fresco y luego del secado natural fue de 15,30% (aumentó en 1,60%) por lo que no hubo diferencias significativas.

Cuando se utilizó cáscara de piña los valores de PC decrecieron en 9,59% con el testigo, en 11,00% con Probiolac, en 9,39% con Vitafert y en 4,26% con levadura. Esto se

podría adjudicar principalmente a la pérdida de nitrógeno no proteico por la volatilización del amoniaco durante el secado (Ramos *et al.* 2006), sin embargo esto se contradice con los valores de pH obtenidos con el mismo sustrato, donde no hubo un cambio importante en dichos valores. Esto podría indicar que si hubo volatilización de amoniaco durante el secado, pero debido a su alto valor proteico al finalizar la FES (33,34% PC) y atribuido en buena parte a la retención de amoniaco y urea, hace que luego del secado se reduzca la cantidad de NNP y por ende la PC sin que haya una variación importante en el pH, pues aun quedarían remanentes de amoniaco que lo mantienen estable, aunado a que habría poca cantidad de ácidos orgánicos que neutralicen su efecto (Rodríguez *et al.* 2001).

Además la textura y densidad de la cáscara de piña picada, comparada con el pasto Taiwán y el sorgo negro, facilitan la acumulación de calor dentro de la cama del material y hace que la deshidratación sea más efectiva (esto se denota en la cantidad de humedad que perdió el material con el secado), por lo que es más propicio que se volatilicen cantidades mayores de amoniaco que con los otros dos forrajes.

4.3.4. Componentes de la pared celular

En el Cuadro 7 se presentan los valores de FDN, FDA, celulosa, hemicelulosa y lignina al final de las 36 horas de fermentación y en el Cuadro 11 se presentan los valores de los componentes de la pared celular luego del secado para el pasto Taiwán, el sorgo negro forrajero y la cáscara de piña con los distintos tratamientos. Con respecto a la FDN no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos con ningún sustrato ($p>0,05$). Además, no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) con el pasto Taiwán y el sorgo negro fermentados en estado sólido antes y luego del proceso de secado, mientras que con la cáscara de piña si se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$), donde los valores de FDN aumentaron luego de la deshidratación (Figura 21).

Al utilizar pasto Taiwán hubo un ligero aumento en la FDN al finalizar el proceso de secado cuando se aplicó el tratamiento testigo, el Vitafert y la levadura (1,63, 3,31 y 2,69% respectivamente), con el Probiolac no hubo cambio. Con el sorgo negro el efecto fue contrario ya que disminuyó levemente al aplicar el tratamiento testigo y la levadura (1,73, y 3,48%), mientras que con el Probiolac y el Vitafert se mantuvo constante. Los valores de FDN en la cáscara de piña aumentaron con todos los tratamientos (5,12% testigo, 4,73% Probiolac, 7,57% Vitafert y 4,77% levadura).

Cuadro 11. Valores obtenidos de los componentes de la pared celular en los tres sustratos fermentados en estado sólido luego del proceso de secado.

	Tratamientos			
Variables	Testigo	Probiolac	Vitafert	Levadura
		Pasto Taiwán		
FDN, %	59,49	61,09	59,63	65,57
FDA, %	42,63	46,85	43,04	46,26
Celulosa, %	37,39	41,45	38,35	40,98
Hemicelulosa, %	16,86	14,24	16,59	19,31
Lignina, %	5,24	5,39	4,69	5,28
		Sorgo negro		
FDN, %	43,81	46,57	43,72	42,86
FDA, %	31,26	33,07	32,42	33,15
Celulosa, %	28,09	29,95	29,50	29,91
Hemicelulosa, %	12,55	13,50	11,31	9,70
Lignina, %	3,17	3,13	2,91	3,24
		Cáscara de piña		
FDN, %	51,94	50,24	49,82	51,86
FDA, %	31,79^{ab}	34,22^{b}	30,57^{a}	30,61^{a}
Celulosa, %	21,62	24,64	21,81	22,02
Hemicelulosa, %	20,16	16,02	19,25	21,25
Lignina, %	10,16	9,58	8,76	8,59

^{ab} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p<0,05$).

n=4

Resultados similares a los obtenidos con pasto Taiwán y sorgo negro reportan Hernández-Pérez y Ramírez-Nader (2016), que al realizar un secado de hojas de yuca para la obtención de heno utilizando un método de secado natural y otro artificial, obtuvieron un valor promedio de 56,00% FDN en el follaje verde y un 55,90% luego del secado natural por lo que no hubo diferencias significativas.

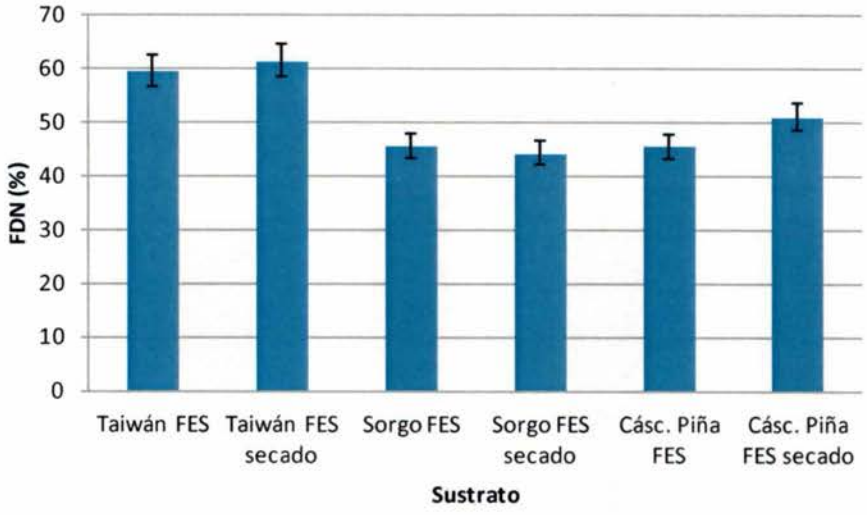


Figura 21. Valores promedio de FDN obtenidos con los tres sustratos fermentados en estado sólido antes y luego del proceso de secado.

El aumento en los valores de FDN con todos los tratamientos cuando se utilizó la cáscara de piña como sustrato se puede atribuir a un efecto de concentración de los componentes estructurales (Rodríguez *et al.* 2006) debido a la reducción que se genera con la pérdida de proteína por volatilización durante el proceso del secado. Esto afecta de manera negativa la calidad nutricional y el consumo del alimento por parte de los animales y limitaría los niveles de inclusión en la ración total diaria, pues al ser altos en FDN generan un llenado físico mayor, mas no así un llenado químico (Sánchez 2012).

Con respecto a la FDA no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) con ninguno de los tres sustratos fermentados en estado sólido antes y luego del proceso de secado. Además, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$) con el sorgo negro ni con el pasto Taiwán, mientras que con la cáscara de piña si hubo diferencias significativas ($p<0,05$) donde la FDA fue mayor al utilizar Probiolac con respecto al Vitafert y la levadura (Figura 22).

Cuando se utilizó el pasto Taiwán, la FDA aumentó levemente con el Probiolac (1,56%) y se mantuvo constante con los demás tratamientos. Con el sorgo negro aumentó poco con el Probiolac y el Vitafert (1,35% y 1,48%), bajó ligeramente con el testigo (1,03%) y con la levadura se mantuvo igual. Hernández-Pérez y Ramírez-Nader (2016) reportan un comportamiento similar al efectuar el secado de hojas de yuca para la obtención de heno,

donde presentan un promedio de 39,20% FDA en el follaje fresco y un 38,60% luego del secado natural, se mantuvo constante y no hubo diferencias significativas.

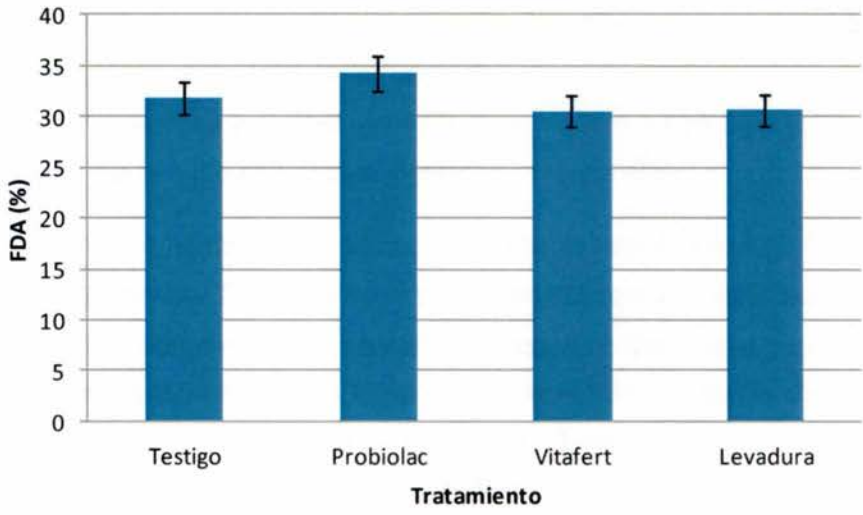


Figura 22. Valores de FDA obtenidos luego del proceso de secado con los distintos tratamientos al utilizar cáscara de piña fermentada en estado sólido (n=4).

Con la cáscara de piña, la FDA aumentó con el Probiolac (5,39%) y levemente con los demás tratamientos (1,37% en promedio). Al ser un dato aislado se sugiere que se pudo deber a un error a la hora de tomar la muestra para el análisis (presencia de algún material diferente) o algún tipo de contaminación durante el proceso de laboratorio, ya que no hay un cambio importante en ningún otro tratamiento con ningún sustrato. Un aumento importante en los valores de FDA podría resultar en una pérdida de digestibilidad del alimento a nivel ruminal (Sánchez 2012).

Con los valores de celulosa no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) con ninguno de los tres sustratos fermentados en estado sólido antes y luego del proceso de secado ni entre tratamientos. Con el pasto Taiwán la celulosa subió ligeramente al utilizar Probiolac y Vitafert (1,70% y 1,05%) y se mantuvo igual con el testigo y la levadura. Mismo caso ocurrió al utilizar cáscara de piña, donde con Probiolac y Vitafert aumentó poco (3,24% y 2,60%) y se mantuvo con los dos tratamientos restantes. Cuando se utilizó el sorgo negro, la celulosa aumentó de forma leve con el Vitafert (2,34%), bajó sutilmente con el testigo (1,21%) y se mantuvo constante con el Probiolac y la levadura.

Este es el comportamiento esperado luego del secado, pues los componentes de la pared celular no deberían cambiar de manera importante y tienden a subir poco debido a un efecto de concentración por la pérdida de agua (Rodríguez *et. al* 2006). Hernández-Pérez y Ramírez-Nader (2016) reportan resultados similares a los obtenidos en el presente estudio, donde al efectuar el secado del follaje de yuca para la elaboración de heno, obtuvieron un promedio de 15,10% celulosa en el follaje fresco y un 14,30% luego del secado natural, por lo que no hubo cambio ni hubo diferencias significativas entre ellas.

Con respecto a la hemicelulosa no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) con ningún sustrato entre tratamientos. Tampoco se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) al utilizar pasto Taiwán y sorgo negro fermentados en estado sólido antes y luego del proceso de secado. Al utilizar cáscara de piña si se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) luego del proceso de secado (Figura 23). Con el pasto Taiwán hubo un leve aumento en la hemicelulosa con los tratamientos testigo, Vitafert y levadura (1,75%, 2,56% y 2,47% respectivamente), mientras que con el Probiolac bajó levemente (1,25%). Al utilizar sorgo negro hubo un pequeño descenso con todos los tratamientos (testigo 0,70%, Probiolac 1,09%, Vitafert 1,66% y levadura 3,18%).

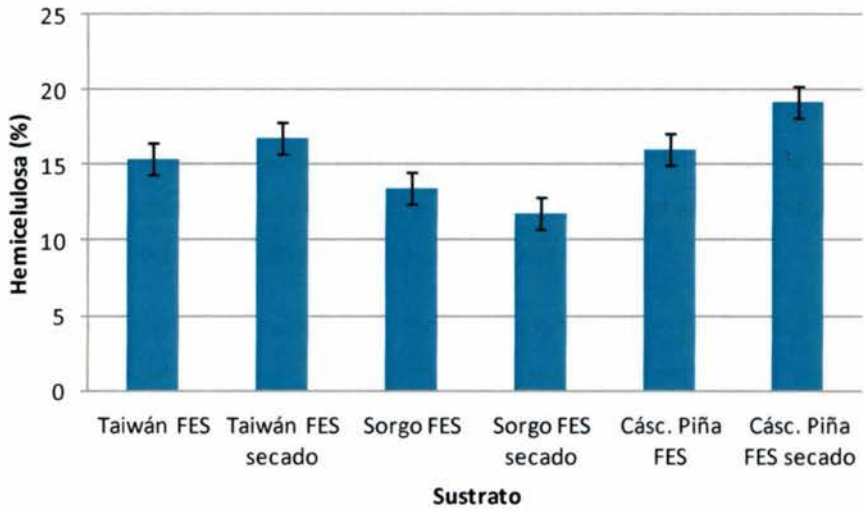


Figura 23. Valores promedio de hemicelulosa obtenidos con los tres sustratos fermentados en estado sólido antes y luego del proceso de secado.

Hernández-Pérez y Ramírez-Nader (2016) reportan resultados similares a los obtenidos con el pasto Taiwán y el sorgo negro, donde al efectuar el secado del follaje de

yuca para la elaboración de heno, obtuvieron un promedio de 16,8% hemicelulosa en el follaje fresco y un 17,3% luego del secado natural, de esta manera se mantiene constante y no hubo diferencias significativas.

Cuando se utilizó la cáscara de piña hubo aumentos con los tratamientos testigo, Vitafert y levadura (3,57%, 6,19% y 3,58% respectivamente), mientras que con el Probiolac se mantuvo constante. El aumento en los valores de hemicelulosa con la cáscara de piña como sustrato concuerdan con el aumento en la FDN como efecto de concentración de los componentes estructurales (Rodríguez *et al.* 2006). La hemicelulosa y la FDA (celulosa y lignina) componen la FDN y con la fibra detergente ácida no hubo cambios luego del secado, por lo que el aumento en los valores de hemicelulosa explican el subsecuente aumento de la FDN.

Por último, con los valores de lignina no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) con ninguno de los tres sustratos fermentados en estado sólido antes y luego del proceso de secado ni entre tratamientos. Al utilizar pasto Taiwán y sorgo negro, los valores de lignina se mantuvieron constantes luego del secado con todos los tratamientos y los promedios finales fueron 5,15% y 3,11%, respectivamente. Al utilizar cáscara de piña hubo un ligero aumento con el testigo y el Probiolac (2,39 y 2,15%), con el Vitafert bajó levemente (1,23%) y con la levadura se mantuvo igual, el promedio final fue 9,27%.

Resultados semejantes presentan Hernández-Pérez y Ramírez-Nader (2016) al efectuar el secado de hojas de yuca para la elaboración de heno, donde reportaron un promedio de 24,1% lignina en el follaje fresco y un 24,3% luego del secado natural, donde no hubo cambio ni diferencias significativas luego del proceso.

Al igual que con la celulosa, el comportamiento de la lignina luego de la deshidratación fue el esperado, pues este compuesto no debería variar y el leve aumento se atribuye a la concentración de las paredes celulares luego del proceso de secado (Rodríguez *et al.* 2006). Los altos valores obtenidos con la cáscara de piña podrían afectar la digestibilidad del material y el aprovechamiento de la celulosa y hemicelulosa a nivel ruminal (Sánchez 2012), además de limitar sus niveles de inclusión en la dieta.

4.3.5. Cenizas

En el Cuadro 8 se presentan los valores de cenizas al final de la fermentación y en el Cuadro 12 se presentan los valores de cenizas luego del secado para el pasto Taiwán, el

sorgo negro forrajero y la cáscara de piña con los distintos tratamientos. No hubo diferencias significativas (p>0,05) con ninguno de los tres sustratos fermentados en estado sólido y luego del proceso de secado ni entre tratamientos.

Cuadro 12. Valores de cenizas obtenidos luego del proceso de secado con los tres sustratos fermentados en estado sólido.

	Cenizas, %			
Sustrato	Testigo	Probiolac	Vitafert	Levadura
Pasto Taiwán	16,21	15,42	15,36	15,73
Sorgo negro	15,00	15,37	15,11	15,56
Cáscara de piña	9,72	9,62	9,61	9,43

n=4.

Cuando se utilizó pasto Taiwán no hubo cambios con ningún tratamiento al finalizar el proceso de secado. Al utilizar el sorgo negro, las cenizas aumentaron de forma leve con los tratamientos testigo, Probiolac y Vitafert (1,04%, 1,20% y 1,16% respectivamente) y se mantuvieron constantes con la levadura. Con la cáscara de piña los valores de ceniza aumentaron poco con el testigo y el Vitafert (1,02% y 1,08%) y se mantuvieron constantes con el Probiolac y la levadura. Este era el comportamiento esperado para los valores de cenizas, pues no deben verse afectadas por el proceso de secado ya que, al ser materia inorgánica (minerales) su composición no varía por el calor ni la volatilización.

4.4. Características organolépticas y composición química y nutricional de los sustratos fermentados en estado sólido luego del proceso de ensilaje

4.4.1. Olor

Con la determinación de olor del pasto Taiwán se pudo distinguir un olor dulce similar al de fruta madura con el tratamiento testigo y con el Vitafert, lo que indica que el proceso de ensilaje fue exitoso y este material tendría una buena aceptación por parte de los animales. Mientras que con el Probiolac y la levadura se percibió un olor fuerte e irritante que podría indicar que la preservación no fue la mejor y hubo cierto grado de fermentación butírica no deseada (Boschini y Elizondo 2003), esto podría deberse a que los valores de pH de los sustratos a la hora de ensilar (Probiolac 5,27 y levadura 6,71) no favorecieron un descenso rápido del pH. Estos ensilajes podrían presentar una aceptación menor en los rumiantes.

Con respecto al sorgo negro se encontró un olor semi dulce y ácido leve similar al vinagre en todos los tratamientos, lo que indica que es un ensilado de buena calidad. Por último, con la cáscara de piña se detectó un olor ácido muy leve e irritante con el testigo y el Vitafert, lo que hace pensar que hubo una fermentación leve y se catalogan como ensilajes de calidad regular. Con el Probiolac y la levadura se obtuvieron olores desagradables, muy fuertes y cercanos a la rancidez, por lo que se catalogaron como ensilajes de mala calidad, con gran cantidad de fermentación butírica (Boschini y Elizondo 2003).

Estos materiales probablemente serían rechazados por los animales al momento de la alimentación, además que es posible que haya una degradación proteica y pérdida del valor nutritivo, por lo que lo más conveniente sería descartar el material. Estos resultados se derivan del alto valor de pH que presentaban las muestras de cáscara de piña antes del proceso de ensilaje (7,51 en promedio) que evitan la baja del pH y propician fermentaciones indeseadas.

4.4.2. Color

El pasto Taiwán y el sorgo negro luego de la FES y del proceso de ensilaje mantuvieron un color pardo amarillento con todos los tratamientos (Figura 24), por lo que se determinan de buena calidad. Por su parte, la cáscara de piña presentó un color amarillo pardo con el tratamiento testigo y el Vitafert (Figura 25), mientras que con el Probiolac y la levadura se obtuvo un color amarillo muy oscurecido y con partes negras (Figura 25). Además, en todos los tratamientos se formó una capa dura y negra que recubría todo el material, siendo más gruesa con el Probiolac y la levadura (Figura 25), lo que genera una pérdida de material luego del proceso. Es por esto que el ensilaje con cáscara de piña se cataloga de calidad regular a mala.

4.4.3. Textura

Con respecto al pasto Taiwán y el sorgo negro ambos conservaron su textura luego del proceso de ensilado, se podían apreciar las hojas y tallos sin ningún tipo de daño, se sentían firmes y se separaban fácilmente. Por su parte, los ensilajes de cáscara de piña tenían una textura más jabonosa o resbalosa que lo normal del sustrato original y el material estaba muy aglomerado, por lo que se denominan de regular a mala calidad. Esto podría afectar la aceptación y el consumo del material por parte de los animales y, aunado al

análisis organoléptico en general, lo más apropiado sería descartar el material. Cabe resaltar que en ningún sustrato hubo presencia importante de moho ni hongos.

Figura 24. Pasto Taiwán (a) y sorgo negro (b) fermentados en estado sólido luego del proceso de ensilaje.

Figura 25. Cáscara de piña fermentada en estado sólido luego del proceso de ensilaje (a. color obtenido con los tratamientos testigo y Vitafert, b- color obtenido con los tratamientos Probiolac y levadura, c- capa ennegrecida obtenida en algunas bolsas de ensilaje.

4.4.4. Composición química y nutricional

4.4.4.1. Valores de pH y nitrógeno amoniacal

En el Cuadro 13 se presentan los valores de pH y nitrógeno amoniacal obtenidos con los tres sustratos fermentados en estado sólido luego del proceso de ensilaje. Se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) en los valores de pH con el sorgo negro fermentado en estado sólido antes y después del proceso de ensilaje con los tratamientos Probiolac y Levadura (Figura 26). Con respecto al pasto Taiwán hubo diferencias significativas ($p<0,05$) al utilizar Probiolac y levadura, donde el pH subió luego de ser ensilado (Figura 27). Con la cáscara de piña hubo diferencias significativas ($p<0,05$) al utilizar el testigo y Probiolac donde el pH aumentó después del proceso de conservación (Figura 28).

Cuadro 13. Valores de pH y nitrógeno amoniacal obtenidos con los tres sustratos fermentados en estado sólido luego del ensilaje.

	Tratamientos			
Variables	Testigo	Probiolac	Vitafert	Levadura
		Pasto Taiwán		
pH	5,03^{a}	8,43^{b}	4,59^{a}	9,21^{b}
Nitrógeno amoniacal*	10,70^{b}	21,05^{c}	5,10^{a}	22,20^{c}
		Sorgo negro		
pH	4,43^{a}	5,32^{b}	4,53^{a}	5,47^{b}
Nitrógeno amoniacal*	9,60^{a}	14,40^{b}	10,85^{a}	25,65^{c}
		Cáscara de piña		
pH	8,79^{b}	8,63^{b}	7,58^{a}	8,07^{ab}
Nitrógeno amoniacal**	-	-	-	-

^{abc} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p<0,05$).

n=4.

* g/100 g PC

** Al momento del muestreo para este análisis, las muestras se encontraban deterioradas por lo que no se pudieron procesar.

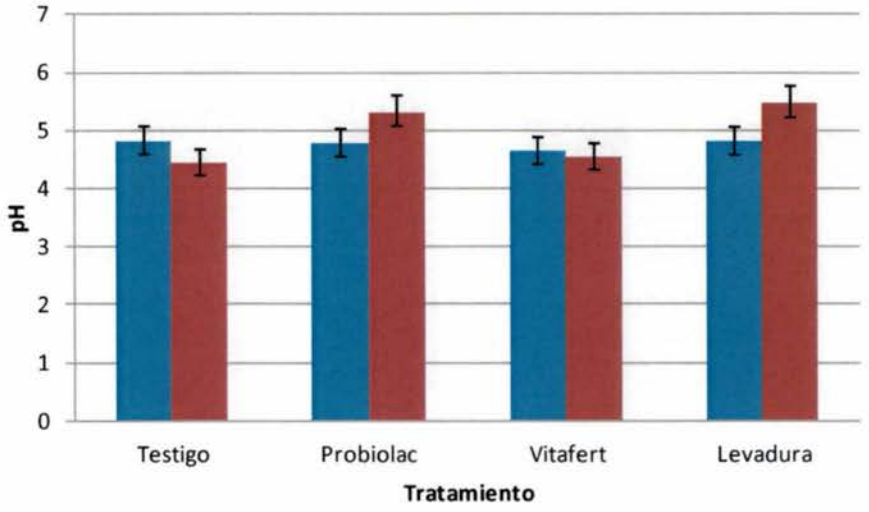


Figura 26. Valores de pH obtenidos con el sorgo negro fermentado en estado sólido antes (azul) y luego del ensilaje (rojo) (n=4).

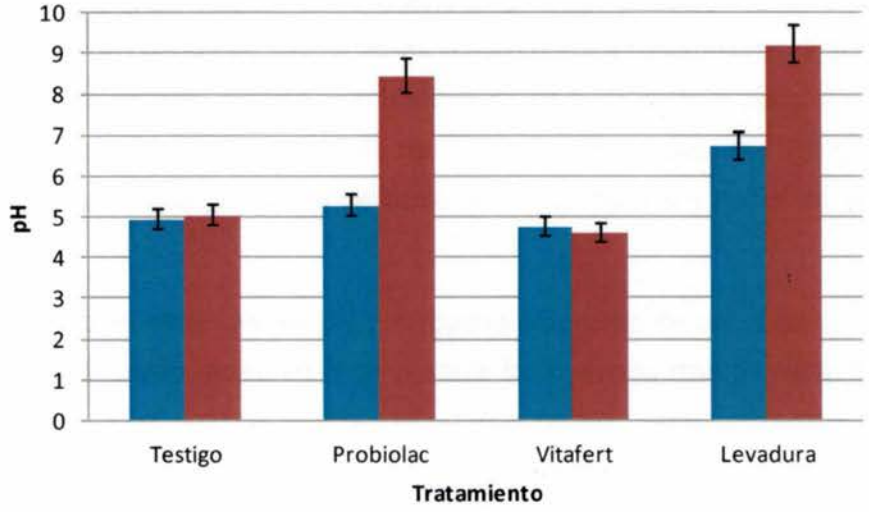


Figura 27. Valores de pH obtenidos con el pasto Taiwán fermentado en estado sólido antes (azul) y luego del ensilaje (rojo) (n=4).

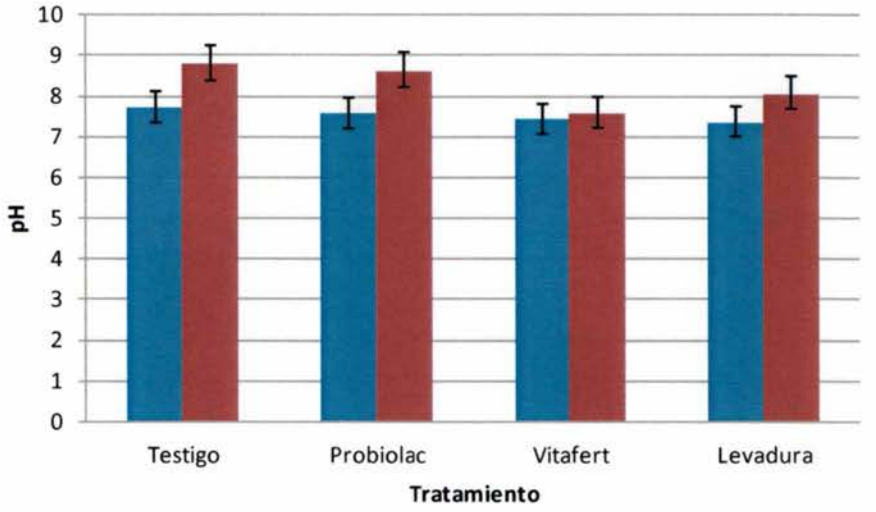


Figura 28. Valores de pH obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego del ensilaje (rojo) (n=4).

Con respecto a los valores de nitrógeno amoniacal, al utilizar pasto Taiwán y sorgo negro se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) entre tratamientos (Figuras 29 y 30). Por su parte, con la cáscara de piña este análisis no se pudo realizar pues al momento que se hizo el muestreo las bolsas de silo ya llevaban tiempo abiertas (para los análisis bromatológicos), por lo que gran parte del material estaba dañado y hubiese generado datos erróneos.

Con los valores obtenidos de pH y nitrógeno amoniacal se concluye que ninguno de los silos tuvo un descenso rápido en el pH durante los primeros días de almacenamiento, lo que genera que el pH al finalizar el proceso no alcance los valores deseados para un silo, que van de 4,2 a 4,5 (Boschini y Elizondo 2003). Además, dichos valores hacen que la degradación de proteína en el silo sea mayor (Moyano 2014), lo que se refleja en el aumento de valores del pH y del nitrógeno amoniacal, que para silos de excelente calidad se busca sea menor a 5-8%, de buena calidad menor a 10-11% y de mala calidad mayores a 15% N-NH_3.N-total^{-1} o meq/L (López *et al.* 2009, Moyano 2014).

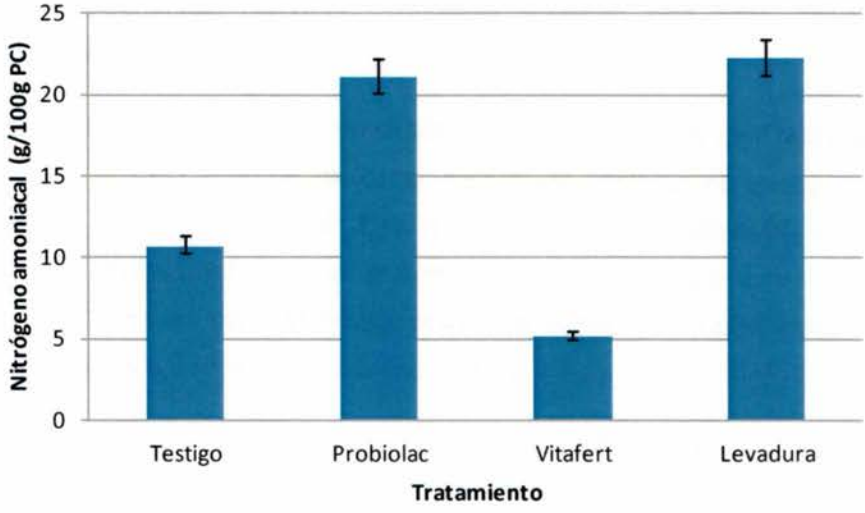


Figura 29. Valores de nitrógeno amoniacal obtenidos con el pasto Taiwán fermentado en estado sólido luego del ensilaje (n=4).

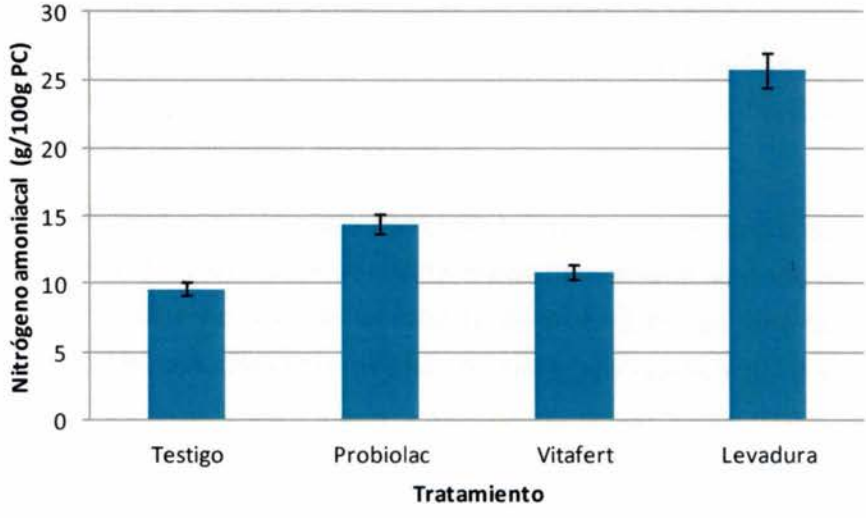


Figura 30. Valores de nitrógeno amoniacal obtenidos con el sorgo negro fermentado en estado sólido luego del ensilaje (n=4).

Debido a esto, los silos de pasto Taiwán y sorgo negro con los tratamientos testigo y Vitafert son de buena calidad, mientras que con el Probiolac y levadura se catalogan de pobre calidad. Por su parte con los silos de cáscara de piña, al no tener los datos de nitrógeno amoniacal ($N\text{-}NH_3$), se concluye que al tener el pH tan elevado (aunado al análisis

organoléptico) los valores de nitrógeno amoniacal hubieran sido altos, resultando en ensilajes de mala calidad.

Estos resultados negativos ocurren debido al alto valor de pH que presentaban los sustratos luego de la FES y a los elevados niveles de proteína obtenidos y que son atribuidos en parte a la retención de NNP. Esto hace que haya un efecto buffer en el silo y la reducción del pH no ocurra pues no se da la fermentación láctica, y que a su vez da paso a fermentaciones no deseadas por bacterias proteolíticas y pútricas que se desarrollan con valores de pH superiores a 6 (Boschini y Elizondo 2003).

Además, para el proceso de ensilaje no se contempló la adición de melaza extra, pues ya se había agregado un 5% del total de la mezcla para la fermentación en estado sólido. Al ser un periodo de 36 horas no se consideró que fuera necesario añadir más pues para el momento de ensilar aun habrían remanentes de carbohidratos disponibles para la fermentación láctica dentro del silo. Sin embargo, al alcanzar los altos valores de PC luego de la FES ocurrió un desbalance proteico:energético y al haber disponible más nitrógeno no proteico que carbohidratos de rápida fermentación, se favorece la degradación de proteína en el silo, aunado a que el N-NH_3 se asocia con los ácidos orgánicos en forma de sales de amonio, por lo que desfavorece la disminución del pH (Peñafiel *et al.* 2015). Esto se refleja en los valores alcanzados de nitrógeno amoniacal.

Resultados similares a los obtenidos con el pasto Taiwán y sorgo negro con Vitafert y el tratamiento testigo reportan Álvarez *et al.* (2011), donde fermentaron bagacillo de retorno y luego lo ensilaron por 45 días y obtuvieron un valor de pH de 4,56. Por su parte Monroy *et al.* (2006) fermentaron caña con diferentes niveles de melaza o pulidura de arroz y luego ensilaron el producto fermentado por 70 días y reportan un pH de 5,25 y 0,56% NH_3 de la MS, en donde si hubo un descenso de pH y de NH_3 durante los primeros días de almacenamiento pero luego aumentan al final del proceso.

Los ensilajes de buena calidad obtenidos en el presente estudio (Pasto Taiwán y sorgo negro al utilizar los tratamientos testigo y Vitafert) se dan cuando el pH al finalizar el proceso de fermentación en estado sólido se encuentra entre 4,0 y 5,0, ya que favorece una acidificación rápida en la masa a fermentar dentro del silo, lo que previene a su vez la degradación proteica debido a la acidez del medio. Esto indica que fue un proceso de conservación eficaz, con pocas pérdidas en la calidad nutritiva de los sustratos.

Elías *et al.* (2001) luego de 24 horas de FES de caña con Vitafert obtuvieron valores de 6,88 meq NH_3/L y 4,06 pH. Ramos *et al.* (2007) al fermentar por 24 horas sacchasorgo y sacchapulido con diferentes niveles de melaza reportan valores de 4,76 y 5,85 pH y 13,68 y 18,03 meq NH_3/L. Peñafiel *et al.* (2015) alcanzaron valores de 4,30 pH y 13,93 meq NH_3/L al utilizar una mezcla de cáscara de maracuyá y banano entero en FES por 36 horas. Estos resultados dan indicio que los materiales luego de procesos de FES serían aptos para ensilar y podrían tener resultados de regulares a excelentes.

Sin embargo, también hay resultados de experimentos de FES en donde los valores de pH y de NH_3 al finalizar la fermentación son muy elevados (similares a los obtenidos en el presente estudio con la cáscara de piña), por lo que la calidad del silo podría verse afectada. Rodríguez *et al.* (2006) al fermentar en condiciones rústicas mezclas de caña y camote obtuvieron un valor promedio de 6,20 pH y 17,43 meq NH_3/L a 48 horas de fermentación. Rodríguez *et al.* (2001) utilizaron las mismas mezclas pero a nivel de laboratorio y reportan valores de 7,17 pH y 6,96 NH_3/L a 48 horas de fermentación. Por último, Ramos *et al.* (2006) realizaron procesos de FES por 24 horas, a nivel de laboratorio, con tallos limpios de caña y niveles de inclusión de diferentes fuentes energéticas y obtuvieron valores de NH_3 que van desde 15,69 hasta 28,36 meq/L y el pH osciló entre 5,23 y 6,28 en los cuatro tratamientos.

4.4.4.2. Materia seca

En el Cuadro 6 se presentan los valores de MS al final de la fermentación y en el Cuadro 14 se presentan los valores de MS obtenidos luego del ensilaje para el pasto Taiwán, el sorgo negro forrajero y la cáscara de piña con los distintos tratamientos. No se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) en los valores de MS en ninguno de los tres sustratos fermentados en estado sólido antes y luego del secado ni entre tratamientos con ningún sustrato luego del proceso.

Al utilizar pasto Taiwán, con todos los tratamientos hubo un ligero aumento en la MS (testigo 2,12%, Probiolac 1,05%, Vitafert 3,61% y levadura 3,06%) luego del ensilaje. Mientras que con el sorgo negro y la cáscara de piña en todos los tratamientos hubo una pequeña disminución en la MS (testigo 2,74 y 2,07%, Probiolac 2,80 y 2,61%, Vitafert 3,02 y 0,69% y levadura 1,32 y 1,44%, en sorgo y cáscara de piña respectivamente) al finalizar el proceso de conservación.

Cuadro 14. Valores obtenidos de los componentes intracelulares en los tres sustratos fermentados en estado sólido luego del proceso de ensilaje.

	Tratamientos			
Variables	Testigo	Probiolac	Vitafert	Levadura
		Pasto Taiwán		
MS, %	34,60	34,61	36,65	35,57
PC, %	23,18^{b}	14,30^{a}	25,12^{b}	12,54^{a}
		Sorgo negro		
MS, %	15,76	14,86	16,93	15,16
PC, %	33,71^{bc}	30,20^{ab}	34,37^{c}	29,48^{a}
		Cáscara de piña		
MS, %	18,01	18,29	18,02	18,26
PC, %	33,33^{ab}	30,22^{a}	35,84^{b}	33,19^{ab}

^{abc} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p<0,05$).

n=4.

Al igual que en el presente estudio, Alpízar *et al.* (2014) obtuvieron un leve descenso en la materia seca después del proceso de ensilaje en sorgo (26,52 a 24,84% MS) atribuido a la adición de melaza, la cual estaba diluida. En la presente investigación, en los silos de sorgo y cáscara de piña hubo retención de humedad debido al alto contenido de agua de estos sustratos, donde a la hora de realizar el muestreo se revuelve y se mezcla con el resto del material, a esto se atribuye la reducción en el contenido final de MS (López *et al.* 2009). Dicho proceso no ocurrió en los silos de pasto Taiwán debido a su alto contenido de MS antes de ser ensilado. Cabe destacar que en este experimento no hubo pérdidas de nutrientes por efluentes al ser silos de bolsa.

Con los resultados obtenidos, los ensilajes de pasto Taiwán se clasifican como de humedad media según Boschini y Elizondo (2003), donde el valor de MS oscila entre 25 a 35%, mientras que los de sorgo negro y cáscara de piña se clasifican de humedad alta, ya que poseen valores menores a 25% MS. Además, el valor mínimo de MS en un ensilaje de forraje debería ser 20% mientras que con subproductos agroindustriales, al ser altos en humedad, se aceptan valores entre 15 a 22% MS (Vázquez 2001, Boschini y Elizondo 2003, Elizondo y Campos 2014).

Los sustratos fermentados en estado sólido son materiales con alto potencial para ensilar. Sin embargo, en casos donde la humedad inicial de los sustratos sea muy alta, se debería considerar la inclusión de materiales o ingredientes secantes que aporten altos valores de MS para compensar, como el heno, la pollinaza, la pulpa de cítricos deshidratada y la melaza deshidratada (Gutiérrez *et al.* 2003, López *et al.* 2009, Elizondo y Campos 2014, Rodríguez *et al.* 2014).

En estudios donde el material a ensilar fue previamente fermentado en estado sólido se reportan valores de materia seca similares a los obtenidos con el pasto Taiwán. Álvarez *et al.* (2011) ensilaron por 45 días bagacillo de caña fermentado en estado sólido y obtuvieron un valor final de 39,20% MS. Monroy *et al.* (2006) ensilaron por 70 días caña integral luego del proceso de FES y alcanzaron un valor de 30,38% MS. Por su parte, Araujo-Febres *et al.* (1996) al realizar ensilaje de pasto elefante enano con diferentes niveles de urea y melaza alcanzaron valores desde 28,07 hasta 36,41% MS con 63 días de corte y desde 20,39 hasta 29,05% MS con 35 días de corte. Dichos valores son cercanos a los obtenidos con el pasto Taiwán y sorgo negro, siendo más bajos en el sorgo debido a que almacena una mayor cantidad de agua que los pastos del género *Pennisetum*.

Otros resultados similares a los obtenidos con el sorgo negro y la cáscara de piña reportan López *et al.* (2009) donde al ensilar rastrojo de piña con adición de melaza e inóculos obtuvieron una MS final de 14,00%. Esto concuerda con el 16,27% MS obtenido por Elizondo y Campos (2014) con ensilaje de cáscara piña con urea y con el 14,01% MS en promedio alcanzado por López *et al.* (2016) al ensilar corona de piña con diferentes niveles de urea y la adición de heno o pulpa de cítricos deshidratada.

También Vázquez (2001) obtuvo un valor de 18,00% MS al ensilar pulpa de naranja sola, pero aumentó a 21,60% al adicionar un 4 % de melaza. Por su parte, Gutiérrez *et al.* (2003), López *et al.* (2014b) y Rodríguez *et al.* (2014) reportan valores menores a los obtenidos en el presente estudio, donde obtuvieron 10,27, 9,92 y 8,61% de MS respectivamente. Gutiérrez *et al.* (2003) en ensilajes de desechos de piña sin aditivos y López *et al.* (2014b) y Rodríguez *et al.* (2014) en rastrojo de piña con varios niveles de urea y melaza.

4.4.4.4. Proteína cruda

En el Cuadro 6 se presentan los valores de PC al final de la fermentación y en el Cuadro 14 se presentan los valores de proteína luego del ensilaje para el pasto Taiwán, el sorgo negro forrajero y la cáscara de piña con los distintos tratamientos. Con el pasto Taiwán y el sorgo negro hubo diferencias significativas ($p<0,05$) en los valores de PC antes y luego del proceso de ensilado cuando se utilizó Probiolac y levadura (Figuras 31 y 32). Con la cáscara de piña se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) en la proteína al utilizar el Vitafert con respecto al Probiolac (Figura 33).

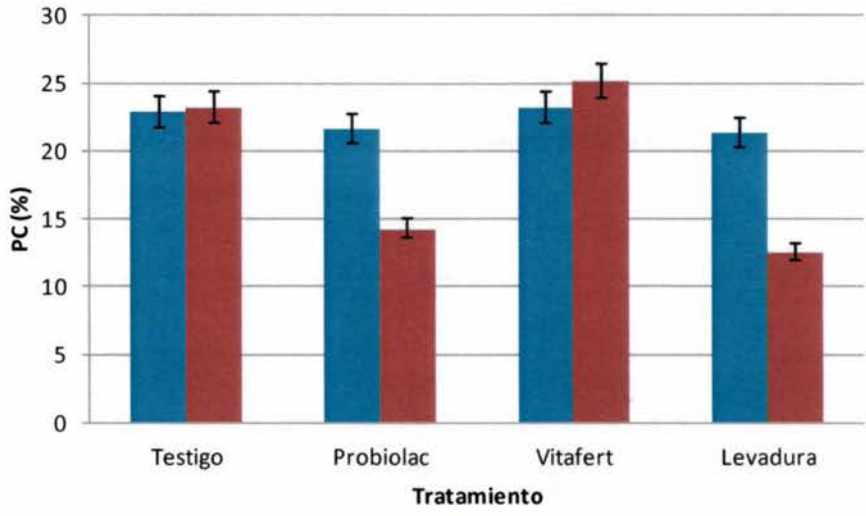


Figura 31. Valores de PC obtenidos con el pasto Taiwán fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del ensilaje (n=4).

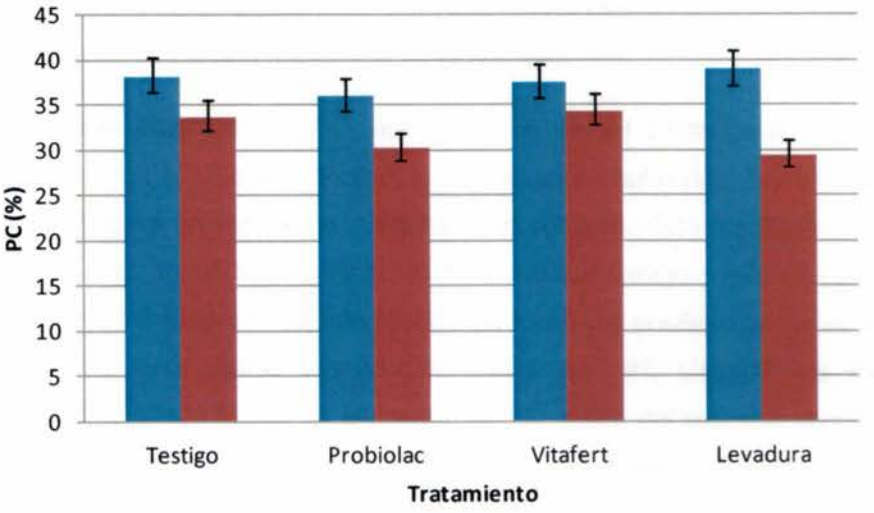


Figura 32. Valores de PC obtenidos con el sorgo negro fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del ensilaje (n=4).

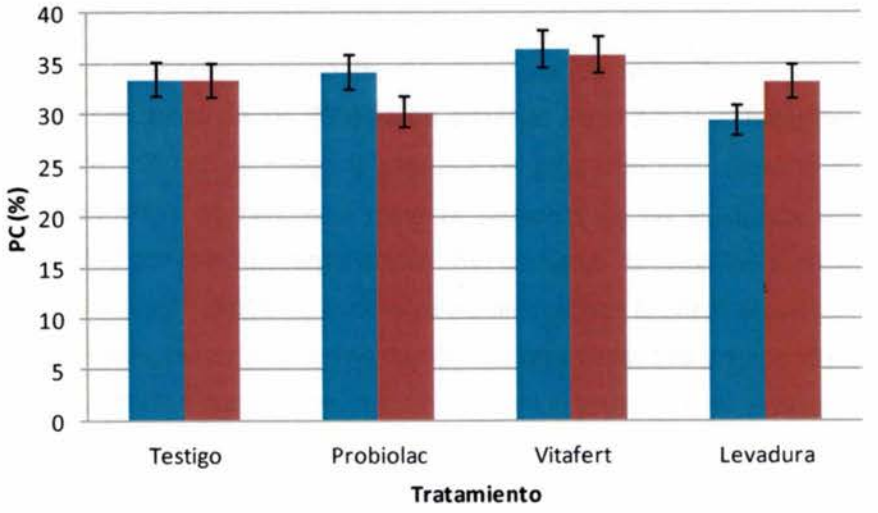


Figura 33. Valores de PC obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del ensilaje (n=4).

Al utilizar pasto Taiwán con los tratamientos de Probiolac y levadura hubo un importante descenso en los valores de proteína. Con el sorgo negro ocurrió una pérdida con todos los tratamientos. Mientras que con la cáscara de piña los valores proteicos descienden con el Probiolac y aumentan con la levadura. Es normal que durante el proceso de ensilaje haya pérdidas proteicas debido a la proteólisis que ocurre durante la fermentación (Alpízar *et*

al. 2014). Sin embargo, esto se busca reducir mediante una rápida disminución del pH en el silo para evitar pérdidas de calidad nutricional en el alimento final.

Con los valores obtenidos de PC, aunado a los de pH y nitrógeno amoniacal, se confirma que en los silos al utilizar el Probiolac y la levadura hubo una mayor utilización y degradación de la proteína en vez de los carbohidratos solubles. Esto resulta en el aumento del pH y del N-NH_3. Por su parte, al utilizar los tratamientos testigo y Vitafert hubo menos pérdidas proteicas y se obtuvieron mejores resultados luego del ensilaje, como se mencionó anteriormente, debido a la rápida disminución inicial del pH. Cuando los materiales fermentados en estado sólido tienen un alto valor de PC antes del proceso de ensilaje, se debería considerar la adición de melaza a la mezcla, ya que esto favorece el uso de los carbohidratos de rápida fermentación sobre la degradación proteica por parte de los microorganismos, además que ayuda a la disminución inicial de pH.

Debido a los altos valores de pH obtenidos con los silos de cáscara de piña, se esperaban mayores pérdidas de proteína luego del proceso debido a la degradación, al igual que ocurrió con el pasto Taiwán al utilizar Probiolac y levadura. Sin embargo, solamente con el Probiolac hubo un descenso importante, mientras que de manera contraria al usar la levadura la PC aumentó luego de los 60 días de ensilaje. Pese a que si hubo degradación, los valores finales de PC con el sorgo y cáscara de piña aun son altos, lo cual podría deberse a la gran cantidad de nitrógeno residual presente en los sustratos y que no es utilizado en su totalidad por los microorganismos. Sin embargo, la cantidad y la calidad de la proteína verdadera (nitrógeno proteico) podría verse afectada al finalizar el ensilaje, pues es consumida principalmente durante la fermentación butírica (Boschini y Elizondo 2003) que fue lo que ocurrió en dichos sustratos, es decir, el contenido proteico final está definido en su mayoría por el aporte del NNP.

Álvarez *et al.* (2011) y Monroy *et al.* (2006) ensilaron por 45 días bagacillo de retorno luego de FES y por 70 días caña integral luego de FES y obtuvieron valores de 15,20% PC y 14,57% PC, respectivamente. Por su parte, Rodríguez *et al.* (2014) con ensilaje de rastrojo de piña y varios niveles de melaza deshidratada al añadir 1% urea obtuvieron en promedio 15,53% PC y 14,03% PC promedio con inclusión del 1,5% urea. Mientras que Elizondo y Campos (2014) al ensilar cáscara de piña con adición de 1% urea obtuvieron un 18,40% PC. Estos resultados son menores a los obtenidos con pasto Taiwán ensilado luego de ser fermentado al utilizar testigo y Vitafert, pero son similares a cuando se utilizó Probiolac y levadura como inóculos.

Por otra parte, resultados similares a los obtenidos utilizando sorgo negro y cáscara de piña reportan López *et al.* (2014b) al ensilar rastrojo de piña con 3% inclusión de melaza y diferentes niveles de urea, donde al utilizar 1% urea obtuvieron un valor de 25,52% PC y al aumentar a 1,5% de urea el valor de proteína subió a 30,07%. También López *et al.* (2016) al ensilar corona de piña obtuvieron, con una inclusión de 1% urea, valores de 23,99% PC al añadir pulpa de cítricos deshidratada (PCD) y 25,36% PC al añadir heno, mientras que con la inclusión de 1,5% urea los valores proteicos aumentaron al agregar PCD y heno a 32,06% y 31,98%, respectivamente. Elizondo y Campos (2014), López *et al.* (2014b), Rodríguez *et al.* (2014) y López *et al.* (2016) concuerdan que hubo influencia positiva en la inclusión de urea para mejorar los niveles proteicos de los ensilajes, así como también que debido al aporte del NNP hubo mayor concentración final de N-NH_3 en los ensilados.

Los valores de PC obtenidos en el presente estudio son superiores a los encontrados por diversos autores. Araujo-Febres *et al.* (1996) reportan 12,01% PC a 35 días de corte y 12,63% PC a 63 días de corte con ensilaje de pasto elefante enano con diferentes niveles de urea y melaza. Vázquez (2001) obtuvo 7,71% PC con ensilado de pulpa de naranja sin aditivos), mientras que López *et al.* (2009) obtuvieron 8,24% PC con ensilaje de rastrojo de piña con adición de melaza e inóculos. Alpízar *et al.* (2014) alcanzaron 7,92% PC con ensilaje de sorgo con adición de 4% melaza y Gutiérrez *et al.* (2003) reportaron valores de 7,72% PC con ensilados de desechos de piña sin aditivos.

4.4.4.5. Componentes de la pared celular

En el Cuadro 7 se presentan los valores de FDN, FDA, celulosa, hemicelulosa y lignina al cabo de las 36 horas de fermentación y en el Cuadro 15 se presentan dichos valores luego del ensilaje para el pasto Taiwán, el sorgo negro forrajero y la cáscara de piña con los distintos tratamientos.

Con respecto a los valores de FDN no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) en el pasto Taiwán antes y después del proceso de ensilaje. Sin embargo, si hubo diferencias significativas ($p<0,05$) al usar el tratamiento Vitafert con respecto a la levadura (Figura 34). Con respecto al sorgo negro, no se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre tratamientos. No obstante, si hubo diferencias significativas ($p<0,05$) en los valores de FDN antes y después del ensilado al utilizar Probiolac y levadura (Figura 35). Con la cáscara de piña, los valores de FDN aumentaron de manera significativa ($p<0,05$) con todos los

tratamientos luego del proceso de ensilaje. Sin embargo, no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) entre tratamientos (Figura 36).

Cuadro 15. Valores obtenidos de los componentes de la pared celular en los tres sustratos fermentados en estado sólido luego del proceso de ensilaje.

	Tratamientos			
Variables	Testigo	Probiolac	Vitafert	Levadura
		Pasto Taiwán		
FDN, %	58,87[ab]	61,46[ab]	56,69[a]	63,62[b]
FDA, %	44,50[ab]	48,18[b]	42,86[a]	47,31[ab]
Celulosa, %	38,50[ab]	42,30[b]	37,68[a]	41,18[ab]
Hemicelulosa, %	14,37[a]	13,28[a]	13,83[a]	16,31[b]
Lignina, %	6,00	5,88	5,18	6,13
		Sorgo negro		
FDN, %	47,29	51,86	47,93	51,33
FDA, %	37,27	39,87	37,66	39,41
Celulosa, %	34,52	36,42	34,56	35,38
Hemicelulosa, %	10,03[a]	11,99[b]	10,28[a]	11,92[b]
Lignina, %	2,75	3,45	3,10	4,02
		Cáscara de piña		
FDN, %	52,38	53,73	50,50	53,29
FDA, %	35,95	34,58	35,04	33,88
Celulosa, %	25,95[b]	22,27[a]	23,49[ab]	23,96[ab]
Hemicelulosa, %	16,43[a]	19,15[b]	15,46[a]	19,42[b]
Lignina, %	10,00[a]	12,31[b]	11,55[b]	9,92[a]

[ab] Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p<0,05$).

n=4.

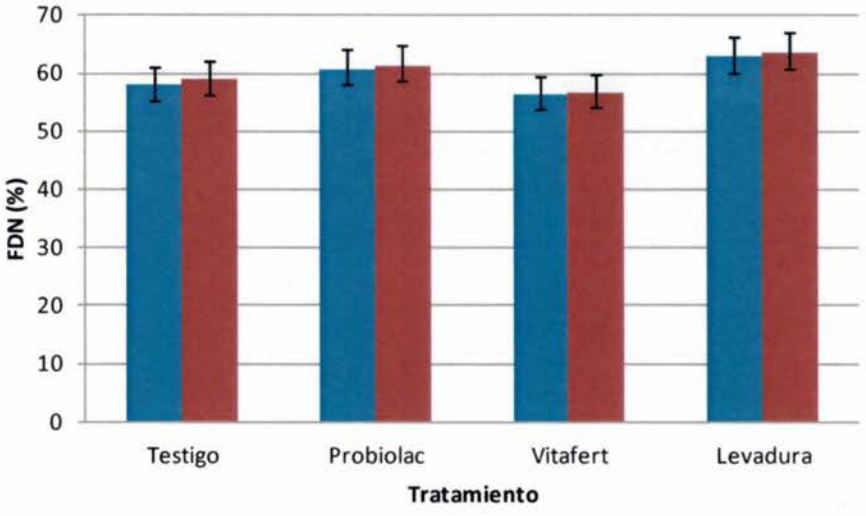


Figura 34. Valores de FDN obtenidos con el pasto Taiwán fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4).

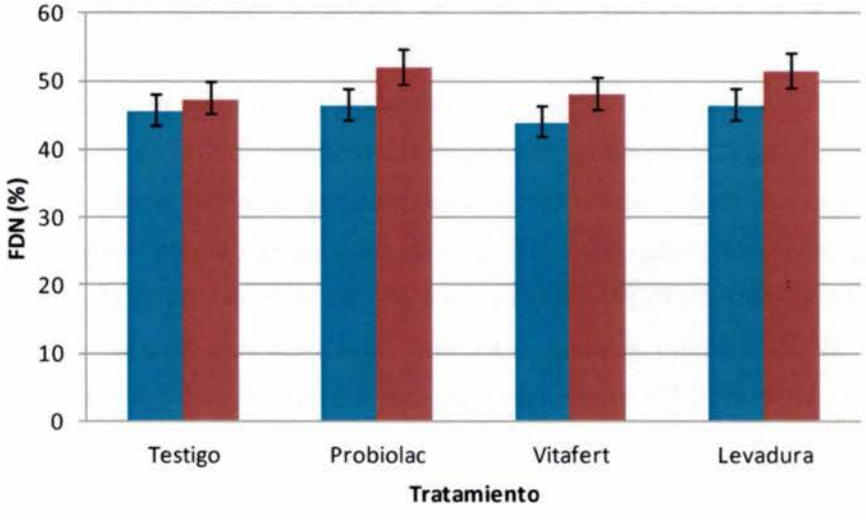


Figura 35. Valores de FDN obtenidos con el sorgo negro fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4).

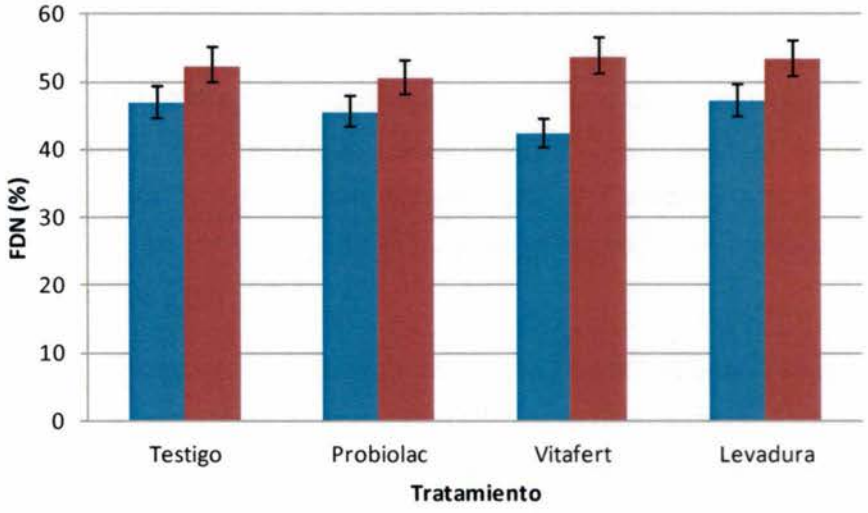


Figura 36. Valores de FDN obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4).

Resultados menores a los obtenidos con pasto Taiwán y similares a los generados con el sorgo negro y la cáscara de piña indican Álvarez *et al.* (2011) cuando ensilaron bagacillo de retorno fermentado en estado sólido por 45 días y obtuvieron un valor de FDN de 50,20%. Monroy *et al.* (2006) realizaron el ensilaje en caña integral por 70 días y la FDN fue de 42,05%, en donde aumentó con respecto al valor inicial (35,03%) al igual que en el presente estudio con el sorgo y la cáscara de piña. También, Elizondo y Campos (2014) al ensilar cáscara de piña con adición de 1% urea (49,85% FDN); López *et al.* (2009) con ensilaje de rastrojo de piña con adición de melaza e inóculos (48,00% FDN); López *et al.* (2014b) al ensilar rastrojo de piña con 3% inclusión de melaza (55,03% FDN con 1,5% urea) y López *et al.* (2016) al ensilar corona de piña (48,84% FDN al agregar PCD y 62,29% FDN al agregar heno, ambas con adición de urea al 1,5%).

Valores similares a los obtenidos con el pasto Taiwán reportan Alpízar *et al.* (2014) al realizar ensilaje de sorgo con adición de melaza (60,78% FDN); Araujo-Febres *et al.* (1996) con ensilaje de pasto elefante enano con diferentes niveles de urea y melaza (61,24% FDN a 35 días de corte y 59,50% FDN a 63 días de corte); Gutiérrez *et al.* (2003) con ensilado de desechos de piña sin aditivos (67,08% FDN) y Rodríguez *et al.* (2014) con ensilaje de rastrojo de piña y varios niveles de melaza deshidratada (60,45% FDN con inclusión de urea al 1,5%).

Con respecto a los valores de FDA no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) en el pasto Taiwán antes y después del proceso de ensilaje aunque los valores aumentan un poco. Si se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) al utilizar el tratamiento Probiolac con respecto al Vitafert (Figura 37). Al utilizar sorgo negro y cáscara de piña, no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) entre tratamientos. Sin embargo, si hubo diferencias significativas ($p<0,05$) en los valores de FDA antes y después del ensilado con todos los tratamientos (Figuras 38 y 39).

Resultados similares a los obtenidos con pasto Taiwán reportan Araujo-Febres *et al.* (1996) con ensilaje de pasto elefante enano con diferentes niveles de urea y melaza (42,44% FDA a 35 días de corte y 44,52% FDA a 63 días de corte) y Rodríguez *et al.* (2014) con ensilaje de rastrojo de piña y varios niveles de melaza deshidratada (40,15% FDA con 1,5% urea).

Alpízar *et al.* (2014) con ensilaje de sorgo y la adición de melaza (36,49% FDA), Elizondo y Campos (2014) al ensilar cáscara de piña con adición de 1% urea (37,22% FDA), Gutiérrez *et al.* (2003) con ensilaje de desechos de piña sin aditivos (35,39% FDA), López *et al.* (2014b) al ensilar rastrojo de piña con inclusión de melaza (33,42% FDA con 1,5% inclusión de urea) y López *et al.* (2016) con ensilados de corona de piña con 1,5% de urea (30,14% FDA al añadir PCD y 35,18% al añadir heno) obtuvieron valores de FDA cercanos a los generados con el sorgo negro y la cáscara de piña.

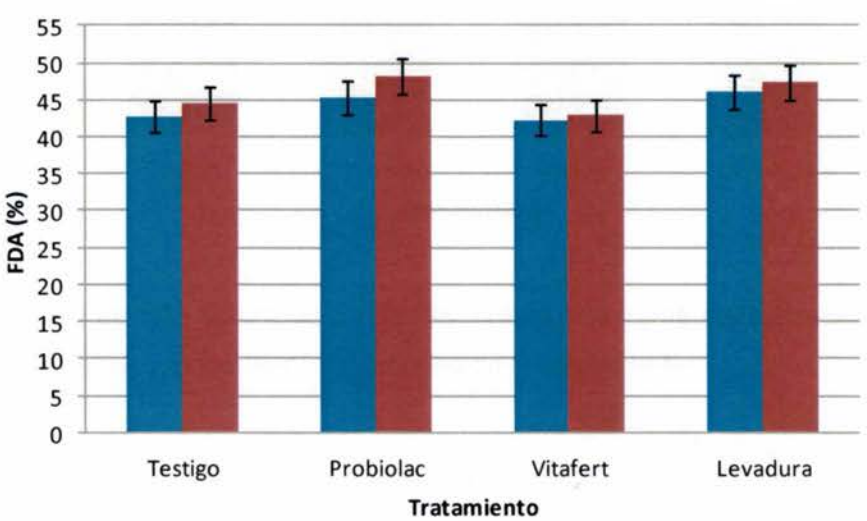


Figura 37. Valores de FDA obtenidos con el pasto Taiwán fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4).

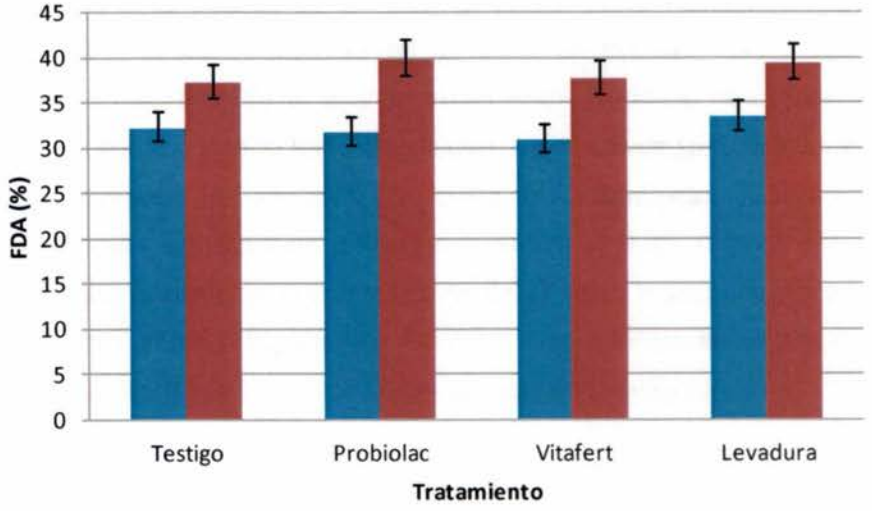


Figura 38. Valores de FDA obtenidos con el sorgo negro fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4).

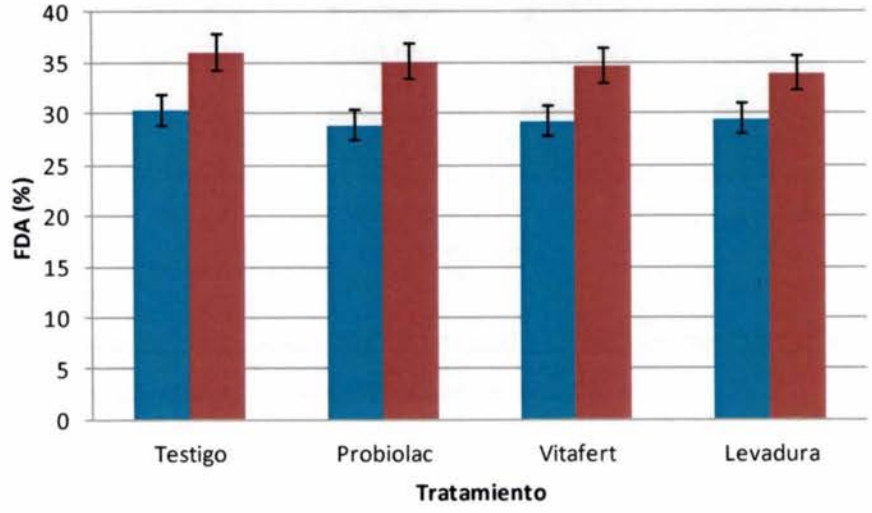


Figura 39. Valores de FDA obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4).

Además Monroy *et al.* (2006) al ensilar por 70 días caña integral fermentada en estado sólido obtuvieron un valor de 21,58% FDA y reportan un aumento con respecto al valor inicial. También López *et al.* (2009) obtuvieron un 29,90% FDA con ensilaje de rastrojo de piña y la adición de melaza e inóculos. Ambos autores obtuvieron valores menores a los alcanzados en el presente estudio.

Con respecto a los valores de celulosa, al utilizar pasto Taiwán no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) antes y después del proceso de ensilaje. Sin embargo, si hubo diferencias significativas ($p<0,05$) al usar el tratamiento Probiolac con respecto al Vitafert (Figura 40). Con el sorgo negro si hubo diferencias significativas ($p<0,05$) en los valores de celulosa antes y después del ensilado con todos los tratamientos. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p>0,05$) (Figura 41). Al utilizar la cáscara de piña hubo diferencias significativas ($p<0,05$) antes y después del ensilaje con los tratamientos testigo y Vitafert (Figura 42). Además hubo diferencias significativas ($p<0,05$) entre los tratamientos testigo y Probiolac luego del ensilaje (Figura 42).

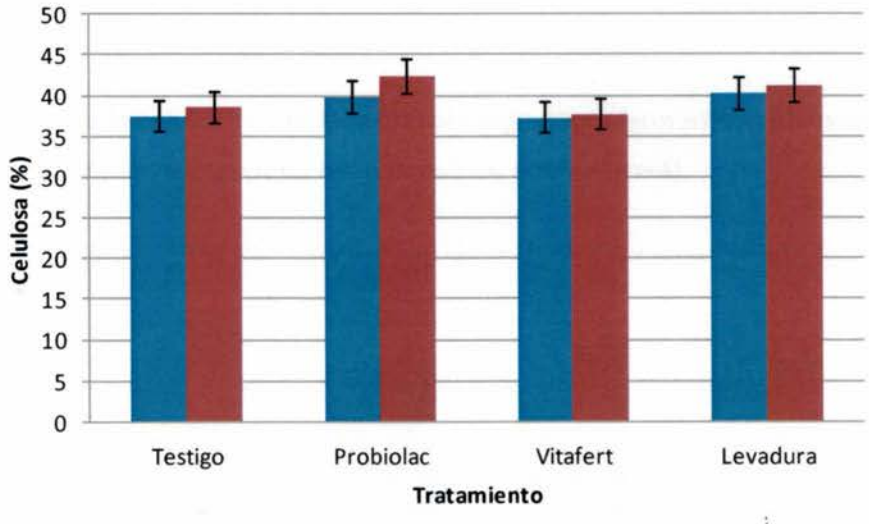


Figura 40. Valores de celulosa obtenidos con el pasto Taiwán fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4).

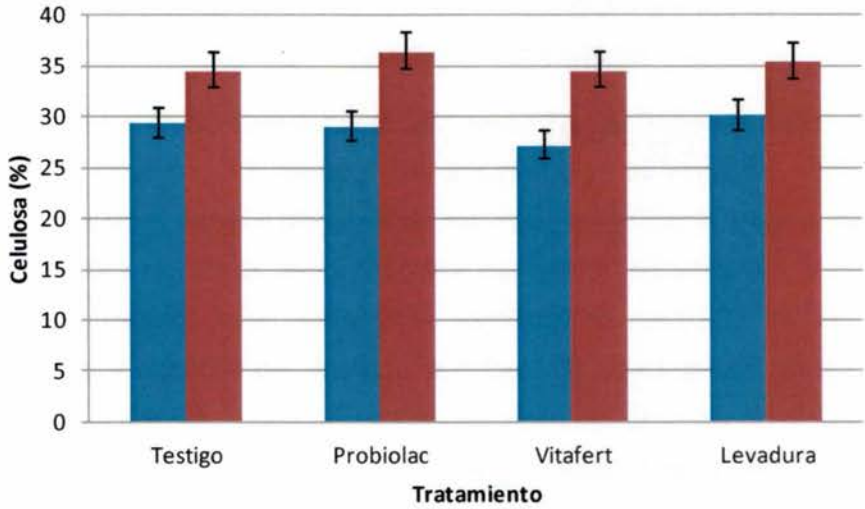


Figura 41. Valores de celulosa obtenidos con el sorgo negro fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4).

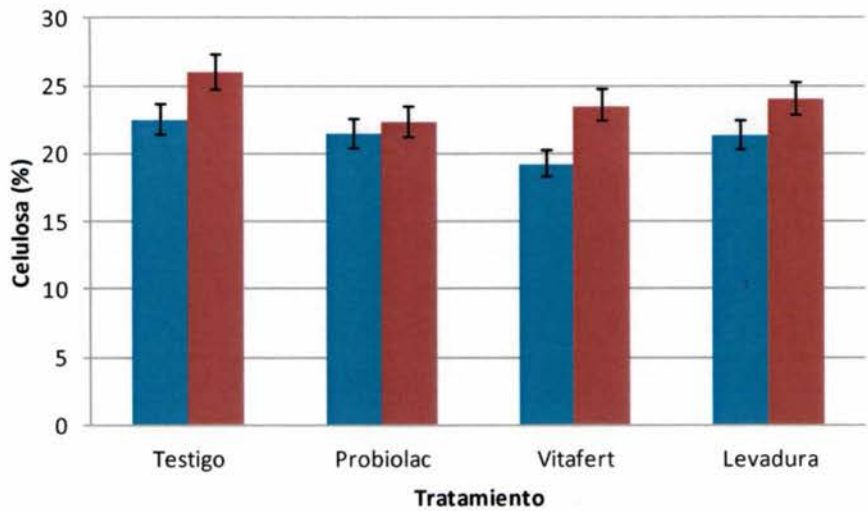


Figura 42. Valores de celulosa obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4).

Resultados menores a los generados con el pasto Taiwán y el sorgo negro obtuvieron Gutiérrez *et al.* (2003) con ensilados de desechos de piña sin aditivos (32,19% celulosa) y López *et al.* (2016) con ensilaje de corona de piña y con inclusión de urea al 1,5% (28,38% celulosa al añadir PCD y 32,72% celulosa al añadir heno). Por su parte Elizondo y Campos (2014) al ensilar cáscara de piña con adición de 1% urea (25,18% celulosa) y López *et al.*

(2009) con ensilaje de rastrojo de piña y la adición de melaza e inóculos (27,20% celulosa) alcanzaron valores ligeramente mayores a los obtenidos con los silos de cáscara de piña.

Con los valores de hemicelulosa, al usar pasto Taiwán hubo diferencias significativas ($p<0,05$) antes y después del proceso de ensilaje con el Probiolac, con los demás tratamientos se mantuvo estable (Figura 43). Además, luego del ensilaje hubo diferencias significativas ($p<0,05$) al utilizar levadura sobre los demás tratamientos (Figura 43). Con respecto al sorgo negro, hubo diferencias significativas ($p<0,05$) en los valores de hemicelulosa antes y después del ensilado al utilizar los tratamientos testigo, Probiolac y Vitafert (Figura 44). Además, hubo diferencias significativas ($p<0,05$) entre los tratamientos testigo y Vitafert comparado con la levadura y el Probiolac (Figura 44). Por su parte, los valores de hemicelulosa al utilizar la cáscara de piña aumentaron de manera significativa ($p<0,05$) cuando se utilizó el Probiolac y el Vitafert (Figura 45). Además, luego del proceso de conservación hubo diferencias significativas ($p<0,05$) entre los tratamientos testigo y Vitafert con respecto al Probiolac y la levadura (Figura 45).

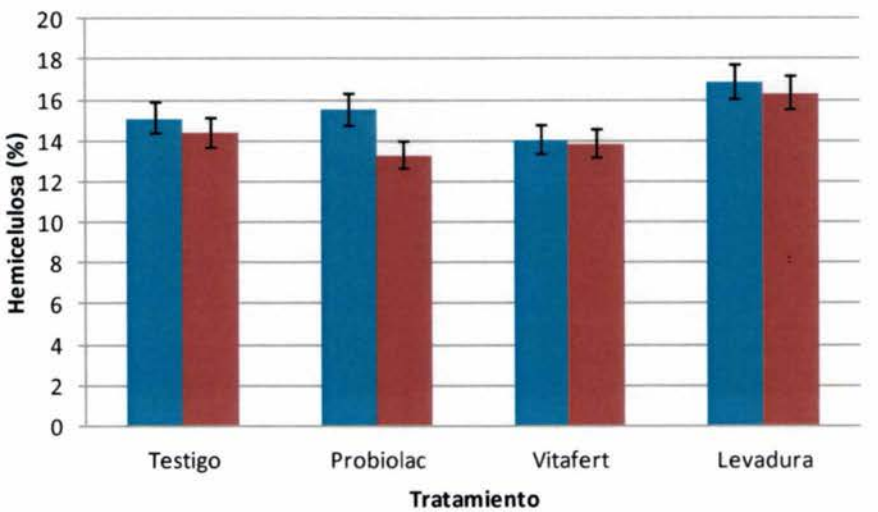


Figura 43. Valores de hemicelulosa obtenidos con el pasto Taiwán fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4).

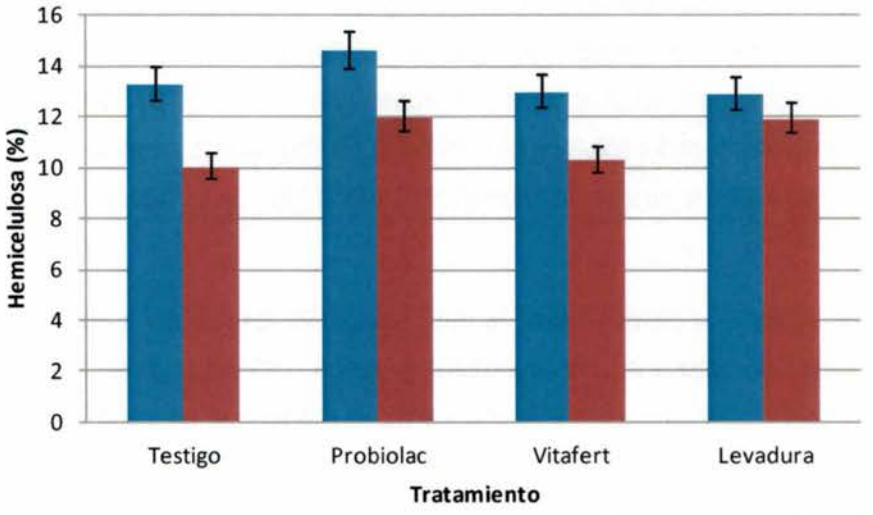


Figura 44. Valores de hemicelulosa obtenidos con el sorgo negro fermentado en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4).

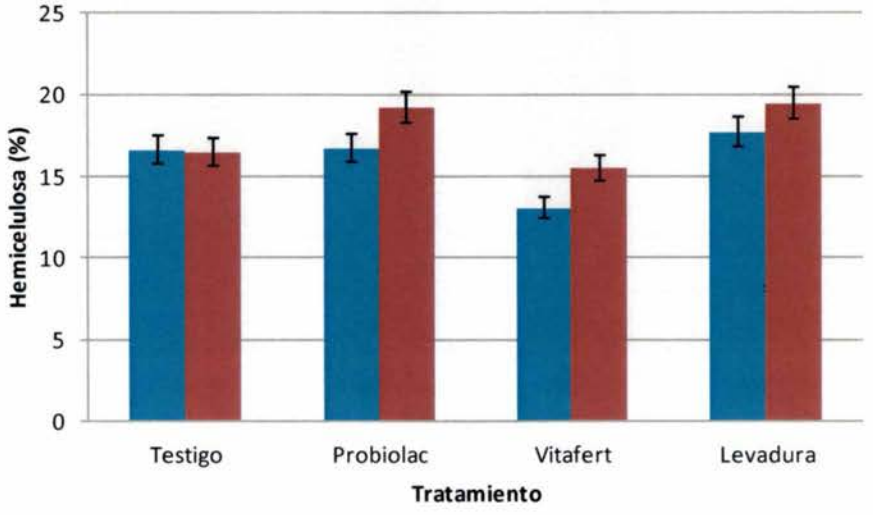


Figura 45. Valores de hemicelulosa obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4).

Elizondo y Campos (2014) ensilaron cáscara de piña con adición de urea al 1% y obtuvieron un valor de hemicelulosa de 12,63%, cercano a los obtenidos en el presente estudio con pasto Taiwán y sorgo negro. Por su parte, López *et al.* (2009) con ensilaje de rastrojo de piña y la adición de melaza e inóculos alcanzaron un valor de hemicelulosa similar (18,90%) al obtenido en los silos de cáscara de piña, resultado equivalente al

reportado por López *et al.* (2016) al ensilar corona de piña con adición de 1,5% urea y al agregar PCD (18,70%), sin embargo al agregar heno la hemicelulosa aumenta significativamente (27,10%). Otros resultados superiores a los obtenidos en el presente estudio obtuvieron Gutiérrez *et al.* (2003) (31,69% hemicelulosa con ensilaje de desechos de piña sin aditivos) y Alpízar *et al.* (2014) (24,21% hemicelulosa con ensilaje de sorgo y adición de melaza).

Con respecto a los valores de lignina, con el pasto Taiwán y el sorgo negro no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) antes y después del proceso de ensilaje ni entre tratamientos. En el caso de la cáscara de piña hubo diferencias significativas ($p<0,05$) antes y después del ensilado, donde los valores de lignina aumentaron (Figura 46). Además, hubo diferencias significativas luego del proceso entre los tratamientos Probiolac y Vitafert comparado con el testigo y la levadura (Figura 46).

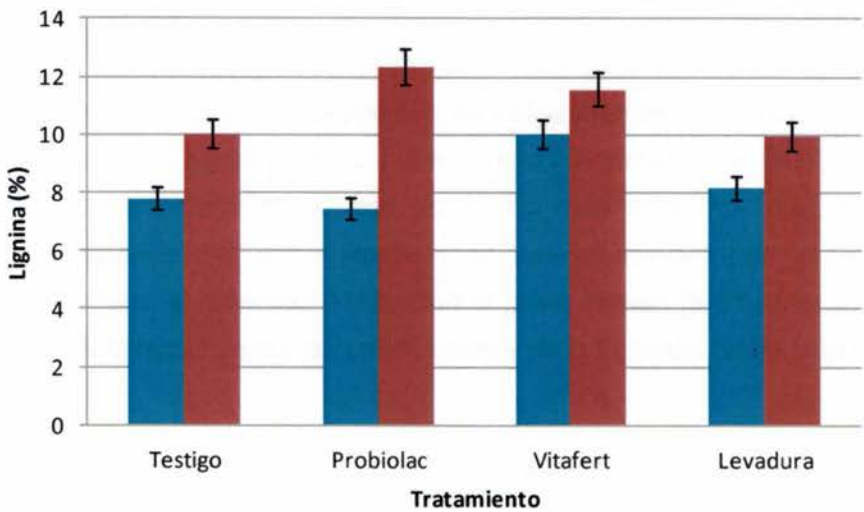


Figura 46. Valores de lignina obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4).

Valores de lignina similares a los obtenidos con la cáscara de piña y mayores que con pasto Taiwán obtuvieron Araujo-Febres *et al.* (1996) con ensilaje de pasto elefante enano con varios niveles de urea y melaza (10,16% y 8,97% a 35 y 63 días de corte) y Elizondo y Campos (2014) con ensilados de cáscara de piña con adición al 1% de urea (12,04%). Además, Gutiérrez *et al.* (2003) (1,95% lignina en ensilados de desechos de piña), López *et al.* (2009) (2,66% lignina en ensilaje de rastrojo de piña) y López *et al.* (2016) (1,76% y

2,46% lignina al añadir PCD y heno respectivamente en ensilaje de corona de piña con 1,5% urea) reportan resultados cercanos a los alcanzados con sorgo negro en este trabajo.

En este estudio con todos los tratamientos y con los tres sustratos hubo un aumento en los componentes de la pared celular (FDN, FDA, celulosa y hemicelulosa en la cáscara de piña) luego del ensilaje. Esto se puede asociar a que debido a la pérdida de proteína por degradación proteolítica durante la fermentación (Alpízar *et al.* 2014) hay un efecto de concentración de los componentes fibrosos y por eso aumentan los valores.

Los altos valores de FDN (58-63%) y FDA (44-48%) alcanzados con el pasto Taiwán podrían afectar la calidad nutricional y el consumo en los animales, además del nivel de inclusión en la dieta, ya que se genera un llenado físico mayor, hay menor degradación de MS en el rumen y además disminuye la digestibilidad del material a nivel ruminal (Sánchez 2012, Elizondo y Campos 2014). Dichos resultados se deben a la tardía edad en que se cosechó el pasto Taiwán. Con el sorgo negro y la cáscara de piña se obtienen valores más bajos y este inconveniente sería menor.

En el caso de la lignina es normal que sus valores aumenten ligeramente en procesos de fermentación, pues su degradación es poca o nula (Gutiérrez *et al.* 2003). Al utilizar cáscara de piña se alcanzaron los niveles de lignina más altos (10-12%), esto afecta negativamente la digestibilidad del material y el aprovechamiento de la celulosa y hemicelulosa a nivel ruminal (Sánchez 2012). Con el pasto Taiwán (5-6%) y el sorgo negro (2-4%) los valores de lignina no sería un condicionante en la inclusión de los sustratos en la dieta.

Diversos autores (Gutiérrez *et al.* 2003, López *et al.* 2009, Elizondo y Campos 2014, López *et al.* 2014b) obtuvieron resultados diferentes a los del presente estudio, donde los valores de los componentes fibrosos disminuyen luego del proceso de conservación. Lo atribuyen a la duración del periodo de ensilaje o a una posible participación de la fibra en el proceso fermentativo del ensilado, donde hay acción de ciertas especies de la microflora capaces de producir celulasas y hemicelulasas extracelulares y así los polisacáridos son reducidos y utilizados como fuente de carbohidratos. Esto podría explicar el comportamiento de los valores de hemicelulosa al utilizar sorgo negro como sustrato, pues dichos valores se redujeron en los cuatro tratamientos luego del ensilaje.

Según lo observado en algunos estudios (Gutiérrez *et al.* 2003, Elizondo y Campos 2014, López *et al.* 2014b, López *et al.* 2016) el cambio en los valores de las paredes celulares podría depender de los contenidos iniciales de dichos nutrientes en los sustratos y de los ingredientes que se le añadan para el proceso de ensilaje, ya que estas diferencias pueden hacer que aumenten o bajen. Elizondo y Campos (2014) y López *et al.* (2016) obtuvieron un aumento en los valores de fibra con la incorporación de heno. Por su parte, la pollinaza reduce el contenido de FDN, celulosa y hemicelulosa pero aumenta el de FDA y lignina (Gutiérrez *et al.* 2003). Asimismo, la PCD y la melaza reducen los valores fibrosos (López *et al.* 2014b), sin embargo la PCD aumenta los valores de lignina según López *et al.* (2016).

Elizondo y Campos (2014), López *et al.* (2014b) y López *et al.* (2016) indican que la inclusión de la urea disminuye los valores de FDN y FDA, ya que los microorganismos pueden aprovechar el NNP de la urea y los carbohidratos fibrosos para su actividad y esto mejora la digestibilidad del alimento. Sin embargo, Rodríguez *et al.* (2014) no obtuvieron diferencias en la FDN ni en la FDA al agregar urea ni melaza deshidratada con minerales (minelaza). En el presente estudio esto tampoco ocurrió, pues para el momento del ensilaje aun habían remanentes de NNP provenientes de la urea en las mezclas de los sustratos y los valores de FDN y FDA aumentaron luego del proceso de conservación.

4.4.4.6. Cenizas

En el Cuadro 8 se presentan los valores de cenizas al final de la fermentación y en el Cuadro 16 se presentan los valores de cenizas luego del ensilaje para el pasto Taiwán, el sorgo negro forrajero y la cáscara de piña con los distintos tratamientos. Con el pasto Taiwán y el sorgo negro no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) en los valores de cenizas antes y después del proceso de ensilaje ni entre tratamientos. En el caso de la cáscara de piña si hubo diferencias significativas ($p<0,05$) antes y después del ensilaje, donde los valores aumentaron con todos los tratamientos (Figura 47). Sin embargo, no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) entre tratamientos luego del proceso de conservación.

Cuadro 16. Composición química y nutricional de la cáscara de piña fermentada en estado sólido luego del proceso de ensilaje.

	Cenizas, %			
Sustrato	Testigo	Probiolac	Vitafert	Levadura
Pasto Taiwán	15,46	15,60	15,15	15,26
Sorgo negro	13,76	15,26	14,86	15,73
Cáscara de piña	11,32	11,86	11,61	11,23

n=4.

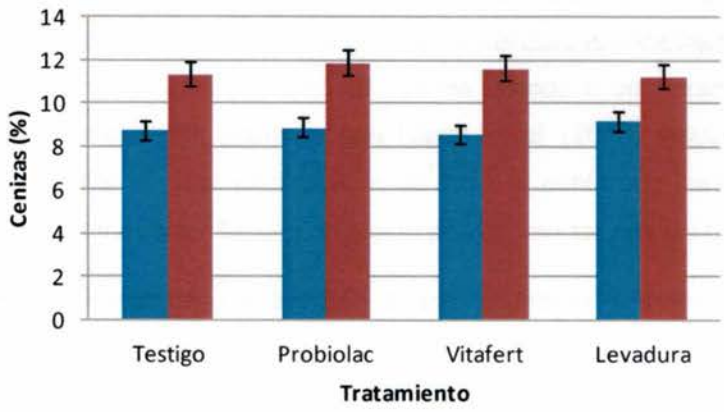


Figura 47. Valores de cenizas obtenidos con la cáscara de piña fermentada en estado sólido antes (azul) y luego (rojo) del proceso de ensilaje (n=4).

Resultados similares a los alcanzados con la cáscara de piña obtuvieron Rodríguez *et al.* (2014) con ensilaje de rastrojo de piña y varios niveles de melaza deshidratada y adición de urea al 1,5% (11,03% cenizas) y López *et al.* (2009) con ensilaje de rastrojo de piña con adición de melaza e inóculos (10,00% cenizas). Los resultados obtenidos en el presente estudio con pasto Taiwán y sorgo negro superan a los reportados por Álvarez *et al.* (2011) (8,50% cenizas en ensilaje de bagacillo de retorno luego de FES), Alpízar *et al.* (2014) (9,01% cenizas en ensilaje de sorgo con adición de melaza), Elizondo y Campos (2014) (5,63% cenizas con ensilaje de cáscara de piña con adición de urea), López *et al.* (2014b) (9,32% cenizas con ensilados de rastrojo de piña con inclusión de melaza y 1,5% de urea) y López *et al.* (2016) (7,80% y 8,69% cenizas con ensilaje de corona de piña con 1,5% urea y al añadir PCD y heno respectivamente).

En este estudio no hubo disminución en los valores de cenizas atribuido a que las pérdidas de nutrientes por efluentes fueron pocas o nulas. El aumento ocurrido al utilizar la

cáscara de piña podría deberse a un efecto de concentración de estos minerales en los lixiviados al fondo del silo, en el cual una vez abiertos se mezcla todo el material para homogenizar y se toma la muestra mezclada, sin embargo esto no ocurrió con el sorgo donde se siguió el mismo procedimiento para la toma de muestras.

Además, no hubo incorporación de ingredientes ni aditivos a la hora de realizar el proceso de ensilaje que pudieran influenciar un cambio de dichos valores. López *et al.* (2009) reportan que añadir aditivos en comparación al ensilaje de rastrojo de piña solo hace que bajen los valores de ceniza. Rodríguez *et al.* (2014) y Gutiérrez *et al.* (2003) reportan que al añadir minelaza y pollinaza a los ensilajes los valores de cenizas aumentaron. Resultados similares obtuvieron López *et al.* (2014b) al encontrar diferencias en ensilajes sin aditivos y con inclusión de urea, donde la urea aumentó los valores aunado a un incremento en la MS según el nivel de urea adicionado. Mientras que López *et al.* (2016) indican un resultado inverso, donde al aumentar el nivel de inclusión de urea el contenido mineral se redujo, aunque la adición de PCD y de heno si tuvo un efecto positivo en los niveles de cenizas.

4.5. Estimación de los costos de preparación de los sustratos fermentados en estado sólido y de los métodos de conservación

Para la estimación de los costos de preparación de los fermentados se tomó en cuenta la compra de ingredientes e insumos necesarios. En este caso se ocupaba para cada sustrato: 1,4 L de suero de leche (₡112); 240 mL yogurt (₡265); 250 g levadura de pan (₡665); harina de soya y semolina de arroz 80 g cada uno por lo que no se toman en cuenta ya que el costo es muy bajo y no influye; 25,1 kg melaza (₡113.kg^{-1}, es decir ₡2.835); 7,2 kg urea (₡270.kg^{-1}, es decir ₡1.950); 3,6 kg sulfato de amonio (₡210.kg^{-1}, es decir ₡750) y 2,4 kg mezcla mineral (₡990.kg^{-1}, es decir ₡2.375), lo que suma un total de ₡8.840 por sustrato.

Con respecto a los costos de corta y acarreo se consideraron por igual para el pasto Taiwán y del sorgo negro, en donde se estima un costo de ₡10.kg^{-1}, es decir ₡4.500 en total para los 450 kg por sustrato. El costo de la compra y transporte de la cáscara de piña se estimó en ₡15.kg^{-1}, es decir ₡6.750 total para los 450 kg.

El costo de la mano de obra se estimó utilizando el salario mínimo para un peón agrícola, establecido por el Ministerio de Trabajo y Seguridad Social en el año 2017, de ₡9.800 la hora más un 45% de las cargas sociales, es decir ₡14 210 por hora. Con respecto al secado del material, se estima que un trabajador requiere de una hora para disponer todo

el material en el invernadero, lo que significa un costo de mano de obra de ₡14 210 por sustrato. Para el ensilaje, se estima que una persona deposita y compacta el material y sella una bolsa en 10 minutos, por lo que para 16 bolsas se tiene una duración de 2 horas y media, es decir la mano de obra tiene un costo de ₡37 900 por sustrato. Además, cada bolsa tiene un costo de ₡500, para un total de ₡8.000 por sustrato.

En el Cuadro 17 se presentan los costos obtenidos para la preparación de los materiales fermentados en estado sólido y los costos según el proceso de conservación. Los ingredientes cuyo costo impactan más el proceso son la melaza, la urea y la mezcla mineral. Sin embargo, el costo de la mano de obra es el más influyente en el valor total de los sustratos fermentados en estado sólido (50,9%) y según el método de conservación (secado 51,6% y ensilado 64,0%).

El costo de preparación de la cáscara de piña fermentada en estado sólido es el más elevado, ya que el costo de la compra y transporte del material es mayor que el del corte y acarreo del pasto Taiwán y el sorgo negro en la finca. Esto hace que, por arrastre, el costo luego de ambos procesos de conservación sea mayor en dicho sustrato.

Los costos de preparación de 1 kg MS de material fermentado son mayores con el sorgo negro y la cáscara de piña comparados con el pasto Taiwán. Esto debido a que los valores de MS son menores en dichos sustratos, es decir, en los 450 kg de material fresco hay menor cantidad de MS con el sorgo negro (78,21 kg MS) y la cáscara de piña (92,79 kg MS) que con el pasto Taiwán (147,02 kg MS). Lo mismo ocurre luego del proceso de ensilaje, donde en el pasto Taiwán ensilado (159,12 kg MS) hay mayor volumen de materia seca que con el sorgo negro ensilado (70,56 kg MS) y la cáscara de piña ensilada (81,68 kg MS). Luego del proceso de secado los costos por kg MS se igualan, esto debido a que el proceso fue más eficiente con el sorgo negro y la cáscara de piña y alcanzaron valores de MS final similares al del pasto Taiwán.

Cuadro 17. Costos de preparación de los tres sustratos fermentados en estado sólido y costos según el método de conservación.

Costo de preparación, ₡	Sustrato		
	Pasto Taiwán	Sorgo negro	Cáscara de piña
Total sustrato FES	13340,00	13340,00	15590,00
kg MF sustrato FES	29,64	29,64	34,64
ton MF sustrato FES	29644,44	29644,44	34644,44
kg MS sustrato FES	90,74	170,57	168,01
Total sustrato FES secado	27550,00	27550,00	29800,00
kg MF sustrato FES secado	61,22	61,22	66,22
ton MF sustrato FES secado	61222,22	61222,22	66222,22
kg MS sustrato FES secado	76,71	75,85	75,06
Total sustrato FES ensilado	59240,00	59240,00	61490,00
kg MF sustrato FES ensilado	131,64	131,64	136,64
ton MF sustrato FES ensilado	131644,44	131644,44	136644,44
kg MS sustrato FES ensilado	372,30	839,57	752,82

Los costos de preparación de 1 kg MS de ensilaje con cualquiera de los tres sustratos luego de la FES son mayores que los costos de producir 1 kg MS de un ensilado de maíz (₡85.kg^{-1}) con un promedio de 29% MS y de un ensilado de rastrojo de piña (₡62,44.kg^{-1}) con adición de 3% de melaza y 5% de PCD (López *et al.* 2009). Se debe considerar que los costos de elaboración de 1 kg MS ensilada en el presente estudio son mayores debido a que acarrean los costos de la elaboración del proceso de FES (ingredientes y mano de obra). Además, lo antes mencionado con los bajos valores de MS del sorgo negro y la cáscara de piña elevan el costo final por kg MS luego del ensilado y el secado.

5. CONCLUSIONES

La fermentación en estado sólido es un proceso biotecnológico que permite mejorar las características nutricionales de productos o subproductos agroindustriales y generar un alimento energético-proteico de buena calidad para el consumo de rumiantes, el cual según su composición nutricional final varía el posible nivel de inclusión en la dieta.

Durante la FES es necesario monitorear los parámetros de temperatura y pH. La temperatura puede oscilar entre 30 a 40°C y el pH rondar valores entre 3,5 a 5,0, aunque puede llegar hasta 6,0 sin afectar la actividad metabólica de los microorganismos. Valores superiores a los 40°C pueden afectar la calidad nutricional del material final, por lo que es necesario realizar el volteo y aireación.

El aumento en la temperatura ocurre por la generación de calor durante la síntesis de biomasa microbial. El punto máximo de temperatura alcanzado depende de la cantidad de carbohidratos y nitrógeno disponible en los sustratos. A las 24 horas de fermentación se alcanza un punto óptimo de síntesis de biomasa.

El pH al finalizar la FES es afectado por el pH inicial de los sustratos utilizados, del uso de aditivos y el nivel usado de fuentes de nitrógeno.

El pH disminuye debido a la volatilización del NH_3 y a la utilización del mismo por parte de los microorganismos. Cuando aumenta ocurre por hidrólisis de la urea y liberación y acumulación de nitrógeno amoniacal.

Los valores de MS al finalizar la fermentación aumentan debido la incorporación de ingredientes con bajos valores de humedad y a la evaporación de agua durante la FES.

En el presente estudio no hubo diferencias entre la PC final con la incorporación de inóculos y con el tratamiento testigo. La diferencia entre la PC de los sustratos originales y luego de la FES se atribuye principalmente a la acumulación de NNP proveniente de la urea.

Los valores de los componentes de la pared celular disminuyen luego de la mezcla de los sustratos con los aditivos por efecto de dilución. Al finalizar la fermentación, aumentan ligeramente debido al consumo de carbohidratos solubles del contenido celular y en menor medida de los estructurales.

Los altos valores obtenidos de FDN y FDA con el pasto Taiwán y de lignina con la cáscara de piña pueden limitar su uso e inclusión en la alimentación de rumiantes.

El contenido de cenizas de los sustratos luego de la FES varía principalmente por el aporte mineral de los aditivos e ingredientes utilizados.

Luego del secado del material, el pH tiende a aumentar por un efecto de concentración del NNP debido a la pérdida de humedad. Los valores de MS alcanzaron niveles superiores al 80% por lo que el proceso fue eficiente. Los valores de PC disminuyen al utilizar cáscara de piña como sustrato debido a la volatilización del NH_3, esto hace que los valores de FDN aumenten por efecto de compensación. Sin embargo los valores finales obtenidos son de buena calidad nutricional, por lo que el secado es un método de conservación efectivo con productos fermentados.

Luego del ensilaje, el pH no alcanzó los niveles deseados en este proceso, pues no hubo un descenso inicial del mismo debido a los altos valores de pH de los sustratos luego de la FES. Además, por un desbalance entre el nitrógeno proteico (valores altos) y los carbohidratos solubles (valores bajos).

Con los tratamientos de Probiolac y levadura hubo un importante incremento en los valores de pH y de N-NH_3. Esto se ve reflejado en los resultados del análisis organoléptico, en la disminución de los valores de PC y en el aumento de los valores fibrosos de manera compensatoria.

Al utilizar sorgo negro y cáscara de piña como sustratos se obtuvieron los mejores resultados a nivel nutricional luego de la FES, sin diferencias entre los tratamientos. El método de conservación más efectivo fue el secado. Luego del ensilaje, con los tratamientos testigo y Vitafert hubo menor degradación proteica, los valores de fibra varían poco y se producen ensilajes de mejor calidad, con respecto al utilizar los tratamientos Probiolac y levadura.

6. RECOMENDACIONES

Al realizar el proceso de fermentación en estado sólido de manera rústica es necesario asegurar una capa de biomasa de 10 a 15 cm de altura, ya que mejora las condiciones fermentativas y permite un aumento más controlado de la temperatura a través del volteo y la aireación, evitando así que suba en exceso y afecte el proceso.

Es recomendable seguir las indicaciones de otros estudios, en donde las fuentes de nitrógeno no proteico utilizadas no sobrepasen niveles de inclusión mayores al 3%, ya que puede ocasionar un aumento en los valores de pH (concentración de NH_3) y además una desincronización con los carbohidratos solubles disponibles que afecte el proceso de fermentación. También, el valor final de PC se verá incrementado en gran parte debido al aporte de NNP y no tanto por la síntesis de biomasa microbial que es lo que se desea. Además, niveles muy altos de NNP podrían causar efectos adversos a la salud de los animales (intoxicación).

Cuando se utilizan pastos o forrajes para el proceso de FES es ideal que estos posean valores al menos de 20 a 25% MS, pues se facilita la generación de calor metabólico y alcanzar temperaturas donde el crecimiento microbiano es mayor, además se reducen las pérdidas de nutrientes por lixiviación. Si se utilizan subproductos agrícolas se puede utilizar materiales con al menos 15% MS. Si el material a utilizar contiene mucha humedad se puede valorar la opción de realizar un presecado del material previo a la fermentación o la adición de materiales secantes (heno, citropulpa deshidratada, pollinaza, entre otros).

Es recomendable evitar el uso de materiales con estados vegetativos muy avanzados, ya que sus contenidos de componentes fibrosos son altos y los componentes celulares son más limitados. Esto hace que los nutrientes estén menos disponibles para la fermentación y el alimento final será de menor calidad.

Sería de gran aporte generar estudios futuros similares a este, ya que el tema de la FES en el país no está difundido y puede ser de gran ayuda para los ganaderos. Además no hay datos generados en las condiciones de nuestro medio. Asimismo es recomendable, de ser posible, realizar el análisis de laboratorio para la determinación de la proteína verdadera (fraccionamiento de la proteína). De esta forma se determina de manera más exacta cuánto de la PC final aumenta por aporte de NNP y cuánto por NP. También, efectuar el análisis de digestibilidad in vitro indicaría qué tanto se aprovechan estos alimentos a nivel ruminal.

Para conservar materiales fermentados en estado sólido, se recomienda realizar el secado bajo el sol y de ser posible bajo un invernadero, también se puede hacer en instalaciones con buena ventilación y con techo para la protección del material en caso de lluvia y del rocío.

Para el proceso de ensilaje se recomienda añadir melaza y aditivos que permitan la acidificación rápida del medio (bacterias ácido lácticas o ácidos orgánicos) cuando los valores de pH inicial son mayores a 5,0 y cuando los valores de PC son altos, de esta forma se busca reducir la degradación proteica y una mejor conservación del material. Además, si el contenido de MS es muy bajo (valores menores a 20%) se recomienda realizar un proceso de presecado antes del ensilaje (henilaje) o la adición de materiales secantes (heno, citropulpa deshidratada, pollinaza, entre otros).

7. LITERATURA CITADA

ALPÍZAR A., CAMACHO M., SÁENZ C., CAMPOS M., ARECE J., ESPERANCE M. 2014. Efecto de la inclusión de diferentes niveles de morera (*Morus alba*) en la calidad nutricional de ensilajes de sorgo (*Sorghum almum*). Rev. Pastos y Forrajes 37(1): 55-60.

ÁLVAREZ L., MENDOZA G., ARANDA E., RAMOS J., MORA O., HERNÁNDEZ P., GARCÍA-BOJALIL C. 2011. Efecto del nivel de sustitución del bagacillo de retorno (Pachaquil), fermentado en estado sólido y ensilado, en el comportamiento productivo de vaquillas en el trópico. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 45(3): 257-260.

AMADOR A., BOSCHINI C. 2000. Calidad nutricional del sorgo negro forrajero (*Sorghum almum*) para alimentación animal. Agronomía Mesoamericana 11(2): 79-84.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C., USA.

AOAC. 2002. Official Methods 2001.11 Protein (crude) in animal feed, forage (plant tissue), grain and oilseeds. Block digestion method using copper catalyst and steam distillation into boric acid. First action 2001. J.AOAC (2): 4-11.

ARANDA E., GEORGANA L., RAMOS J., SALGADO S. 2012. Elaboración de un alimento basado en caña de azúcar a partir de la fermentación en estado sólido y con diferentes niveles de zeolitas. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 46(2): 159-163.

ARAUJO-FEBRES O., MÁRQUEZ-ARAQUE A., FERRER O., PIRELA A. 1996. Evaluación cualitativa de silaje de pasto elefante enano (*Pennisetum purpureum* cv. Mott) a diferentes edades de corta y adicionando urea y melaza. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ) 13(4): 371-380.

ARAYA E., JIMÉNEZ C., SOTO H., QUAN A. 1997. Evaluación del potencial productivo del sorgo negro forrajero (*Sorghum almum*). Agronomía Mesoamericana 8(2): 90-95.

ARAYA M., BOSCHINI C. 2005. Producción de forraje y calidad nutricional de variedades de *Pennisetum purpureum* en la meseta central de Costa Rica. Agronomía Mesoamericana 16(1): 37-43.

BEMHAJA M. 2000. Pasto Elefante (*Pennisetum purpureum Schum*) INIA Lambaré. Boletín de divulgación 72. INIA. Montevideo, Uruguay.

BOSCHINI C. 2000. Consumo de morera (*Morus* alba) y sorgo negro forrajero (*Sorghum almum*) en ganado Jersey. Agronomía Mesoamericana 11(2): 73-77.

BOSCHINI C., AMADOR A. 2001. Degradabilidad ruminal de la planta de sorgo negro forrajero (*Sorghum almum*) en diferentes edades de crecimiento. Agronomía Mesoamericana 12(2): 169-174.

BOSCHINI C., ELIZONDO J. 2003. Curso teórico y práctico de ensilaje de forrajes. 1ra Edición. Editorial de la Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. 69 p.

BOSCHINI C., ELIZONDO J. 2005. Determinación de la calidad y producción de sorgo negro forrajero (*Sorghum almum*) en edades para ensilar. Agronomía Mesoamericana 16(1): 29-36.

BLANDINO G., PINEDA J. 2015. Caracterización nutricional de la fermentación en estado sólido de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) con diferentes niveles de inclusión de harina de granos de Canavalia (*Canavalia ensiformis*). Tesis de graduación. Universidad Nacional Agraria, Nicaragua.

CÁRDENAS J., ARANDA E., HERNÁNDEZ D., LAGUNES L., RAMOS J., SALGADO S. 2008. Obtención de un alimento fermentado en estado sólido a partir del bagacillo de retorno, pulido de arroz e inóculos. Su utilización en la alimentación animal. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 42(2): 173-176.

CASTILLO M., ROJAS-BOURRILLÓN A., WINGCHING-JONES R. 2009. Valor nutricional del ensilaje de maíz cultivado en asocio con vigna (*Vigna radiata*). Agronomía Costarricense 33(1): 133-146.

CASTILLO Y., RUIZ O. 2013. Fermentación en Estado Sólido (FES) de subproductos agroindustriales como alternativa para obtener alimento animal. En: Alternativas de la Cadena del Valor . Primer Congreso Internacional Agromerca. 1 ed. Ciudad Juárez, México. 53-63.

CHACÓN P., VARGAS F. 2009. Digestibiidad y calidad del *Pennisetum purpureum* cv. King Grass a tres edades de rebrote. Agronomía Mesoamericana 20(2): 399-408.

COSTA M., TORRES M., MAGARIÑOS H., REYES A. 2010. Producción y purificación parcial de enzimas hidrolíticas de *Aspergillus ficuum* en fermentación sólida sobre residuos agroindustriales. Revista Colombiana de Biotecnología 12(2):163-175.

DÍAZ-PLASCENCIA D. 2006. Producción de proteína microbial a partir de manzana de desecho adicionada con urea y pasta de soya. Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias. Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua, México.

DÍAZ-PLASCENCIA D., RODRÍGUEZ-MUELA C., MANCILLAS-FLORES P., ANGULO C., SALVADOR F., RUÍZ O., RUBIO H., MENA S., ELÍAS A. 2010. Desarrollo de un inóculo con diferentes sustratos mediante fermentación sólida sumergida. Revista Electrónica de Veterinaria 11(10): 1-11.

ELÍAS A., AGUILERA L., RODRÍGUEZ Y., HERRERA F. 2009. Inclusión de niveles de harina de granos de *Canavalia ensiformis* en la fermentación de la caña de azúcar en estado sólido (Sacchacanavalia). Revista Cubana de Ciencia Agrícola 43(1): 51-54.

ELÍAS A., LEZCANO O., LEZCANO P., CORDERO J., QUINTANA L. 1990. Reseña descriptiva sobre el desarrollo de una tecnología de enriquecimiento proteico en la caña de azúcar mediante fermentación en estado sólido (Saccharina). Revista Cubana de Ciencia Agrícola 24(1): 3-12.

ELÍAS A., LEZCANO O., HERRERA F. 2001. Algunos indicadores bromatológicos y productos finales de la fermentación para la obtención de cuatro tipos de Saccharina inoculados con Vitafert. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 35(2): 153-158.

ELIZONDO-SALAZAR J. 2004a. Calidad nutricional y consumo de morera (*Morus alba*), ramio (*Bohemeria nivea* (L)GAUD) y sorgo negro forrajero (*Sorghum almum*) en cabras. Agronomía Mesoamericana 15(2): 209-213.

ELIZONDO-SALAZAR J. 2004b. Consumo de sorgo negro forrajero (*Sorghum almum*) en cabras. Agronomía Mesoamericana 15(1): 77-80.

ELIZONDO-SALAZAR J., CAMPOS-GRANADOS C. 2014. Características nutricionales de la cáscara de piña ensilada con cantidades crecientes de urea y heno. Revista Nutrición Animal Tropical 8(2): 51-71.

ELIZONDO-SALAZAR J., JIMÉNEZ J.P. 2014. Balance de fósforo en fincas para la producción de leche en siete cantones de la región Huetar Norte y región Central de Costa Rica. Agronomía Costarricense 38(1): 189-197.

ESCUDERO J., DAZA Z., GIL N., MORA O. 2013. Evaluación de las enzimas celulolíticas producidas por hongos nativos mediante fermentación en estado sólido (SSF) utilizando residuos de cosecha de caña de azúcar. Revista Colombiana de Biotecnología 15(1): 108-117.

GÓMEZ-GARZA R., REYES-MORENO C., ROMERO-URÍAS C., MILÁN-CARRILLO J. 2000. Composición química y calidad nutritiva de garbanzo (*Cicerarietinum L.*) fresco y endurecido después de la fermentación en estado sólido (FES). Ciencia y tecnología de alimentos internacional 6(6): 251-258.

GONZÁLEZ-GARDUÑO R., TORRES-HERNÁNDEZ G., ARECE-GARCÍA J. 2011(a). Ganancia de peso en ovinos alimentados con pasto Taiwán (*Pennisetum purpureum*) suplementados con diversas fuentes de proteína. Rev. Avances en Investigación Agropecuaria 15(3): 3-20.

GONZÁLEZ I., BETANCOURT M., FUENMAYOR A., LUGO M. 2011(b). Producción y composición química de forrajes de dos especies de pasto Elefante (*Pennisetum sp.*) en el Noroccidente de Venezuela. Rev. Zootecnia Tropical 29(1): 103-112.

GUILLÉN A. 2009. Respuesta en la calidad nutricional del pasto elefante (*Pennisetum purpureum Schumach*) con una fuente química y una orgánica en el municipio de Villanueva (Casanere). Trabajo de graduación para obtener el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. Bogotá, Colombia.

GUTIÉRREZ D., ELÍAS A., GARCÍA R., HERRERA F., JORDÁN H., SARDUY L. 2012. Efecto del aditivo microbiano VITAFERT en el consumo de la materia seca y fibra neutro detergente en cabras Saanen alimentadas con heno de *Brachiaria brizantha*. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 46(3): 267-271.

GUTIÉRREZ F., ROJAS-BOURRILLÓN A., DORMOND H., POORE M., WINGCHING-JONES R. 2003. Características nutricionales y fermentativas de mezclas ensiladas de desechos de piña y avícolas. Agronomía Costarricense 27(1): 79-89.

HERNÁNDEZ-PÉREZ E., RAMÍREZ-NADER L. 2016. Evaluación de dos métodos de secado sobre la composición nutricional del heno de follaje de yuca (*Manihot esculenta* Crantz.). Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales 3: 83-90.

INSTITUTO DE CIENCIA ANIMAL. 1990. Saccharina rústica. (Caña enriquecida). Alimento para consumo animal. En: Folleto XXV Aniversario del Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y CENSO. 2015. VI Censo Nacional Agropecuario: Características de las fincas y de las personas productoras. 1^{era} edición. San José, Costa Rica.

LEZCANO O., ELÍAS A. 1992. Efecto de la temperatura y la urea en la fermentación de la caña de azúcar para producir Saccharina. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 26: 291.

LEZCANO P., MARTÍ J. 1997. A note on the fermentation time of rustic Saccharina. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 31:299.

LÓPEZ M. 2008. Valoración nutricional de los rastrojos de piña (*Ananas comosus*) como alternativa forrajera de bajo costo para la alimentación del ganado. Tesis de licenciatura. Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

LÓPEZ M., WINGCHING-JONES R., ROJAS-BOURRILLÓN A. 2009. Características fermentativas y nutricionales del ensilaje de rastrojo de piña (*Ananas comosus*). Agronomía Costarricense 33(1): 1-15.

LÓPEZ M., WINGCHING-JONES R.,·ROJAS-BOURRILLÓN A. 2014a. Meta-análisis de los subproductos de piña (*Ananas comosus*) para la alimentación animal. Agronomía Mesoamericana 25(2): 383-392.

LÓPEZ M., WINGCHING-JONES R., ROJAS-BOURRILLÓN A. 2016. Bromatología de ensilados de corona de piña con pulpa de cítricos, heno y urea. Agronomía Mesoamericana 27(1): 37-47.

LÓPEZ M., WINGCHING-JONES R., ROJAS-BOURRILLÓN A., RODRÍGUEZ-CHACÓN S. 2014b. Valor nutricional del ensilaje de rastrojo de piña con niveles crecientes de urea. Nutrición Animal Tropical 8(1): 1-20.

MADRIZ J. 2013. Situación actual y perspectivas del sector lácteo costarricense: Visión de la Cámara Nacional de Productores de Leche. 20° Congreso Nacional Lechero.

MAGLIANESI M. 2013. Desarrollo de las piñeras en Costa Rica y sus impactos sobre ecosistemas naturales y agro-urbanos. Revista Biocenosis 27(1-2): 62-70.

MONROY J., ARANDA E., MENDOZA G., RAMOS J., HERRERA J., COBOS M., IZQUIERDO F. 2006. Elaboración y conservación de Saccharina a partir de caña de azúcar integral, con la adición de melaza y pulidura de arroz. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 40(2): 167-172.

MOYANO M. 2014. Fermentación en estado sólido FES de la papa (*Solanum tuberosum*), como alternativa para la alimentación animal. Tesis de especialidad. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Colombia.

OLIVER A., GRANT R., PEDERSEN J., O'REAR J. 2004. Comparison of Brown Midrib-6 and -18 Forage Sorghum with Conventional Sorghum and Corn Silage in Diets of Lactating Dairy Cows. Journal of Dairy Science 87(3): 637-644.

PASTORIZA S. 2013. Efecto de la ingesta de compuestos avanzados de la reacción de Maillard sobre el metabolismo gastrointestinal. Tesis de doctorado. Universidad de Granada, España.

PASTRANA L. 1996. Fundamentos de la fermentación en estado sólido y aplicación a la industria alimentaria. Ciencia y Tecnología Alimentaria 1(3): 4-12.

PEÑAFIEL S., BRITO G., MUÑOZ G., ZABALA A., CHAFLA A. 2015. Utilización de residuos agroindustriales para la producción de proteína microbiana. European Scientific Journal 11(27): 199-208.

RAMOS J., ELÍAS A., HERRERA F. 2006. Procesos para la producción de un alimento energético-proteico para animales. Efecto de cuatro fuentes energéticas en la fermentación en estado sólido (FES) de la caña de azúcar. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 40(1): 51-58.

RAMOS J., ELÍAS A., HERRERA F., ARANDA E., MENDOZA G. 2007. Procesos para la producción de un alimento energético-proteico para animales. Efecto de niveles de miel final en la fermentación en estado sólido del Saccha-sorgo y Saccha-pulido. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 41(2): 139-143.

RODRÍGUEZ Y. 2005. Obtención de un alimento energético proteico a través de la FES de la caña de azúcar y el tubérculo de yuca. Tesis de Maestría en Ciencias Veterinarias. Universidad Agraria de La Habana/Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba.

RODRÍGUEZ-CHACÓN S., LÓPEZ M., WINGCHING-JONES R., ROJAS-BOURRILLÓN A. 2014. Adición de melaza deshidratada y urea en ensilados de rastrojos de piña. Agronomía Mesoamericana 25(2): 313-321.

RODRÍGUEZ Z., BOUCOURT R., ELÍAS A., HERRERA F., NÚÑEZ O. 2006. Efecto del grosor de la capa en la dinámica de fermentación de mezclas de caña (*Saccharum officinarum*) y boniato (*Ipomea batata Lam*). Revista Cubana de Ciencia Agrícola 40(2): 173-182.

RODRÍGUEZ Z., BOUCOURT R., ELÍAS A., MADERA M. 2001. Dinámica de fermentación de mezclas de caña (*Saccharum officinarum*) y boniato (*Ipomea batata*). Revista Cubana de Ciencia Agrícola 35(2): 147-151.

ROJAS-BOURRILLÓN A. 2011. Alimentación de bovinos con rastrojos de piña. Revista UTN Informa 58: 16-20.

ROJAS-BOURRILLÓN A., GAMOA L., VILLAREAL M., VÍQUEZ E., CASTRO R., POORE M. 2001. La sustitución de maíz por pulpa de cítricos deshidratad sobre la producción y composición láctea de vacas encastadas Holstein en el trópico húmedo de Costa Rica. Agronomía Costarricense 25(1): 45-52.

ROSALES R. 2006. Uso de la caña de azúcar en la alimentación animal. En: Congreso de la Asociación de Técnicos Azucareros de Costa Rica (ATACORI). Heredia, Costa Rica. Memoria. San José, Asociación de Técnicos Azucareros de Costa Rica (ATACORI). Tomo II: 859-864.

SÁNCHEZ J. 2010. Práctica en el Programa de Transferencia Tecnológica de la Cooperativa de Productores de Leche Dos Pinos R.L. Ciudad Quesada, San Carlos. Práctica de Bachillerato, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

SÁNCHEZ J. 2012. Satisfaciendo las necesidades de fibra del ganado lechero. Revista Ventana Lechera 20(6): 4-16.

SÁNCHEZ J., QUESADA G. 1998. Calidad nutricional de los forrajes en una zona con potencial alto para la producción de leche, en el Trópico Humedo de la Zona Norte de Costa Rica. Agronomía Costarricense 22(1): 61-68.

SÁNCHEZ M., SANTOS A., DUSTET J., GUERRA G., LEÓN T., ARGÜELLES J., RAMOS-LEAL M., MANZANO A., CASADO G., GÓMEZ B. 2007. Estudio fisiológico de una cepa de levadura con potencialidades para el enriquecimiento proteico del bagazo de caña de azúcar. Revista CENIC Ciencias Biológicas 38(1): 39-43.

STATICAL ANALISY SYSTEM. 2004. SAS/STAT®9.1 User's Guide. SAS Institute Inc. USA.

TORRES-SALADO N., ARANDA E., MENDOZA G., HERNÁNDEZ D., HERNÁNDEZ A., LANDOIS L., RAMOS J. 2007. Consumo y producción de leche de vacas doble propósito, suplementadas con Saccharina elaborada con caña quemada. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 41(3): 223-226.

VALDIVIÉ M., GONZÁLEZ L., ELÍAS A. 1997. Nuevos tipos de Saccharina para aves. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 31:231.

VAN SOEST P, ROBERTSON J. 1985. Analysis of forages and fibrous food. As 613. Cornell University, a laboratory manual. Department of Animal Science, Ithaca, NY, USA.

VAN SOEST P, ROBERTSON J., LEWIS B. 1991.Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74: 3583-3597.

VARGAS F. 2005. Valoración nutricional y degradabilidad ruminal de genotipos de sorgo forrajero (*Sorghum sp*). Agronomía Mesoamericana 16(2): 215-223.

VARGAS-RODRÍGUEZ F. 2008. Comparación productiva de forraje verde hidropónico de maíz, arroz y sorgo negro forrajero. Agronomía Mesoamericana 19(2): 233-240.

VARGAS-VILLALOBOS O., ELIZONDO-SALAZAR J. 2015. Respuesta productiva del ganado lechero ante el suministro de metionina sintética. Nutrición Animal Tropical 9(1): 24-38.

VÁZQUEZ M., SOLANO J., VÁZQUEZ R., ORIHUELA A., AGUIRRE V., FLORES F. 2008. Producción de forraje invernal de pasto Taiwán (*Pennisetum purpureum Schum*) en Morelos, México. Investigación Agropecuaria 5(2): 213-220.

VÁZQUEZ N., SOLANO J., VÁZQUEZ R., AGUIRRE V., BAHENA M., OLIVER R., GRANJENO A., ORIHUELA A., FLORES F. 2009. Efecto de enmiendas orgánicas y fertilizante químico en la producción de pasto Taiwán (*Pennisetum purpureum Schaum*). Investigación Agropecuaria 6(2): 205-218.

VÁZQUEZ J. 2001. El ensilaje de pulpa de naranja en el engorde de cordero. Tesis de Licenciatura. Universidad Zamorano, Honduras.

VIVAS N., CARVAJAL J. 2004. Saccharina rústica: Una aplicación biotecnológica para la alimentación animal. Facultad de Ciencias Agropecuarias 2(1): 43-48.

WILL J., VALLE G. 1990. Comportamiento del pasto Taiwán (Pennisetum purpureum) fertilizado con efluente de biogás en época de máxima precipitación pluvial. Agronomía Mesoamericana 1: 69-72.

WINGCHING-JONES R., ROJAS-BOURRILLÓN A. 2006. Composición nutricional y características fermentativas del ensilaje de maní forrajero. Agronomía Costarricense 30(1): 87-100.