



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**Efecto del nivel de inclusión y concentración de vinaza de caña (*Saccharum officinarum*) sobre los parámetros de fermentativos y calidad nutricional de un ensilaje de maralfalfa (*Penissetum sp.*)**

**Sergio Andrés Vargas Naranjo**

**Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias Agrarias  
Medellín, Colombia  
2014**

**Efecto del nivel de inclusión y concentración de  
vinaza de caña (*Saccharum officinarum*) sobre los  
parámetros de fermentativos y calidad nutricional  
de un ensilaje de maralfalfa (*Penisetum sp.*)**

**Sergio Andrés Vargas Naranjo**

**Trabajo de Investigación presentado como requisito para optar al título de:  
MAGISTER EN CIENCIAS AGRARIAS.**

**Director:**

**Rolando Barahona Rosales, Zoot., PhD.  
Profesor asociado Universidad Nacional de Colombia**

**Co-director:**

**Ricardo Rosero Noguera, Zoot., PhD.  
Profesor asociado Universidad de Antioquia**

**Línea de Investigación: Nutrición Animal**

**Grupo de Investigación:**

**GRICA  
BIOGEM**

**Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias Agrarias  
Medellín, Colombia  
2014**

“La historia está llena de sueños,  
que estimularon el ESFUERZO que finalmente convirtió estos sueños en realidad”.

Edward De Bono.

# AGRADECIMIENTOS

Expreso mis agradecimientos a:

Dios

Mi familia por su motivación y colaboración.

El profesor Jaime Ricardo Rosero Noguera de la Universidad de Antioquia por su acompañamiento, enseñanzas y confianza en mi persona y por abrirme las puertas de su grupo de investigación en nutrición animal GRICA, el Laboratorio NUTRILAB y permitir la utilización de los recursos que pertenecen a éste.

Al profesor Rolando Barahona Rosales de la Universidad Nacional Sede Medellín por la constante dirección, acompañamiento y apoyo en la realización de esta investigación.

A la Sede de Investigación Universitaria (SIU) de la Universidad de Antioquia, por la prestación de servicios en el laboratorio y por permitirme la utilización de los recursos que pertenecen a éste.

A mis amigos y compañeros de trabajo Omar Albeiro Ceballos, Natalia Medina, Monica Duque, Johana Marcela Acosta, Diana Ortiz, Ruben Darío Fernandez, Raul Velasquez, Silvio Ayala, Elizabeth Rendón, Juan Manuel Rojo, "Don Jesús", Gonzalo Honorio Villegas, Hugo Andrés Tamayo, Hector Jairo Correa Cardona y Omar Delmis Camargo quienes me ofrecieron consejos, acogida, apoyo incondicional y palabras de motivación en todo momento.

# **CONTENIDO**

**RESUMEN**

**ABSTRACT**

**LISTA DE FIGURAS**

**LISTA DE TABLAS**

**LISTA DE SIMBOLOS Y ABREVIATURAS**

**1. INTRODUCCIÓN**

**2. VINAZAS**

**2.1 TIPOS DE VINAZA**

**2.2 COMPOSICIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LA VINAZA**

**2.3 IMPACTOS MEDIO AMBIENTALES GENERADOS POR LA VINAZAS**

**2.4 USOS ALTERNATIVOS DE LA VINAZA DE CAÑA**

**2.5 EL PAPEL DE LAS VINAZAS EN LA ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN ANIMAL**

**2.5.1 UTILIZACIÓN DE VINAZAS EN LA NUTRICIÓN DE AVES.**

**2.5.2 USO DE VINAZAS PARA LA NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN DE CERDOS**

**2.5.3 NUTRICIÓN DE RUMIANTES CON VINAZAS**

**2.5.4 LÍMITE MÁXIMO Y RECOMENDACIONES DE INCORPORACIÓN DE VINAZA DE REMOLACHA.**

**2.5.5 NORMAS DE CONTROL DE CALIDAD DE LA VINAZA**

**3. ENSILAJE DE GRAMINEAS PARA LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**

**3.1 COMPOSICIÓN Y RUPTURA DE PAREDES CELULARES VEGETALES**

**3.1.1 CELULOSA**

**3.1.2 HEMICELULOSA**

**3.1.3 LIGNINA**

**3.2 PRINCIPIO DEL ENSILAJE**

**3.2.1 CULTIVOS PARA ENSILAR**

**3.2.1.1 GRAMÍNEAS**

**3.2.2 COMPUESTOS NITROGENADOS**

**3.2.2.1 PROTEÍNAS**

**3.2.2.2 COMPONENTES DEL NITRÓGENO NO PROTEICO**

**3.3 EL PERIODO DE ENSILADO Y ROMPIMIENTO DE CARBOHIDRATOS ESTRUCTURALES.**

**3.4 LA MICROFLORA DEL ENSILAJE**

**3.4.1 MICROORGANISMOS BENÉFICOS - BACTERIAS QUE PRODUCEN ÁCIDO LÁCTICO (BAC)**

**3.4.2 MICROORGANISMOS INDESEABLES**

**3.4.2.1 LEVADURAS**

**3.4.2.2 *ENTEROBACTERIAS***

**3.4.2.3 CLOSTRIDIOS**

**3.4.2.4 BACTERIAS PRODUCTORAS DE ÁCIDO ACÉTICO**

**3.4.2.5 BACILOS**

**3.4.2.6 MOHOS**

**3.4.2.7 *LISTERIA***

**3.5 ADITIVOS EN EL ENSILAJE**

### **3.5.1 ADITIVOS PARA MEJORAR LA FERMENTACIÓN DEL ENSILAJE**

### **3.5.2 ADITIVOS PARA INHIBIR LA FERMENTACIÓN DEL ENSILAJE**

### **3.5.3 ADITIVOS QUE INHIBEN EL PROCESO DE DETERIORO AERÓBICO**

### **3.5.4 ADITIVOS USADOS COMO NUTRIENTES O COMO ABSORBENTES**

## **4.0 EFECTO DEL NIVEL DE INCLUSIÓN Y CONCENTRACIÓN DE VINAZA DE CAÑA (*Saccharum officinarum*) SOBRE LOS PARÁMETROS FERMENTATIVOS Y CALIDAD NUTRICIONAL DE UN ENSILAJE DE MARALFALFA (*Penissetum* sp).**

### **RESUMEN**

### **ABSTRACT**

### **INTRODUCCIÓN**

#### **4.1 MATERIALES Y MÉTODOS**

##### **4.1.1. Materiales**

##### **4.1.2. Métodos**

#### **4.1.3 VARIABLES EVALUADAS**

##### **4.1.3.1 Potencial de hidrógeno y parámetros de fermentación**

##### **4.1.3.2 Composición química de los ensilajes**

##### **4.1.3.3 Clasificación de los Ensilajes**

##### **4.1.3.4 Diseño Experimental**

##### **4.1.3.5 Análisis Estadístico**

#### **4.2 RESULTADOS**

##### **4.2.1 Perfil Fermentativo**

#### **4.2.2 CALIIFICACIÓN DE LA CALIDAD FERMENTATIVA DE LOS ENSILAJES.**

#### **4.2.3 Composición química del material ensilado**

#### **4.3 DISCUSIONES**

##### **4.3.1 EFECTO DE LA INCLUSIÓN Y CONCENTRACIÓN DE VINAZA SOBRE EL PERFIL DE FERMENTACIÓN.**

##### **4.3.2 EFECTO DE LA INCLUSIÓN Y CONCENTRACIÓN DE VINAZA SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MATERIAL ENSILADO**

#### **4.4 CONCLUSIONES**

#### **4.5 BIBLIOGRAFÍA**

#### **5.0 CINÉTICA DE LA DEGRADABILIDAD IN VITRO DE UN ENSILAJE DE MARALFALFA (*Pennisetum* sp) CON DIFERENTES NIVELES DE INCLUSIÓN Y CONCENTRACIÓN DE VINAZA DE CAÑA (*Saccharum officinarum*).**

#### **RESUMEN**

#### **ABSTRACT**

#### **INTRODUCCIÓN**

#### **5.1 MATERIALES Y MÉTODOS**

##### **5.1.1 Cosecha del forraje y ensilado**

##### **5.1.2 Tratamientos**

##### **5.1.3 Apertura de los Silos**

##### **5.1.4 Degradabilidad in vitro**

##### **5.1.5 Análisis estadístico**



## **5.2 RESULTADOS**

### **5.2.1 Degradabilidad in vitro de la MS en el tiempo**

### **5.2.2 Parámetros de degradabilidad**

### **5.2.3 Producción in vitro de gas y factor de partición (FP)**

## **5.3 DISCUSIONES**

## **5.4 CONCLUSIONES**

## **5.5 BIBLIOGRAFÍA**

# RESUMEN

La vinazas producidas por la destilación del etanol, conciernen una severa preocupación ambiental debido a su alta cantidad de materia orgánica (100-130g/L), alta demanda bioquímica de oxígeno y la ausencia de opciones de plantas productoras de etanol para darle valor agregado a los subproductos. Por ello, hoy en día se reconocen propiedades nutricionales en las vinazas con potencialidad económica para aprovecharlas y direccionarlas en alimentación animal. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del nivel de inclusión (3, 6 y 9%, por kg/FV) y concentración (20, 30 y 40%, respectivamente) de vinaza de caña sobre los parámetros de fermentación (AGV, N-NH<sub>3</sub> y pH) y calidad nutricional (MST, PC, FDN, FDA, NIDA, cenizas y degradabilidad *in vitro* de la MS) de ensilajes de gramíneas. El forraje cosechado fue mezclado con vinaza de acuerdo al tratamiento asignado, para la confección y empaqueo de 50 silos de laboratorio (9 tratamientos por 5 repeticiones), incluyendo el ensilaje sin aditivo (control). Los datos fueron analizados utilizando un diseño completamente al azar en un arreglo factorial 3 x 3 + 1 con 5 repeticiones. Los niveles de MST (14.87 vs 20.88), propionato (3.84 vs. 6.48) y butirato (0 vs. 0.31) fueron mayores en los ensilajes tratados con vinaza comparados con el control (p<0.05). Por el contrario, las proporciones de N-NH<sub>3</sub>/NT (1.28 vs. 0.61), pH (4.21 vs 4.56) y acético (96.15 vs. 87.65) se disminuyeron por la inclusión de vinaza en el silo (p<0.05). Todos los ensilajes fueron clasificados como de excelente calidad, excepto el resultante del tratamiento I6C40, el cual fue clasificado como bueno. Los contenidos de FDN (63 vs 46.5) y FDA (34 vs 23) se redujeron en respuesta a la inoculación con vinaza (p<0.05). Por el contrario, los contenidos de PC (6.5 vs 8.17) y cenizas (7.67 vs. 11) aumentaron (p<0.05). La inclusión del aditivo aumentó la degradabilidad *in vitro* (32 vs 64) y producción de gas de la MS (184 vs 217), con respecto al control (p<0.05). Los resultados indican que el perfil de fermentación, la composición química y la degradabilidad *in vitro* de la MS, se mejoran considerablemente por la inclusión de la vinaza y demostrando que se constituye en una adecuada alternativa para mejorar la calidad nutricional de ensilado.

**Palabras claves:** Aditivo, inóculo, composición química, degradabilidad, perfil de fermentación, producción de gas.

# ABSTRACT

The vinasse produced by the distillation of ethanol, concerning severe environmental concern due to its high amount of organic matter (100-130g / L), high biochemical oxygen demand and the lack of options for ethanol plants to add value to byproducts. Therefore, today recognized nutritional properties with economic potential stillage and route them to take advantage of in animal feed. The aim of this study was to evaluate the effect of the inclusion level (3, 6 and 9%, kg as is) and concentration (20, 30 and 40%, respectively) of sugarcane vinasse on the fermentation parameters (VFA, N-NH<sub>3</sub> and pH) and nutritional quality (TDM, CP, NDF, ADF, ADIN, ash and *in vitro* degradability of DM) of grass silage. The harvested forage was mixed with vinasse according to each treatment. A total of 50 laboratory silos (9 treatments for 5 reps), plus a silage treatment without additive (control) were prepared. The data were analyzed as a completely randomized design as a 3 x 3 + 1 factorial with 5 repetitions. Content of TDM (14.87 vs. 20.88), propionate (3.84 vs. 6.48) and butyrate (0 vs. 0.31) were higher in vinasse treated silages compared to control silages (p <0.05). In contrast, N-NH<sub>3</sub>/TN ratios (1.28 vs. 0.61), pH (4.21 versus 4.56) and acetic acid concentrations (96.15 vs. 87.65) were decreased by the inclusion of vinasse (p <0.05). All silages were rated as excellent, except for the I6C40 treatment which was classified as good. Contents of NDF (63 vs. 46.5) and ADF (34 vs 23) were reduced by inoculation with vinasse (p <0.05). On the contrary, the contents of CP (6.5 vs 8.17) and ash (7.67 vs. 11) were increased (p <0.05). The inclusion of the additive increased *in vitro* degradability (32 vs 64) and gas production (184 vs. 217), compared to the control (p <0.05). These results indicate that the profile of fermentation, chemical composition and *in vitro* degradability of DM, are considerably improved by the inclusion of vinasse and demonstrating that constitutes an adequate alternative to improve the nutritional quality of silage.

Keywords: cane vinasse, silage additive, inoculum, chemical composition, fermentation profile, degradability, gas production.

# LISTA DE TABLAS

Tabla 2-1. Composición de las vinazas concentradas a 60° brix (Pérez y Garrido, 2006)

Tabla 2-2. Características físico-químicas de las vinazas diluidas (Pérez y Garrido, 2006)

Tabla 2-3. Características de las vinazas obtenidas en Colombia (Soil Net. 2006, citado por Ospina *et al*, 2007)

Tabla 2-4. Compuestos orgánicos en vinaza de caña (Larrahondo et al. 2000)

Tabla 2-5. Impactos de la vinaza sobre el medio ambiente (Caisaguano, 2010)

Tabla 2-6. Usos de la Vinaza (García y Rojas, 2005).

Tabla 2-7. Composición nutricional de las diferentes mezclas (Loaiza, 2008)

Tabla 2-8. Costos de suplementos Proteico-minerales (Loaiza, 2008)

Tabla 2-9. Composición de aminoácidos del nitrógeno proteico de la vinaza (promedio de 10 muestras; Waliszewski y col., 1997)

Tabla 2-10. Efecto de la vinaza en el agua de bebida de pollos alimentados con concentrado (Gallo y Ospina 1986; consultados por Sarria y Preston 1992)

Tabla 2-11. Valores promedio para el comportamiento de los cerdos (García et al. 1991)

Tabla 2-12. Valores medios de composición química (g/kg) de pulpa de remolacha con diferentes dosis de vinaza (0, 7 y 13% sobre MS; Fernández et al. 2006)

Tabla 2-13. Límites de incorporación de vinaza de remolacha en dietas para Porcinos y Conejos (FEDNA, 2000)

Tabla 2-14. Límites de incorporación de vinaza de remolacha en dietas para Avicultura (FEDNA, 2000)

Tabla 2-15. Límites de incorporación de vinaza de remolacha en dietas para Rumiantes (FEDNA, 2000)

Tabla 2-16. Composición (g/kg MS) de tres especies de gramíneas en cuatro estados de crecimiento (McDonald et al., 1991).

Tabla 3-1. Aditivos para la confección de ensilajes (McDonald et al., 1991)

Tabla 4-1. Composición química del pasto maralfalfa (*Pennisetum* sp.)

Tabla 4-2. Composición química de la vinaza de caña (*Saccharum officinarum*)

Tabla 4-3. Clasificación de ensilajes de acuerdo a los criterios de punto (Tomich et al. 2003).

TABLA 4-4. Puntaje y clasificación para un ensilado de maralfalfa (*pennisetum* sp.) con diferentes niveles de inclusión y concentración de vinaza de caña (*Tomich et al. 2003 consultado por Faria Júnior et al. 2011*).

TABLA 4-5. Parámetros fermentativos de un ensilado de maralfalfa (*Pennisetum* sp.) con diferentes niveles de inclusión y concentración de vinaza de caña.

TABLA 4-6. Composición química de un ensilado de maralfalfa (*Pennisetum* sp.) con diferentes niveles de inclusión y concentración de vinaza de caña.

Tabla 5-1. Composición química del pasto maralfalfa (*Pennisetum* sp.)

Tabla 5-2. Composición química de la vinaza de caña (*Saccharum officinarum*)

Tabla 5-3. Clasificación de ensilajes de acuerdo a los criterios de punto (*Tomich et al. 2003*).

TABLA 5-4. Degradabilidad IN VITRO de la materia seca (MS) de ensilajes de *Pennisetum* sp. con diferentes niveles de inclusión y concentración de vinaza.

TABLA 4-5. Parámetros de degradabilidad y degradabilidad efectiva de un ensilado de maralfalfa (*Pennisetum* sp.) con diferentes niveles de inclusión y concentración de vinaza de caña.

TABLA 5-6. EFECTO DE LA INCLUSIÓN Y CONCENTRACIÓN DE VINAZA DE CAÑA (*Saccharum officinarum*) SOBRE LA PRODUCCIÓN IN VITRO DE GAS DE UN ENSILAJE DE MARALFALFA (*Pennisetum sp.*).

Tabla 5-7. CORRELACIÓN ENTRE LA DEGRADABILIDAD IN VITRO DE LA MS Y DIFERENTES COMPONENTES NUTRICIONALES DE UN ENSILAJE DE MARALFALFA (*Pennisetum sp.*)

# LISTA DE FIGURAS

Figura 1-1. Proceso industrial para la obtención de vinaza de caña (Loaiza, 2008)

Figura 2-1. Estructura de la celulosa (Mateus, 2011)

Figura 2-2. Estructura de la lignina, a) unidades de fenilpropano que forman la estructura básica de la lignina y b) modelo de la lignina (Tejado, 2007).

Figura 2-3. Hidrólisis de la celulosa por acción de las celulasas (Corredor 2008, consultado por Mateus 2011).

Figura 2-4. Hidrólisis de la Hemicelulosa (Mateus 2011).

# LISTA DE SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

<b>%</b>	Porcentaje
<b>% MS</b>	Porcentaje de la materia seca
<b>%MST</b>	Porcentaje de materia seca total
<b>µL</b>	Microlitros
<b>A</b>	Fracción soluble y completamente degradable
<b>A+B</b>	Fracción Potencialmente degradable
<b>Ac (%AGVT)</b>	Proporción de acético con relación a los ácidos grasos volátiles totales
<b>Ac (%MS)</b>	Proporción del ácido acético con relación a la materia seca
<b>AGVs</b>	Ácidos Grasos Volátiles
<b>AGVT</b>	Ácidos Grasos Volátiles Totales
<b>B</b>	Fracción potencialmente degradable
<b>B</b>	Fracción insoluble pero potencialmente degradable.
<b>BAC</b>	Bacterias Ácido Lácticas
<b>bh-PM</b>	bosque húmedo pre montano
<b>Bt (%AGVT)</b>	Proporción de butírico con relación a los ácidos grasos volátiles totales
<b>Bt (%MS)</b>	Proporción del ácido propionico con relación a la materia seca
<b>C</b>	Tasa de degradación de la fracción potencialmente degradable
<b>C</b>	Tasa de degradación de la fracción "B".
<b>C1</b>	Concentración 1
<b>C2</b>	Concentración 2
<b>Ca kg/m<sup>3</sup></b>	Calcio en kilogramos por metro cubico
<b>CEN</b>	Cenizas
<b>-CH<sub>2</sub>OH</b>	Grupo carboxilo
<b>CHS</b>	Carbohidratos Hidrosolubles
<b>Cm</b>	Centímetros
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de Carbono
<b>Cond. Eléctrica</b>	Conductividad eléctrica
<b>CONTROL</b>	Tratamiento control; Ensilaje de maralfalfa + 0% de vinaza (Testigo)
<b>Cu kg/m<sup>3</sup></b>	Cobre en kilogramos por metro cubico
<b>d.s.</b>	Desviación estándar
<b>Da</b>	Dalton
<b>DBO</b>	Demanda Bioquímica de Oxígeno



<b>DE</b>	Degradabilidad efectiva de la MS
<b>DIVMS</b>	Digestibilidad In vitro de la Materia Seca
<b>dS/m</b>	deciSiemens por metro
<b>FDA</b>	Fibra en Detergente Ácido
<b>FDN</b>	Fibra en Detergente Neutro
<b>Fe kg/m<sup>3</sup></b>	Hierro en kilogramos por metro cúbico
<b>FLA</b>	Fábrica de Licores de Antioquia
<b>FSND</b>	Fibra Soluble en Detergente Neutro
<b>FV</b>	Forraje verde
<b>g. kg<sup>-1</sup></b>	Gramos por kilogramo
<b>gal</b>	Galones
<b>gr/L</b>	Gramos por litro
<b>INDIG</b>	Fracción Indigerible
<b>k</b>	Tasa fraccional de pasaje ruminal.
<b>K kg/m<sup>3</sup></b>	Potasio en kilogramos por metro cubico
<b>kg</b>	Kilogramos
<b>kg/FV</b>	Por cada kilogramo de forraje verde
<b>Kp</b>	Constante de pasaje
<b>L/año</b>	Litros por año
<b>Lag</b>	Tiempo <i>lag</i> , tiempo de colonización o duración del periodo prefermentativo
<b>M</b>	Molar; Molaridad
<b>Mg kg/m<sup>3</sup></b>	Magnesio en kilogramos por metro cubico
<b>ml</b>	Mililitros
<b>mm</b>	Milímetros
<b>mmol/L</b>	milimoles por litro
<b>Mn kg/m<sup>3</sup></b>	Manganeso en kilogramos por metro cubico
<b>MS</b>	Materia seca
<b>msnm</b>	Metros sobre el nivel del mar
<b>N</b>	Normal; Normalidad
<b>N kg/m<sup>3</sup></b>	Nitrógeno en kilogramos por metro cubico
<b>Na kg/m<sup>3</sup></b>	Sodio en kilogramos por metro cubico
<b>NIDA</b>	Nitrógeno Insoluble en Detergente Ácido
<b>NNH3</b>	Nitrógeno amoniacal
<b>N-NH3/NT (%)</b>	Proporción de nitrógeno amoniacal con relación al nitrógeno total
<b>NO<sub>2</sub></b>	Nitrato
<b>NO<sub>3</sub></b>	Nitrito
<b>°C</b>	Grados centígrados
<b>-OH</b>	Grupo hidroxilo
<b>Otros</b>	Ensilajes tratados con vinaza

<b>P kg/m<sup>3</sup></b>	Fosfato en kilogramos por metro cubico
<b>PB</b>	Proteína Bruta
<b>PC</b>	Proteína Cruda
<b>pH</b>	Potencial de Hidrógeno
<b>Ppb</b>	Partes por billón
<b>Pt (%AGVT)</b>	Proporción de propiónico con relación a los ácidos grasos volátiles totales
<b>Pt (%MS)</b>	Proporción del ácido butírico con relación a la materia seca
<b>R<sup>2</sup></b>	Coefficiente de Determinación
<b>RPM</b>	Revoluciones Por Minuto
<b>S (sulfatos) kg/m<sup>3</sup></b>	Azufre en kilogramos por metro cubico
<b>T</b>	Tiempo
<b>UFC</b>	Unidades Formadoras de Colonias
<b>V1</b>	Volumen 1
<b>V10</b>	Inclusión de harina de vinaza al 10%
<b>V15</b>	Inclusión de harina de vinaza al 15%
<b>V2</b>	Volumen 2
<b>V5</b>	Inclusión de harina de vinaza al 5%
<b>vinaza/min</b>	vinaza por minuto
<b>Y</b>	Degradación de la MS en el tiempo
<b>Zn kg/m<sup>3</sup></b>	Zinc en kilogramos por metro cúbico

# 1. INTRODUCCIÓN

La presente investigación tuvo como objeto estudiar el efecto de la inclusión y concentración de vinaza de caña sobre los parámetros de fermentación y calidad nutricional de ensilajes elaborados a partir de gramíneas, con la finalidad de satisfacer la imperiosa necesidad de las empresas productoras de alcohol etílico, en la búsqueda de alternativas sostenibles para aprovechar de manera adecuada y económica los residuos generados por la destilación del etanol.

Las vinazas son los residuos líquidos que se obtienen al destilar el producto de la fermentación alcohólica de las mieles finales de la caña. Su color puede variar de carmelita a negro, además de presentar un olor fuerte, un pH ácido y una demanda bioquímica de oxígeno (DBO) que oscila entre 70 y 80 gramos/litro (Pérez y Garrido, 2006). Por cada galón de etanol producido, se producen alrededor de 13 galones de vinaza, y una planta típica produce 25 millones galones de etanol por año ( $94.63 \times 10^6$  L/año), producción que podría asociada con la generación de 523-618 gal vinaza/min equivalente a 1980-2339 litros de vinaza/min. La vinaza generada es vertida en fuentes hídricas, lo que genera una gran cantidad de impactos negativos, como la eutrofización y la contaminación de ríos, fuentes de agua subterráneas y mares cercanos a este tipo de industrias. La creciente preocupación por la acentuada contaminación en el mundo, en los últimos años ha estado asociada a una búsqueda de soluciones sostenibles para mitigar los impactos de esta sobre el medio ambiente, para lo cual no ha estado ajena al caso de la vinazas, de tal forma que hoy existe gran interés en la obtención de estrategias para el uso sostenible de las vinazas.

Actualmente, cerca del 60% de los costos fijos en los sistemas de producción animal, están representados en la alimentación. Por ello, toda actividad encaminada a mejorar la eficiencia de utilización de los alimentos por parte del animal y la reducción de los costos de las materias primas necesarias para la formulación de las raciones redundara en un incremento de los márgenes de rentabilidad para el productor. Desde este punto de vista, las vinazas podrían constituirse en una alternativa para la obtención de silos de excelente calidad para ser utilizados en periodos de reducida disponibilidad de forraje.

Por ello, la presente investigación tiene como propósito la obtención de ensilados basados en el aprovechamiento de destilados de melaza de caña para la alimentación animal en tiempos de cosecha y destinarlos para su correspondiente suministro en tiempos de escasez, conservando calidad y palatabilidad a bajo costo, permitiendo aumentar el número de animales por hectárea o la sustitución o complementación de los suplementos. En ese, para garantizar la confección del silo, se debe contar con un adecuado aporte de sustratos o aditivos que promuevan una adecuada fermentación y prevengan el deterioro aeróbico y permitan obtener un alimento de excelente calidad. Bajo esa condición los mercados agropecuarios ofrecen una amplia gama de aditivos para ensilar clasificados en bacterias ácido lácticos, acidificantes y sustratos ricos en carbohidratos solubles, cuyas dosificaciones se encuentran respaldadas a partir de estudios. En ese sentido, la presente investigación tiene como propósito evaluar los diferentes niveles de inclusión y concentración de vinaza para identificar aquellas combinaciones que garantizan una adecuada conservación del silo, garantizado mediante procesos adecuados de fermentación anaeróbica, conservación de la calidad nutricional del forraje ensilado durante el tiempo y viabilidad técnico-económica para su aplicación en la alimentación animal.

El presente trabajo contribuirá a respaldar el uso de vinazas como una alternativa sostenible y direccionada para la conservación de gramíneas de alta biomasa lignocelulósica en nutrición de rumiantes. A pesar de ello, la investigación presenta serias limitaciones asociadas debido a que se realizó bajo condiciones de laboratorio controladas y por tal motivo se desconoce los efectos potenciales y riesgos que puede conllevar el uso de altas cantidades de vinaza de caña en la nutrición animal.

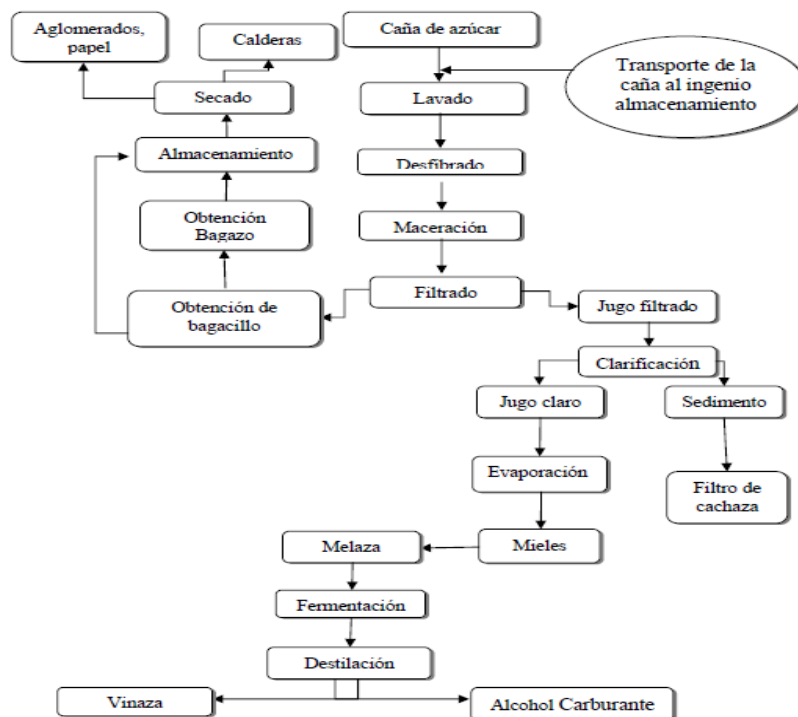
En ese sentido, factores como los altos niveles de potasio, los desbalances minerales, los altos niveles de inclusión, la interacción con otras materias primas, la presentación de compuestos secundarios como melanoidinas, ácidos fúmicos y tánicos (reacción de maillard; Wang *et al.* 2011), la palatabilidad y la simultánea disminución del consumo de materia seca por altos consumos del destilado en monogástricos y poligástricos, aun no se conocen de forma clara. Por lo tanto, más estudios, especialmente en respuesta animal, son necesarios para afirmar lo reportado en las características nutricionales de este estudio.

Hoy en día, en el país se desconocen trabajos que pretendan el uso de vinazas como aditivo para la confección de ensilajes de gramíneas y por tal motivo se constituye en el objetivo del presente estudio.

## 2. VINAZAS

Las vinazas son los residuos líquidos que se obtienen al destilar el producto de la fermentación alcohólica de las mieles de caña, melaza y/o remolacha, destinadas para la producción de etanol, donde casi el 60% de la producción de licor alrededor del mundo proviene de estos substratos (Anon., 2004). Su color puede variar de carmelita a negro, además que presenta un olor fuerte, un pH ácido y una demanda bioquímica de oxígeno (DBO) que oscila entre 70 y 80 gramos/litro (Pérez y Garrido, 2006).

Figura 1-1. Proceso industrial para la obtención de vinaza de caña (Loaiza, 2008).



## 2.1. TIPOS DE VINAZA

Según el Instituto Cubano de Investigación de Derivados de la Caña de Azúcar (ICDCA, 1999), se tiene los siguientes tipos de vinaza, los cuales se clasifican por materia prima y concentración de sólidos totales.

Por la materia prima que la origina (Isarri, 2006) :

- Melaza (jugo, mieles o mezclas), de caña de azúcar.
- Jugo de caña de azúcar.
- Mieles de caña de azúcar.
- Melaza de remolacha.
- Melaza de agave.
- Maíz.
- Cebada.
- Mezclas mixtas de jugos y mieles.

Por concentración de sólidos totales contenidos (Isarri, 2006) :

- Vinaza diluida: 8 a 10% de sólidos totales
- Vinaza Semi-concentrada: 20 a 30% de sólidos totales
- Vinaza Concentrada: 55 a 60% de sólidos totales
- Vinaza Sólida: 99 a 99.9% de sólidos totales.

## 2.2. COMPOSICIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LA VINAZA

Las vinazas contienen un gran contenido de materia orgánica y nutrientes como nitrógeno, fósforo, azufre y una gran cantidad de potasio. Entre los compuestos orgánicos más importantes, están los alcoholes, ácidos orgánicos y aldehídos. Además, también contiene compuestos fenólicos recalcitrantes como las melanoidinas. Son ácidas (pH entre 3 y 4), sin embargo la composición química de la vinaza depende de la materia

prima que se utilice, de las condiciones climáticas, del suelo y del proceso de producción del alcohol (Isarri, 2006).

Pérez y Garrido (2006), afirman que los factores que influyen en las variaciones del contenido y diversos componentes de las vinazas son:

- Calidad de la materia prima (miel final).
- Tipo de levadura y productos químicos utilizados en la fermentación.
- Características del proceso fermentativo.
- Maduración de la materia prima.

Tabla 2-1. Composición de las vinazas concentradas a 60° brix (Pérez y Garrido, 2006).

NUTRIENTE	CONTENIDO
Materia seca	60-65%
Cenizas	16-20%
Proteína cruda	4-8%
Carbohidratos	35-42%
Azúcares	5%
Potasio	4%

Los componentes orgánicos constituyen la fracción mayor de los mostos (vinos) y están formados principalmente por:

- Componentes presentes en las mieles que no fueron capaces de fermentar como azúcares remanentes (glucosa y fructosa).
- Productos formados en la fermentación y que no fueron extraídos en la destilación (glicerol y ácidos orgánicos).
- Restos de levadura que no han sido separados en el proceso industrial.

Tabla 2-2. Características físico-químicas de las vinazas diluidas (Pérez y Garrido, 2006).

PROPIEDAD	VALOR MEDIO
°Brix	7.7

pH	4.29
Densidad (kg/m <sup>3</sup> )	1.031
Viscosidad (cP)	1.38
Conductividad eléctrica	16.4
Índice de refracción	1.34
Tensión superficial (Pa)	44.7
Punto de ebullición (°C)	100.25
Calor específico (cp) (cal/ °C g)	0.934
Calor de combustión (cal/g)	3.390

En el proceso de obtención de la vinaza se obtienen otros subproductos, en los cuales se presenta en su composición algunos componentes químicos, tales como:

- Sustancias inorgánicas solubles (predominan los iones K, Ca y SO<sub>4</sub>).
- Células muertas de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*).
- Sustancias orgánicas resultantes de los procesos metabólicos de levaduras y microorganismos contaminantes.
- Alcohol y azúcar residual.
- Sustancias orgánicas insolubles.
- Sustancias orgánicas volátiles.

Tabla 2-3. Características de las vinazas obtenidas en Colombia (Soil Net. 2006, citado por Ospina *et al*, 2007).

Análisis	Vinaza 50% s.t.	Vinaza 10% s.t.
Materia orgánica	0,39	14-23
N kg/m <sup>3</sup>	2,75	0,63-1,14
P kg/m <sup>3</sup>	0,56	0,07-0,25
K kg/m <sup>3</sup>	59,8	28,56
Ca kg/m <sup>3</sup>	1,90	9,60
Mg kg/m <sup>3</sup>	9,00	4,37
S (sulfatos) kg/m <sup>3</sup>	2,19	3,88
Na kg/m <sup>3</sup>	2,52	0,68
Cu kg/m <sup>3</sup>	0,006	0,00048
Fe kg/m <sup>3</sup>	0,278	0,09775
Mn kg/m <sup>3</sup>	0,36	0,12
Zn kg/m <sup>3</sup>	0,016	0,0065
pH kg/m <sup>3</sup>	4,3-4,5	3,5-4,3
Densidad kg/m <sup>3</sup>	1,35	1,03
Cond. Eléctrica dS/m	17,0	11,0



En el estudio de Larrahondo et al. (2000), identificaron alrededor de quince compuestos orgánicos; los de mayor concentración fueron: glicerol (2.7%), ácido aconítico (1.8%), sorbitol (1.4%), ácido láctico (1.3%), ácido quínico (0.7%),  $\beta$ -fructofuranosa (0.5%) y Alfa-glucopiranososa (0.3%), de la misma manera se identificaron compuestos volátiles como 2,3-butanodiol, alcohol furfurílico, benzaldehído, 3-metaxiacetofenona y polisacáridos en un 3.38% m/m. Larrahondo et al. (2000), registraron que 2.3% de una fracción no dializable de la vinaza estaba constituida por mezclas de material polimérico y colorantes de alto peso molecular (superiores a 12000 Da).

Tabla 2-4. Compuestos orgánicos en vinaza de caña (Larrahondo et al. 2000).

Compuesto	Concentración (%m/m)
2,3-butanodiol	0.01
2-metil- 1,3-butanodiol	0.20
Glicerol	2.70
Sorbitol	1.40
Ácido láctico	1.30
Ácido succínico	0.07
Ácido málico	0.23
Ácido aspártico	0.05
Ácido aconítico	1.80
Ácido cítrico	0.80
Ácido quínico	0.70
$\beta$ -fructofuranosa	0.50
Alfa-glucopiranososa	0.30
Sacarosa	0.20
Trehalosa	0.30

### 2.3. IMPACTOS MEDIO AMBIENTALES GENERADOS POR LA VINAZAS

La dimensión ambiental ocasionada por la vinaza debe analizarse en un sentido amplio, tanto en sus aspectos naturales (como el suelo, la flora, la fauna), como contaminación (aire, agua, suelo, residuos), valor paisajístico, alteración de costumbres humanas y de

impactos sobre la salud de las personas. En definitiva, la preocupación surge con todas las características del entorno donde vive el ser humano cuya afectación pueda alterar su calidad de vida. La agroindustria cañera tiene la particularidad que al diversificarse para la obtención de energía y derivados produce residuos secundarios, a los que hay que darle tratamiento o un adecuado uso para evitar la contaminación del medio ambiente. En Cuba, la industria azucarera y sus derivados aportan anualmente una contaminación equivalente a lo que puede aportar siete millones de habitantes. De todos ellos, lo más contaminantes por su carga orgánica de 6.000 a 90.000 de DQC (Minaz, 2003), casi 700 veces mayor que la permitida por la normativa; son las aguas residuales procedentes de la industria alcohólica, y dentro de ellas, las vinazas de las torres de destilación, las que se obtienen en una proporción de 12 a 18 litros por cada litro de alcohol (Hakuv, 1990; De la Cruz, 2002).

En Colombia, Larrahondo et al. (2000), sugiere que por cada litro de etanol producido se generan 14 litros de vinaza empleando melaza de caña y utilizando como catalizador biológico la levadura *Sacharomyces cerevisae*. Pereira (2008), registra que por cada galón de etanol producido, alrededor de 13 galones de vinaza son generados y una planta típica por año produce 25 millones galones por año de etanol ( $94.63 \times 10^6$  L/año), los cuales podrían producir de 523-618 gal vinaza/min equivalente a 1980-2339 Litros/min (Nitayavardhan y Kumar, 2010). La eliminación de la vinaza se convierte en un problema ambiental grave debido a su alto contenido de materia orgánica de 100 a 130 g / L como demanda química de oxígeno (DQO) y su aplicación a la tierra, conocida como fertirrigación (fertilización + riego), es el método de desecho actual en Brasil, el cual es culpable de la contaminación del agua subterránea en varias áreas (Goldemberg et al., 2008).

Por otra parte, la caña de azúcar es una gramínea con mecanismo fisiológico C4, lo que la hace sumamente eficiente en la utilización del agua y la luz en la asimilación del CO<sub>2</sub> para la producción de azúcares, proceso en el cual absorbe cantidades considerables de potasio siendo, este elemento el más abundante en la composición de la vinaza (García y Rojas, 2005). Por lo tanto se ha considerado la vinaza como un producto indeseable por los efectos secundarios e impactos ambientales que ocasiona, tales como contaminación

de ríos, fuentes de aguas subterráneas y mares cercanos a este tipo de industrias (Pérez y Garrido, 2006).

Estevez (2000), reporta que la vinaza tiene un impacto negativo sobre el aire pues produce malos olores y aerosoles, que a su vez tiene un efecto negativo sobre la población incluso a distancias superiores a los 5 Km de la planta generadora del residuo. En cuanto al grado se considera no controlable y de temporalidad permanente, pues una vez generado el residual produce estos efectos.

Perdigón (2005), por otra parte señala que la vinaza tiene una influencia negativa controlable y permanente sobre la calidad del agua, porque se pueden identificar alternativas para minimizar los impactos del residual sobre el agua. Este aspecto esta muy relacionado con el impacto negativo que ejercería sobre el medio biótico (flora y fauna) y el paisaje, pues de verterse en el río o embalse, dados los parámetros de caracterización provocaría un grado de contaminación alto en el cuerpo receptor, afectaría el equilibrio de la flora y la fauna, produciría un efecto de eutrofización no controlable y por tanto afectaría el paisaje al cambiar el aspecto del cauce receptor (Perdigón, 2005).

Según Contreras (1999), la vinaza afecta la estructura urbana y rural, porque una vez producida se requiere diseñar esquemas de tratamiento y reutilización que ocupa un espacio, además debe ubicarse de acuerdo a la dirección de los vientos para minimizar el efecto de los malos olores y aerosoles durante su tratamiento en lagunas.

Tabla 2-5. Impactos de la vinaza sobre el medio ambiente (Caisaguano, 2010).

ÁREA AMBIENTAL	SIN IMPACTO	IMPACTO POSITIVO	IMPACTO NEGATIVO			
			GRADO		TEMPORALIDAD	
			CONTROLABLE	NO CONTROLABLE	CORTO PLAZO	PERMANENTE
AIRE				X		X
SUELO		X				
AGUA						
CALIDAD			X			X
USOS			X			
MEDIO BIÓTICO (FLORA Y FAUNA)				X		X
PAISAJE. CALIDAD				X		X
ESTRUCTURA URBANA Y RURAL				X		X
OPERACIÓN Y SERVICIOS						
GENERACIÓN DE RESIDUOS			X			X
OLORES				X		X
AEROSOLES				X		X
MOSCAS Y VECTORES			X			
RUIDOS			X			
POBLACIÓN. CARACTERÍSTICAS CULTURALES				X		X

#### 2.4. USOS ALTERNATIVOS DE LA VINAZA DE CAÑA

Por tratarse de un subproducto de la obtención del etanol, la vinaza se trata como un residuo líquido industrial, de ahí que algunos de sus usos tienen su origen como alternativas de disposición final más que alternativas de aprovechamiento (Cuadro 1). Sin embargo, con el paso de los años y con el prominente incremento de las demandas de etanol, ha conllevado a un aumento considerable de los volúmenes de vinaza,

constituyéndose en un residuo de un alto potencial de ocasionar impactos ambientales negativos de manera significativa y por lo tanto se ha venido acrecentando la necesidad de investigar en aplicaciones para el aprovechamiento de las propiedades fisicoquímicas de la vinaza (García y Rojas, 2005).

Tabla 2-6. Usos de la Vinaza (García y Rojas, 2005)

Usos	Qué aporta	Qué hace	Observaciones
Fertilización (Es el uso más ampliamente conocido)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Materia orgánica</li> <li>Potasio</li> <li>Calcio</li> <li>Sulfatos</li> <li>Micronutrientes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fomenta la reproducción de microorganismos en el suelo.</li> <li>Aporte de nutrientes disponibles</li> </ul>	Se puede aplicar con equipos especiales o directamente con el agua de riego.
Sustrato para compost		Sirve como fuente de energía nutrientes a los microorganismos que compostan el material vegetal residual de las cosechas.	El exceso de V60 en la mezcla da lugar detención del proceso de compostaje debido a que por la DBO elevada interfiere negativamente en la degradación del material vegetal.
Producción de Biogás y Biosólidos		<ul style="list-style-type: none"> <li>Al descomponerse la materia orgánica en un reactor anaerobio, se genera biogás con contenidos utilizables de metano, gas carbónico y ácido sulfhídrico.</li> <li>También se producen biosólidos ricos en Carbono, Nitrógeno y Azufre asimilable por las plantas</li> </ul>	Se deben controlar las concentraciones de ácido sulfhídrico ya que producen malos olores y deteriora las tuberías de recuperación del gas.
Medio de cultivo		Suplementada con Urea y Sacarosa es un excelente sustrato para promover el crecimiento de levaduras, algas del género Chlorella, bacterias como Pseudomonas y Methanomonas y hongos filamentosos.	La proteína unicelular es aquella proveniente de bacterias, algas y hongos y se constituye en una importante fuente de proteínas para la alimentación animal y humana.
Suplemento Alimenticio	<ul style="list-style-type: none"> <li>Proteína 5.68% m/m</li> <li>Energía Neta 0.88 Mcal/kg</li> <li>Sales minerales</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mezcla con otros elementos para elaborar concentrados para animales.</li> <li>Sustituye parte de la melaza usada en la suplementación de ganado bovino, porcino y conejos.</li> </ul>	En bovinos dosis de Potasio superiores a 1.5 Kg/animal causan efectos laxantes.
Incineración	Poder calorífico <ul style="list-style-type: none"> <li>1871 cal/g Límite Superior</li> <li>1621 cal/g L. Inferior</li> </ul>	Se constituye en un buen combustible para incinerar y generar energía térmica para distintas aplicaciones	Actualmente existen dos calderas en Tailandia operando con este combustible
Otros	Agente plastificante de concretos reforzados. Fabricación de ladrillos. Materia prima para obtener Sulfatos de cloruro y potasio, potasa y carbonato de sodio, ácido glutámico y glutamina vía fermentativa.		

Las investigaciones realizadas en el ICA, Universidad Nacional de Colombia y Sucromiles han demostrado la importancia de su uso de este subproducto en la recuperación de suelos afectados con alta saturación de saturación de sodio, destacándose la rapidez y eficiencia del proceso. También Ceniuva realizó investigaciones sobre el efecto de la aplicación de vinaza como acondicionador para suelos de texturas pesadas en la zona vitícola del Valle del Cauca, con excelentes resultados (García et al. 2004 citado por García y Rojas, 2005).

El trabajo de Loaiza (2008), realiza una evaluación económica del uso de vinaza de caña como subproducto agroindustrial y sustrato para la elaboración de suplementos nutricionales (bloques y sales) para rumiantes en pastoreo mediante técnicas modernas para optimizar la relación y liberación de nutrientes a partir de la quelatación de minerales. Para ello, los minerales son sometidos a un proceso de calentamiento (llevar la temperatura de la vinaza hasta 70°C y mezclar con minerales) con una sustancia orgánica, que para este caso se utilizó vinaza de caña y en donde se adiciono la fuente de fósforo (fosfato bicalcico) en primer lugar para garantizar que los fosfatos reaccionen con los otros minerales que lleve la formulación (carbonato de Calcio, sulfatos de Zinc, sulfato de Zinc, sulfato de Magnesio, sulfato de Cobre, sulfato de Cobalto, sulfato de Manganeso, selenato de Sodio, yodato de Calcio, Flor de Azufre; Loaiza 2008). A partir de la quelatación de los minerales se fabricaron 4 suplementos para la alimentación de rumiantes, registrados en la tabla 4, confeccionando suplementos elaborados con altos valores de proteína (14.78 a 24.71%), cuando los bloques multinutricionales comerciales (Sales proteinizadas no son encontradas en el país), presentan rangos de 4.0 y 11.07%.

Tabla 2-7. Composición nutricional de las diferentes mezclas (Loaiza, 2008).

PARÁMETROS	TIPOS DE SUPLEMENTOS			
	50% de Vinaza	60% Vinaza	70% Vinaza	Sal proteico-mineral
Materia seca	66.48	60.57	51.70	79.01
Materia orgánica	74.11	72.59	72.26	67.05
Digestibilidad	78.13	70.74	54.23	85.58
Proteína cruda	14.78	22.60	15.22	24.71

En la tabla 2-8, se indica el costo de producción (Kg/día) de los suplementos a nivel de laboratorio son un 40% mayores al costo de producción de los bloques comerciales por efecto a las condiciones de elaboración de los productos (Loaiza 2008).

Tabla 2-8. Costos de suplementos Proteico-minerales (Loaiza, 2008)

ÍTEM	PRODUCTOS (Kg/ día)					
	Bloque 50:50	Bloque 40:60	Bloque 25:75	Sal proteinada	Bloque Comercial	Sal Comercial
Costo a nivel de laboratorio	\$ 1,117	\$ 1,111	\$ 1,083	\$ 1,211	----	----
Costo a nivel comercial	\$ 452	\$ 438	\$ 441	\$ 641	\$ 518	\$ 625
Diferencia de costo	\$ 665	\$ 673	\$ 642	\$ 597	----	----
Precio de venta	\$ 908	\$ 881	\$ 887	\$ 1,213	\$ 1,036	\$ 1,250

Loaiza (2008) Sugiere que los suplementos proteicos minerales a nivel comercial es una oportunidad de negocio, siendo altamente competitivos en el mercado de insumos agropecuarios ya que a diferencia de los suplementos comerciales, el producto tiene altos contenidos de proteína, menor precio y procesos que mejorarían su utilización por parte del animal.

## 2.5. EL PAPEL DE LAS VINAZAS EN LA ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN ANIMAL

Hoy en día, diferentes estudios reportan diferentes tratamientos, usos y aprovechamiento de las características composicionales de las vinazas para su inclusión en la dieta de animales de interés zootécnico. Gomez R, y Santiesteban, M. (2000) citados por Barros (2001), señalan que la vinaza producida en diferentes destilerías cubanas posee

características propias, que la hacen apta para la alimentación de animales. Asimismo, afirman que la vinaza contiene menor cantidad de azúcares solubles que la melaza y una mayor cantidad de proteína, posiblemente por la adición de levaduras.

### 2.5.1. UTILIZACIÓN DE VINAZAS EN LA NUTRICIÓN DE AVES.

Waliszewski y col. (1997), evaluaron la factibilidad del uso de vinaza de caña neutralizada con hidróxido de calcio (pH 5.5.- 6.0) en la alimentación de 192 pollos broilers machos; La vinaza analizada era obtenida de tres plantas de fermentación alcohólica de caña de azúcar y se caracterizaba por presentar un 62% de contenidos sólidos, un pH de 3.56 (3.41-4.06), debido a la alta concentración de ácido sulfúrico (provee estabilidad a temperatura ambiente para evitar la degradación microbiana), derivado del sulfato de amonio producido por las levaduras en la fermentación del alcohol. La vinaza se caracterizó por presentar un bajo contenido de extracto etéreo, fibra y un contenido de carbohidratos solubles muy variable. El contenido de potasio de las cenizas era del 50%, lo cual constituye una desventaja comparado con una ventaja en la alimentación de pollos. No obstante, las cenizas pueden contribuir sustancialmente a la suplementación de calcio, magnesio, sodio, hierro y cloro en la alimentación de pollos (Waliszewski y col., 1997).

La vinaza de caña de azúcar comparada con melaza de remolacha, presenta un contenido de proteína menor, pero un perfil de aminoácidos esenciales mayor. (Waliszewski y col. 1997; Tabla 4)

Tabla 2-9. Composición de aminoácidos del nitrógeno proteico de la vinaza (promedio de 10 muestras; Waliszewski y col., 1997).

Aminoácido	gr por 16 gr de N	d.s
Ácido Aspartico	26.6	1.37
Treonina	4.6	0.21
Serina	4.2	0.23
Ácido Glutámico	11.1	0.59
Prolina	5.0	0.23
Glycina	5.5	0.21
Alanina	9.4	0.38



Cisteina	0.8	0.06
Valina	5.2	0.19
Metionina	1.0	0.05
Isoleucina	4.4	0.15
Leucina	5.8	0.22
Fenilalanina	5.1	0.18
Tirosina	4.0	0.17
Lisina	3.1	0.14
Histidina	1.46	0.06
Arginina	1.9	0.09
Triptofano	0.9	0.04

El estudio de Waliszewski y col. (1997), evaluó tres niveles de inclusión de vinaza (20, 40 y 60 g kg<sup>-1</sup>, respectivamente), en donde no se encontraron diferencias estadísticas significativas por efecto de los tratamientos; sin embargo el peso final a las 7 semanas, la conversión alimenticia y el consumo se incremento de manera lineal (P < 0.05), en la medida que el contenido de vinaza se incrementaba. De la mismo manera, se observaron una tinción progresiva de los pollos con negro y unas excretas aguadas por niveles de inclusión por encima de 20 g Kg<sup>-1</sup>, el cual era probablemente debido al alto contenido de potasio en la dieta. No obstante, concluyeron que niveles dietarios de inclusión de hasta 40 g kg<sup>-1</sup> proveen una mayor rentabilidad para la industria alimentaria del pollo de engorde (Waliszewski y col. 1997). Generalmente, la vinaza era encontrada a tener poco valor como un ingrediente dietario para animales en finalización y el producto puede ser más útil en dietas para animales cuando los requerimientos para mantenimiento del peso o menores ganancias de peso son deseadas (Weigand and Kirchgessner, 1980, Potter et al., 1985). Por el contrario, Damron et al. (1980) evaluó niveles de inclusión hasta el 75 g kg<sup>-1</sup> en la dieta de broilers y no encontró diferencias en la ganancia de peso y el consumo diario de alimento promedio. Sin embargo, el mayor consumo de alimento y el valor de conversión alimenticia promedio era asociada con 75 g kg<sup>-1</sup> de vinaza, difirió significativamente de aquellas aves que recibían 25 g kg<sup>-1</sup> o menos. Gonzalez et al. (1980), utilizando vinaza seca de Ron recomienda que niveles menores de 100 g kg<sup>-1</sup> en la dieta de pollos, ayuda a maximizar el crecimiento y la eficiencia alimenticia.

Por otra parte, algunos trabajos en donde se suministra la vinaza líquida reportan mejoras sustanciales en el desempeño productivo. Febles M. (2008), evaluó la suplementación de vinaza en la dieta de pollos de engorde durante un periodo que oscilo desde 1 hasta 42

días de edad, en donde realizó una distribución completamente al azar de las aves con dos tratamientos: tratamiento 1: sin vinaza y tratamiento 2: suplementación con vinaza a razón de 14ml/ave/día; en el experimento arrojó que el tratamiento con vinaza no afecta el consumo de alimento y la viabilidad de las aves. La conversión alimenticia se vio mejorada permitiendo un aumento del 12% en el peso vivo final (1822 vs 1626). Del mismo modo, Hidalgo et al. (2008), estudiaron el comportamiento productivo y el peso de las porciones comestibles de aves al utilizar vinaza como aditivo en la dieta, en donde realizaron una distribución completamente al azar con tres tratamientos (control: 0 ml; tratamiento experimental: 5 ml en inicio, 10 ml en crecimiento, 15 ml en finalización). Obteniendo como resultados que al utilizar la vinaza como aditivo se mejoró el peso vivo de los animales (1822 y 2062 g/ave), sin afectar el consumo entre tratamientos y por lo tanto mejorando la conversión alimenticia (1.81 vs 1.60) y una mayor eficiencia en el uso de nutrientes por el ave. La vinaza también provocó un mayor peso de la canal (1087 y 1242 g/ave), pechuga (281 y 327 g/ave) y de muslos + piernas (391 y 450 g/ave). El peso de las vísceras comestibles fue mayor en el caso del hígado (47.3 y 57.0 g/ave), pero no se detectaron diferencias en el peso del pescuezo, molleja, corazón y grasa abdominal excesiva. Barros (2009), evaluó el uso de la vinaza como un aditivo en el comportamiento productivo de pollos machos de ceba (1 día de edad con 40 gramos de peso vivo), para lo cual utilizó tres tratamientos experimentales (control: 0 ml, tratamiento 1: 15 ml, tratamiento 2: 20 ml ave/ día, respectivamente), encontrando que al utilizar la vinaza se redujo el consumo de alimento de los animales (3405 y 3444 g/ave). Sin embargo, la conversión se mejoró (1.80 y 1.84), evidenciando un mejor aprovechamiento de los nutrientes y una disminución en los índices de mortalidad (0.88% y 1.50%). Adicionalmente y en concordancia con lo realizado por Hidalgo et al. (2008), encontraron un mayor rendimiento en el peso de la pierna, vísceras y grasa abdominal.

Por el contrario, Gallo y Ospina (1986) consultados por Sarria y Preston (1992), evaluaron en forma preliminar el uso de vinaza en la alimentación de pollos. La dieta base contenía 20% de proteína cruda y 2900 kcal/kg de energía metabolizable. La inclusión de vinaza diluida se realizó en el agua de bebida a razón de 0, 25, 50, 75 y 100% de reemplazo del agua (tabla 2), observando que la inclusión de vinaza afectó el consumo de alimento a partir del 25% de inclusión, el consumo de agua de bebida al nivel del 100% ( $p < 0.01$ ) y la conversión alimenticia a partir del 75%. Los autores señalan que se presentó deshidratación marcada a partir del 75%, mostrando además somnolencia y agresividad

en el momento de suministrarles el alimento por lo cual recomiendan no incluir más del 5% de vinaza en la dieta (base seca).

Tabla 2-10. Efecto de la vinaza en el agua de bebida de pollos alimentados con concentrado (Gallo y Ospina 1986; consultados por Sarria y Preston 1992).

Tratamto (Vinaza)	Incremento peso (g)	Consumo (%)		Conversión
		alimento	bebida	
0	759	2,005	3,824	2.64
25	702	1,853	3,560	2.64
50	574	1,603	4,099	2.79
75	320	1,275	4,060	3.98
100	136	695	2,084	5.11

Por otra parte, Costales (2009), Utilizó la vinaza como suplemento en la dieta de gallinas ponedoras White Leghorn L33, cuyos tratamientos evaluados fueron: con vinaza (20ml/día/ave) y sin vinaza. Los tratamientos experimentales fueron distribuidos bajo un ensayo simple correspondiente a la distribución t Student para muestras pareadas, en donde evidencia que variables como peso final, consumo de alimento, conversión alimenticia, porcentaje de gallinas en producción y peso promedio de huevos, no se ven afectadas por el consumo de vinaza ( $P < 0.05$ ); por el contrario, se encontró diferencias estadísticas significativas solo para la variable grosor de la cascara con 0.356 mm por efecto del consumo de vinaza explicado por una mayor disponibilidad de minerales por el aporte diario de este producto.

Chará y Suárez (1993), utilizaron la vinaza de caña como alternativa para reemplazar de forma parcial el jugo de caña (fuente energética) en patos Pekín, en donde trabajaron con niveles de reemplazo del 0, 20, 40 y 60%; obteniéndose ganancias diarias correspondientes a 31, 31, 27 y 22 g/día y las conversiones como 5.76, 4.82, 4.89 y 5.36, respectivamente. Por tanto, concluyeron que la vinaza puede ser utilizada hasta un nivel de sustitución de 40% del jugo de caña, con similares resultados biológicos y mejores resultados económicos que los obtenidos cuando se usa el jugo de caña como única fuente energética.

## 2.5.2. USO DE VINAZAS PARA LA NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN DE CERDOS

Actualmente, una de las limitantes más impactantes en los sistemas de producción porcina son los altos de costos de alimentación que representan alrededor del 70% de los costos de producción, debido al incremento constante de precios de los cereales, destinados hacia la fabricación de piensos para la alimentación animal, especialmente en cerdos, permitiendo que esta actividad productiva sea cada día más insostenible (AGENDA CÁRNICA PORCINA, 2011; Castellanos, 2011). Por tal motivo, se ha venido estudiando la búsqueda de alternativas nutricionales adecuadas y económicas (vinaza) que permitan su inclusión en la dieta de cerdos.

Sarria y Preston (1992), estudiaron el efecto del reemplazar jugo de caña con vinaza combinado con torta y grano de soya, respectivamente en la dieta 36 de cerdos cruzados de engorde (Landrace x Yorkshire x Duroc) de 25 a 33 kilogramos de peso vivo, para lo cual plantearon un arreglo factorial 3X2 (tres niveles de reemplazo por dos fuentes proteicas). Los niveles de vinaza fueron 0, 10 y 20% de reemplazo del jugo, encontrando que al incrementar los niveles de vinaza a un 20% como reemplazo del jugo de caña se puede obtener una mayor ganancia de peso (0.810 kg/día) y conversión alimenticia (3.61) en donde manifiesta que es debido al efecto estimulante sobre el consumo y por ende el comportamiento explicado por el aporte de vitaminas del complejo B presentes en la vinaza.

García et al. (1991), realizaron un experimento con 24 cerdos para medir el comportamiento productivo en crecimiento y finalización, utilizando 3 niveles de harina de vinaza (5, 10 y 15% de inclusión), para reemplazar el grano de sorgo y torta de soya. Los resultados arrojaron que no obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos ( $P > 0.05$ ) en las variables ganancia de peso, consumo y conversión alimenticia, en ningún de las etapas. Las ganancias de peso oscilaron desde 396 a 482 g/día en la etapa 20-35 kg peso vivo, de 506 a 601 en la etapa 35 a 60 kg y de 678 a 773 g/día en la etapa 60 a 100 kg peso vivo, lo cual se constituyó para el experimento una ventaja económica a favor de las dietas que contenían la vinaza debido a su bajo costo comparado con el grano de sorgo.

Tabla 2-11. Valores promedio para el comportamiento de los cerdos (García et al. 1991)

Etapas	T	V5	V10	V15	SE
Etapa 35-60 kg: Peso vivo (kg)	20.3	19.7	19.6	20.6	
Inicial					
Final	32.2	33.6	31.6	33.5	
Ganancia/día	0.405	0.482	0.396	0.432	±31
Consumo (kg/día)	1.39	1.39	1.38	1.50	±0.061
Conversión (a)	3.63	2.92	3.58	3.56	±0.30
Etapa 35-60 kg: Peso vivo (kg)					
Final	63.0	66.12	59.47	63.47	
Ganancia/día	0.560	0.601	0.506	0.554	±42
Consumo (kg/día)	2.17	2.27	2.10	2.42	±0.095
Conversión (a)	4.22	3.85	4.23	4.44	±0.29
Etapa 60-90 kg. Peso vivo (kg)					
Final	94.2	98.6	92.0	94.5	
Ganancia/día	0.678	0.773	0.687	0.716	±61
Consumo (kg/día)	2.79	2.87	2.86	2.99	±0.098
Conversión (a)	4.27	3.73	4.33	4.21	±0.25

En otros experimentos, los efectos de la sustitución de cebada con ensilado de pulpa de remolacha y vinaza sobre las características de la canal eran estudiados por Martelli et al. (2000) consultado por Scipioni y Martelli (2001), en 60 cerdos Landrace x Large White (mitad machos castrados y la otra mitad hembras), los cuales recibían una dieta basada

ensilado de pulpa de remolacha adicionado con niveles de reemplazo de cebada con vinaza del 100 y 200 g kg<sup>-1</sup> de MS, respectivamente. Los cerdos eran alimentados a 0.09 de su peso metabólico vivo hasta máximo 3.2 kg de peso vivo por cerdo/día. Los cerdos se sacrificaron en 160 kg de peso vivo y los principales parámetros y características de la canal y la carne eran registrados. El uso de ensilado de pulpa de remolacha adicionado con vinaza con afectó la salud de los cerdos, particularmente en los problemas intestinales (diarreas) asociados con el alto contenido de potasio en la vinaza. Los resultados demostraron que los cerdos que recibían altas cantidades de ensilado de remolacha combinado con vinaza (200 g kg<sup>-1</sup> de MS), comían significativamente ( $P < 0.05$ ) menos alimento (-3.4%), revelando solo una tendencia a disminuir la ganancia de peso y un mejoramiento en el porcentaje de musculo de la carcasa.

Stemme et al. (2005), investigaron sobre el valor nutricional de la vinaza de remolacha, la degradabilidad, efectos secundarios y su papel en la alimentación de cerdos y bovinos. En cerdos, el experimento consistió en tres ensayos con duración de doce días por ensayo, siendo los 5 días finales los periodos de recolección de datos. En el primer ensayo, los cerdos recibían una dieta basal sin vinaza y en los siguientes una dieta combinada con 16 y 43% de vinaza (en MS), respectivamente, obteniendo que al alimentar los cerdos al 16% de vinaza en materia seca, la digestibilidad de la materia orgánica fue de 72.3% (PC fue de 71.8% y 74.6% para el extracto libre de nitrógeno). Por otra parte la alimentación con altas cantidades de vinaza (43% MS) en la dieta de cerdos, redujo la digestibilidad (materia orgánica: 61.6%), donde explican que se presento como resultado de un reducido tiempo de retención del quimo y como un resultado de una diarrea conducida por osmosis, por causa de un alto contenido de sulfatos (136 g / kg MS) en la vinaza, ya que a medida que aumentaban el contenido de sulfatos en la dieta, la materia seca fecal también incrementaba, por lo cual teniendo en cuenta que la digestibilidad de la materia orgánica es mayor a 70%, se debe considerar utilizarla en pequeñas proporciones. Sin embargo, el efecto purgante podría ser útil en la alimentación de cerdas gestantes para evitar problemas durante el parto, no obstante los siguientes criterios deben ser tomados en cuenta al utilizar la vinaza: (i) el contenido de materia seca (vinaza más agua que la melaza), (ii) el contenido de cenizas de crudas (mayor en la vinaza que en melaza), (iii) la digestibilidad (%) de materia orgánica y el contenido de azúcar (menor en la vinaza que en la melaza), (K. Stemme et al., 2005).

Olivarez (2009), utilización vinaza con un contenido proteico del 4% en la alimentación de cerdos en precebo, no encontró diferencias estadísticas significativas en el peso final y ganancia de peso en cerdos Landrace x York al reemplazar 10 y 20% de la proteína dietaria por proteína aportada por la vinaza. A pesar de ello, encontraron conversiones alimenticias estadísticamente menores (3.52 y 3.48 vs 3.56) causadas por una disminución en el consumo de vinaza. García (2004) consultado por Olivarez (2009), en estudios realizados con la vinaza de destilería en crecimiento y finalización, resultaron en que no hubo diferencias entre tratamientos para ganancia de peso, consumo y conversión alimenticia, en ninguna de las etapas al utilizar 3 niveles de harina de vinaza (5%, 10% y 15%), pero si se registraron ventajas económicas a favor de las dietas que contenían vinaza debido a su más bajo costo comparado con el grano de sorgo. Otros investigadores como Sarria y Preston (2002), evaluaron la vinaza en cerdos en crecimiento y finalización como reemplazo del jugo parcial de caña. Los niveles de vinaza fueron de 0%, 10% y 20%. Aparentemente hubo un efecto sinérgico entre la vinaza y el grano de soya siendo superior el comportamiento animal con la combinación de estos dos suplementos.

De otra parte, Salguero (2009) comparó las ganancias de peso y el consumo de MS en cerdos Landrace x Yorkshire alimentados con ensilaje de yuca inoculado con yogurt y ensilaje de yuca con inclusión de vinaza. Para ello, utilizó 72 cerdos encontrando que aquellos animales alimentados con ensilaje de yuca inoculado con yogurt presentaron diferencias estadísticas ( $p > 0.05$ ) correspondientes a mejor conversión alimenticia (2.05 vs 2.5), ganancia de peso (45.17 vs 39.75 kg), consumo de MS por día (9.6 vs 10.56 kg MS) y un menor costo de inversión asociado una óptima relación beneficio costo (1.63 vs 1.46), en comparación cuando se incluye ensilaje de yuca más vinaza. Asimismo, la inclusión de ensilaje de yuca más vinaza no ocasionó efectos negativos, puesto que no se presentaron enfermedades como podría ser el caso de diarreas, intoxicaciones o depresión del consumo (Salguero, 2009).

El estudio realizado por Maryen et al. (2011), utilizaron seis cerdos machos castrados Yorkshire-Landrace x Duroc con peso promedio de 35 kg, alojados en jaulas metabólicas con iguales condiciones para determinar el balance y la digestibilidad del nitrógeno en dietas de maíz-soya, donde se sustituyó 0, 15 y 30 % de la proteína de la soya por vinaza de destilería. La investigación arrojó diferencias ( $P < 0.05$ ) en la digestibilidad de la

materia seca para los niveles empleados (0, 15 y 30 %) (84.16, 84.42, 87.85%). En el tratamiento control, la excreción urinaria del N en g/d difirió ( $P < 0.05$ ) con respecto a los restantes, reteniéndose mayor cantidad de nitrógeno en los tratamientos con vinaza (7.47, 4.48, 5.01), para lo cual concluyeron que es posible la inclusión de hasta 30 % de la vinaza de destilería en la dieta de cerdos en crecimiento, sin afectar su comportamiento fisiológico y metabólico.

### **2.5.3. NUTRICIÓN DE RUMIANTES CON VINAZAS**

Las vinazas pueden ser suministradas en la alimentación de ganado en forma líquida, condensada o seca, ya sea mediante el uso de vehículos harina de cítricos, mazorcas de maíz, bagazo, y otro material adecuado (Feedipedia, 2013). Este subproducto de destilería puede ser sometido a procesos de amonificación condensada y ser utilizado como una fuente de proteína para el ganado vacuno (Feedipedia, 2013). En la suplementación de terneros a partir de concentrados se puede suministrar hasta un 5% de vinaza seca (Feedipedia, 2013).

Stemme et al. 2005, investigaron el valor nutricional y las limitaciones de la vinaza de remolacha derivada de la producción de levadura como un ingrediente para confección de dietas para novillos, para lo cual se utilizó un destilado que contenía por kilogramo de MS de vinaza de remolacha, 293 gramos de proteína cruda, 305 gramos de extracto libre de nitrógeno (34.4 gramos de azúcares totales) y 395 gramos de cenizas. El experimento se realizó durante 20 días (10 días de adaptación; 10 días colección de datos), con una subsecuente ración basal con y sin vinaza (14% MS), encontrando digestibilidades en los componentes nutricionales de la vinaza del 73.5% para la materia orgánica, 72.6% de la PC y 52.3% del Extracto libre de N, detectándose que no hubo efectos sobre la calidad de las heces por la adicción del destilado, concluyéndose que la digestibilidad de la materia orgánica para ganado puede llegar a ser mayor >70% (Stemme et al. 2005).

Fernández et al. (2006), estudiaron la cinética de degradación ruminal de dos pulpas de remolacha con diferente contenido de vinaza (0 vs. 13% de vinaza) y la actividad



degradativa ruminal en 6 ovejas provistas de cánulas ruminales y alimentadas con ambos tipos de pulpa. La adición de vinaza a la pulpa no afectó a la cinética de degradación de la FDN (debido a que la vinaza no es una fuente de FDN), pero aumentó la fracción a y disminuyó la fracción b, tanto de la MS como de la PB. Sin embargo, el ritmo de degradación de las dos pulpas en el rumen y la degradabilidad efectiva de su MS, FND y PB fueron estadísticamente superiores en los animales que consumieron pulpa con vinaza (Fernández et al. 2006). Para ello, el efecto de la inclusión de la vinaza fue sustentado como consecuencia del aporte de nitrógeno de la vinaza el cual está constituido por aminoácidos libres que son solubles en agua (Chapoutot 1985 consultado por Fernández et al. 2006).

Fernandez et al. (2006), reportaron que la inclusión de vinaza de remolacha en la pulpa, determino cambios en su composición química, que afectaron su valor nutritivo. En la tabla 7 se presentan datos de composición química de pulpa de remolacha con diferentes proporciones de vinaza, en donde aporta fundamentalmente, proteína y minerales por lo que como es pulpa se facilita el ensilado de la misma. Sin embargo, en la pulpa ensilada se pueden encontrar niveles elevados de ácidos grasos volátiles y para ello una de las alternativas empleadas para intentar disminuir la acumulación de estos ácidos en el ensilado es el empleo de aditivos, como ácido fórmico, fermentos lácticos o ácido propiónico (Fernández et al. 2006).

Tabla 2-12. Valores medios de composición química (g/kg) de pulpa de remolacha con diferentes dosis de vinaza (0, 7 y 13% sobre MS; Fernández et al. 2006).

Parámetro	Pulpa 0	Pulpa 7	Pulpa 13
MS	876	877	905
Cenizas	59	62	89
FND	393	379	369
FAD	206	193	192
PB	80	91	98
FSND	434	438	450
Potasio	5	8	11
Nitratos	0,12	0,37	0,62
Nitritos	0,008	0,016	0,016

La proteína bruta de la vinaza de remolacha está constituida fundamentalmente por nitrógeno no proteico, pero aminoacídico. Por lo tanto, la adición de vinaza en pulpas de remolacha, permitiría obtener un alimento más equilibrado desde el punto de vista proteico, como lo sugieren Fernández et al. 2006.

Este aspecto es de gran importancia, ya que diferentes autores han puesto de manifiesto un incremento en la actividad degradativa asociado a la suplementación nitrogenada en animales que consumen alimentos deficitarios en proteína degradable (Mehrez *et al.*, 1977). Es también oportuno mencionar que la respuesta a la suplementación nitrogenada puede variar con la fuente de nitrógeno empleada (Carro y Miller, 1999; Ranilla *et al.*, 2001) y en varios trabajos se ha demostrado que las bacterias presentes en el rumen aprovechan de modo más eficiente el N aminoacídico -que es el que aporta la vinaza que el N amoniacal (Weimer, 1998). La adición de vinaza, por tanto, podría incrementar la ingestión de pulpa cuando se administra sola o en combinación con otros alimentos deficitarios en proteína degradable en el rumen, como la paja de cereal. Fernández et al. (2006), sugieren que añadir vinaza no sólo aumenta el contenido de proteína sino también el de otros compuestos, que podrían resultar perjudiciales para el animal, tales como el potasio, los sulfatos y los nitratos. Estas sustancias proceden de los compuestos químicos auxiliares utilizados en el proceso de fermentación de las melazas.

De otra parte, Caisaguano (2010) suministro altos niveles de inclusión de vinaza (29.31 de MS; 3.71% de PC) de caña de azúcar en rumiantes fistulados, en donde los volúmenes para evaluar conducta ruminal fueron 3lt de vinaza, 4 lt de vinaza, 5 lt de vinaza y para analizar la aceptabilidad de la vinaza dentro de la dieta integral incluyo un tratamiento testigo y dietas con 10% de vinaza, 20% de vinaza y 30% de vinaza; En ese sentido, obtuvo diferencias estadísticas significativas para las variables como amoníaco y AGV producidos en los indicadores ruminales entre las horas 6 y 12. En cuanto a conducta alimentaria, se encontro que con niveles del 30% de vínaza vía ruminal se redujo el consumo de forraje, el tiempo de consumo de forraje y tiempo empleado en la rumia, mientras que se incrementa el periodo de descanso, sin embargo, registro una mayor consumo con mayor tamaño de bocados con inclusión de vinaza al 20%. El pH ruminal fue estable en los diferentes tratamientos evaluados, mientras que la concentración de amoniaco es directamente proporcional al volumen de vinaza vía ruminal en bovinos

(Caisaguano 2010). Lara (2006), señala que la digestibilidad aparente de la dieta se reduce en la medida que se incrementa el nivel de vinaza de la ración, ya que “niveles mayores al 10% de vinaza reducen la ganancia diaria de peso, debido a la disminución en la producción de AGV (mmol/L) en el rumen.

Perez (2006) consultado por Caisaguano (2010), sugiere que la inclusión de vinaza en dietas integrales para alimentar novillos en finalización es factible de llevarse a cabo sin detrimento de los indicadores de consumo y productivos, en donde inclusiones del 10% en base seca de la dieta para alimentar novillos de engorda en corral no afecta el consumo de MS (kg. /día) para animales que incian la etapa de finalización a partir de 340 kg. de PV hasta el peso de sacrificio (450 kg.). La ganancia diaria de peso que se puede esperar por el consumo de dietas que incluyen 10% de vinaza es del orden de los 900 gramos y es comparable al de las dietas que contiene melaza (Pérez, 2006).

Jordán (2008), recomienda que antes de desarrollar un sistema estándar de alimentación de novillos, es imprescindible resolver los factores asociados a la alta variabilidad del consumo de vinaza, así como su correlación e interacción con cantidad y calidad de forraje. En el comportamiento de los animales correspondiente al tiempo en segundos que dedican a tomar vinaza por momentos en un total de 12 animales, se observo que el animal 1 toma la vinaza en un lapso de 1.5 segundos, mientras que el animal 11 dedica 11.17 segundos, el resto de animales oscila entre 3 a 7 segundos. El tiempo máximo de consumo fue de 17.80 segundos del animal 8, sugiriendo que el consumo se encuentra ligado a la individualidad de cada animal (Jordan, 2008).

Ortiz et al. (2001), al estudiar bovinos machos de 334 kg de peso en promedio, sin castrar, observa que el consumo de MS no se afectó estadísticamente por la inclusión de vinaza en la dieta, los valores fueron de 10.36 kg. /día con 0% de vinaza; 10.80 kg/día con 10% de vianza y 9.30 kg/día con 20%, este último porcentaje resultado detrimental para la ganancia diaria de peso y conversión alimenticia. La ganancia diairia de peso muestra diferencia estadísticas cuando el animal consume 20% de vinaza en la dieta, pues alcanza los 533 gr. /día, mientras que al consumir 0 y 10% de vinaza, la ganancia de peso es de 944 gr. /día y 870 gr. /día respectivamente. La conversión alimenticia no expresa diferencias significativas con niveles de 0 y 10% de vinaza, siendo de 10.40 y 12.70

respectivamente, pero si tiene diferencias estadísticas entre estos niveles y el nivel del 20% de vinaza, cuya conversión es de 18.30 unidades por kilgramo de peso ganado.

Fernandez et al. (2009), estudiaron parámetros de calidad nutricional de las características de la pulpa de remolacha de acuerdo a la concentración de vinaza adicionada (pulpa de remolacha con 0, 70 y 130 gramos de vinaza/ kg de MS, respectivamente) como son la palatabilidad, el consumo de MS, tasa de desaparición y degradabilidad de la dieta. En efecto, encontraron que las ovejas demostraron una marcada preferencia por la pulpa de remolacha con vinaza, independiente de la cantidad adicionada, sin que el consumo voluntario de MS fuera estadísticamente diferente ( $P > 0.34$ ). Adicionalmente, demostraron mediante el uso de 8 ovejas canuladas, que la tasa de desaparición y degradabilidad de la FDN y la PC en incubación con sacos independiente de la dieta (pulpa de remolacha con vinaza al 0% y 13%, respectivamente), era incrementada cuando los animales era alimentados con una dieta con una inclusión del 13% de vinaza (Fernandez et al. 2009). Variables como el pH, concentración de amonio, AGV individuales o totales en el licor ruminal de las ovejas en tiempos de muestreo diferentes después de la alimentación en respuesta a la adición de vinaza, no evidenciaron diferencias estadísticas (Fernandez et al. 2009).

#### **2.5.4. LÍMITE MÁXIMO Y RECOMENDACIONES DE INCORPORACIÓN DE VINAZA DE REMOLACHA.**

La Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA), recomienda los siguientes límites máximos de incorporación de vinaza de remolacha en la dieta de diferentes especies.

Tabla 2-13. Límites de incorporación de vinaza de remolacha en dietas para Porcinos y Conejos (FEDNA, 2000).

<b>Límites Máximos de incorporación (%): Porcinos y Conejos</b>					
<b>PORCINO</b>					<b>CONEJOS</b>
<b>Prestarter</b>	<b>Inicio</b>	<b>Cebo</b>	<b>Gestación</b>	<b>Lactación</b>	
<b>(&lt;28 d)</b>	<b>(28-70 d)</b>	<b>(&gt;70 d)</b>			
0	0	1	2	1	0

• En función del nivel de potasio podría aumentarse el máximo en animales adultos

Tabla 2-14. Límites de incorporación de vinaza de remolacha en dietas para Avicultura (FEDNA, 2000).

<b>Límites Máximos de incorporación (%): Avicultura</b>					
<b>Pollos</b>	<b>Pollos</b>	<b>Pollitas</b>	<b>Pollitas</b>	<b>Puesta</b>	<b>Reproductoras</b>
<b>inicio</b>	<b>cebo</b>	<b>inicio</b>	<b>Crecimiento</b>	<b>Comercial</b>	<b>Pesadas</b>
<b>(0-18d)</b>	<b>(18-45d)</b>	<b>(0-6sem)</b>	<b>(6-20sem)</b>		
0	0	0	0	0	0

Tabla 2-15. Límites de incorporación de vinaza de remolacha en dietas para Rumiantes (FEDNA, 2000).

<b>Límites Máximos de incorporación (%): Rumiantes</b>						
<b>Recría</b>	<b>Vacas de leche</b>	<b>Vacas de carne</b>	<b>Terneros de levante</b>	<b>Terneros de ceba</b>	<b>Ovejas</b>	<b>Ovino de ceba</b>
			<b>(60-150kg)</b>	<b>(&gt;150 kg)</b>		
3	1	4	0	1	3	1

### **2.5.5. NORMAS DE CONTROL DE CALIDAD DE LA VINAZA**

De acuerdo al FEDNA (2000), la inspección en recepción incluye el control organoléptico y micrográfico; estos controles verifican que la viscosidad entre lotes sea constante, la ausencia de productos sólidos ajenos a la vinaza, color oscuro y olor característico. El análisis establece que la proteína bruta sea del 17.9% y la cantidad máxima de potasio del 8%; el contenido de Aflatoxinas B1, menor a 50 ppb y los pesticidas clorados menor a 10 ppb. También el contenido máximo de estafilococos de 10 UFC/g y ausencia de *Escherichia coli* y *Salmonella* (FEDNA 2000, consultado por Caisaguano 2009).

## **3. ENSILAJE DE GRAMÍNEAS PARA LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**

### **3.1. COMPOSICIÓN Y RUPTURA DE PAREDES CELULARES VEGETALES**

La biomasa lignocelulósica es una matriz compuesta principalmente por esteroides extraíbles, proteínas, carbohidratos, lignina y material mineral. Los extraíbles son ceras y lípidos, los carbohidratos se clasifican en solubles, tales como la sacarosa y fructosa, no estructurales, como el almidón y estructurales como la celulosa y hemicelulosa. A continuación se describe la celulosa, hemicelulosa y lignina por ser los componentes mayoritarios en las gramíneas (Mateus, 2011).

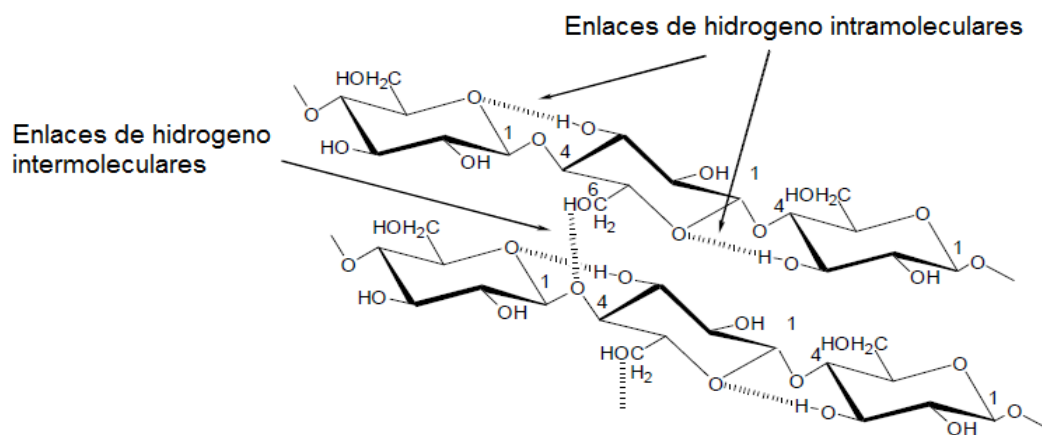
#### **3.1.1. CELULOSA**

La celulosa constituye entre el 40 - 60% del total del material lignocelulósico. Es un polímero compuesto de unidades  $\beta$ -D-glucopiranosas, unidas sucesivamente a través de enlaces glucosídicos en la configuración  $\beta$  (1-4), dando lugar a la unidad de celobiosa que es la unidad más pequeña que se repite exactamente en la cadena polimérica. Su estructura es altamente cristalina debido a la presencia de 14 puentes de hidrógeno inter e intramoleculares que influyen en su morfología, rigidez, orientación, resistencia y reactividad. Las zonas de alta cristalinidad son difíciles de hidrolizar en sus unidades monoméricas, mientras que las zonas de menor cristalinidad, es decir amorfas, son accesibles y susceptibles a las reacciones químicas. Durante la hidrólisis del polisacárido

se libera una molécula de agua por la ruptura de cada enlace glucosa – glucosa (Mateus, 2011).

El anillo glucopiranosico está conformado por grupos  $-CH_2OH$  y  $-OH$  unidos a través de enlaces glucósidos que se encuentran en posición ecuatorial con respecto al plano medio del anillo y los átomos de hidrógeno en posición axial como se muestra en la Figura 2-1.

Figura 2-1. Estructura de la celulosa (Mateus, 2011)



### 3.1.2. HEMICELULOSA

La hemicelulosa es un heteropolisacarido compuesto fundamentalmente de xilosa, arabinosa (pentosas), galactosa, glucosa y manosa (hexosas) y pequeñas cantidades de ramnosa, ácido glucurónico, y galacturónico. Se caracteriza por tener una configuración estructural amorfa y muy hidrofílica, por lo que es más accesible y fácil de hidrolizar que la celulosa; tiene un grado de polimerización de 100 a 200 unidades monoméricas. La principal función de la hemicelulosa es enlazar la celulosa y la lignina (Mateus, 2011).

### 3.1.3. LIGNINA

La principal función de la lignina es proveer soporte estructural a la planta, encapsulando la celulosa y hemicelulosa, impidiendo el ataque microbiano sobre éstas. Estructuralmente la lignina es un polímero complejo formado por unidades monoméricas denominadas alcoholes cinamílicos, diferenciados entre sí por las diferentes sustituciones de las

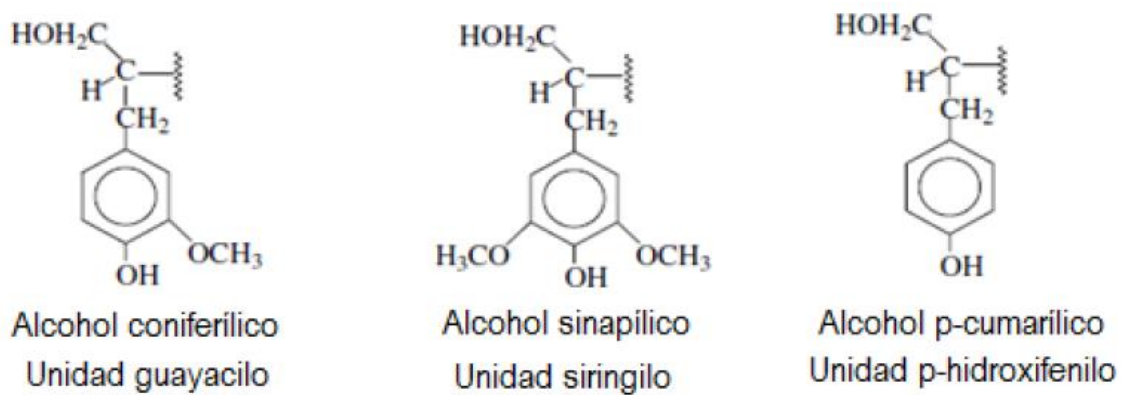
unidades fenilpropano, como se muestra en la Figura 2-2a. El alcohol p-cumerílico no posee ningún sustituyente, el alcohol coniferílico presenta un grupo metoxilo en la posición 3 del anillo aromático y el alcohol sinapílico tiene dos sustituciones de grupos metoxilo en las posiciones 3 y 5 del anillo (Mateus, 2011).

La lignina se forma por un proceso de deshidrogenación enzimática de los alcoholes cinamílicos, dando lugar a una gran variedad de radicales fenoxilo que reaccionan entre sí aleatoriamente, formando la lignina. La presencia de múltiples enlaces del tipo éter, entre cada una de las unidades fenilpropano explica la baja velocidad de degradación de la lignina, además de la dificultad de aislar toda la estructura polimérica sin causar daños estructurales. Estas características impiden elucidar la estructura química de la lignina, en la Figura 2-2b se plantea una propuesta de la estructura de la lignina (Tejado, 2007).

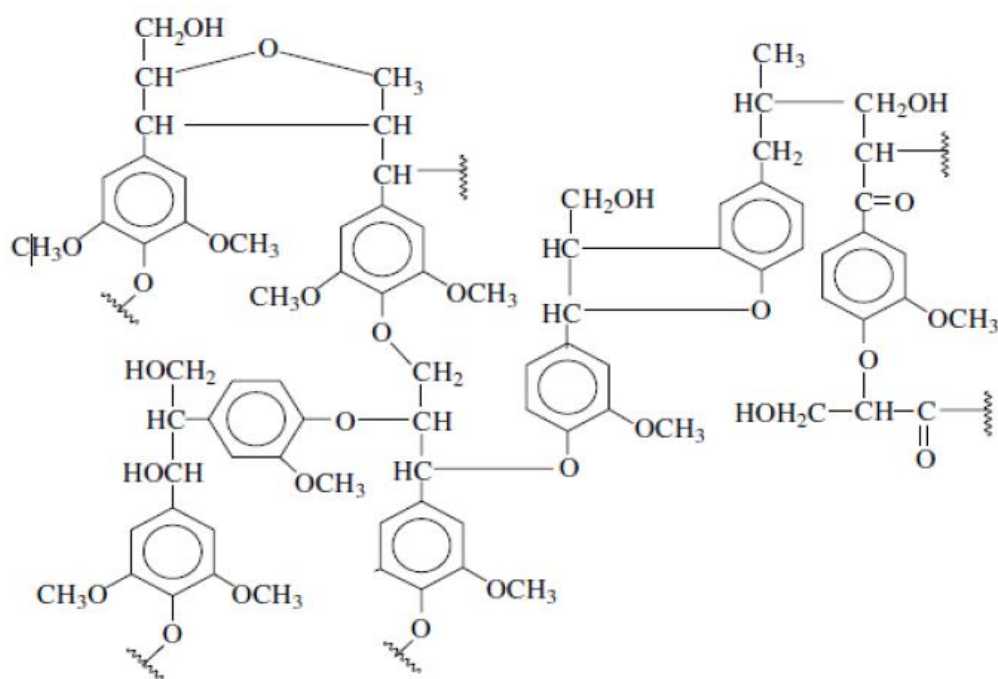
Las biomásas lignocelulósicas de bajo contenido de lignina están compuestas principalmente por unidades de alcohol coniferílico con pequeñas cantidades de unidades de alcohol sinapílico y trazas de alcohol p-cumarílico, mientras que las biomásas lignocelulósicas con alto contenido de lignina, contienen proporciones iguales de unidades p-cumerílico y sinapílico (Tejado, 2007).



Figura 2-2. Estructura de la lignina, a) unidades de fenilpropano que forman la estructura básica de la lignina y b) modelo de la lignina (Tejado, 2007).



a)



b)

Figura 2-3. Hidrólisis de la celulosa por acción de las celulasas (Corredor 2008, consultado por Mateus 2011).

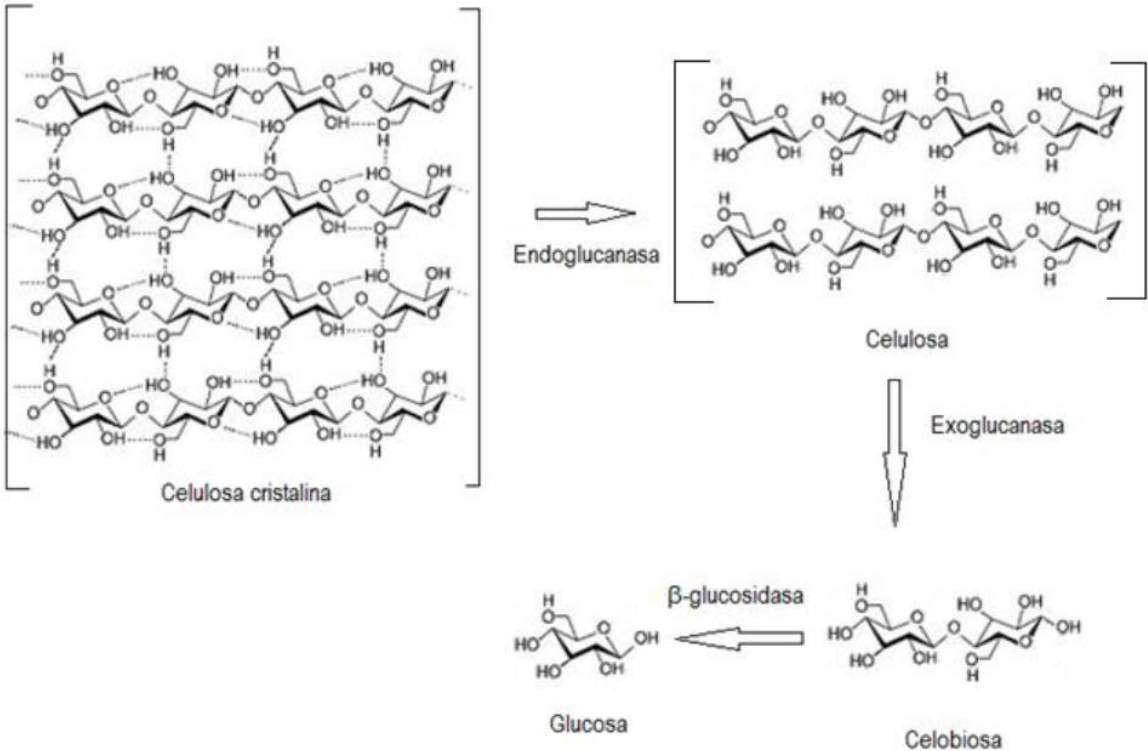
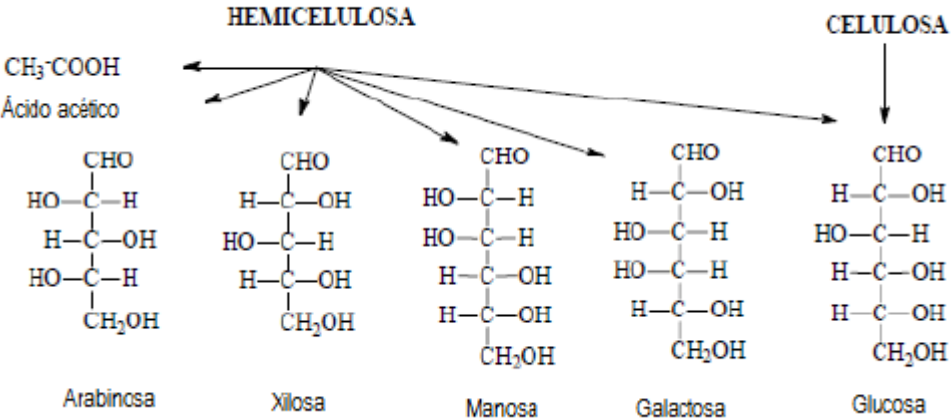


Figura 2-4. Hidrólisis de la Hemicelulosa (Mateus 2011).



### 3.2. PRINCIPIO DEL ENSILAJE

El ensilaje consiste en guardar los pastos y forrajes que se quieren conservar en silos aislados del aire. El silo es una cavidad abierta en el suelo o un depósito cerrado. También puede ser por amontonamiento del forraje sobre el terreno cubierto por materiales impermeables, generalmente plásticos. se pueden ensilar todo tipo de pastos y forrajes, también cualquier cosecha o sus residuos pueden ser conservados.

El primer objetivo esencial en la preservación de cultivos por fermentación natural es la consecución de condiciones anaeróbicas. En la práctica la anaerobiosis puede ser obtenida por varios métodos. La vía mas eficiente es la de almacenar el material en un contenedor herméticamente sellado, y bajo estas condiciones el oxígeno atrapado en el forraje es rápidamente removido por la respiración enzimática en la planta. En el tipo de silos abiertos la eficiencia con la cual las condiciones de anaerobiosis pueden ser obtenidas depende del grado del grado de consolidación y efectividad del sellado final McDonald (1991).

El principal objetivo del sellado es prevenir el reingreso y circulación de aire durante el almacenamiento. Mientras el oxígeno esta en contacto con el forraje por algún periodo de tiempo, la actividad microbial aerobica ocurre y el material decae a ser inútil, incomedible y frecuente un producto tóxico. El segundo objetivo principal es el de disuadir la actividad de microorganismo indeseables tales como clostridios y enterobacterias. Los Clostridios son usualmente presentes en el cosechado del forraje en la forma de esporas. Pero comienzan a multiplicarse tan pronto como las condiciones en el silo llegan a ser anaeróbicas. El crecimiento de estos organismos es indeseable, como ellos producen ácido butírico y degradan aminoácidos a una variedad de productos que son de pobre valor nutricional. Las enterobacterias no forman esporas, anaerobias facultativas, fermentan azúcares ácido acético y otros productos y también tienen la capacidad de degradar aminoácidos. La vía mas común de inhibir el crecimiento de estos microorganismos indeseables es promoviendo la fermentación ácido láctica (McDonald, 1991).

Las bacterias ácido lácticas esta normalmente presentes en los cultivos cosechados al igual que las enterobacterias, que son anaerobias facultativas. Estos organismos

fermentan de manera los azúcares (principalmente glucosa y fructosa) en el cultivo a una mezcla de ácidos, pero predominando el láctico. El ácido láctico producido incrementa la concentración de iones hidrógeno producidos a un nivel a los cuales las bacterias indeseables son inhibidas. Esta inhibición es causada no únicamente por la concentración del ion hidrógeno, también por los ácidos nodisociados dentro del silo. Es difícil establecer un valor de pH exacto del ensilaje en el cual ocurre estos efectos de inhibición. Como la inhibición no depende solo del pH, también de la humedad contenida y la temperatura. El material mas húmedo, el bajo valor de pH sería crítico. Con cultivos de gramíneas sin marchitar de contenido de MS de 200 g/kg MS, es normalmente aceptado para alcanzar un valor de 4.0 que preservaría satisfactoriamente el cultivo, garantizando que el silo permanezca hermético y libre de penetración por lluvia. Un método alternativo de inhibir el crecimiento de bacterias indeseables es reducir el contenido de humedad por marchitamiento del cultivo previo al ensilado. Las bacterias ácido lácticas tiene una relativa alta tolerancia a reducir las condiciones de humedad y son capaces de dominar la fermentación en cultivos con alto contenido de MS (McDonald, 1991).

La tasa de producción de ácido láctico es un importante factor que inhibe el crecimiento de bacteria indeseables y reduce las perdidas por fermentación y esto depende de la población de bacterias ácido lácticas iniciales en el cultivo ensilado y la disponibilidad de sustrato (McDonald, 1991).

### **3.2.1. CULTIVOS PARA ENSILAR**

El ensilaje puede ser hecho de una larga variedad de cultivos. Muchos cultivos son propuestos para que crezcan y llevarlos a ensilaje, pero otros son ensilados para llevarlos a suplir un requerimiento inmediato. Las características de un cultivo ideal para preservarlo como ensilaje son que debe contener un adecuado nivel de sustratos fermentables en la forma de carbohidratos solubles, una baja capacidad buferante y un contenido de MS alrededor de 200 g/kg de MS. Idealmente debe también poseer una estructura física en la cual permita compactar en el silo fácilmente después del cosechado. Algunos cultivos no llenan estos requerimientos y en tales materiales se debe

realizar un pretratamiento, tales como marchitamiento en campo, picado fino y el uso de aditivos, puede ser necesario (McDonald, 1991).

Aún en los ensilajes más perfectos hay que asumir pérdidas sobre todo superficiales que se dan en las paredes laterales y en la parte superior de los silos elaborados en el campo por acción del agua y del aire (microorganismos). En forrajes que se guardan muy húmedos se presentan pérdidas por drenaje o efluentes y muchos nutrientes pueden ser lavados en la fase de apisonamiento, forrajes almacenados con humedades del 70% o menos no muestran pérdidas por drenaje (Bernal et al. 2002).

### **3.2.1.1. GRAMÍNEAS**

Las gramíneas son uno de los cultivos mas comunes a ser conservados como ensilaje. Aunque simples especies de gramíneas tales como Ryegrass italiano (*Lolium multiflorum*), Ryegrass perenne (*Lolium perenne*), pie de gallo (*Dactylis glomerata*), timothy (*Phleum pratense*), festuca (*Festuca pratensis*), pueden crecer como un cultivo para ensilaje. Es bastante común a encontrar especies mezcladas de ambos como gramíneas y leguminosas (*Trifolium* sp.) esta siendo usadas (McDonald, 1991).

Durante el periodo de crecimiento, la humedad y el contenido de proteína cruda disminuyen mientras los componentes de las paredes celulares incrementan. La digestibilidad disminuye con la madurez, aunque la disminución es lineal desde los periodos de primavera hasta que la digestibilidad remanente alcanza a ser constante. El fin de este periodo es asociado en algunas especies de plantas con la emergencia de la espiga, lo cual afecta abruptamente la digestibilidad de la materia orgánica. Las diferencias en la digestibilidad de las gramíneas esta influenciada por la relación hoja:tallo (McDonald, 1991).

En gramíneas muy jóvenes el tallo es mas digestible comparado con la hoja, pero en plantas muy madura la relación es inversa. Los carbohidratos pueden ser clasificados en dos categorías principales: estructurales y no estructurales (McDonald, 1991).

Tabla 2-16. Composición (g/kg MS) de tres especies de gramíneas en cuatro estados de crecimiento (McDonald *et al.*, 1991).

Gramínea	Fecha del corte	Altura promedio (cm.)	Relación hoja: tallo (peso seco)	Proteína cruda	Solubles en Ether	carbohidratos solubles	Componentes de la pared celular			Cenizas
							Hemicelulosas	Celulosa	Lignina	
Ryegrass S23										
Corte										
1	22-abr	10.5	10.0	209	80	158	113	170	30	101
2	14-jun	23.3	1.1	61	36	221	127	217	33	59
3	19-jul	52.3	0.1	34	27	177	183	284	72	42
4	13-sep	56.3	0.1	31	28	42	210	331	100	39
Thimoty S48										
Corte										
1	25-abr	11.8	4.0	164	72	199	107	173	36	83
2	30-may	27.0	2.0	86	33	197	140	219	46	64
3	12-jul	75.0	0.3	46	35	142	206	295	92	32
4	14-sep	87.5	0.2	24	23	114	192	313	119	31
Pata de Gallo S143										
Corte										
1	25-abr	11.5	5.0	200	70	120	108	176	48	125
2	26-may	26.0	2.6	107	53	141	148	236	51	89
3	06-jul	80.5	0.1	45	31	116	219	295	89	73
4	16-sep	85.5	0.1	25	24	5	252	389	146	49

Fuente: Mc Donald (1991).

## **3.2.2. COMPUESTOS NITROGENADOS**

### **3.2.3.1. PROTEINAS**

Alrededor del 75 al 90% del nitrógeno total en gramíneas frescas es presente en forma de proteína. Como en todas las células vivientes, están hechas de hasta 20 aminoácidos unidos a través de enlaces peptídicos entre el grupo  $\alpha$ -amino del ácido y el grupo carboxilo del siguiente. El principal factor que influencia el contenido de proteína del forraje, es el estado de crecimiento, aunque la aplicación de fertilizantes nitrogenados puede tener un efecto marcado en incrementar el contenido de proteína. En general, las gramíneas de zona templada tienen la tendencia a tener un contenido de proteína mayor en comparación con gramíneas tropicales (McDonald, 1991).

### **3.2.3.2. COMPONENTES DEL NITRÓGENO NO PROTEICO**

Alrededor del 10 al 25% del nitrógeno total esta constituido de componentes de nitrógeno no proteico. Esto incluye aminoácidos libres y las amidas de glutamina y asparagina, péptidos de cadenas con variada longitud, aminas, ureides, ureidos, nucleótidos, clorofila y nitratos (McDonald, 1991).

En cultivos forrajeros la composición de aminoácidos libres es muy variable y presenta una marcada relación en la composición de aminoácidos de la fracción proteica, los cuales son relativamente estables. Los aminoácidos libres presentes son influenciados por algunos factores tales como especies, estado de crecimiento y condiciones medio ambientales. Adicionalmente al número de aminoácidos normalmente encontrado como componente de las proteínas, un número considerable de aminoácidos no proteicos también ocurren libremente en gramíneas y otros forrajes (McDonald, 1991).

El contenido de amidas de gramíneas es influenciado por la fertilización nitrogenada. Nowakowski y Cunningham demostraron que cuando 100 mg/kg de nitrógeno era aplicado a Ryegrass Italiano, el nitrógeno amoniacal produjo mas amidas en las gramíneas en comparación con el nitrógeno nitroso. La asparagina era la amida mas predominante presente. Las amidas han sido encontradas, usualmente en cantidades

trazas en plantas altas, sin embargo ellas pueden acumular altos niveles en las mismas especies. Las aminos de las plantas son casi tan generalizada y químicamente diversos como los aminoácidos, pero no se encuentran en concentraciones comparables en la mayoría de las plantas. Histamina ha sido detectada en algunas gramíneas y tréboles, mientras que los derivados de la triptamina se encuentran en la gramínea *Phalaris arundinaceae*. La Etanolamina era encontrada en el jugo de 41 plantas grandes, incluyendo varias especies herbáceas.

Los compuestos que contienen el grupo ureido, han sido encontrados en numerosas especies herbáceas incluyendo gramíneas, incluyendo otras sustancias, las cuales incluyen ácido urico, alantoina, y ácido alantoico, que pueden jugar un rol como componente de almacenamiento del nitrógeno y en translocación del nitrógeno. El nitrato contenido en las gramíneas es marcadamente influenciado por el nivel de nitrógeno aplicado en la fertilización.

### **3.3. EL PERIODO DE ENSILADO Y ROMPIMIENTO DE CARBOHIDRATOS ESTRUCTURALES.**

Durante el ensilado la cantidad de ácido producido es usualmente producido es usualmente encontrado a estar en exceso, lo cual se pudo haber generado unicamente por la cantidad de carbohidratos solubles en exceso de la fermentación, lo cual sugiere que otras sustancias pueden actuar como sustratos. Aunque se sabe que las proteínas, aminoácidos, pueden llevar a cabo esta función, los carbohidratos estructurales puede desempeñar como fuente de sustrato (McDonald, 1991).

La medición exacta de los carbohidratos solubles incrementados de la actividad enzimática de las plantas es demasiado difícil de determinar, ya que pueden existir azúcares perdidos por efecto la respiración que pueden ser reemplazados por azúcares liberados de carbohidratos estructurales de plantas, tales como Hemicelulosa, Celulosa y pectinas. Usando gramíneas irradiadas con radiaciones-gamma, Heron et al. , encontró que los carbohidratos contenidos en ensilajes de gramíneas irradiados por 153 días era un 65% mayor comparado con las gramíneas originales.



Macpherson et al., encontró un incremento en los carbohidratos solubles, durante el ensilado de gramíneas que habían sido tratadas con metabisulfito de sodio (Bactericida y germinicida), y que obedecían principalmente a un incremento de la fracción glucosa. Ellos sugieren que la fuente de esto era fácilmente presumible a originarse de la hidrólisis de la Hemicelulosa, una conclusión que era soportada por la presencia de pentosas en el ensilaje. Aunque el rompimiento de la celulosa, ocurrió durante el ensilado era mucho mas presumible considerar que era mucho menor comparado con la cantidad de Hemicelulosa. (McDonald, 1991).

El contenido de Hemicelulosa de gramíneas incrementa con la madurez y varia alrededor de 100 a 300 g/ kg de MS y una hidrólisis significativa ha sido encontrada en ensilajes. Mc Donald et al. (1991), encontró que la mitad de la Hemicelulosa contenida puede ser dregadada, en donde dos posibles fuentes de rompimiento pueden ser: Hidrólisis por ácidos organicos producidos durante la fermentación y Hemicelulasas presentes en el material vegetal (McDonald, 1991; Jaurena et al. 2008)..

### **3.4. LA MICROFLORA DEL ENSILAJE**

La microflora del ensilaje juega un papel clave para el éxito del proceso de conservación. Puede ser dividida en dos grupos principales: los microorganismos benéficos y los microorganismos indeseables. Los microorganismos benéficos son los microorganismos BAC. Los indeseables son aquellos organismos que causan el deterioro anaeróbico (p. ej. clostridios y enterobacterias) o deterioro aeróbico (ej. levaduras, bacilos, *Listeria* sp. y mohos). Muchos de estos organismos indeseables no sólo reducen el valor nutritivo del ensilaje sino que pueden además afectar la salud de los animales o alterar la calidad de la leche, o ambas (p. ej.: *Listeria* sp., clostridios, hongos y bacilos).

#### **3.4.1. MICROORGANISMOS BENÉFICOS - BACTERIAS QUE PRODUCEN ÁCIDO LÁCTICO (BAC)**

Las bacterias BAC pertenecen a la microflora epifítica de los vegetales. Su población natural crece significativamente entre la cosecha y el ensilaje. Esto se explica por la reactivación de células latentes y otras no cultivadas, y no por la inoculación de las

máquinas cosechadoras o por el simple crecimiento de la población original. Las características del cultivo como, contenido de azúcares, contenido de materia seca y composición de los azúcares, combinados con las propiedades del grupo BAC así como su tolerancia a condiciones ácidas o de presión osmótica, y el uso del sustrato, influirán en forma decisiva sobre la capacidad de competencia de la flora BAC durante la fermentación del ensilaje (Woolford, 1984; McDonald *et al.*, 1991).

Los componentes BAC que se asocian con el proceso de ensilaje pertenecen a los géneros: *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Streptococcus*. La mayoría de ellos son mesófilos, o sea que pueden crecer en un rango de temperaturas que oscila entre 5° y 50°C, con un óptimo entre 25° y 40°C. Son capaces de bajar el pH del ensilaje a valores entre 4 y 5, dependiendo de las especies y del tipo de forraje. Todos los miembros del BAC son aeróbicos facultativos, pero muestran cierta preferencia por la condición anaeróbica (Holzapfel y Schillinger 1992; Hammes *et al.*, 1992; Devriese *et al.*, 1992; Weiss, 1992; Teuber *et al.*, 1992).

Tomando en cuenta su metabolismo de los azúcares, los miembros BAC pueden ser clasificados como homofermentadores obligatorios, heterofermentadores facultativos o heterofermentadores obligatorios. Los homofermentadores obligatorios producen más de 85 por ciento de ácido láctico a partir de hexosas (azúcares C<sub>6</sub>) como la glucosa, pero no pueden degradar las pentosas (azúcares C<sub>5</sub>) como la xilosa. Los heterofermentadores facultativos también producen principalmente ácido láctico a partir de hexosas, pero además pueden degradar algunas pentosas produciendo ácido láctico, ácido acético y/o etanol. Los heterofermentadores obligatorios degradan las hexosas y las pentosas, pero se distinguen de los homofermentadores en que degradan las hexosas en proporciones equimolares de ácido láctico, CO<sub>2</sub>, ácido acético y/o etanol (Hammes *et al.*, 1992; Schleifer y Ludwig 1995). Los homofermentadores obligatorios reúnen especies como *Pediococcus damnosus* y *Lactobacillus ruminis*. Los heterofermentadores facultativos incluyen a *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus*, *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus* y *Enterococcus faecium*. Los heterofermentadores obligatorios incluyen miembros del género *Leuconostoc* y algunos *Lactobacillus* como *L. brevis* y *L. buchneri* (Devriese *et al.*, 1992; Weiss, 1992; Holzapfel y Schillinger, 1992; Hammes *et al.*, 1992).

### **3.4.2. MICROORGANISMOS INDESEABLES**

#### **3.4.2.1. LEVADURAS**

Las levaduras son microorganismos eucarióticos, anaeróbicos facultativos y heterotróficos. En todo ensilaje, tanto la actividad de levaduras anaeróbicas como aeróbicas son indeseables. Bajo condiciones anaeróbicas las levaduras fermentan azúcares produciendo etanol y CO<sub>2</sub> (Schlegel, 1987; McDonald *et al.*, 1991). La producción de etanol no sólo disminuye el azúcar disponible para producir ácido láctico, sino que también produce un mal gusto en la leche (Randby *et al.*, 1999). Bajo condiciones aeróbicas, muchas especies de levaduras degradan el ácido láctico en CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. La degradación del ácido láctico eleva el valor del pH del ensilaje, lo cual a su vez permite el desarrollo de otros organismos indeseables (McDonald *et al.*, 1991).

Las poblaciones de levaduras pueden alcanzar hasta 10<sup>7</sup> unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo durante las primeras semanas del proceso de ensilaje; un período prolongado de almacenaje reduce gradualmente la presencia de levaduras (Jonsson y Pahlow, 1984; Middelhoven y van Baalen, 1988; Driehuis y van Wixselaar, 1996). La supervivencia de las levaduras durante el almacenaje depende de la severidad de la anaerobiosis y la concentración de ácidos orgánicos. La presencia de oxígeno facilita la supervivencia y el desarrollo de las levaduras durante el almacenaje (Jonsson y Pahlow, 1984; Donald *et al.*, 1995), mientras que un contenido elevado de ácido fórmico o ácido acético reducen su supervivencia (Driehuis y van Wixselaar, 1996; Oude Elferink *et al.*, 1999). La actividad inicial de las levaduras parece ser incrementada en forrajes que generan niveles bajos de pH (<5), por ejemplo, cuando se trata de materiales con un alto contenido de azúcares como papas, cáscaras de naranja o remolacha azucarera, o cuando se emplean aditivos ácidos. Bajo estas condiciones el ensilaje resultante tiene concentraciones altas de etanol y bajas en ácido láctico (Henderson *et al.*, 1972; Ashbell *et al.*, 1987; Weinberg *et al.*, 1988; Driehuis y van Wixselaar, 1996). Más adelante se describen los aditivos desarrollados para reducir la actividad de las levaduras en el ensilaje.

#### **3.4.2.2. ENTEROBACTERIAS**

Las enterobacterias son organismos anaeróbicos facultativos. Se considera que la mayoría de las enterobacterias presentes en el ensilaje no son patógenas. Pese a ello su desarrollo en el ensilaje es perjudicial porque compiten con los integrantes del BAC por los azúcares disponibles, y porque además pueden degradar las proteínas. La degradación proteica no sólo causa una reducción del valor nutritivo del ensilaje, sino que también permite la producción de compuestos tóxicos tales como aminas biogénicas y ácidos grasos de cadena múltiple. Se sabe que las aminas biogénicas tienen un efecto negativo sobre la palatabilidad del ensilaje (Woolford, 1984; McDonald *et al.*, 1991; van Os y Dulphy, 1996), especialmente en animales todavía no acostumbrados a su sabor (van Os *et al.*, 1997). Más aún, el amoníaco generado por la proteólisis aumenta el poder tampón del forraje ensilado, lo cual se opone a toda tendencia para un descenso rápido del pH del ensilaje. Un atributo particular de las enterobacterias es su habilidad, en el proceso de ensilaje, para reducir el nitrato ( $\text{NO}_3$ ) a nitrito ( $\text{NO}_2$ ). Las enterobacterias en el ensilaje pueden luego degradar el nitrito en amoníaco y óxido de nitrógeno ( $\text{N}_2\text{O}$ ), pero este también puede ser transformado en monóxido de nitrógeno ( $\text{NO}$ ) y nitrato (Spoelstra, 1985, 1987). En presencia de aire, el  $\text{NO}$  es oxidado produciendo una mezcla de gases, óxidos amarillo-marrones de nitrógeno ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}_3$ ,  $\text{N}_2\text{O}_4$ ). Los gases de  $\text{NO}$  y  $\text{NO}_2$  dañan el tejido pulmonar y pueden causar enfermedades con síntomas parecidos a la neumonía, conocida como enfermedad del ensilaje (Woolford, 1984). Para evitar el contacto de los animales con estos gases de nitrógeno se recomienda que no sean estabulados cerca de los silos cuando se llena el silo o durante su primera semana de almacenaje (O'Kiely *et al.*, 1999). A pesar de estos problemas, se considera útil que ocurra una leve reducción de nitritos, ya que los nitritos y el  $\text{NO}$  que se generan son inhibidores muy potentes de los clostridios y mejoran la calidad del ensilaje (Woods *et al.*, 1981; Spoelstra, 1985).

Las enterobacterias no proliferan en ambientes con valores bajos de pH. Las técnicas de ensilaje que aseguren un rápido y significativo descenso del pH en el ensilaje, provocarán una inhibición del desarrollo de las enterobacterias (McDonald *et al.*, 1991).

### **3.4.2.3. CLOSTRIDIOS**

Los clostridios son bacterias anaeróbicas que forman endosporas. Muchas de ellas pueden fermentar tanto carbohidratos como proteínas, por lo cual disminuyen el valor nutritivo del ensilaje y al igual que las endobacterias crean problemas al producir aminas

biogénicas. Además, la presencia de clostridios en el ensilaje altera la calidad de la leche ya que sus esporas sobreviven después de transitar por el tracto digestivo y se encuentran en las heces; esto puede resultar en la contaminación de la leche, ya sea directamente o por ubres mal aseadas. La especie de mayor importancia en las lecherías es *Clostridium tyrobutyricum*, un organismo ácido tolerante. Además de poder fermentar carbohidratos, *C. tyrobutyricum* también puede degradar el ácido láctico en ácido butírico, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, según la reacción siguiente:



La fermentación butírica no sólo interfiere con la fermentación láctica del ensilaje y de los quesos, sino que también es responsable de una abundante producción de gas, lo que causa en los quesos duros y semiduros el defecto conocido como "soplado tardío", común en quesos Emmental, Grana, Gouda y Parmesano (Gibson, 1965; Goudkov y Sharpe, 1965; Klijn *et al.*, 1995).

Serios problemas de salud pueden ser causados por ciertos tipos de clostridios. Una especie extremadamente tóxica es *Clostridium botulinum* que provoca el botulismo, y puede ser fatal para el ganado bovino. Afortunadamente, *C. botulinum* tiene una baja tolerancia a medios ácidos y por ello no se desarrolla en ensilajes bien fermentados. El botulismo en los animales es causado por ingestión de ensilaje contaminado con *C. botulinum* y corresponde casi siempre a la descomposición de un cadáver (p. ej.: ratón, pájaro) dentro del ensilaje (Kehler y Scholz, 1996).

Un "ensilaje clostridial" típico muestra un alto contenido de ácido butírico (más de 5 g/kg de MS), un pH alto (>5 en ensilajes con bajo contenido de MS), y alto contenido tanto de amoníaco como de aminas (Voss, 1966; McPherson y Violante, 1966). Las técnicas de ensilaje que permiten una caída rápida y significativa del pH evitarán el problema, puesto que tanto el desarrollo de enterobacterias como de clostridios se inhibe con valores bajos de pH. Por otro lado, los clostridios muestran mayor susceptibilidad a la falta de humedad (o sea, bajo valor a<sub>w</sub>, baja actividad acuosa) que los integrantes del BAC (Kleter *et al.*, 1982, 1984; Huchet *et al.*, 1995). Por ello, toda medida tomada para disminuir el valor de un forraje, como inducir su marchitez y por ende aumentar el valor del contenido de MS, permite la inhibición selectiva de clostridios (Wieringa, 1958). Por último, los nitritos y el

NO u otros compuestos que puedan ser degradados en el ensilaje para producirlos, también inhibirán el desarrollo de los clostridios (Spoelstra, 1983, 1985).

#### **3.4.2.4. BACTERIAS PRODUCTORAS DE ÁCIDO ACÉTICO**

Estas bacterias son ácido tolerantes y aeróbicas obligatorias. Hasta la fecha, todas estas bacterias aisladas de muestras de ensilaje pertenecen al género *Acetobacter* (Spoelstra *et al.*, 1988). La actividad de *Acetobacter* spp. en el ensilaje es perniciosa porque puede iniciar una deterioración aeróbica, ya que puede oxidar el lactato y el acetato produciendo CO<sub>2</sub> y agua. Generalmente, las responsables principales del inicio del deterioro aeróbico son levaduras; las bacterias acéticas se encuentran ausentes o juegan un papel poco importante en este problema. No obstante, existe evidencia que estas bacterias pueden iniciar un deterioro aeróbico en el ensilaje de maíz cuando incluye toda la planta, grano y forraje (Spoelstra *et al.*, 1988). Por otro lado, la inhibición selectiva de las levaduras también puede aumentar la proliferación de bacterias que producen ácido acético en el ensilaje (Driehuis y van Wixselaar, 1996).

#### **3.4.2.5. BACILOS**

Los bacilos se asemejan a los clostridios: son bacterias de forma cilíndrica que forman esporas. Sin embargo, se los puede distinguir fácilmente ya que son aeróbicos facultativos, mientras que los clostridios son todos anaeróbicos obligatorios (Claus y Berkeley, 1986; Cato *et al.*, 1986). Los bacilos aeróbicos facultativos fermentan un amplio rango de carbohidratos generando compuestos tales como ácidos orgánicos (p. ej.: acetatos, lactatos y butiratos) o etanol, 2,3-butanodiol y glicerol (Claus y Berkely, 1986). Algunos *Bacillus* spp. son capaces de producir sustancias fungicidas, y se los ha usado para inhibir el proceso de deterioro aeróbico en ensilajes (Phillip y Fellner, 1992; Moran *et al.*, 1993). Con la excepción de estas estirpes, el desarrollo de los bacilos en el ensilaje es en general considerado como indeseable. Esto se debe a que los bacilos no sólo son menos eficaces como productores de ácido láctico y acético comparado con el grupo BAC (McDonald *et al.*, 1991), si no que en las etapas finales, incrementan la deterioración aeróbica (Lindgren *et al.* 1985; Vreman *et al.*, en imprenta). Además, un alto número de esporas de *Bacillus* en leche fresca ha sido asociado con un alto número de esporas en heces frescas de vaca (Waes, 1987; te Giffel *et al.*, 1995). Parece muy posible que, tal

como ocurre en el caso de esporas de los clostridios, las esporas de *Bacillus* sean transferidas del ensilaje a la leche vía las heces (Vreman *et al.*, en imprenta). Las esporas psicrotróficas de *Bacillus cereus* son consideradas como los organismos más importantes del deterioro de la leche pasteurizada (te Giffel, 1997). Altas concentraciones de esporas psicrotróficas de *B. cereus* han sido detectadas en ensilajes (Labots *et al.*, 1965; te Giffel *et al.*, 1995).

Para disminuir el desarrollo de *Bacillus* en el ensilaje, la temperatura de almacenaje no debería ser muy alta (Gibson *et al.* 1958) y se deberá minimizar el ingreso de aire (Vreman *et al.*, en imprenta). Además se debe reducir toda contaminación inicial del ensilaje con tierra o estiércol (McDonald *et al.*, 1991; Rammer *et al.* 1994).

#### **3.4.2.6. MOHOS**

Los mohos son organismos eucarióticos. Es fácil identificar un ensilaje infestado por mohos debido a los filamentos de diversos colores y de gran tamaño que producen muchas especies. Los mohos se desarrollan en cualquier sitio del ensilaje donde encuentren oxígeno, inclusive solo trazas. En un buen ensilaje eso ocurre sólo al inicio del almacenamiento y se restringe a la capa exterior de la masa ensilada, pero durante el deterioro aeróbico (Fase 4) todo el ensilaje puede ser invadido por mohos. Las especies que se han identificado más frecuentemente en el ensilaje pertenecen a los géneros *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Byssoschlamys*, *Absidia*, *Arthrinium*, *Geotrichum*, *Monascus*, *Scopulariopsis* y *Trichoderma* (Pelhate, 1977; Woolford, 1984; Frevel *et al.*, 1985; Jonsson *et al.*, 1990; Nout *et al.*, 1993). Los mohos no sólo disminuyen el valor nutritivo y la palatabilidad del ensilaje sino que también son un riesgo para la salud de los animales y las personas. Las esporas de mohos pueden asociarse a ciertas afecciones pulmonares y reacciones alérgicas (May, 1993). Otros problemas de salud asociados con los mohos se relacionan con las micotoxinas (Oldenburg, 1991; Auerbach, 1996). Dependiendo del tipo y la cantidad de toxina presente en el ensilaje, los problemas de salud pueden variar desde ligeras molestias digestivas, pequeños problemas de fertilidad y una disminución de las defensas naturales, hasta daños serios al hígado o a los riñones y abortos (Scudamore y Livesey, 1998). Algunas especies de hongos que producen micotoxinas son: *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium roqueforti*, y *Byssoschlamys nivea*. *P. roqueforti* es una especie ácido tolerante que puede desarrollarse aún en

ambientes con muy poco oxígeno y alta concentración de CO<sub>2</sub> y ha sido detectada como una especie predominante en diversos tipos de ensilajes (Lacey, 1989; Nout *et al.*, 1993; Auerbach *et al.*, 1998; Auerbach, 1996). Todavía existen muchas dudas sobre cuales son las condiciones bajo las que se producen las micotoxinas en el ensilaje. No todos los ensilajes fuertemente infestados por mohos tienen forzosamente una gran cantidad de micotoxinas, y no todos los tipos de micotoxinas que pueden producir los mohos se encuentran necesariamente en un ensilaje infestado (Nout *et al.*, 1993; Auerbach, 1996). Está confirmado que la aflatoxina B1, una micotoxina de *Aspergillus flavus*, puede ser transferida del ensilaje a la leche. A pesar de esto, no se sabe si esto mismo puede ocurrir con micotoxinas de *P. roqueforti* o *A. fumigatus* (Scudamore y Livesey, 1998).

Las técnicas de ensilaje que minimizan el ingreso de aire (p. ej. buena compactación y cierre hermético del ensilaje), y la inclusión de aditivos que inhiben el deterioro aeróbico, podrán prevenir o limitar el desarrollo de mohos.

#### **3.4.2.7. LISTERIA**

Los integrantes del género *Listeria* son organismos aeróbicos o anaeróbicos. Con relación a los efectos negativos sobre la calidad del ensilaje, la más importante especie es el *L. monocytogenes*, anaeróbico facultativo, que es una especie patogénica para varios animales y para el hombre. Los animales que tienen su sistema inmune temporalmente inhibido (p. ej. hembras preñadas y neonatos) son muy susceptibles a infecciones de *L. monocytogenes* (Jones y Seeliger, 1992). El ensilaje contaminado con *L. monocytogenes* ha sido asociado con casos fatales de listeriosis en ovejas y cabras (Vázquez-Boland *et al.*, 1992; Wiedmann *et al.*, 1994). Además, Sanaa *et al.* (1993) han señalado que el uso de ensilaje de mala calidad ha sido una de las fuentes principales de contaminación de la leche cruda con *L. monocytogenes*. El desarrollo y supervivencia de *Listeria* spp. en el ensilaje están determinados por fallas en asegurar un ambiente anaeróbico, y por el valor pH del ensilaje. *L. monocytogenes* puede tolerar bajos niveles de pH entre 3,8 a 4,2 por largos períodos siempre que exista oxígeno, aún a exiguas concentraciones. Sin embargo, en un ámbito estrictamente anaeróbico, parece rápidamente al existir un valor de pH bajo (Donald *et al.*, 1995). Los ensilajes con mayor susceptibilidad al deterioro aeróbico superficial, como es el caso de ensilajes en grandes pacas, parecen estar particularmente propensos a la contaminación



con *Listeria* (Fenlon *et al.*, 1989). Generalmente *L. monocytogenes* no se desarrolla en ensilajes bien fermentados que tienen un nivel bajo de pH. Hasta el momento, el mejor método para prevenir el desarrollo de *L. monocytogenes* es mantener un ámbito anaeróbico (McDonald *et al.*, 1991).

### 3.5. ADITIVOS EN EL ENSILAJE

Existen diferentes tipos de aditivos los cuales manifiestan diferencias tales como la efectividad general, la adecuación para determinado tipo de forraje, y la facilidad para su manejo y aplicación. Estos factores, junto al precio y la disponibilidad, determinan cual es el aditivo más conveniente para un ensilaje específico. Un problema práctico que presentan algunos aditivos es su naturaleza corrosiva que puede dañar equipos y constituir un riesgo para su manipulación. Los aditivos biológicos no son corrosivos y no hay peligro en su manipulación, pero suelen ser caros. Además su eficacia es menor puesto que depende del estado de actividad de organismos vivos. Tanto en Europa como en los E.U. de América, los inoculantes con bacterias se han convertido en el tipo más frecuente de aditivo empleado en ensilajes de maíz, gramíneas y leguminosas que puedan secarse a una marchitez mayor a 300 g MS/kg (Bolsen y Heidker, 1985; Kung, 1996; Weinberg y Muck, 1996).

Tabla 3-1. Aditivos para la confección de Ensilajes (McDonald *et al.*, 1991)

<b>Tipo de aditivo</b>	<b>Ingrediente activo típico</b>	<b>Comentarios</b>
Estimulantes de fermentación	BAC	Puede afectar la estabilidad aeróbica
	Azúcares (melaza)	
	Enzimas	
Inhibidores de	Acido fórmico*	

fermentación	Acido láctico*	
	Acidos minerales	
	Nitritos	Inhibición de clostridios
	Sulfitos	
	Cloruro de sodio	
Inhibidores de deterioro aeróbico	BAC	
	Acido propiónico*	
	Acido benzoico*	
	Acido sórbico*	
Nutrientes	Urea	Puede mejorar estabilidad aeróbica
	Amoníaco	Puede mejorar estabilidad aeróbica
	Minerales	
Absorbentes	Pulpa seca de remolacha azucarera	
	Paja	

\*o su sal correspondiente

### 3.5.1. ADITIVOS PARA MEJORAR LA FERMENTACIÓN DEL ENSILAJE

Los forrajes que contienen cantidades insuficientes de sustrato para fermentar o un bajo contenido de materia seca arrojan un valor Carbohidratos Fermentables (CF) <35%. En tales condiciones, para inducir una buena fermentación es preciso aumentar el contenido de azúcares, ya sea agregándolos directamente (p. ej. usando melaza) o introduciendo

enzimas que puedan liberar otro tipo de azúcares presentes en el forraje. Los forrajes con valores de CF de 35 o más, tienen suficiente sustrato disponible para una buena fermentación. Sin embargo, agregando ciertos BAC se puede acelerar y mejorar el proceso del ensilaje.

Puede ser útil usar inoculantes que incrementen la fermentación láctica para inhibir la actividad de clostridios. La menor concentración de BAC que se precisa para inhibir la actividad de clostridios es, como mínimo, 100 000 unidades formadoras de colonias por gramo de forraje fresco (Kaiser y Weiss, 1997).

### **3.5.2. ADITIVOS PARA INHIBIR LA FERMENTACIÓN DEL ENSILAJE**

Este tipo de aditivos podrían, en teoría, usarse para todo tipo de forraje. Pero, en la práctica se usan generalmente sólo para cultivos con bajo contenido de carbohidratos hidrosolubles (CHS) y/o alta capacidad tampón (McDonald *et al.*, 1991). Los aditivos que inhiben la fermentación en el ensilaje pueden reducir la cantidad de esporas de clostridios. Empleados en ensilaje de forraje marchito de gramíneas, se ha constatado una disminución de esporas de cinco a 20 veces. Resultados similares pueden lograrse también al agregar melaza, como un estimulante de la fermentación. Los aditivos más efectivos para inhibir el desarrollo de clostridios parecen ser aquellos relacionados con el ácido fórmico, el hexametileno y los nitritos (Jonsson *et al.*, 1990; Lattemae y Lingvall, 1996).

### **3.5.3. ADITIVOS QUE INHIBEN EL PROCESO DE DETERIORO AERÓBICO**

Es obvio que para impedir el deterioro aeróbico será preciso inhibir la actividad y desarrollo de los organismos responsables de este deterioro, y muy especialmente de aquellos que dan comienzo a este proceso (p. ej. levaduras y bacterias que generan una fermentación acética). Algunos aditivos útiles para este propósito incluyen varios ácidos grasos volátiles, como el propiónico y el acético, y otros de tipo biológico, provenientes de

microorganismos como lactobacilos y bacilos que son capaces de producir bacteriocinas (McDonald *et al.*, 1991;; Moran *et al.*, 1993; Weinberg y Muck, 1996).

Los ácidos sórbico y benzoico también muestran una fuerte actividad antibiótica (McDonald *et al.*, 1991). Recientemente se ha descubierto que *Lactobacillus buchneri* es un inhibidor muy eficaz de la degradación aeróbica por la capacidad de convertir, bajo condiciones anaeróbicas, el ácido láctico en ácido acético y 1,2-propanodiol, lo cual causa de manera significativa una disminución del número de levaduras presentes (Driehuis *et al.*, 1997). Este resultado concuerda con el hecho que los ácidos grasos volátiles, como propiónico y acético, son mejores inhibidores de levaduras que el ácido láctico, y que mezclas de ácidos láctico y propiónico o acético muestran efectos sinérgicos en su poder inhibidor (Moon, 1983).

#### **3.5.4. ADITIVOS USADOS COMO NUTRIENTES O COMO ABSORBENTES**

Los aditivos empleados con este propósito de nutrientes, son el amoníaco y la urea que permiten aumentar el contenido en proteína, bruta y verdadera, del ensilaje, y la cal y el  $MgSO_4$  que aumentan el contenido de calcio y magnesio. Si bien estos últimos aditivos no tienen efecto benéfico alguno en la fermentación, la urea y el amoníaco pueden mejorar la estabilidad aeróbica del ensilaje (McDonald *et al.*, 1991). Los absorbentes son empleados para forrajes con bajo contenido en materia seca para evitar pérdidas de nutrientes provocadas por un escurrimiento excesivo del ensilaje.

#### **4.0 EFECTO DEL NIVEL DE INCLUSIÓN Y CONCENTRACIÓN DE VINAZA DE CAÑA (*Saccharum officinarum*) SOBRE LOS PARÁMETROS FERMENTATIVOS Y CALIDAD NUTRICIONAL DE UN ENSILAJE DE MARALFALFA (*Penissetum sp*).**

##### **RESUMEN**

El presente estudio evaluó el efecto del nivel de inclusión (3, 6 y 9%, por kg/FV) y concentración (20, 30 y 40%, respectivamente) de vinaza de caña sobre los parámetros de fermentación (AGV, N-NH<sub>3</sub> y pH) y calidad nutricional (MS, PC, FDN, FDA, NIDA y cenizas) de un ensilaje. El forraje cosechado fue mezclado con vinaza de acuerdo al tratamiento asignado, para la confección y empacado de 50 silos de laboratorio (9 tratamientos por 5 repeticiones), incluyendo el ensilaje sin aditivo (control). Los datos fueron analizados utilizando un diseño completamente al azar en un arreglo factorial 3 x 3 + 1 con 5 repeticiones. Los niveles de MS (14.87 vs 20.88), propionato (3.84 vs. 6.48) y butirato (0 vs. 0.31) fueron mayores en ensilajes tratados con vinaza comparados con el control (p<0.05). Las proporciones de N-NH<sub>3</sub>/NT (1.28 vs. 0.61), pH (4.21 vs 4.56) y acético (96.15 vs. 87.65), disminuyeron por la inclusión de vinaza en el silo (p<0.05). Todos los ensilajes fueron clasificados como de excelente calidad, excepto el resultante del tratamiento I6C40, el cual fue clasificado como bueno. Los contenidos de FDN (63 vs 46.5) y FDA (34 vs 23) se redujeron en respuesta a la inoculación con vinaza (p<0.05). Por el contrario, los contenidos de PC (6.5 vs 8.17) y cenizas (7.67 vs. 11) aumentaron (p<0.05). Los resultados demuestran que la composición química y el perfil de fermentación, mejoran por la inclusión de la vinaza demostrando que constituye en una alternativa para conservar el valor nutricional de ensilado.

**Palabras claves:** Ensilaje, vinaza, composición química, perfil de fermentación.

## **ABSTRACT**

The present study evaluated the effect of the inclusion level (3, 6 and 9%, kg as is) and concentration (20, 30 and 40%, respectively) of sugarcane vinasse on the fermentation parameters (VFA, N-NH<sub>3</sub> and pH) and nutritional quality (TDM, CP, NDF, ADF, ADIN and ash) of grass silage. The harvested forage was mixed with vinasse according to each treatment. A total of 50 laboratory silos (9 treatments for 5 reps), plus a silage treatment without additive (control) were prepared. The data were analyzed as a completely randomized design as a 3 x 3 + 1 factorial with 5 repetitions. Content of TDM (14.87 vs. 20.88), propionate (3.84 vs. 6.48) and butyrate (0 vs. 0.31) were higher in vinasse treated silages compared to control silages (p <0.05). In contrast, N-NH<sub>3</sub>/TN ratios (1.28 vs. 0.61), pH (4.21 versus 4.56) and acetic acid concentrations (96.15 vs. 87.65) were decreased by the inclusion of vinasse (p <0.05). All silages were rated as excellent, except for the I6C40 treatment which was classified as good. Contents of NDF (63 vs. 46.5) and ADF (34 vs. 23) were reduced by inoculation with vinasse (p <0.05). On the contrary, the contents of CP (6.5 vs. 8.17) and ash (7.67 vs. 11) were increased (p <0.05). These results indicate that the profile of fermentation and chemical composition, improved by the inclusion of vinasse and demonstrating that constitutes an adequate alternative to improve the nutritional quality of silage.

Keywords: cane vinasse, silage, chemical composition, fermentation profile.

## INTRODUCCIÓN

El ensilaje utilizado para la nutrición animal, consiste en una estrategia de planificación forrajera que facilita al productor equiparar y preservar recursos alimenticios en el tiempo para satisfacer las exigencias nutricionales de los rumiantes y sostener la oferta de forraje con pérdidas mínimas de materia seca y calidad nutricional en épocas o situaciones adversas que impidan mantener una producción uniforme y constante durante el año (Garcés et al. 2004).

El principio en la confección de un ensilaje, consiste en generar una fermentación ácida en condiciones de anaerobiosis, a partir del catabolismo de carbohidratos solubles del forraje como hexosas (glucosa y fructosa) y pentosas (xilosa) para la producción de ácidos orgánicos, produciéndose en mayor proporción ácido acético y ácido láctico, siendo este último responsable de la caída acelerada del pH de 5.0-3.8, inhibiendo la actividad enzimática de las plantas (Tomich et al. 2003).

Posterior al corte del forraje, en la planta se desencadena una proteólisis inicial controlada por las enzimas endógenas de la planta y una degradación posterior de aminoácidos por la acción de microorganismos aumentando los niveles de nitrógeno amoniacal ( $\text{NH}_3$ ), y reduciendo la calidad nutricional del silo (Heron et al. 1986). De otra parte, altos contenidos de ácido acético y butírico provenientes de la fermentación de carbohidratos, están relacionados con una desacelerada caída del pH y corresponden a la acción prolongada de enterobacterias, bacterias lácticas heterofermentativas y clostridios, los cuales acarrearán pérdidas de materia seca y energía sobre el material ensilado (Muck y Bolsen, 1991). La caída rápida del pH es fundamental para la conservación del material ensilado, regulando la actividad proteolítica de las enzimas de la planta y deteniendo el crecimiento de microorganismos anaerobios indeseables, particularmente enterobacterias y Clostridios (Muck y Bolsen, 1991). El amoníaco y butirato formado en este proceso, además de inhibir el consumo de ensilaje y generar una menor eficiencia en la utilización de nitrógeno para la síntesis de proteínas por los microorganismos del rumen, alterar el curso de la fermentación y restringe la caída rápida del pH en la biomasa ensilada (McKersie, 1985).

De esa manera, surgen alternativas como el uso de aditivos como los acidificantes, los cuales permiten producir una condición ácida inmediata del pasto, inhibiendo el deterioro

aeróbico y microbiano, principalmente en forrajes con alta humedad y bajo contenido de carbohidratos solubles (Schroeder, 2004).

La vinaza de caña (*Saccharum officinarum*) como residuo líquido de la destilación del etanol, presenta diversas características físico químicas y composicionales como la alta acidez (3.8-4.5), alta carga mineral (16-20%), compuestos nitrogenados (340 mg/L) y azúcares residuales (5%), que le confieren un alto potencial para su aprovechamiento y aplicación como aditivo en la elaboración de ensilajes destinados para la nutrición de rumiantes (Nitayavardhan y Kumar, 2010).

La hipótesis en el presente trabajo plantea que la inclusión y concentración de cantidades importantes de vinaza de caña (*Saccharum officinarum*) como aditivo en la confección de ensilajes de gramíneas, debido a su condición ácida y la presencia de azúcares residuales podría estimular una mayor actividad de bacterias ácido lácticas y promover una acelerada caída en el pH en los silos tratados, que a su vez mejoraría la calidad fermentativa del mismo, reduciendo las pérdidas energéticas y mejorando las propiedades nutricionales del ensilado, que sería lo recomendable.

Por tal motivo, el objetivo de este trabajo consistió en evaluar el efecto del nivel de inclusión y concentración de vinaza de caña sobre los parámetros fermentativos y calidad nutricional de un ensilaje de Maralfalfa (*Penissetum sp.*).

## **4.1 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1.1 Materiales**

El presente estudio se realizó en la hacienda “El Progreso”, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia y ubicada en el municipio de Barbosa (Antioquia). Sus condiciones medio ambientales son: altitud de 1350 msnm, temperatura promedio de 24°C, humedad relativa del 70% y precipitación anual de 1800 mm, por lo que se ubica en la zona de vida bosque húmedo premontano (bh-PM), de acuerdo con la clasificación de Holdridge (IDEAM, 2001). En la elaboración de los ensilajes se utilizó pasto maralfalfa (*Pennisetum sp.*) cosechado manualmente a una edad de 60 días. Inmediatamente después de cosechado, dicho pasto fue picado en una picadora estacionaria, generando con un tamaño promedio de 2 cm. Luego de obtener varias



muestras del pasto fresco picado para determinar su composición bromatológica, el material vegetal fue debidamente homogenizado, fraccionado en porciones de dos kg para su mezclado con la vinaza de acuerdo al tratamiento asignado. En la tabla 1, se describe la composición química del pasto maralfalfa (*Pennisetum sp.*).

**Tabla 4-1. Composición química del pasto maralfalfa (*Pennisetum sp.*)**

Composición (%MS)	Valores (% MS)	Método
Materia seca	8.0	Secado de la muestra en estufa de ventilación forzada a 64° C por 72 horas (934.01 AOAC, 2005).
Proteína cruda	7.3	Método Kjeldahl (984.13 AOAC, 2005)
FDN	66.00	Método Van Soest (1991).
FDA	33.6	Método Van Soest (1991).
Hemicelulosa	31.00	Diferencia entre FDN-FDA=Hemicelulosa
NIDA	0.32	Método Kjeldahl (984.13 AOAC, 2005)
Cenizas	8.00	Incineración a 550° C (AOAC; 1990).
Fuente: Laboratorio NUTRILAB-UDEA. FDN: Fibra en Detergente Neutro, FDA: Fibra en Detergente Ácido, NIDA: Nitrógeno Insoluble en Detergente Ácido.		

La vinaza proveniente de la Fábrica de Licores de Antioquia, fue concentrada hasta que tuviera 22% de humedad. En la tabla 2, se describe la composición química de la vinaza de caña (*Saccharum officinarum*).

**Tabla 4-2. Composición química de la vinaza de caña (*Saccharum officinarum*).**

Composición (%MS)	Valores (% MS)	Método
Ph	4.30	Secado de la muestra en estufa de ventilación forzada a 64° C por 72 horas (934.01 AOAC, 2005).
Humedad	22.00	Diferencia entre el ((peso inicial-peso final)/peso inicial) x 100.
Materia seca	78.00	Medición por pH metro Shott portátil modelo pH11.
Proteína cruda	7.50	Método Kjeldahl (984.13 AOAC, 2005)
Cenizas	7.00	Incineración a 550° C (AOAC; 1990).
Materia orgánica	71.00	Diferencia entre la Materia seca-Cenizas= Materia orgánica

Fuente: Laboratorio NUTRILAB-UDEA

Para el proceso de ensilaje, se utilizaron 50 silos de laboratorio (diez tratamientos x cinco repeticiones), confeccionados con tubos de "PVC" de 10 cm de diámetro y 40 cm de largo, con capacidad para aproximadamente 2 Kg. de forraje verde, de acuerdo al procedimiento y metodología descrita por Pereira *et al.* (2005).

#### 4.1.2. Métodos

El forraje picado fue mezclado uniformemente con la vinaza mediante aspersion manual, de acuerdo con el tratamiento asignado. Después del mezclado, el material fue compactado en silos de laboratorio para garantizar adecuadas condiciones de anaerobiosis y fermentación. La masa ensilada fue pesada en cada silo, a fin de garantizar una misma densidad del material en cada silo. Finalmente los silos eran cerrados con tapas PVC, pesados, marcados y sellados con cinta adhesiva.

Se evaluaron diez tratamientos con cinco repeticiones, resultantes de combinar tres diferentes niveles de inclusión de vinaza (3, 6 y 9%) y tres concentraciones de materia seca (20, 30 y 40%) además de evaluar un tratamiento testigo. Los tratamientos asignados fueron:

CONTROL = Ensilaje de maralfalfa + 0% de vinaza (Testigo)

I3C20 = Ensilaje de maralfalfa + 3% de vinaza concentrada al 20%

I3C30 = Ensilaje de maralfalfa + 3% de vinaza concentrada al 30%

I3C40 = Ensilaje de maralfalfa + 3% de vinaza concentrada al 40%

I6C20 = Ensilaje de maralfalfa + 6% de vinaza concentrada al 20%

I6C30 = Ensilaje de maralfalfa + 6% de vinaza concentrada al 30%

I6C40 = Ensilaje de maralfalfa + 6% de vinaza concentrada al 40%

I9C20 = Ensilaje de maralfalfa + 9% de vinaza concentrada al 20%

I9C30 = Ensilaje de maralfalfa + 9% de vinaza concentrada al 30%

I9C40 = Ensilaje de maralfalfa + 9% de vinaza concentrada al 40%

Treinta (30) días después de haber sido confeccionados, los cincuenta (50) silos fueron abiertos y el contenido de cada uno fue retirado y homogenizado para su respectiva evaluación y análisis.

#### **4.1.3 VARIABLES EVALUADAS**

##### **4.1.3.1 Potencial de hidrógeno y parámetros de fermentación**

Para la determinación de los valores de pH y parámetros de fermentación se realizó el exprimido y la recolección de líquido del material vegetal ensilado por medio de una prensa hidráulica. Se extrajeron 50 ml de jugo de ensilaje, el cual fue dividido en dos submuestras. La primera submuestra se utilizó inmediatamente para la determinación del valor de pH y para la cuantificación del nitrógeno amoniacal (NH<sub>3</sub>). El pH fue determinado mediante la utilización de un potenciómetro y el NH<sub>3</sub> por destilación con óxido de magnesio y cloruro de calcio, utilizando una solución receptora de ácido bórico y titulación con ácido clorhídrico 0,01 N (Kjedahl; AOAC, 2005).

La segunda submuestra de jugo se conservó a  $-20^{\circ}\text{C}$ , previo tratamiento de acidificación con  $100\ \mu\text{L}$  de  $15\text{M}$  de ácido ortofosfórico (Merry *et al.*, 2006) y en él se cuantificaron las proporciones molares de los ácidos grasos volátiles (AGVs) acético, propiónico y butírico. Para ello, la fracción líquida de cada uno de los ensilajes se sometió a centrifugación a  $4000\ \text{RPM}$  por 15 minutos, en donde el sobrenadante fue analizado por cromatografía de gas, de acuerdo con el procedimiento descrito por Packett y McCune (1965).

Para ellos, se utilizó un Cromatógrafo Thermo Scientific, TRACE GC Ultra con detector FID. El manejo de señales se realizó en estación de datos ChromQuest 5.0. Inyector automático de Thermo Scientific AS 800. Se manejó una columna de RESTEK (FAMEWAX) de 30 metros,  $0.32\ \text{mm}$  de diámetro interno y  $0.25\ \mu\text{m}$  de espesor de película.

El horno fue programado para iniciar con una temperatura de  $68\ ^{\circ}\text{C}$  y subir de manera secuencial hasta  $200\ ^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, se tomó la muestra de líquido de ensilaje, la cual fue filtrada con tela para eliminar las partículas de mayor tamaño y luego someter el filtrado a centrifuga ( $4000\ \text{RPM}$ ) por 15 minutos para depurar las partículas de menor tamaño. Luego, fue llevado el pH de la muestra a valores entre 2 y 3. Inmediatamente, se sometió la muestra ya acidulada a centrifuga ( $4000\ \text{RPM}$ ) por 15 minutos y se filtró. Este procedimiento fue repetido hasta el punto de eliminar la totalidad de partículas sólidas para luego de centrifugar, extraer un  $1\ \mu\text{L}$  de muestra e inyectarlo.

#### **4.1.3.2 Composición química de los ensilajes**

Previo al momento de ensilado, muestras frescas de forraje Maralfalfa (*Pennisetum sp.*) fueron colectadas y transportaron al laboratorio NUTRILAB – Universidad de Antioquia, donde fueron deshidratadas y molidas para posteriores análisis.

Para la determinación de la composición química del ensilaje, los silos fueron abiertos y el contenido de cada uno fue retirado y homogenizado en balde plástico. El material ensilado de cada silo fue secado en estufa de ventilación forzada a  $65^{\circ}\text{C}$  por 72 horas, pesado y molido utilizando un molino de laboratorio Thomas - Willey Modelo No 4 con criba de  $1\ \text{mm}$ .

En las muestras parcialmente secas de los ensilajes y del material original se determinaron los porcentajes de materia seca (MS) por el secado de la muestra en estufa de ventilación forzada a 64° C por 72 horas (934.01 AOAC, 2005), proteína cruda (PC) por el método Kjeldahl (984.13 AOAC, 2005) y cenizas (CEN) por incineración a 550° C, de acuerdo con los procedimientos descritos por la AOAC (1990), fibra en detergente neutro (FDN), fibra en detergente ácido (FDA) por el método Van Soest (1991), la hemicelulosa (HEMI) por la diferencia entre los valores de FDN y FDA, y el nitrógeno insoluble en detergente ácido (NIDA) por la determinación del contenido de nitrógeno en el residuo de FDA por el método de Kjeldahl (984.13 AOAC, 2005).

#### **4.1.3.3 CLASIFICACIÓN DE LOS ENSILAJES**

La evaluación de la calidad de fermentación del ensilaje fue realizada de acuerdo con los criterios de punto (Valores de referencia expresados para calificar la calidad del proceso fermentativo con relación a la producción de ácido acético y butírico), planteados por Tomich *et al.* (2003).

**Tabla 4-3. Clasificación de ensilajes de acuerdo a los criterios de punto (Tomich *et al.* 2003).**

<b>Valores de pH asociados con el contenido de materia seca en los ensilajes</b>																																																					
Contenido de materia seca (%)																																																					
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 25%;"></th> <th style="width: 12.5%; text-align: center;">&lt;20</th> <th style="width: 12.5%; text-align: center;">20-30</th> <th style="width: 12.5%; text-align: center;">30-40</th> <th style="width: 12.5%; text-align: center;">&gt;40</th> <th style="width: 12.5%; text-align: center;">Puntos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="6" style="vertical-align: middle;">Valores de pH</td> <td style="text-align: center;">&lt;4.0</td> <td style="text-align: center;">&lt;4.2</td> <td style="text-align: center;">&lt;4.4</td> <td style="text-align: center;">&lt;4.6</td> <td style="text-align: center;">25</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">&gt;4.0-4.2</td> <td style="text-align: center;">&gt;4.2-4.4</td> <td style="text-align: center;">&gt;4.4-4.6</td> <td style="text-align: center;">&gt;4.6-4.8</td> <td style="text-align: center;">20</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">&gt;4.2-4.4</td> <td style="text-align: center;">&gt;4.4-4.6</td> <td style="text-align: center;">&gt;4.6-4.8</td> <td style="text-align: center;">&gt;4.8-5.0</td> <td style="text-align: center;">15</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">&gt;4.4-4.6</td> <td style="text-align: center;">&gt;4.6-4.8</td> <td style="text-align: center;">&gt;4.8-5.0</td> <td style="text-align: center;">&gt;5.0-5.2</td> <td style="text-align: center;">10</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">&gt;4.6-4.8</td> <td style="text-align: center;">&gt;4.8-5.0</td> <td style="text-align: center;">&gt;5.0-5.2</td> <td style="text-align: center;">&gt;5.2-5.4</td> <td style="text-align: center;">5</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">&gt;4.8</td> <td style="text-align: center;">&gt;5.0</td> <td style="text-align: center;">&gt;5.2</td> <td style="text-align: center;">&gt;5.4</td> <td style="text-align: center;">0</td> </tr> </tbody> </table>							<20	20-30	30-40	>40	Puntos	Valores de pH	<4.0	<4.2	<4.4	<4.6	25	>4.0-4.2	>4.2-4.4	>4.4-4.6	>4.6-4.8	20	>4.2-4.4	>4.4-4.6	>4.6-4.8	>4.8-5.0	15	>4.4-4.6	>4.6-4.8	>4.8-5.0	>5.0-5.2	10	>4.6-4.8	>4.8-5.0	>5.0-5.2	>5.2-5.4	5	>4.8	>5.0	>5.2	>5.4	0											
	<20	20-30	30-40	>40	Puntos																																																
Valores de pH	<4.0	<4.2	<4.4	<4.6	25																																																
	>4.0-4.2	>4.2-4.4	>4.4-4.6	>4.6-4.8	20																																																
	>4.2-4.4	>4.4-4.6	>4.6-4.8	>4.8-5.0	15																																																
	>4.4-4.6	>4.6-4.8	>4.8-5.0	>5.0-5.2	10																																																
	>4.6-4.8	>4.8-5.0	>5.0-5.2	>5.2-5.4	5																																																
	>4.8	>5.0	>5.2	>5.4	0																																																
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;">N-NH3/NT (%)</th> <th colspan="2" style="text-align: center;">Ácido Butírico (%MS)</th> <th colspan="2" style="text-align: center;">Ácido Acético (%MS)</th> </tr> <tr> <th style="text-align: center;">Valor</th> <th style="text-align: center;">Puntos</th> <th style="text-align: center;">Valor</th> <th style="text-align: center;">Puntos</th> <th style="text-align: center;">Valor</th> <th style="text-align: center;">Puntos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">&lt; 10.0</td> <td style="text-align: center;">25</td> <td style="text-align: center;">0.0-0.1</td> <td style="text-align: center;">50</td> <td style="text-align: center;">&lt;2.5</td> <td style="text-align: center;">0</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">10.0 - 13.0</td> <td style="text-align: center;">20</td> <td style="text-align: center;">&gt;0.1-0.3</td> <td style="text-align: center;">40</td> <td style="text-align: center;">&gt;2.5-4.0</td> <td style="text-align: center;">-5</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">&gt; 13.0 - 17.0</td> <td style="text-align: center;">15</td> <td style="text-align: center;">&gt;0.3-0.5</td> <td style="text-align: center;">30</td> <td style="text-align: center;">&gt;4.0-5.5</td> <td style="text-align: center;">-10</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">&gt; 17.0 - 21.0</td> <td style="text-align: center;">10</td> <td style="text-align: center;">&gt;0.5-0.7</td> <td style="text-align: center;">20</td> <td style="text-align: center;">&gt;5.5-7.0</td> <td style="text-align: center;">-15</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">&gt; 21.0 - 25.0</td> <td style="text-align: center;">5</td> <td style="text-align: center;">&gt;0.7-0.9</td> <td style="text-align: center;">10</td> <td style="text-align: center;">&gt;7.0-8.5</td> <td style="text-align: center;">-20</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">&gt; 25.0</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">&gt;0.9</td> <td style="text-align: center;">0</td> <td style="text-align: center;">&gt;8.5</td> <td style="text-align: center;">-25</td> </tr> </tbody> </table>						N-NH3/NT (%)		Ácido Butírico (%MS)		Ácido Acético (%MS)		Valor	Puntos	Valor	Puntos	Valor	Puntos	< 10.0	25	0.0-0.1	50	<2.5	0	10.0 - 13.0	20	>0.1-0.3	40	>2.5-4.0	-5	> 13.0 - 17.0	15	>0.3-0.5	30	>4.0-5.5	-10	> 17.0 - 21.0	10	>0.5-0.7	20	>5.5-7.0	-15	> 21.0 - 25.0	5	>0.7-0.9	10	>7.0-8.5	-20	> 25.0	0	>0.9	0	>8.5	-25
N-NH3/NT (%)		Ácido Butírico (%MS)		Ácido Acético (%MS)																																																	
Valor	Puntos	Valor	Puntos	Valor	Puntos																																																
< 10.0	25	0.0-0.1	50	<2.5	0																																																
10.0 - 13.0	20	>0.1-0.3	40	>2.5-4.0	-5																																																
> 13.0 - 17.0	15	>0.3-0.5	30	>4.0-5.5	-10																																																
> 17.0 - 21.0	10	>0.5-0.7	20	>5.5-7.0	-15																																																
> 21.0 - 25.0	5	>0.7-0.9	10	>7.0-8.5	-20																																																
> 25.0	0	>0.9	0	>8.5	-25																																																
Clasificación Final																																																					
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 20%;"></th> <th style="width: 15%;">Excelente</th> <th style="width: 15%;">Bueno</th> <th style="width: 15%;">Regular</th> <th style="width: 15%;">Malo</th> <th style="width: 15%;">muy malo</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">90-100</td> <td style="text-align: center;">70-89</td> <td style="text-align: center;">50-69</td> <td style="text-align: center;">30-49</td> <td style="text-align: center;">&lt;30</td> </tr> </tbody> </table>							Excelente	Bueno	Regular	Malo	muy malo		90-100	70-89	50-69	30-49	<30																																				
	Excelente	Bueno	Regular	Malo	muy malo																																																
	90-100	70-89	50-69	30-49	<30																																																
Puntaje final																																																					

#### 4.1.3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

Previamente, fue verificado el cumplimiento de normalidad utilizando la prueba de Kolmogorov Smirnov y para analizar la homocedasticidad de las varianzas en cada variable estudiada, se realizó el test de Bartlett (Mendoza, 2002). El análisis indicó que los datos siguen una distribución normal y por tanto las varianzas de los errores son constantes, con excepción de los valores observados de AGVs como proporción de los AGVT y como proporción de la MS. Para ello, se utilizó el procedimiento de transformación logarítmica como medida correctiva para minimizar la desviación de las variables de la distribución normal. Los datos correspondientes no exigieron procedimientos relacionados con la transformación de datos para homogeneizar las varianzas y por tanto se admite el uso de metodologías de estadística paramétrica.

#### 4.1.3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para comparar el efecto de la inclusión y concentración de vinaza sobre el perfil de fermentación, la composición química, los parámetros de producción de gas y los parámetros de degradabilidad del material ensilado, se utilizó un arreglo factorial 3 x 3 + 1 (tres niveles de inclusión por tres niveles de concentración más un control), con 5 repeticiones por tratamiento. El modelo estadístico planteado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + V_i + C_j + (V * C)_{ij} + E_{ijk}$$

Dónde:

$Y_{ijk}$ : variable respuesta efecto del k-ésimo variable, en el i-ésimo nivel de inclusión, con la j-ésima concentración.

$\mu$ : Media general

$V_i$ : Efecto del i-ésimo nivel de inclusión de la vinaza

$C_j$ : Efecto de la j-ésima concentración de Vinaza

$(V_i * C_j)_k$ : Efecto de la interacción entre el i-ésimo nivel de inclusión y la j-ésima concentración de vinaza.

$E_{ijk}$ : Error experimental.

Los efectos simples y su interacción fueron analizados empleando los procedimientos PROC GLM y PROC MIXED del programa SAS (2001). La comparación de medias se

realizó por medio de la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5%. Fueron utilizados contrastes ortogonales para comparar las medias del grupo de tratamientos que contenían vinaza con el tratamiento control, utilizando para ello el procedimiento PROC GLM y las instrucciones CONTRAST y ESTIMATE del paquete estadístico SAS (2001; Marini, 2003).

## 4.2 RESULTADOS

### 4.2.1 PERFIL FERMENTATIVO

El efecto del nivel de inclusión y concentración de vinaza de caña (*Saccharum officinarum*) sobre los parámetros fermentativos del ensilaje de maralfalfa (*Penissetum sp*), se describe en la Tabla 4. La inclusión de vinaza aumentó la concentración de MS con respecto al tratamiento CONTROL ( $p < 0.05$ ). Asimismo, se encontró que la inclusión al 9% dentro de los silos evaluados, aporta una cantidad significativa de MS ( $p < 0.05$ ), en relación a los ensilajes tratados con vinaza. Por el contrario, la concentración de vinaza no demostró efectos estadísticos significativos sobre los contenidos de MS dentro de los silos tratados ( $p > 0.05$ ).

El nitrógeno amoniacal se expresó como porcentaje en relación al nitrógeno total ( $N-NH_3/NT$ ; Tabla 4). Los ensilajes tratados presentaron valores de  $N-NH_3/NT$  menores, con respecto al tratamiento CONTROL por efecto de la inclusión y concentración de la vinaza ( $p < 0.05$ ). No obstante, el nivel de inclusión al 6% en concentraciones del 40%, mostraron un cuantioso incremento del  $N-NH_3/NT$  en donde el efecto del nivel de inclusión y la concentración de vinaza tuvieron efectos estadísticos significativos ( $p < 0.05$ ), comparado con los otros silos tratados con la vinaza. Asimismo, con un nivel de inclusión del 9%, se redujo considerablemente los niveles de  $N-NH_3/NT$  independientemente del nivel de concentración de la vinaza ( $p > 0.05$ ).

Los porcentajes de ácidos grasos volátiles son observados en la Tabla 4, en donde figuran las proporciones de cada ácido graso volátil con relación a los ácidos grasos volátiles totales ( $AGV/AGVT$ ) y como proporción de la materia seca ( $AGV/\% MS$ ), producida en cada silo. La inoculación con vinaza redujo la proporción de Ac ( $\%AGVT$ ) producido en el material ensilado con respecto al CONTROL, a diferencia de los valores



registrados en los silos tratados, los cuales no demostraron diferencias estadísticas por efecto de la inclusión y concentración del aditivo.

La inclusión de vinaza influyó la producción en las proporciones de Pt y Bt (%AGVT), con relación al CONTROL. Dentro de los silos tratados, se observaron efectos inversos por efecto del nivel de inclusión al 9%, mostrando una reducción en la proporción de Pt (%AGVT) y un aumento del Bt (%AGVT) con diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ; 3.64% vs 7.41%, respectivamente). Asimismo, solo se evidenciaron diferencias estadísticas entre los tratamientos I3C30 y I9C30, por efecto del nivel de inclusión en la reducción del Pt (%AGVT). De otra parte, la inoculación con vinaza no demostró diferencias estadísticas en los valores de Ac, Pt y Bt (%MS) respectivamente, con relación al CONTROL. La inclusión y concentración del destilado no influyó el contenido de Bt (%MS). No obstante, en los ensilajes tratados con vinaza se observó una reducción de las cantidades del Ac (%MS) cuando se incluye vinaza al 9%, observándose diferencias estadísticas entre los tratamientos I9C20 con respecto a los tratamientos I3C20 y I6C30 ( $p < 0.05$ ; 1.29% vs. 1.58% y 2.34%, respectivamente).

La inclusión y concentración de la vinaza no afectaron los valores de pH de los ensilajes tratados con vinaza ( $p > 0.05$ ). Asimismo, no se encontraron diferencias estadísticas entre el tratamiento CONTROL y los ensilajes tratados con vinaza con relación al valor de pH ( $p > 0.05$ ) (Tabla 4).

#### **4.2.2 CALIFICACIÓN DE LA CALIDAD FERMENTATIVA DE LOS ENSILAJES.**

La calidad de la fermentación fue calificada de acuerdo con la clasificación propuesta por Tomich *et al.* 2003 (Tabla 3) para calidad de ensilajes, en donde puede observarse que los ensilajes experimentales cumplieron satisfactoriamente con las características de un ensilado de óptima calidad. La clasificación para los silos estudiados en general fue excelente, exceptuando el tratamiento I6C40, el cual fue clasificado como bueno, reflejando la aptitud de la vinaza y el forraje para la conservación en la forma de ensilajes (Tabla 5).

**TABLA 4-4. EFECTO DE LA INCLUSIÓN Y CONCENTRACIÓN DE VINAZA DE CAÑA (*Saccharum officinarum*) SOBRE EL PERFI, FERMENTATIVO DE UN ENSILADO DE MARALFALFA (*Pennisetum sp.*).**

VARIABLES	INCLUSIÓN					CONCENTRACIÓN					INCLUSIÓN POR CONCENTRACIÓN										Valor p		
	0%	3%	6%	9%	SEM	20%	30%	40%	SEM	I3C20	I3C30	I3C40	I6C20	I6C30	I6C40	I9C20	I9C30	I9C40	SEM	I	C	I X C	Control vs. Tratamientos con Vinaza
N-NH <sub>3</sub> / NT (%)	1.2	0.9 <sup>A</sup>	1.05 <sup>A</sup>	0.7 <sup>B</sup>	0.18	0.81 <sup>A</sup>	0.87 <sup>A</sup>	0.97 <sup>A</sup>	0.08	0.94 <sup>aA</sup>	0.81 <sup>aAB</sup>	1.21 <sup>aA</sup>	0.87 <sup>aAB</sup>	1.06 <sup>aA</sup>	1.23 <sup>ba</sup>	0.63 <sup>ab</sup>	0.61 <sup>ab</sup>	0.66 <sup>ab</sup>	0.23	0.0001	0.0165	0.1022	0.0001
Ac (%AGVT)	96.2	92 <sup>A</sup>	91.3 <sup>A</sup>	88.9 <sup>A</sup>	1.61	92.1 <sup>A</sup>	91.2 <sup>A</sup>	89 <sup>A</sup>	1.59	91.4	93.2	91.4	94.5	91.7	87.9	90.4	88.8	87.7	2.3	0.27	0.28	0.73	0.0375
Pt (%AGVT)	3.84	6.37 <sup>A</sup>	5.36 <sup>A</sup>	3.64 <sup>B</sup>	1.38	5.52 <sup>A</sup>	4.96 <sup>A</sup>	4.9 <sup>A</sup>	0.34	6.48 <sup>aA</sup>	6.8 <sup>aA</sup>	5.86 <sup>aA</sup>	5.54 <sup>aA</sup>	4.88 <sup>aAB</sup>	5.69 <sup>aA</sup>	4.57 <sup>aA</sup>	3.21 <sup>ab</sup>	3.16 <sup>aA</sup>	1.3	0.0001	0.4302	0.5087	0.0576
Bt (%AGVT)	0	1.6 <sup>A</sup>	3.28 <sup>AB</sup>	7.41 <sup>A</sup>	2.99	2.37 <sup>A</sup>	3.83 <sup>A</sup>	6.09 <sup>A</sup>	1.87	0.08	0	0.12	0	0.12	0.12	0.19	0.31	0.31	0.1	0.0001	0.168	0.41558	0.0222
Ac (%MS)	1.9	2.28 <sup>A</sup>	2.06 <sup>AB</sup>	1.68 <sup>A</sup>	0.3	2.18 <sup>A</sup>	1.88 <sup>A</sup>	1.97 <sup>A</sup>	0.15	2.34 <sup>aA</sup>	1.3 <sup>ba</sup>	1.97 <sup>aA</sup>	1.58 <sup>aA</sup>	1.44 <sup>aA</sup>	1.7 <sup>aA</sup>	1.29 <sup>ab</sup>	1.43 <sup>aA</sup>	1.33 <sup>aA</sup>	0.4	0.0347	0.4275	0.5219	0.7186
Pt (%MS)	0.08	0.15 <sup>A</sup>	0.14 <sup>AB</sup>	0.07 <sup>A</sup>	0.04	0.13 <sup>A</sup>	0.09 <sup>A</sup>	0.12 <sup>A</sup>	0.02	0.16	0.09	0.11	0.1	0.08	0.15	0.07	0.05	0.05	0	0.0116	0.279	0.3658	0.245
Bt (%MS)	0	0.04	0.11	0.14	0.05	0.05 <sup>A</sup>	0.08 <sup>A</sup>	0.17 <sup>A</sup>	0.06	0.06 <sup>aA</sup>	0 <sup>aA</sup>	0.05 <sup>aA</sup>	0 <sup>aA</sup>	0.04 <sup>aAB</sup>	0.05 <sup>aA</sup>	0.07 <sup>aA</sup>	0.1 <sup>ab</sup>	0.1 <sup>aA</sup>	0	0.397	0.2418	0.444	0.2864
pH	4.2	4.22 <sup>A</sup>	4.37 <sup>B</sup>	4.18 <sup>A</sup>	0.1	4.22 <sup>A</sup>	4.22 <sup>A</sup>	4.33 <sup>A</sup>	0.06	4.25	4.18	4.22	4.21	4.33	4.56	4.18	4.15	4.21	0.1	0.008	0.117	0.1401	0.5827

\*Letra minúscula, significa diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), dentro de un mismo nivel de inclusión. \*\*Letra mayúscula, significa diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), dentro de un mismo nivel de concentración con diferente nivel de inclusión o diferencias estadísticas significativas entre los efectos fijos ( $p < 0.05$ ). SEM: standar error mean (Error estándar de la media), I: Inclusión, C: Concentración, I X C: Interacción entre la Inclusión y Concentración. MS: Materia seca, N-NH<sub>3</sub>/ NT (%): Nitrógeno amoniacal como proporción del nitrógeno total, Ac (%AGVT): ácido acético como proporción de los ácidos grasos volátiles totales, Pt (%AGVT): ácido propionico como proporción de los ácidos grasos volátiles totales, Bt (%AGVT): ácido butírico como proporción de los ácidos grasos volátiles totales, Ac (%MS): ácido acético como proporción de la MS, Pt (%MS): ácido propionico como proporción de la MS, Bt (%MS): ácido butírico como proporción de la MS, pH: Potencial de hidrógeno.

#### 4.2.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MATERIAL ENSILADO

El efecto del nivel de inclusión y concentración de vinaza de caña (*Saccharum officinarum*) sobre la composición nutricional del material ensilado (*Penissetum sp*), se describe en la Tabla 6.

Los valores de PC fueron mayores en los ensilajes tratados con vinaza con respecto al promedio de los valores del tratamiento control ( $p < 0.05$ ) (Tabla 6). La inclusión de vinaza al 9% (8.0%) facilitó un mayor contenido de PC en comparación con inclusiones al 6% (6.43%) y 3% (7.06%), respectivamente ( $p < 0.05$ ). Los valores de PC en los silos tratados con vinaza mostraron diferencias entre los tratamientos I6C40 y I9C40 (6.31% vs 8.20%, respectivamente) por efecto del nivel de inclusión de vinaza ( $p < 0.05$ ). De otra parte, los valores de NIDA fueron mayores en los tratamientos con vinaza (0.3%) en comparación con el promedio del tratamiento control (0.27%) y fueron afectados por el efecto de la inclusión y la interacción de la inclusión y concentración de la vinaza ( $p < 0.05$ ). De esa manera, la inclusión de vinaza facilitó un alto contenido en los valores de NIDA en el tratamiento I9C20 (0.37%), el cual presentó diferencias estadísticas significativas con relación al tratamiento I3C20 (0.18%) ( $p < 0.05$ ). La adición de vinaza en diferentes concentraciones no influenció significativamente sobre los contenidos de PC y NIDA dentro de los ensilajes estudiados ( $p > 0.05$ ).

Los valores de FDN de los tratamientos con vinaza fueron considerablemente menores (54.69%), con respecto a los ensilajes del tratamiento CONTROL (63%), estableciendo diferencias estadísticas significativas por el efecto de la adición de la vinaza ( $p < 0.05$ ). Los valores de FDN en los tratamientos con un nivel de inclusión al 9% (46.44%), fueron considerablemente menores con respecto a los tratamientos con niveles de inclusión al 3 y 6% (57% y 60%, respectivamente). No obstante, la concentración de la vinaza no registro diferencias estadísticas significativas sobre los valores de FDN de los ensilajes ( $p > 0.05$ ). En los niveles de inclusión al 9% en sus diferentes concentraciones (20, 30 y 40%, respectivamente), se registraron contenidos de FDN estadísticamente menores ( $p < 0.05$ ), con relación a las inclusiones al 6% y 3% con equivalentes niveles de concentración (Tabla 6). El valor de FDA del tratamiento CONTROL (34%), fue mayor con diferencias estadísticas significativas con relación al valor promedio de los ensilajes tratados (30%), por el efecto de la inclusión y la concentración de la vinaza ( $p < 0.05$ ).

**TABLA 4-5. EFECTO DE LA INCLUSIÓN Y CONCENTRACIÓN DE VINAZA DE CAÑA (*Saccharum officinarum*) SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE UN ENSILADO DE MARALFALFA (*Pennisetum sp.*).**

VARIABLES	INCLUSIÓN					CONCENTRACIÓN				INCLUSIÓN POR CONCENTRACIÓN										Valor p			
	0%	3%	6%	9%	SEM	20%	30%	40%	SEM	I3C20	I3C30	I3C40	I6C20	I6C30	I6C40	I9C20	I9C30	I9C40	SEM	I	C	I X C	Control vs. Tratamientos con Vinaza
MS (%)	14.9	15.6 <sup>A</sup>	15.9 <sup>A</sup>	18.7 <sup>B</sup>	1.67	16.5 <sup>A</sup>	17.3 <sup>A</sup>	16.4 <sup>A</sup>	0.47	14.7 <sup>aA</sup>	15.9 <sup>aA</sup>	14.6 <sup>aA</sup>	14.5 <sup>aA</sup>	16.6 <sup>aA</sup>	15.9 <sup>aA</sup>	20.1 <sup>aB</sup>	20.6 <sup>aB</sup>	20.9 <sup>aB</sup>	2.68	0.0032	0.5882	0.2723	0.0001
PC (%MS)	6.48	7.06 <sup>A</sup>	6.43 <sup>B</sup>	7.95 <sup>C</sup>	0.76	7.03 <sup>A</sup>	7.28 <sup>A</sup>	7.13 <sup>A</sup>	0.12	7.07 <sup>aA</sup>	7.22 <sup>aA</sup>	6.89 <sup>aAB</sup>	6.23 <sup>aA</sup>	6.70 <sup>aA</sup>	6.31 <sup>aA</sup>	7.77 <sup>aA</sup>	7.92 <sup>aA</sup>	8.18 <sup>aB</sup>	0.69	0.0001	0.537	0.716	0.04
NIDA (%MS)	0.27	0.26 <sup>A</sup>	0.29 <sup>A</sup>	0.32 <sup>B</sup>	0.03	0.28 <sup>A</sup>	0.30 <sup>A</sup>	0.29 <sup>A</sup>	0.01	0.18 <sup>aA</sup>	0.28 <sup>aA</sup>	0.33 <sup>bA</sup>	0.30 <sup>aA</sup>	0.31 <sup>aA</sup>	0.26 <sup>aA</sup>	0.37 <sup>aB</sup>	0.31 <sup>aA</sup>	0.29 <sup>aA</sup>	0.05	0.031	0.71	0.002	0.43
FDN (%MS)	62.9	57.7 <sup>A</sup>	60 <sup>A</sup>	46.4 <sup>B</sup>	7.24	56.1 <sup>A</sup>	53.9 <sup>A</sup>	54.1 <sup>A</sup>	1.26	60.1 <sup>aA</sup>	55.9 <sup>aA</sup>	57 <sup>aA</sup>	60.7 <sup>aA</sup>	60.5 <sup>aA</sup>	58.7 <sup>aA</sup>	47.7 <sup>aB</sup>	45.1 <sup>aB</sup>	46.5 <sup>aB</sup>	6.42	0.0001	0.24	0.79	0.0001
FDA (%MS)	34.1	32.2 <sup>AB</sup>	33.7 <sup>A</sup>	23.6 <sup>B</sup>	5.45	31.1 <sup>A</sup>	29.5 <sup>AB</sup>	28.8 <sup>A</sup>	1.19	33.5 <sup>aA</sup>	32.4 <sup>aA</sup>	30.7 <sup>aA</sup>	35.8 <sup>aA</sup>	33 <sup>aA</sup>	32.7 <sup>aA</sup>	24.1 <sup>aB</sup>	23.5 <sup>aB</sup>	23.1 <sup>aB</sup>	4.91	0.0001	0.02	0.57	0.0001
HEMI (%MS)	28.8	25.5 <sup>AB</sup>	26.3 <sup>A</sup>	22.9 <sup>B</sup>	1.78	25.4 <sup>A</sup>	24.4 <sup>A</sup>	25.7 <sup>A</sup>	0.67	26.6	23.6	26.3	24.9	28.1	26	23.6	21.6	23.5	2.02	0.0028	0.7254	0.2374	0.012
CEN (%MS)	7.67	9.25 <sup>A</sup>	11.3 <sup>B</sup>	10.5 <sup>AB</sup>	1.02	10.2 <sup>A</sup>	10 <sup>A</sup>	10.9 <sup>A</sup>	0.45	8.48	8.97	10.3	11.7	10	12.1	10.4	11	10.2	1.16	0.025	0.428	0.344	0.0061

\*Letra minúscula, significa diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), dentro de un mismo nivel de inclusión. \*\*Letra mayúscula, significa diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), dentro de un mismo nivel de concentración con diferente nivel de inclusión o diferencias estadísticas significativas entre los efectos fijos ( $p < 0.05$ ). SEM: standar error mean (error estándar de la media), MS: materia seca I: Inclusión, C: Concentración, I X C: Interacción entre la Inclusión y Concentración, PC: Proteína cruda, NIDA: Nitrógeno insoluble en detergente ácido, FDN: Fibra en detergente neutro, FDA: Fibra en detergente ácido, HEMI: Hemicelulosa, CEN: Cenizas.

El nivel de inclusión al 9% en las diferentes concentraciones (20, 30 y 40%, respectivamente), registró contenidos de FDA estadísticamente menores ( $p < 0.05$ ) con relación a las inclusiones en 6% y 3% con equivalente niveles de concentración (Tabla 6). La adición de vinaza disminuyó significativamente los contenidos de HEMI en los ensilajes tratados (25%), con respecto al promedio de los valores del tratamiento CONTROL (29%;  $p < 0.05$ ). La concentración de la vinaza no presentó diferencias estadísticas significativas sobre el nivel de HEMI del material ensilado ( $p > 0.05$ ; Tabla 6). La inclusión de la vinaza incremento significativamente los valores de cenizas ( $p < 0.05$ ; Tabla 6) en los tratamientos evaluados (10.35%), con respecto al promedio de los valores del tratamiento CONTROL (7.67%). No obstante, la concentración de la vinaza no generó diferencias estadísticas significativas en los valores de CEN de los ensilajes tratados ( $p < 0.05$ ).

### **4.3 DISCUSIONES**

#### **4.3.1 EFECTO DE LA INCLUSIÓN Y CONCENTRACIÓN DE VINAZA SOBRE EL PERFIL DE FERMENTACIÓN.**

La inclusión de vinaza de caña dentro de cada ensilado realizó un aportes considerable de sustratos como materia orgánica (cofactores minerales, aminoácidos, péptidos e hidratos de carbono), agua y ácido sulfúrico, los cuales promueven la generación de una adecuada fermentabilidad de los ensilados, favoreciendo una rápida reacción de los procesos bioquímicos anaerobios y con ello la producción de ácidos orgánicos (ácido láctico y AGVs), que originan una caída instantánea del pH.

En ese sentido, los silos tratados con vinaza presentaron un mayor contenido de MS con relación al CONTROL, ya que el aporte del destilado de caña en materia orgánica y acidez favoreció un adecuado proceso fermentativo y una rápida estabilidad del silo por efecto de la caída del pH. En consecuencia, un bajo valor de pH permitió que los ensilajes tratados con vinaza obtuvieran una oportuna inhibición de enzimas de la microflora del silo, ya que esta genera pérdidas importantes de MS y de calidad nutricional del forraje por el efecto generado por la hidrólisis enzimática del contenido celular y lixiviación de nutrientes del ensilaje. También, un mayor nivel de inclusión y concentración de vinaza, contribuyó a un mayor aporte de volumen de MS por la inoculación de los tratamientos y

por ese motivo, explica que los silos tratados obtuvieran un volumen de MS estadísticamente mayor con respecto al CONTROL.

Tomich et al. (2003), sugiere que un ensilado de excelente calidad debe contener un valor de MS que oscile entre 35 a 40%. Sin embargo, a pesar de obtener contenidos de MS por debajo del 30%, no se observaron en los ensilados colonias sobresalientes de microorganismos indeseables y malos olores como bioindicadores del deterioro de los silos, que puedan representar riesgos que alteren la calidad nutricional del ensilado y que afecten la salud del animal. Catchpoole y Henzel (1971), sugieren que la MS de ensilados debe ser mayor del 30% en los forrajes frescos, para inhibir el crecimiento de Clostridium y así prevenir fermentaciones secundarias. Para ello el contenido de MS puede ser incrementado por deshidratación parcial (oreado) o adición de melaza o la mezcla de forrajes con mayor contenido de MS (McDonald, 1991). En el estudio realizado por Carpintero et al. (1969), la adición de melaza en una proporción de 40 g. kg<sup>-1</sup> de alfalfa, incrementó el contenido de MS del ensilado contrastado con la alfalfa fresca (195 vs. 170 g. kg<sup>-1</sup>, respectivamente) y un ensilado control (195 g. kg<sup>-1</sup> vs 175 g. kg<sup>-1</sup>).

El principal origen del nitrógeno amoniacal, es proveniente de las materias nitrogenadas, en su mayor parte constituido por proteínas vegetales, en menor cuantía por péptidos, aminoácidos libres y nitratos presentes en el forraje y vinaza, los cuales son hidrolizados por proteasas bacterianas presentes en el ensilaje y posteriormente son desaminados y llevados a NNH<sub>3</sub>. Alterbio (2012), considera que la cantidad de nitrógeno amoniacal óptima que debe tener un ensilaje bien conservado debe ser inferior al 7% con relación al nitrógeno total (NT). Desde esa perspectiva, se considera que todos los ensilajes en general confeccionados en el estudio, obtuvieron una adecuada conservación.

La inclusión y concentración de vinaza de caña tuvo efectos significativos sobre los valores de NNH<sub>3</sub>-NT ( $p < 0.05$ ). De esa manera, se demostró que la vinaza contribuye a la reducción de la tasa de proteólisis y desaminación de aminoácidos, debido a que la vinaza aporta acidez y sustratos catabólicos como esqueletos carbonados, proteínas y aminoácidos los cuales promueven una adecuada calidad fermentativa y facilitan un rápido descenso del pH. A medida que los ensilados se acidifican, se reduce la amoniogenesis. No obstante, en valores cercanos a 4.0, se detiene la actividad proteolítica de las bacterias productoras de amoníaco (Tomich et al. 2003).

La inclusión de vinaza al 9% en concentraciones al 20, 30 y 40% (0.61% y 0.66%, respectivamente), inhibieron rápidamente la actividad catabólica de las proteasas bacterianas y la desaminación de péptidos y aminoácidos libres presentes dentro de los ensilados. De esa manera, se evitó la solubilización de cantidades considerables de nitrógeno que puedan alterar el valor nutricional del silo. Por el contrario, niveles de inclusión al 3 y 6% en sus diferentes concentraciones, generaron valores de  $\text{NNH}_3$  estadísticamente mayores, debiéndose principalmente a una acidificación más lenta por efecto de la baja MS de vinaza aportada por lo tratamientos designados. En efecto, la actividad amoniogénica de las enzimas bacterianas, mantuvieron un proceso catabólico más lento, pero también más constante y sostenida en el tiempo, hasta la estabilización del silo. A pesar de ello, no se afectó la calidad del ensilado.

Estos resultados, concuerdan con los encontrados por Carpintero *et al.* 1991, quien reportó importantes reducciones (122 y 185 g.  $\text{kg}^{-1}$ , respectivamente) en las cantidades de  $\text{NNH}_3$ , por efecto de la aplicación de melaza y ácido fórmico. De igual manera, los resultados son similares a los obtenidos por el ensayo realizado por Barry *et al.* (1976) y Carpintero *et al.* (1979), quienes utilizaron ácido fórmico como acidificante y reportaron que la concentración de  $\text{N-NH}_3/\text{NT}$ , fue inversamente proporcional a la proporción de aditivo utilizado. Otros estudios han reportado que la aplicación combinada de melazas y acidificantes reduce la proteólisis y mejora considerablemente la estabilidad de los aminoácidos, favoreciendo una disminución de la cantidad de  $\text{N-NH}_3/\text{NT}$  en los ensilajes (McDonald *et al.* 1991; 1969; Ely L.O., 1978). Aunque los valores de  $\text{N-NH}_3/\text{NT}$  para el estudio fueron bajos, se demostró que la incorporación de vinaza de caña permite disminuir la tasa de proteólisis y en ese sentido se produce un bajo contenido de nitrógeno amoniacal por efecto de una adecuada fermentación del ensilado.

El ácido acético en los ensilados se presenta como producto secundario del catabolismo de las bacterias epifíticas (BAC) y por efecto de flora indeseable como *Bacillus spp* (aerobias facultativas) o especies de heterofermentadores obligatorios (*Pediococcus damnosus* y *Lactobacillus ruminis*), *Acetobacter spp.*, mohos y listeria que fermentan un amplio rango de carbohidratos produciendo ácidos orgánicos (acetatos, lactatos y butiratos), etanol,  $\text{CO}_2$ , 3-butanodiol o glicerol. A pesar de ello, la producción de ácido acético no conllevó al deterioro aeróbico de los ensilados debido a sus bajas concentraciones lo que sugiere que los silos tuvieron adecuada compactación y la

fermentación generada por la flora indeseable fue mínima. No obstante, encontrar bajas cantidades de ácido acético en los ensilajes es normal, ya que se produce como compuesto secundario en la generación de ácido láctico a partir de la degradación de hexosas y pentosas por el catabolismo de heterofermentadores obligatorios y facultativos (Hammes *et al.*, 1992; Schleifer y Ludwig 1995).

En el presente trabajo se observó que los valores de AGVs, fueron considerablemente bajos en todos los ensilajes elaborados. Para ello, se encontró que la inclusión de vinaza en los ensilajes reduce las proporciones y concentraciones de ácido acético. El ácido acético tiene una menor eficiencia para la disminución del pH del ensilaje, y su presencia en un gran número está asociada con la acción prolongada de enterobacterias y bacterias heterofermentativas cuyas fermentaciones causan una mayor pérdida de materia seca y energía del material ensilado (Muck y Bolsen, 1991). Carpintero *et al.* (1979) observó que la adición de ácido fórmico disminuía (17.1 vs 4.8) los niveles de ácido acético por los efectos inhibitorios sobre el crecimiento bacteriano. Baytok y Muruz (2003), encontraron que valores de ácido acético para ensilajes de gramíneas en diferentes edades de corte, inoculados con ácido fórmico (1.4%) resultaron ser menores cuando se combina el acidificante con melaza al 6% de forraje verde (2.6%). Ensilajes bien conservados deben presentar un contenido de ácido acético, cuyo nivel es utilizado como parámetro de calidad del proceso fermentativo (Tomich *et al.* 2003; tabla 5) y debido a que su contenido es menor al 3%, se sugiere que la fermentación heterofermentativa fue ineficiente (Seglar, 2003). En ensilajes tratados con vinaza, los valores de ácido propionico no fueron afectados por la inclusión de vinaza y concentración de vinaza. La concentración de este ácido en general, fue menor del 1%, sugiriendo por lo tanto que es un ensilaje normal y que mantuvo una adecuada estabilidad aeróbica.

Las concentraciones de ácido butírico para el presente estudio fueron representativamente bajas y no se afectaron por la inclusión y concentración de vinaza. Por el contrario, la inclusión de la vinaza promovió el catabolismo de carbohidratos hacia el uso de rutas catabólicas destinadas a una mayor proporción de ácido butírico. Baytok *et al.* (2003), observó que la cantidad de ácido butírico en ensilajes de gramíneas con diferentes edades, se reducen por efecto de la adición de ácido fórmico y melaza y por la interacción generada por el efecto de los aditivos. De otra parte, cuando se incluyeron



melaza y ácido fórmico de manera individual en la confección de los silos, las concentraciones de butírico no se muestran afectadas (Baytok *et al.* 2005).

De acuerdo a lo sugerido por Seglar (2003), ensilados de buena calidad deben tener contenidos de ácido butírico inferiores a 0.1%, ya que niveles elevados indican deterioro del ensilaje por fermentación secundaria, que considera la presencia de productos finales nitrogenados y desagradables, como aminas y amidas que pueden conducir a una reducción significativa en el consumo de materia seca y el nivel de energía del forraje. El ácido butírico, un alto pH y un alto contenido de nitrógeno amoniacal generado por proteólisis, es el resultado de la actividad clostridial en el silo (Seglar, 2003), generada por una mala técnica de preservación del forraje ocasionando un olor a mantequilla rancia del ensilaje, un bajo consumo de materia seca y la utilización deficiente de nitrógeno por el animal (Leibensperger y Pitt, 1987). Sin embargo, pueden ser considerados como ensilajes de calidad buena a excelente (McDonald *et al.* 1991; Tomich *et al.* 2003).

La inclusión de la vinaza de caña no causo efectos importantes sobre los cambios de los valores de pH, debido al bajo contenido de carbohidratos solubles fermentables presentes en el forraje y al efecto buffer de las sales de fósforo, potasio, calcio y magnesio aportadas por la vinaza (Larrahondo *et al.* 2000). La reducción del pH está relacionada con la conservación del material ensilado y regula la actividad proteasas de la planta y controlar el crecimiento de microorganismos anaerobios indeseables, en particular, enterobacterias y *Clostridium* (Muck y Bolsen, 1991). En ese sentido, los resultados confirman que durante la confección de los ensilados se aplicó una buena técnica de conservación del ensilaje y que la aplicación de la vinaza constituye aumentos considerables en la MS y regula la producción excesiva ácido acético y nitrógeno amoniacal. Las variaciones de este parámetro son un reflejo de la preservación, velocidad de caída de pH y estabilidad que inhibe la actividad de proteasas endógenas de la planta, así como de los microorganismos proteolíticos presentes en los ensilajes (Tomich *et al.* 2003, Faria Júnior *et al.* 2011).

#### 4.3.2 EFECTO DE LA INCLUSIÓN Y CONCENTRACIÓN DE VINAZA SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL MATERIAL ENSILADO

El estudio demostró que la inclusión de vinaza, presenta un incremento lineal en los valores de PC de los ensilajes ( $p < 0.05$ ). En ese sentido, el tratamiento I9C40 presentó el mayor contenido de PC, lo cual puede estar explicado por el efecto aditivo de un aumento en el contenido de MS y aporte de compuestos nitrogenados en la vinaza (proteínas, péptidos y aminoácidos libres en su mayoría; Waliszewski y col., 1997), un menor contenido de nitrógeno amoniacal y una adecuada acidificación del ensilado, expuesto en una reducción de la tasa de amoniogenesis y una mayor estabilidad y conservación de silo (Tabla 4).

Carpintero *et al* (1979), utilizando diferentes niveles de ácido fórmico, demostró que la aplicación de niveles altos de acidificante ( $7,7 \text{ g. kg}^{-1}$ ), conserva satisfactoriamente el contenido de proteína cruda en ensilajes de raigrás y disminuye la tasa de proteólisis y desaminación ( $\text{NH}_3$ ). Igualmente, Baytok y Muruz (2003), encontraron que al adicionar ácido fórmico en un ensilado de gramínea, hubo una adecuada preservación de la proteína cruda del forraje con respecto al control (116 vs 136 g/ kg de materia seca, respectivamente). Asimismo, cuando el ácido fórmico fue combinado con melaza al 6% del forraje verde, los niveles de conservación de la proteína cruda fueron mayores en comparación con los otros tratamientos (136 vs 154 g/ kg de materia seca, respectivamente). El mismo autor, reportó que la adición de melaza en una dosis del 5%, mejora considerablemente el contenido de PC de los ensilados, comparado con el ácido fórmico. Sin embargo, el contenido de nitrógeno amoniacal también es mayor (Baytok *et al* 2005).

La medición del NIDA se realizó para la determinación el porcentaje de nitrógeno ligado a la FDA y que no se encuentra disponible para el animal. Valores altos de NIDA indican un calentamiento excesivo durante la fermentación inicial y durante el almacenamiento por la actividad aeróbica de levaduras, mohos, y especialmente *Bacillus*, que son altamente termófilos (Seglar, 2003).

Los ensilajes con vinaza fueron más susceptibles al daño por la temperatura causado por la unión entre la FDA y compuestos proteicos (reacciones de Maillard), debido a que ensilajes con alto contenido de MS disipan una mayor cantidad de calor y materia

orgánica fermentable para reaccionar con los compuestos que contienen nitrógeno. Es importante tener en cuenta que la vinaza fue sometida a un proceso de calentamiento para llevar su contenido de MS de 5% al 67,5%, por lo cual dicho procedimiento también es probable que haya generado la unión entre proteínas y carbohidratos y la producción de compuestos secundarios como melanoidinas, ácidos tánicos y ácidos fumicos (Wang *et al.* 2011), caracterizados por presentar un efecto análogo a la lignina en el rumen, como la depresión del consumo.

La inclusión de vinaza demostró que en la medida que se aumenta su incorporación, se genera una reducción progresiva de los contenidos de FDN en los silos tratados con vinaza. La reducción del FDN se encuentra explicado por los aportes realizados por el aporte realizado por el destilado constituidos principalmente por agua, aminoácidos libres, esqueletos carbonados y el efecto cofactor de los minerales facilitando la hidrólisis ácida y enzimática de los componentes de la pared celular (Mc Donald *et al.* 1991) . Desde el momento, en el cual el forraje es cortado, se está generando un aumento de la superficie de contacto de los componentes fibrosos de la pared celular (celulosa, hemicelulosa y lignina), los cuales fueron inoculados con vinaza. De esa manera, el aporte de sustratos y agua estimula la actividad bioquímica de la microflora del ensilaje, la cual tiene enzimas como hemicelulasas y celulasas las fermentan y degradan en condiciones de anaerobiosis, los componentes estructurales de las paredes celulares de las plantas. De la misma manera, el aporte de agua en la vinaza también promueve un proceso de solubilización de la hemicelulosa ya que esta presenta propiedades hidrofílicas, generando una disolución de los componentes de la pared celular, ya que esta conecta la celulosa con la lignina.

Resultados similares fueron reportados por Nkosi y Meeske (2010) y Baytok *et al.* (2005), quienes encontraron que la adición de melaza de caña en un ensilado de papa picada y maíz, respectivamente, disminuyó en un 9% los valores de FDN con respecto al control. Asimismo, Baytok *et al.* (2003) observó que el uso de ácido fórmico disminuye las proporciones de FDN en un 10%. Cajarville *et al.* (2012), encontró efectos de la adición de melaza sobre el valor de FDN, observándose una disminución del 35%. Los porcentajes de pared celular fueron menores, con respecto a los reportados por Maza (2011)

utilizando maralfalfa con diferentes niveles de yuca. La reducción en los valores de FDN por la inclusión de vinaza, probablemente se debió a la acción enzimática de celulasas y hemicelulasas del forraje, bacterianas y la hidrólisis generada por los ácidos orgánicos durante la fermentación (McDonald, 1991). A mayor inclusión de vinaza, se aumenta el aporte de sustratos que originan un incremento en la fracción de glucosa, presencia de pentosas y la hidrólisis de celulosa y hemicelulosa (es mayor la degradación de la hemicelulosa comparada con la celulosa; McDonald, 1991).

Los presentes valores de FDA fueron concordantes a los obtenidos en el FDN, teniendo en cuenta que en la medida que se incrementaba el nivel de inclusión y concentración de vinaza sobre el material ensilado, se reducían los porcentajes de FDA en los ensilajes. Maza *et al.* (2011), observó que en la medida que incrementaba las concentraciones de yuca en varios ensilados de maralfalfa (*Pennisetum sp.*) disminuía el porcentaje de FDA. Igualmente Baytok *et al.* (2003), reportaron que la adición de ácido fórmico y ácido fórmico combinado con melaza, reducía las concentraciones de FDA en los ensilajes, por efecto del aporte de carbohidratos solubles y acidificante, quienes favorecen la hidrólisis de los componentes fibrosos. Sin embargo, los trabajos de Cajarville *et al.* (2012), Arbabi *et al.* (2008), Rezaei *et al.* (2008), Nayigihugu *et al.*, 1995 y Baytok *et al.* (2003) demuestran que la inclusión de melaza como aditivo para ensilar, reduce considerablemente las concentraciones de FDA. La disminución en los tenores de FDA, probablemente son explicados por una mayor degradación y solubilización de los componentes estructurales de la FDA (celulosa y lignina), ocasionado por efectos de las celulasas bacterianas de la flora epifítica del forraje y el aporte de sustratos en la vinaza como cofactores (energía, aminoácidos y minerales) para estimular el catabolismo enzimático en los ensilados, especialmente cuando se suministra en altas proporciones (inclusión al 9%).

La vinaza de caña utilizada presentó un porcentaje de cenizas equivalente al 7%, en donde los minerales más predominantes son el potasio, calcio, magnesio y azufre (Nitayavardhana y Khanal, 2010). La inclusión de vinaza en los ensilajes tratados presentó un aumento significativo en los valores promedios de cenizas con respecto al tratamiento CONTROL ( $p < 0.05$ ), y esto se encuentra explicado por el efecto aditivo de un mayor aporte de MS de vinaza y su alta concentración de minerales. Rezaei *et al.* (2008), utilizaron diferentes niveles de melaza (0, 50 y 100 g/kg de MS, respectivamente) y observaron que la incorporación de la misma, no incrementó los niveles de cenizas en los

ensilajes estudiados, lo cual concuerda con lo observado por Baytok *et al.* (2005) y Nkosi *et al.* (2010), quienes reportaron que la adición de melaza no estuvo asociada con incrementos en el contenido de cenizas de ensilajes. Por el contrario, la adición de ácido fórmico generó aumentos importantes de los porcentajes de cenizas en los ensilajes de maíz elaborados (Baytok *et al.* 2005).

#### **4.4 CONCLUSIONES**

-El aumento proporcional de los valores de inclusión de vinaza de caña en la elaboración de los ensilajes, mostro un efecto lineal sobre la conversación de altos valores de materia seca y una reducción significativa de la amoniogenesis.

-La inclusión al 9% de vinaza de caña, demostró una reducción en la cantidad producida de ácidos grasos volátiles, lo cual refleja que los ensilajes tratados con vinaza presentaron una caída más acelerada del pH y una mayor de estabilidad de los silos.

-La inclusión de vinaza no presentó efectos importantes sobre los valores de pH debido al efecto tampón generado por el alto contenido de sales de magnesio, sodio, calcio, potasio, fosforo y sulfatos y el bajo contenido de carbohidratos solubles presentes en la vinaza y en el forraje utilizado. Por tal motivo, no se constituye como un acidificante importante a pesar de su acidez y no cumplió con la hipótesis planteada inicialmente, ya que la utilización de vinaza no generó cambios considerables en los valores de pH de los ensilajes evaluados.

-La inclusión de vinaza al 9% demostró una reducción importante de los valores de FDN y FDA, lo cual puede contribuir a la obtención de ensilajes con alta degradabilidad, a partir de forrajes con altos valores de carbohidratos estructurales.

-En la presente investigación la concentración de la vinaza de caña no representó efectos estadísticos significativos importantes sobre los valores del perfil fermentativo y la calidad nutricional de los ensilajes.

-Teniendo en cuenta la evaluación realizada en el presente estudio, la vinaza de caña se puede constituir en una atractiva oportunidad como subproducto industrial y contaminante,

con un alto potencial como aditivo para mejorar la calidad nutricional de los ensilajes y aumentar la disponibilidad de nutrientes en forrajes destinados para la nutrición de rumiantes y simultáneamente contribuir a la disminución de impactos ambientales ocasionados por las industrias productoras de etanol.

#### **4.5 BIBLIOGRAFÍA**

AOAC International 2005 Official Methods of Analysis of AOAC International. 18 th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.

Arbabi S., Ghoorchi T. (2008). The effect of different levels of molasses as silage additives on fermentation quality of foxtail millet *Setaria italica*. *Asian Journal Animal Science* 2: 43-50.

Barry, T. N. (1976). *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 19, 185-191.

Baytok, E., Karsli, A., Muruz, H. (2005). The Effects of Formic Acid, Molasses and Inoculant as Silage Additives on Corn Silage Composition and Ruminal Fermentation Characteristics in Sheep. *Turkey Journal Veterinary Animal Science* 29: 469-474.

Baytok, E., Muruz, H. (2003). The Effects of Formic Acid or Formic Acid Plus Molasses Additives on the Fermentation Quality and DM and ADF Degradabilities of Grass Silage (Research Article). *Turkey Journal Veterinary Animal Science* 27: 425-431.

Cajarville, C., Britos, A., Garciarena, D., Repetto, J. (2012). Temperate forages ensiled with molasses or fresh cheese whey: Effects on conservation quality, effluent losses and ruminal degradation. *Animal Feed Science and Technology* 171: 14– 19.

Carpintero, C.M., Henderson, A.R., McDonald, P. (1979). *Grass and Forage Science*. 34, 311-315.

Catchpole, V.R., Henzell, E.F. 1971. Silage and silage making from tropical herbage species. *Herb. Abstr.*, 41: 213-221.

Ely, L.O. (1978) In fermentation of Silage- a Review (M.E. McCullough, ed.). National Feed Ingredients Association, Iowa, 235-280.

Faria Júnior W.G., Gonçalves L.C., Ribeiro Júnior GO, Carvalho WTV, Maurício RM, Rodrigues JAS, Faria WG, Saliba EOS, Rodriguez NM, Borges ALCC 2011. Effect of grain maturity stage on the quality of sorghum BRS-610 silages. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.63, n.5, p.1215-1223.

Faria Júnior, W.G. , Gonçalves, L.C. , Ribeiro Júnior, G.O. , Carvalho, W.T.V. , Maurício, R.M. , Rodrigues, J.A.S. , Faria, W.G. , Saliba, E.O.S. , Rodriguez, N.M. , Borges, A.L.C.C. 2011. Effect of grain maturity stage on the quality of sorghum BRS-610 silages. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.63, n.5, p.1215-1223.

Garcés Molina, A. , Berrio Roa, L. , Ruiz Alzate, S. , Serna de León, J.G. , Builes Arango, A. 2004. Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Revista Lasallista de Investigación*—Vol. 1. N°1: 66-71. <http://www.lasallista.edu.co/fxcu/media/pdf/Revista/Vol1n1/066-71%20Ensilaje%20como%20fuente%20de%20alimentaci%C3%B3n%20para%20el%20ganado.pdf>

García, A. (2006). El daño térmico en el ensilaje de alfalfa. *January Dairy Science*. College of Agriculture & Biological Sciences/ South Dakota State University/ USDA. Extension Extra. ExEx 4032S [http://pubstorage.sdstate.edu/AgBio\\_Publications/articles/ExEx4032S.pdf](http://pubstorage.sdstate.edu/AgBio_Publications/articles/ExEx4032S.pdf).

Hammes, W.P., Weiss, N., & Holzapfel, W. 1992. The Genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*, p. 1535-1594, in: Balows *et al.*, 1992, q.v.

heterofermentative bacterial inoculant on silage fermentation, aerobic stability, growth performance and digestibility in lambs. *Animal Feed Science and Technology* 161: 38–48. IDEAM 2001 Mapas de intensidad y tipos de procesos de degradación de suelos y tierras en Colombia. Sección Atlas. <http://www.dian.gov.co/>.

Larrahondo J., Morales A., Victoria H., Jaramillo A. (2000). Compuestos Orgánicos en vinaza. TESIS MAGISTER EN INGENIERÍA QUÍMICA ORGÁNICA. UNIVERSIDAD DEL VALLE 113 p.

Leibensperger, R.Y., Pitt, R.E. (1987). A model of clostridial dominance in ensilage. Grass and Forage Science, v.42, n.3, p.297-317, 1987.

Marini, R.P. 2003. Approaches to analyzing experiments with factorial arrangements of treatments plus other treatments. HortScience 38:117–120.

Maza, L., Vergara, O., Paternina, E. (2011). Evaluación química y organoléptica del ensilaje de maralfalfa (*Pennisetum sp.*) más yuca fresca (*Manihot esculenta*). Revista MVZ Cordoba. vol.16, n.2, pp. 2528-2537.  
<http://www.scielo.org.co/pdf/mvz/v16n2/v16n2a11.pdf>.

McDonald, P., Henderson, A.R., & Heron, S.J.E. 1991. The Biochemistry of Silage. 2nd ed. Marlow, UK: Chalcombe Publications.

McKersie, B.D. Effect of pH on proteolysis in ensiled legume forage. Agronomy Journal, v.77, n.1, p.81-86, 1985.

Mendoza, H, Bautista, G. (2002). Diseño Experimental. Universidad Nacional de Colombia, <http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000352/>.

Merry, R.J., Lee, M.R.F., Davies, D.R., Dewhurst, R.J., Moorby, J.M., Scollan, N.D., Theodorou, M. K. 2006. Effects of high-sugar ryegrass silage and mixtures with red clover silage on ruminant digestion. 1. In vitro and in vivo studies of nitrogen utilization. Journal Animal Science, 2006, 84: 3049-3060.  
<http://www.journalofanimalscience.org/content/84/11/3049.full.pdf+html>.

Muck, R.E., Bolsen, K.K. Silage preservation and additive products. Field Guide and Silage Management in North America, p.105-126, 1991.



Nayigihugu, V.; Kellogg, D.W.; Johnson, Z.B.; Scott, M.; Anschutz, K.S. (1995). Effects of adding levels of molasses on composition of bermudagrass (*Cynodon dactylon*) silage. *Journal of Animal Science* 73, Suppl.1, p.200.

Nitayavardhana, S., & Kumar Khanal, S. 2010. Innovative biorefinery concept for sugar-based ethanol industries: Production of protein-rich fungal biomass on vinasse as an aquaculture feed ingredient. *Bioresource Technology* 101 (2010) 9078–9085.

Nkosi, B.D., Meeske, R. (2010). Effects of ensiling totally mixed potato hash ration with or without a

Packett, L. V., McCune R. W. 1965. Determination of steam-volatile organic acids in fermentation media by gas-liquid chromatography. *Appl. Microbiol.* 13:22.

Pereira L.G.R., Gonçalves L.C., Tomich T.R., Borges I., Rodriguez N.M. 2005. Silos experimentais para avaliação da silagem de três genótipos de girassol (*Helianthus annuus* L.). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.57, n.5, p.690-696, 2005.

Rezaei J., Rouzbehana Y., Fazaeli, H. (2009). Nutritive value of fresh and ensiled amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) treated with different levels of molasses (Short communication). *Animal Feed Science and Technology* 151: 153–160.

SAS 2001 SAS Institute Inc., SAS/STAT; Software Version 9.00 Cary, NC, USA.

Schleifer, K.H., & Ludwig, W. 1995. Phylogenetic relationships of lactic acid bacteria. p. 7-18, *in*: B.J.B. Wood & W.H. Holzapfel (eds) *The Genera of Lactic Acid Bacteria*. London: Blackie Academic & Professional.

Schroeder, J. W. 2004. Quality forage: Silage Fermentation and Preservation. Extension Dairy Specialist. NDSU Extension service. Pag. 1-7.

Seglar, W.J. 2003. Fermentation analysis and silage quality testing. Proceedings of the Minnesota Dairy Health Conference, College of Veterinary Medicine, University of Minnesota.

Tomich T.R., Ribeiro Pereira L.G., Gonçalves L.C., Pinto Tomich R.G., Borges, I. 2003. Características Químicas para Avaliação do Processo Fermentativo de Silagens: uma Proposta para Qualificação da Fermentação para Qualificação da Fermentação. Empresa

Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, EMBRAPA. ISSN 1517-1973.

Van Soest, P.J. 1994 Nutritional ecology of the ruminant. 2<sup>nd</sup> edition. Ithaca, New York: Cornell University Press. 476p.

Wang H, Qian H, Yao W 2011. Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. *Food Chemistry* 128: 573–584.

Woolford, M.K. 1984. *The Silage Fermentation*. [Microbiological Series, No.14] New York, NY, and Basle: Marcel Dekker.

## 5.0 CINÉTICA DE LA DEGRADABILIDAD IN VITRO DE UN ENSILAJE DE MARALFALFA (*Pennisetum sp*) CON DIFERENTES NIVELES DE INCLUSIÓN Y CONCENTRACIÓN DE VINAZA DE CAÑA (*Saccharum officinarum*)

### RESUMEN

El uso de aditivos previo al ensilado, es una práctica que promueve el desarrollo de cambios en las características químicas y estructurales de los componentes nutricionales del forraje durante el periodo de ensilado. En ese sentido, la vinaza de caña podría aprovecharse como aditivo y establecerse en una fuente importante de sustratos que faciliten la hidrólisis de los componentes estructurales de la pared celular vegetal y aumentar de la degradabilidad in vitro de la MS. Por tal motivo, el objetivo del presente estudio fue evaluar la cinética de la degradabilidad in vitro del ensilaje de maralfalfa con diferentes inclusiones y concentraciones de vinaza. Para ello, se evaluaron diferentes niveles de inclusión (3, 6 y 9%, por kg/FV) y concentración (20, 30 y 40%, respectivamente) de vinaza de caña sobre los parámetros y la cinética de degradabilidad del material ensilado. La determinación de la degradabilidad y los parámetros de degradación de la MS, fueron estimados mediante la técnica in vitro de producción de gas y el modelo de Ørskov y McDonald (1979), respectivamente. Los datos fueron analizados utilizando un diseño completamente al azar en un arreglo factorial 3 x 3 + 1 con 5 repeticiones. La inclusión de vinaza sobre los ensilajes aumentó la degradabilidad in vitro de la MS, con respecto al control ( $p < 0.05$ ). Los resultados indican que la inclusión de vinaza aumentó la fracción soluble (A), la degradabilidad efectiva (DE) y reduce el tiempo de colonización del forraje con respecto al control. Desde esa perspectiva, la vinaza de caña se constituye en una alternativa que mejora la degradabilidad in vitro y el valor nutricional en ensilajes de baja calidad.

Palabras claves: Ensilaje, vinaza, composición química, degradabilidad in vitro.

## **ABSTRACT**

The use of pre-silage additives is a practice which facilitates the development of changes in the chemical and structural characteristics of the nutritional components of the fodder during the ensilage. In that sense, cane vinasse could be used as an additive and established an important source of substrates that facilitate the hydrolysis of the structural components of the plant cell wall and increase the in vitro DM degradability. Therefore, the objective of this study was to evaluate the kinetics of in vitro maralfalfa silage with different concentrations of vinasse inclusions and degradability. To do this, different levels of inclusion (3, 6 and 9%, by kg / FV) and concentration (20, 30 and 40% respectively) on cane vinasse and kinetic parameters of the silage degradability were evaluated. The determination of the degradability and degradation parameters of DM, were estimated using the in vitro gas production technique and the model of Ørskov and McDonald (1979), respectively. Data were analyzed using a completely randomized design in a factorial arrangement 3 x 3 + 1 with 5 repetitions. Stillage including increased silage on in vitro degradability of DM, with respect to control ( $p < 0.05$ ). The results indicate that increased stillage including the soluble fraction (A), the effective degradability (DE) and reduces the time of settlement of the forage with respect to control. From that perspective, cane vinasse constitutes an alternative in vitro and improves the nutritional value of low quality silage degradability.

Keywords: Silage, vinasse, chemical composition, in vitro degradability.

## INTRODUCCIÓN

El ensilaje es una estrategia de alimentación animal, causada a partir de una fermentación anaerobia que permite conservar los alimentos en el tiempo y garantizar una oferta de materia seca adecuada durante las épocas de escases. El ensilado es generado bajo una condición excesiva de acidez y anaerobiosis derivada del catabolismo de sustratos como proteínas, aminoácidos y carbohidratos solubles presentes en el forraje, constituyendo cambios sobre la calidad nutricional, composición química y la degradabilidad del material ensilado (McDonald, 1991). Una mala preservación del forraje conlleva a pérdidas de materia seca (MS) del material vegetal, bajo consumo de ensilaje y una pobre utilización de los nutrientes por parte del animal, por lo cual la utilización de aditivos previo al ensilado representa una estrategia para optimizar la conservación del forraje, los procesos fermentativos y la reducción en la producción de efluentes (Jaurena et al. 2008). Varios estudios han reportado que la adición de aditivos como melaza en ensilajes de gramíneas mejoran los procesos fermentativos (Baytok et al. 2003) y la digestibilidad de la MS (Martínez Avalos et al. 1998).

La vinaza es un subproducto derivado de la fermentación anaerobia de la melaza y se caracteriza por su bajo valor de pH (4.2 - 4.6), alto contenido de materia orgánica disuelta en suspensión y una cantidad apreciable de sales inorgánicas compuestas de sulfatos y fosfatos de calcio, potasio, sodio y magnesio (Larrañondo et al. 2000). Aunque ha sido considerada como un producto indeseable por los impactos ambientales relacionados con la eutrofización de ríos y mares cercanos a este tipo de industrias, la vinaza también puede constituirse como una fuente importante de sustratos para su aprovechamiento como un aditivo acidificante en la elaboración de ensilajes (Larrañondo et al. 2000; Pérez y Garrido, 2006; García y Rojas, 2006; Loaiza, 2009; Waliszewski y col., 1997). Algunos efectos positivos como una mayor palatabilidad (Fernández et al. 2006), aumento de la ganancia de peso y conversión alimenticia en bovinos de ceba (Ortiz et al. 2001 consultado por Caisaguano, 2010), han sido obtenidos por la aplicación de vinazas en dietas para rumiantes. Otros autores han reportado una mayor degradabilidad ruminal *in situ* en ovejas canuladas, causado por la adicción de 130 g/kg de vinaza en la dieta (Fernández et al. 2009). Otros trabajos confirman que el alto contenido de sulfatos en la vinaza, no causa diarrea osmótica y no afecta la calidad de las heces cuando se suministra en la dieta de bovinos de ceba (Stemme et al. 2005). Sin embargo, hoy en día

existe poca información científica y estudios sobre el valor nutricional de la vinaza como materia prima para la elaboración de dietas destinadas para la alimentación de rumiantes y como aditivo acidificante en la confección de ensilajes y su efecto sobre la degradabilidad.

La hipótesis planteada para este trabajo pretende confirmar que la inclusión de cantidades importantes de vinaza de caña (*Saccharum officinarum*), puede favorecer una mayor degradabilidad *in vitro* de los ensilajes de maralfalfa (*Pennisetum sp.*), debido a la presencia de remanentes de carbohidratos y proteínas en la vinaza después del proceso de obtención de etanol que pueden potenciar el crecimiento de bacterias anaerobias en el ensilaje, responsables de una mayor degradación.

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la cinética de la degradabilidad *in vitro* de un ensilaje de maralfalfa con diferentes niveles de inclusión (3, 6 y 9%, por kg/FV) y concentración (20, 30 y 40%, respectivamente) de vinaza de caña (*Saccharum officinarum*).

## 5.1 MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1.1 Cosecha del forraje y ensilado

El estudio se realizó en la hacienda “El Progreso” de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia y se encuentra localizado en una zona de vida bosque húmedo pre-montano (bh-PM; IDEAM, 2001). Para la confección de los ensilajes se utilizó pasto maralfalfa (*Pennisetum sp.*) cosechado a una edad de 60 días y picado a un tamaño de 2 cm, obteniéndose varias muestras de pasto fresco para la determinación de su composición bromatológica. En la tabla 1, se describe la composición química del pasto maralfalfa (*Pennisetum sp.*).

**Tabla 5-1. Composición química del pasto maralfalfa (*Pennisetum sp.*)**

Composición (%MS)	Valores (% MS)	Método
-------------------	----------------	--------

Materia seca	15	Secado de la muestra en estufa de ventilación forzada a 64° C por 72 horas (934.01 AOAC, 2005).
Proteína cruda	7.3	Método Kjeldahl (984.13 AOAC, 2005)
FDN	66.00	Método Van Soest (1991).
FDA	33.6	Método Van Soest (1991).
Hemicelulosa	31.00	Diferencia entre FDN-FDA=Hemicelulosa
NIDA	0.32	Método Kjeldahl (984.13 AOAC, 2005)
Cenizas	8.00	Incineración a 550° C (AOAC; 1990).
Fuente: Laboratorio NUTRILAB-UDEA. FDN: Fibra en Detergente Neutro, FDA: Fibra en Detergente Ácido, NIDA: Nitrógeno Insoluble en Detergente Ácido.		

La vinaza de caña fue concentrada hasta que tuviera 78% de materia seca. Para el proceso de ensilaje, se utilizaron 50 silos de laboratorio confeccionados con tubos de "PVC" de 10 cm de diámetro y 40 cm de largo, con capacidad de 2 kg. de forraje verde (FV), de acuerdo al procedimiento y metodología descrita por Pereira *et al.* (2004). El forraje picado fue mezclado con la vinaza de caña mediante aspersión manual, con respecto al tratamiento asignado. El material vegetal fue almacenado y compactado en silos experimentales para garantizar adecuadas condiciones de anaerobiosis y fermentación. En la tabla 2, se describe la composición química de la vinaza de caña (*Saccharum officinarum*).

**Tabla 5-2. Composición química de la vinaza de caña (*Saccharum officinarum*).**

Composición (%MS)	Valores (%MS)	Método
pH	4.30	Secado de la muestra en estufa de ventilación forzada a 64° C por 72 horas (934.01 AOAC, 2005).

Humedad	22.00	Diferencia entre el ((peso inicial-peso final)/peso inicial)) x 100.
Materia seca	78.00	Medición por pH metro Shott portátil modelo pH11.
Proteína cruda	7.50	Método Kjeldahl (984.13 AOAC, 2005)
Cenizas	7	Incineración a 550° C (AOAC; 1990).
Materia orgánica	91	Diferencia entre la Materia seca-Cenizas= Materia orgánica

Fuente: Laboratorio NUTRILAB-UDEA

### 5.1.2 Tratamientos

Se evaluaron diez tratamientos, resultantes de combinar tres niveles de inclusión de vinaza (3, 6 y 9%) con tres concentraciones de MS (20, 30 y 40%) y un testigo con cinco repeticiones, respectivamente. Los tratamientos fueron: Testigo = Ensilaje de maralfalfa + 0% de vinaza (Testigo), I3C20 = Ensilaje de maralfalfa + 3% de vinaza concentrada al 20%, I3C30 = Ensilaje de maralfalfa + 3% de vinaza concentrada al 30%, I3C40 = Ensilaje de maralfalfa + 3% de vinaza concentrada al 40%, I6C20 = Ensilaje de maralfalfa + 6% de vinaza concentrada al 20%, I6C30 = Ensilaje de maralfalfa + 6% de vinaza concentrada al 30%, I6C40 = Ensilaje de maralfalfa + 6% de vinaza concentrada al 40%, I9C20 = Ensilaje de maralfalfa + 9% de vinaza concentrada al 20%, I9C30 = Ensilaje de maralfalfa + 9% de vinaza concentrada al 30%, I9C40 = Ensilaje de maralfalfa + 9% de vinaza concentrada al 40% de MS.

### 5.1.3 Apertura de los silos

Teniendo en cuenta que la fase de estabilidad aeróbica (fase estable) de un silo de gramíneas en general es alcanzada entre los 15 a 20 días post-ensilado (Villa *et al.* 2010; McDonald *et al.* 1991), los silos fueron abiertos después de 30 días de ensilado y cada uno fue retirado, homogenizado y pesado para la determinación de las proporciones de materia seca (MS) por el secado de la muestra en estufa de ventilación forzada a 64° C



por 72 horas (934.01 AOAC, 2005), proteína cruda (PC) por el método Kjeldahl (984.13 AOAC, 2005) y cenizas (CEN) por incineración a 550° C durante 4 horas, de acuerdo con el procedimiento descrito por la AOAC (1990), fibra en detergente neutro (FDN) y fibra en detergente ácido (FDA) por el método Van Soest (1991), la hemicelulosa (HEMI) por la diferencia entre los valores de FDN y FDA, y el nitrógeno insoluble en detergente ácido (NIDA) por la determinación del contenido de nitrógeno en el residuo de FDA por el método de Kjeldahl (984.13 AOAC, 2005). La tabla 3, describe los valores de la composición química de los ensilajes con diferentes niveles de inclusión y concentración.

**Tabla 5-3. Composición química de un ensilaje de maralfalfa (*Pennisetum sp*) con diferentes niveles de inclusión y concentración de vinaza de caña (*Saccharum officinarum*).**

TRATAMIENTOS	MS	PC	NIDA	FDN	FDA	HEMI	CEN
0	14.87	6.48	0.2686	62.92	34.10	28.82	7667
I3C20	14.7	7.07	0.18	60.1	33.5	26.56	8.48
I3C30	15.9	7.22	0.28	55.9	32.4	23.56	8.97
I3C40	14.6	6.89	0.33	57	30.7	26.34	10.31
I6C20	14.5	6.23	0.3	60.7	35.8	24.88	11.71
I6C30	16.6	6.7	0.31	60.5	33	28.05	10.04
I6C40	15.9	6.31	0.26	58.7	32.7	25.96	12.1
I9C20	20.1	7.77	0.37	47.7	24.1	23.58	10.36
I9C30	20.6	7.92	0.31	45.1	23.5	21.55	10.98
I9C40	20.9	8.18	0.29	46.5	23.1	23.48	10.17

Fuente: Laboratorio NUTRILAB-UDEA; MS: Porcentaje de la Materia Seca, PC: Proteína Cruda, NIDA: Nitrógeno Insoluble en Detergente Ácido, FDN: Fibra en Detergente Neutro, FDA: Fibra en Detergente Ácido, HEMI: Hemicelulosa, CEN: Cenizas.

#### 5.1.4 Degradabilidad *in vitro*

Para determinar la cinética de la degradabilidad *in vitro* de MS (DIVMS) de los ensilajes, fue utilizada la técnica *in vitro* de producción de gases descrita por Theodorou et al (1994). Una solución tampón fue preparada con 9,80 gr/L de NaHCO<sub>3</sub>, 4,65 gr/L de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0,57 de KCl, 0,47 gr/L de NaCl, 0,12 gr/L MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O y 0,05 gr/L de CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (Silva, 1990). Para garantizar una mezcla uniforme del medio, fue agitado hasta garantizar una dilución completa de los reactivos en la solución para luego saturarlo con CO<sub>2</sub> por dos horas e incubarlo en una estufa de ventilación forzada a 39° C. El inóculo ruminal fue colectado de forma manual del rumen de una vaca Holstein con cánula ruminal permanente y se almacenó en garrafas térmicas previamente calentadas con agua a 40 °C. Luego, el inóculo fue trasladado al laboratorio y filtrado a través de paños de algodón, en donde la parte líquida fue transferida a un erlenmeyer que se mantuvo a una temperatura de 39 °C y saturado continuamente con CO<sub>2</sub> para garantizar condiciones anaeróbicas. Para ello, se utilizaron frascos de vidrio con capacidad de 100 ml, los cuales fueron servidos con 5 ml de líquido ruminal, 45 ml de solución tampón y 0.5 gramos de ensilaje correspondientes al tratamiento asignado. Los frascos fueron sellados con un tapón de caucho, se agitaron moderadamente y se llevaron a incubación en una estufa de ventilación forzada a 39 °C. La presión generada por la acumulación de gases de la fermentación se midió mediante un transductor digital de presión tipo OMEGA Modelo PX 605-030GI. La materia seca degradada fue analizada por la diferencia entre el peso inicial de la muestra y el peso del residuo durante los horarios 6, 12, 24, 48 y 72 horas post-incubación. Los criterios definidos con respecto a los horarios de lectura, fueron fundamentados en los datos de estudios y experimentos iniciales, en donde fueron realizados diferentes evaluaciones y análisis de degradabilidad *in vitro* en forrajes de gramíneas con baja calidad. Para transformar los datos de presión en volumen, fue utilizada la ecuación  $Y = -0.1375 + 5.1385X + 0.0777X^2$  donde Y representa el volumen de gas producido por cada unidad de presión (X) (Posada y Noguera 2005).

#### 5.1.5 Análisis estadístico

Para comparar el efecto de la inclusión y concentración de vinaza sobre la degradabilidad *in vitro* de la MS de los ensilajes y los parámetros de degradabilidad, se utilizó un arreglo

factorial 3 x 3 + 1 (tres niveles de inclusión por tres niveles de concentración más un control), con 5 repeticiones por tratamiento. El modelo estadístico planteado fue:

$$Y_{ijk}: \mu + V_i + C_j + (V * C)_{ij} + E_{ijk}$$

Dónde:

$Y_{ijk}$ : variable respuesta efecto del k-esimo variable, en el i-ésimo nivel de inclusión, con la j-esima concentración.

$\mu$ : Media general

$V_i$ : Efecto del i-esimo nivel de inclusión de la vinaza

$C_j$ : Efecto de la j-esima concentración de Vinaza

$(V_i * C_j)_k$ : Efecto de la interacción entre el i-esimo nivel de inclusión y la j-esima concentración de vinaza.

$E_{ijk}$ : Error experimental.

Los efectos simples y su interacción fueron analizados empleando el procedimiento PROC GLM del programa SAS (2001). La comparación de medias se realizó por medio de la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5%. Fueron utilizados contrastes ortogonales para comparar las medias del grupo de tratamientos que contenían vinaza con el tratamiento control, utilizando para ello el procedimiento PROC GLM y las instrucciones CONTRAST y ESTIMATE del paquete estadístico SAS (2001; Marini, 2003). Un análisis de correlación entre la DIVMS, el aporte de MS de la vinaza y los componentes fibrosos de los ensilajes fue realizado a través de los procedimientos PROC GLM y PROC CORR, utilizando el programa SAS (2001).

Para descripción la cinética de degradación de la MS se utilizó el siguiente modelo matemático descrito por Ørskov y McDonald (1979):

$$Y = A + B (1 - e^{-kd(t - Lag)})$$

Dónde:

Y= degradación de la MS en el tiempo t

A= Fracción soluble

B= Fracción potencialmente degradable

C= Tasa de degradación de la fracción potencialmente degradable

Lag= Tiempo *lag*, tiempo de colonización o duración del periodo prefermentativo

Para la evaluación de la degradabilidad *in vitro* de la MS fue utilizado el modelo de Ørskov y McDonald (1979), una ecuación matemática muy aplicada en estudios que implican el uso de la técnica de bolsas de nylon en condiciones *in vivo* para la descripción del comportamiento exponencial de la degradabilidad ruminal de los nutrientes en función del tiempo. Previamente, fue verificado en diferentes trabajos que la técnica de digestibilidad *in vitro*, puede remplazar con buena aproximación a la técnica *in situ* de los sacos de nylon en cuanto a su capacidad para describir la cinética de degradación en el rumen, debido a que ambas técnicas aunque no son intercambiables entre sí, permiten predecir con razonable aproximación la degradación de la MS de gramíneas, permitiendo en experimentos con producción de gas, que sea utilizada como una técnica para determinar la extensión de la degradación empleando el modelo de Ørskov y McDonald (1979; Ceballos *et al.*, 2008). Resultados de digestibilidad de forrajes con ambos métodos, evidencian que las técnicas *in vitro* son apropiadas para estimar la digestibilidad de la MS, ya que producen una alta repetibilidad y ha demostrado que los datos obtenidos están altamente correlacionados con los estimados de digestibilidad *in situ* utilizando la bolsa de nylon y permite una adecuada predicción. (Giraldo *et al.*, 2007; Bochi-Brum *et al.*, 1997; Ceballos *et al.*, 2008).

La estimación de los parámetros fue realizada a través del proceso iterativo del algoritmo de Marquardt con ayuda del procedimiento para modelos no lineales PROC NLIN del paquete estadístico SAS (2001). Adicionalmente, se calculó la fracción potencialmente degradable (A+B) y la fracción indigestible (100-(A+B)). Para la determinación de la degradabilidad efectiva se empleó la expresión propuesta por Ørskov y McDonald (1979):

$$DE= A + ((B* c) / (c+k))$$

Dónde:

DE= degradabilidad efectiva de la MS

A= Fracción soluble y completamente degradable

B= Fracción insoluble pero potencialmente degradable.

c= Tasa de degradación de la fracción "B".

k: Tasa fraccional de pasaje ruminal. Se asumió un valor de  $k = 0.02$  (AFRC, 2002).

La cinética de degradación fue analizada mediante un análisis de medidas repetidas en el tiempo, haciendo uso del procedimiento PROC MIXED de SAS (2001), para la evaluación de las diferentes estructuras de covarianza, siendo seleccionada aquella que presentaba menor criterio de información de Akaike (Correa, 2004).

## 5.2 RESULTADOS

### 5.2.1 Degradabilidad *in vitro* de la MS en el tiempo

La degradabilidad *in vitro* de la MS del ensilaje de maralfalfa con diferentes niveles de inclusión y concentración, es descrita en la tabla 4. Después de 6 horas de incubación, los tratamientos inoculados con vinaza demostraron una alta degradabilidad por el efecto de la inclusión de la vinaza con respecto al control ( $p < 0.05$ ). A las 12, 24 y 48 horas, la degradabilidad de los tratamientos I9C30 (45.5, 56.6 y 65.2%) y I9C40 (38.5, 48 y 63%) fueron significativamente mayores que los tratamientos I6C30 (24.8, 44.3 y 50.8%) y I6C40 (19.2, 41.3 y 46.5%). A las 72 horas de incubación, los porcentajes de degradación de la MS por la inclusión de vinaza al 9%, presentaron un incremento significativo de la degradabilidad *in vitro* de la MS con respecto a los niveles 3 y 6% ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los ensilajes tratados con vinaza con sus diferentes niveles de inclusión y concentración a las 72 horas.

**TABLA 5-4. DEGRADABILIDAD *IN VITRO* DE LA MS DEL ENSILAJE DE MARALFALFA (*Pennisetum sp*) CON DIFERENTES NIVELES DE INCLUSIÓN Y CONCENTRACIÓN DE VINAZA DE CAÑA (*Saccharum officinarum*).**

TIEMPO DE INCUBACIÓN (hrs)	INCLUSIÓN					CONCENTRACIÓN				INCLUSIÓN POR CONCENTRACIÓN													
	0%	3%	6%	9%	SEM	20%	30%	40%	SEM	I3C20	I3C30	I3C40	I6C20	I6C30	I6C40	I9C20	I9C30	I9C40	SEM	I	C	I X C	Control vs. Tratamientos con Vinaza
6 h	22.03	19.69 <sup>A</sup>	17.68 <sup>A</sup>	24.92 <sup>A</sup>	3.74	23.41 <sup>A</sup>	21.76 <sup>A</sup>	17.12 <sup>A</sup>	3.26	20.19	21.31	17.59	26.66	14.56	11.82	23.39	28.31	31.65	6.5	0.206	0.41	0.46	0.838
12 h	22.7	35.2 <sup>A</sup>	23.48 <sup>B</sup>	39.63 <sup>A</sup>	8.34	32.1 <sup>A</sup>	35.37 <sup>A</sup>	30.84 <sup>A</sup>	2.34	35 <sup>aA</sup>	35.8 <sup>aAB</sup>	34.9 <sup>aA</sup>	26.4 <sup>aA</sup>	24.8 <sup>aA</sup>	19.2 <sup>aA</sup>	34.9 <sup>aA</sup>	45.5 <sup>aB</sup>	38.5 <sup>aB</sup>	7.96	0.0001	0.32	0.42	0.0178
24 h	38.82	48.55 <sup>A</sup>	43.01 <sup>B</sup>	52.56 <sup>A</sup>	4.80	47.73 <sup>A</sup>	50.01 <sup>A</sup>	46.38 <sup>A</sup>	1.84	46.8 <sup>aA</sup>	49.2 <sup>aAB</sup>	49.7 <sup>aA</sup>	43.4 <sup>aA</sup>	44.3 <sup>aA</sup>	41.3 <sup>aB</sup>	53 <sup>aA</sup>	56.6 <sup>aA</sup>	48.1 <sup>aA</sup>	4.8	0.0004	0.19	0.38	0.0015
48 h	46.33	56.07 <sup>A</sup>	46.06 <sup>B</sup>	59.08 <sup>A</sup>	6.82	51.33 <sup>A</sup>	57.9 <sup>B</sup>	52.7 <sup>A</sup>	3.47	55.4 <sup>aA</sup>	57.8 <sup>aAB</sup>	55 <sup>aA</sup>	47.5 <sup>aA</sup>	50.8 <sup>aA</sup>	46.5 <sup>aB</sup>	60.4 <sup>aA</sup>	65.2 <sup>bB</sup>	63.1 <sup>aA</sup>	7.77	0.0001	0.04	0.06	0.0335
72 h	51.79	58.61 <sup>A</sup>	54.99 <sup>B</sup>	66.09 <sup>C</sup>	5.66	54.55 <sup>A</sup>	58.55 <sup>A</sup>	56.59 <sup>A</sup>	2	58.73 <sup>aA</sup>	58.8 <sup>aA</sup>	56.31 <sup>aA</sup>	55.39 <sup>aA</sup>	58.33 <sup>aA</sup>	51.25 <sup>aA</sup>	65.55 <sup>aA</sup>	68.52 <sup>aA</sup>	64.21 <sup>aA</sup>	5.45	0.0001	0.35	0.16	0.0001

\*Letra minúscula, significa diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), dentro de un mismo nivel de inclusión. \*\*Letra mayúscula, significa diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), dentro de un mismo nivel de concentración con diferente nivel de inclusión o diferencias estadísticas significativas entre los efectos fijos ( $p < 0.05$ ). SEM: standar error mean (Error estándar de la media), I: Inclusión, C: Concentración, I X C: Interacción entre la Inclusión y Concentración. mg: miligramos, ml: mililitros, mg/ml: miligramos por mililitro.

### 5.2.2 Parámetros de degradabilidad

Los parámetros de degradación de la MS se describen en la tabla 5. La fracción rápidamente soluble (a), fue superior en aquellos ensilajes con inclusiones de vinaza al 3% y 9% ( $p < 0.05$ ), con respecto al control. La fracción b de la MS se aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ), aunque no hubo diferencias estadísticas con el tratamiento control ( $p > 0.05$ ) por la adicción de vinaza. El efecto del nivel de inclusión al 9% y la interacción entre la inclusión y la concentración, incrementaron significativamente la fracción b de los ensilajes en sus diferentes inclusiones y concentraciones. Por el contrario, las tasas de degradación (c) se incrementaron por el efecto de la adicción de vinaza con respecto al control y la inclusión de vinaza ( $p > 0.05$ ). Los tratamientos I6C30 y I9C30, a pesar de mostrar altos porcentajes de la fracción b de la MS (47.5%), presentaron una menor tasa de degradación (0.06 y 0.07%, respectivamente), con respecto a los valores del ensilaje I3C30 ( $p < 0.05$ ). Por otra parte, se observó que en la medida que se aumentó la inclusión y la concentración de vinaza, se disminuyó el tiempo de colonización. Del mismo modo, el nivel de inclusión de vinaza al 9% se disminuyó el periodo de colonización con respecto a inclusiones al 3 y 6% (respectivamente;  $p < 0.05$ ), pero con efectos equivalentes con respecto al tratamiento control ( $p > 0.05$ ). Cuando se consideró una  $k_p$  de 0.02/h, la adicción de vinaza en los ensilajes incremento significativamente el promedio de los valores de la DE con respecto al tratamiento control ( $p < 0.05$ ). La DE en los tratamientos con inclusiones al 3 y 9%, (51% y 52%, respectivamente), fue significativamente ( $p < 0.05$ ) mayor que la registrada en la inclusión al 6%, por el efecto de la inclusión, concentración y la interacción de ambos factores.

**TABLA 5-5. PARÁMETROS DE DEGRADABILIDAD Y DEGRADABILIDAD EFECTIVA (McDonald. 1981) DE UN ENSILADO DE MARALFALFA (*PENNISETUM SP.*) CON DIFERENTES NIVELES DE INCLUSIÓN Y CONCENTRACIÓN DE VINAZA DE CAÑA (*Saccharum officinarum*).**

PARÁMETROS EVALUADOS	INCLUSIÓN					CONCENTRACIÓN				INCLUSIÓN POR CONCENTRACIÓN										Control vs. Tratamientos con Vinaza			
	0%	3%	6%	9%	SEM	20%	30%	40%	SEM	I3C20	I3C30	I3C40	I6C20	I6C30	I6C40	I9C20	I9C30	I9C40	SEM		I	C	I X C
A	3.68	15.9 <sup>AB</sup>	11.3 <sup>A</sup>	16.7 <sup>B</sup>	2.91	13.6 <sup>A</sup>	15.2 <sup>A</sup>	15.1 <sup>A</sup>	0.9	13.3 <sup>aA</sup>	16.3 <sup>aA</sup>	18.1 <sup>aA</sup>	13 <sup>aA</sup>	11 <sup>aA</sup>	9.78 <sup>aA</sup>	14.4 <sup>aA</sup>	18.3 <sup>aA</sup>	17.4 <sup>aA</sup>	3.11	0.004	0.54	0.3	0.0001
B	40	39.32 <sup>A</sup>	42.84 <sup>AB</sup>	46.49 <sup>B</sup>	3.59	41.18 <sup>A</sup>	45 <sup>A</sup>	42.48 <sup>A</sup>	1.94	40 <sup>aA</sup>	40 <sup>aA</sup>	37.97 <sup>aA</sup>	41.57 <sup>aA</sup>	47.5 <sup>aA</sup>	39.47 <sup>aAB</sup>	41.97 <sup>aA</sup>	47.5 <sup>aA</sup>	50 <sup>aB</sup>	4.3	0.001	0.1	0.05	0.23
C	0.12	0.1 <sup>A</sup>	0.06 <sup>B</sup>	0.07 <sup>B</sup>	0.02	0.07 <sup>A</sup>	0.07 <sup>A</sup>	0.08 <sup>A</sup>	0.01	0.08 <sup>aA</sup>	0.11 <sup>aA</sup>	0.11 <sup>aA</sup>	0.08 <sup>aA</sup>	0.06 <sup>aB</sup>	0.07 <sup>aA</sup>	0.07 <sup>aA</sup>	0.07 <sup>aAB</sup>	0.08 <sup>aA</sup>	0.02	0.0161	0.6362	0.5266	0.0037
L	4.34	5.04 <sup>AB</sup>	6 <sup>A</sup>	4.07 <sup>B</sup>	0.97	5.39 <sup>A</sup>	4.49 <sup>A</sup>	5.22 <sup>A</sup>	0.48	4.09 <sup>aA</sup>	5.17 <sup>aA</sup>	5.86 <sup>aA</sup>	6.36 <sup>aA</sup>	4.84 <sup>aA</sup>	6.81 <sup>aA</sup>	5.72 <sup>aA</sup>	3.49 <sup>aA</sup>	3.02 <sup>aA</sup>	1.3	0.01	0.3	0.04	0.42
DE ( $Kp=0.02$ )	47.41	51.21 <sup>A</sup>	47.05 <sup>B</sup>	52.27 <sup>A</sup>	2.76	47.79 <sup>A</sup>	52.03 <sup>B</sup>	50.7 <sup>B</sup>	2.17	45 <sup>aA</sup>	50 <sup>bA</sup>	50 <sup>cAB</sup>	46 <sup>aA</sup>	46 <sup>bB</sup>	40 <sup>aA</sup>	47 <sup>aB</sup>	55 <sup>bC</sup>	57 <sup>aB</sup>	5.22	0.0001	0.01	0.002	0.0001
R <sup>2</sup>										0.85	0.85	0.86	0.89	0.9	0.9	0.88	0.87	0.88					

\*Letra minúscula, significa diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), dentro de un mismo nivel de inclusión. \*\*Letra mayúscula, significa diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), dentro de un mismo nivel de concentración con diferente nivel de inclusión o diferencias estadísticas significativas entre los efectos fijos ( $p < 0.05$ ). SEM: standar error mean (Error estándar de la media), I: Inclusión, C: Concentración, I X C: Interacción entre la Inclusión y Concentración. mg: miligramos, ml: mililitros, mg/ml: miligramos por mililitro.



**TABLA 5-6. EFECTO DE LA INCLUSIÓN Y CONCENTRACIÓN DE VINAZA DE CAÑA (*Saccharum officinarum*) SOBRE LA PRODUCCIÓN *IN VITRO* DE GAS DE UN ENSILAJE DE MARALFALFA (*Pennisetum sp.*).**

VARIABLES EVALUADAS	INCLUSIÓN					CONCENTRACIÓN				INCLUSIÓN POR CONCENTRACIÓN									Valor p			Control vs. Tratamientos con Vinaza	
	0%	3%	6%	9%	SEM	20%	30%	40%	SEM	I3C20	I3C30	I3C40	I6C20	I6C30	I6C40	I9C20	I9C30	I9C40	SEM	I	C		I X C
SUSTRATO DEGRADADO (mg)	13616	20706.24 <sup>A</sup>	23227.73 <sup>A</sup>	26866.25 <sup>B</sup>	3096.84	22878.11	24332.87	23589.23	727.44	18595.06 <sup>A</sup>	20708.90 <sup>A</sup>	22814.75 <sup>A</sup>	23519.98 <sup>AB</sup>	24621.74 <sup>A</sup>	21541.47 <sup>A</sup>	26519.30 <sup>B</sup>	27667.98 <sup>A</sup>	26411.47 <sup>A</sup>	3005.98	0.0001	0.5026	0.2712	0.0001
VOLUMEN DE GAS PRODUCIDO (ml.)	192.35	204.28	216.5	210.53	6.11	204.84	212.89	213.58	4.86	183.60	214.07	215.16	220.96	215.63	212.91	209.97	208.96	212.67	10.64	0.1146	0.4158	0.1777	0.0648
FACTOR DE PARTICIÓN (mg/ml.)	70.9	102 <sup>A</sup>	107.50 <sup>A</sup>	127.87 <sup>B</sup>	13.63	112.07	114.61	110.68	13	103.37	96.38	106.22	106.46	114.54	101.51	126.38	132.92	124.31	12.71	0.0001	0.8434	0.6974	0.0001

\*Letra minúscula, significa diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), dentro de un mismo nivel de inclusión. \*\*Letra mayúscula, significa diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ), dentro de un mismo nivel de concentración con diferente nivel de inclusión o diferencias estadísticas significativas entre los efectos fijos ( $p < 0.05$ ). SEM: standar error mean (Error estándar de la media), I: Inclusión, C: Concentración, I X C: Interacción entre la Inclusión y Concentración. mg: miligramos, ml: mililitros, mg/ml: miligramos por mililitro.

### 5.2.3 Producción in vitro de gas y factor de partición (FP)

La producción in vitro de gas de la MS de un ensilaje de maralfalfa con diferentes niveles de inclusión y concentración de vinaza se describen en la tabla 6. La presencia de vinaza en los ensilajes represento incrementó el contenido de sustrato degradado en comparación con el tratamiento control ( $p < 0.01$ ). No obstante, la cantidad de sustrato degradado fue estadísticamente superiores ( $p < 0.05$ ) en niveles de inclusión al 9% (26866 mg) con relación a inclusiones de vinaza del 3 (20706 mg) y 6% (23227 mg). Los volúmenes de gas producidos no demostraron diferencias estadísticas significativas ( $p > 0.05$ ) por el efecto de la inclusión y concentración de vinaza, entre los tratamientos evaluados. La adición de vinaza en la inoculación de los silos, no alteró el volumen de gas producido con respecto al tratamiento control ( $p < 0.05$ ). Por el contrario, a pesar que los volúmenes de gas producido entre los tratamientos fueron iguales, los ensilajes tratados con vinaza presentaron un factor de partición estadísticamente mayor ( $p < 0.01$ ) con respecto al tratamiento control. Inclusiones al 3 (102 mg/ml) y 6% (107.5 mg/ml), presentaron un factor de partición menor en comparación cuando se incluye al 9% (129 mg/ml), causado por el efecto del nivel de inclusión de la vinaza. Las concentraciones de vinaza, no constituyeron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ( $p > 0.05$ ).

## 5.4 DISCUSIONES

Los ensilajes con niveles de inclusión al 9%, a las 12 horas obtuvieron una degradabilidad de la MS mayor al 50%, alcanzado una degradabilidad promedio del 90% a las 48 horas de incubación, lo que implica que el uso de vinaza facilita una degradación más acelerada del forraje de baja calidad por el aporte de sustratos como minerales (cofactores), proteína degradable en rumen y materia orgánica, lo cual representará una mejor tasa de pasaje, mayores consumos de MS y una menor generación calor metabólico (Van Soest, 1994). En la tabla 3, se observa una reducción gradual en el promedio de los valores de FDN y FDA (Y), con el aumento secuencial del aporte de MS de vinaza por cada tratamiento (X), presentando un comportamiento lineal, con efectos estadísticos significativos ( $p < 0.05$ ). Para ello, estas variables fueron analizadas por medio de las siguientes ecuaciones:

FDN y el aporte de MS vinaza:  $Y= 62.46-0.481x$ ,  $R^2= 0.44$

FDA y el aporte de MS vinaza:  $Y= 34.99-0.316x$ ,  $R^2= 0.50$

Las ecuaciones de regresión, demuestran que los valores de FDN y FDA a 62 y 35% respectivamente, cuando el aporte de MS de vinaza fue cero. Para ello, por cada gramo de MS de vinaza incluido, se reduce los valores de FDN y FDA en 0.5 y 0.3%, respectivamente. En la tabla 4 puede observarse un aumento progresivo en el tiempo de la degradabilidad de la MS, con el incremento de la inclusión de vinaza de caña, alcanzando valores máximos con el tratamiento I9C40. La respuesta de la degradabilidad in vitro de la MS (Y), al aumento por efecto del aporte de MS vinaza por cada tratamiento (X), tuvo un comportamiento curvilíneo con efectos estadísticos significativos ( $p<0.05$ ) entre las variables relacionadas y corresponde a la siguiente ecuación:

Degradabilidad in vitro de la MS y el aporte de MS vinaza:  $Y=32.55+2.142x+0.036x^2$ ,  $R^2=0.69$

De acuerdo con la ecuación de regresión, puede observarse que el valor de la DIVMS es 32% cuando el aporte de MS de vinaza fue cero. En ese sentido por cada gramo de MS de vinaza adicionado, se aumenta la degradabilidad de la MS de los ensilajes en un 2.14%, siempre y cuando los demás parámetros permanezcan constantes. Una alta digestibilidad de los ensilajes evaluados puede ser atribuida a una reducción de los constituyentes fibrosos del ensilaje y un aumento de la fracción de componentes solubles por el aporte gradual de mayores cantidades de MS de vinaza, lo cual mejoraría el consumo y la degradabilidad ya que estos presentan una correlación lineal negativa con los componentes fibrosos de la pared celular del ensilaje (Van Soest, 1994).

**Tabla 5-7. CORRELACIÓN ENTRE LA DEGRADABILIDAD *IN VITRO* DE LA MS Y DIFERENTES COMPONENTES NUTRICIONALES DE UN ENSILAJE DE MARALFALFA (*Pennisetum sp.*)**

PARÁMETROS	DIVMS	PC	FDN	FDA
Aporte de MS de Vinaza	0.70*	0.64*	-0.74*	-0.73*
PC	0.61			
FDN	-0.80*	-0.92*		0.97*
FDA	-0.81*	-0.90*	0.97*	

MS: materia seca, DIVMS: Degradabilidad in vitro de la materia seca a las 72 horas, PC: Proteína cruda, FDN: Fibra en detergente neutro, FDA: Fibra en detergente ácido. \*Valor  $p < 0.05$ , por lo cual se concluye que existe correlación entre las variables evaluadas.

La tabla 7, presenta las correlaciones entre la DIVMS y algunos componentes nutricionales de los ensilajes tratados con vinaza. En ese sentido, se obtuvo una asociación negativa ( $p < 0.05$ ) entre el aporte de MS de vinaza y los valores de FDN y FDA, lo cual demuestra que a medida que se incrementa la adicción de vinaza, se disminuirán las concentraciones de los componentes de la pared celular de la planta, los cuales tiene un efecto directo sobre la degradabilidad de la MS del forraje (Van Soest, 1982). También, pudo verificarse una asociación lineal positiva ( $p < 0.05$ ) entre la DIVMS y el aporte de MS de vinaza y una asociación lineal negativa de la DIVMS y los valores de FDA y FDN ( $p < 0.05$ ), indicando que en la medida que aumente la inclusión de vinaza en los ensilajes, se reducirá los niveles de carbohidratos estructurales de la planta y se aumentará la degradabilidad de los ensilajes. Vieira Pires *et al.* (2008), reportó un aumento en la DIVMS del pasto elefante por la adición de harina de yuca con respecto al control (61 vs 74%, respectivamente). Resultados similares fueron informados por Baytok *et al.* (2005), al evaluar la degradabilidad de la materia seca de ensilajes de gramíneas, observaron que no se presentaron diferencias estadísticas en la DIVMS entre el control y la adición de ácido fórmico (66 y 66,02%, respectivamente). Martínez Avalos *et al.* (1998), observó un incremento del 10% en la degradabilidad ruminal por efecto de la inclusión de

melaza en un ensilaje de estiércol ganado. Los resultados encontrados son concordantes con el bajo porcentaje de FDN y FDA observados en los respectivos ensilajes, lo cual indica una mayor actividad enzimática ejercida por celulasas y hemicelulasas bacterianas en la hidrólisis y solubilización de los componentes fibrosos de cada ensilaje (McDonald et al 1991).

La incorporación de vinaza de caña en los ensilajes, aumentaron los valores de los constituyentes de la fracción soluble (a), que corresponde a la fracción que es rápida y completamente degradable en rumen, son menores a los resultados reportados por Cajarville *et al.* (2012), quienes evaluaron la adición de diferentes niveles de suero sobre el valor nutricional y la degradabilidad de un ensilaje de gramíneas (26%), encontrando que la fracción soluble o rápidamente degradable fue mayor debido a una mayor de producción de efluentes orgánicos por la incorporación del suero. Asimismo, Araiza et al. (2013), encontraron mayores valores superiores de la fracción soluble (a) en ensilajes maíz-manzana tratados con melaza, siendo atribuido a un mayor contenido de carbohidratos que tiene la melaza y la manzana disponibles para los microorganismos ruminales. Por el contrario, en el presente estudio los ensilajes tratados presentaron menores valores debido, al bajo contenido de carbohidratos solubles presentes en la vinaza. Sin embargo, A nivel de los tratamientos, la inclusión al 9% favoreció un aumento progresivo en los valores de la fracción (a) y se pueden atribuir a un aporte aditivo de materia orgánica y minerales de la vinaza.

A nivel de los ensilajes tratados, la fracción insoluble pero potencialmente degradable (B), presento un comportamiento no lineal presentando mayores valores los tratamientos con inclusión de vinaza al 9%, lo cual puede deberse a que una mayor cantidad de vinaza sumado al efecto reconstitutivo del agua, pudo generar un desglose y lisis de los puentes de hidrógeno que conectan las microfibrillas de celulosa tornándose más hidrofóbicas y entrelazándose con menos fuerza con la lignina (Turrado et al 2008), reduciendo los valores de FDN y FDA, y permitiendo la exposición de una mayor área de superficie disponible de los  $\beta$ -glucanos y las hemicelulosas, facilitando la accesibilidad y actividad degradativa de los microorganismos ruminales a la matriz de polisacáridos (Bach y Calsamiglia 2006). De igual manera, los resultados fueron concordantes con lo obtenido por Arbabi *et al.* (2008) y Carjville et al (2012), observando un aumento en las proporciones

de la fracción potencialmente degradable por efecto de la adición de melaza y suero de leche, respectivamente. Las tasas de degradación se vieron reducidas por la adición de la vinaza y fueron inferiores a 0.02%/h, demostrando que los ensilajes obtenidos son de baja calidad y por tanto necesitan mayor tiempo de permanencia en el rumen para su degradación (Araiza et al., 2013). Durante el presente estudio, las tasas de degradación, lo cual implica un mayor tiempo de retención en el rumen. Resultados similares informaron Arbabi *et al.* (2008), encontrando efectos inversamente proporcionales en la tasa de degradación de ensilajes de cereales, cuando se aumentaba la adición de melaza al 5 y 7.5%, respectivamente. Las disminuciones en el periodo de colonización (*L*), pueden ser explicadas por el hecho que un mayor contenido de materia orgánica (esqueletos carbonados) se constituyen en el sustrato principal de rápida disponibilidad para ser utilizado en la fermentación microbiana del rumen durante el proceso degradativo (Van Soest, 1982).

El tratamiento con vinaza de caña favoreció un aumento de la degradabilidad efectiva de la MS de los ensilajes, causado por el efecto aditivo de la hidrólisis de los componentes de la pared celular y el aporte de sustratos para potencializar como carbohidratos, minerales y aminoácidos facilitando el crecimiento y la catálisis de los microorganismos ruminales, promovido por un efecto de sincronización entre los nutrientes en el rumen donde la proteína, la materia orgánica y los minerales disponibles tienen un efecto sinérgico sobre el incremento de la solubilidad de la pared celular y, como consecuencia del aumento de la actividad de la microflora ruminal (Sinclair et al. 1993). Los niveles de decrecientes de FDA y FDN (tabla 3) por efecto de la inclusión de vinaza, contribuyeron a mejorar la degradabilidad del forraje y por lo tanto podrían favorecer un mayor consumo de MS (Van Soest, 1991). Aunque los valores son menores, La presente investigación concuerda con los resultados informados por Araiza et al. (2013), obteniendo una degradabilidad efectiva del 62.55% por la adición de 5% de melaza en un ensilado de maíz y manzana. El factor de partición de los ensilajes se incrementó por efecto de la adición de vinaza, explicado claramente por la inclusión de vinaza al 9% ( $p < 0.05$ ), y concuerda con un alto valor de sustrato degradado (tabla 6;  $p < 0.05$ ). Sin embargo, el volumen de gas producido no presentó diferencias estadísticas significativas ( $p > 0.05$ ) dentro de los ensilados evaluados. En ese sentido, la adición de vinaza potencializó una mayor cantidad de MS degradada, probablemente subsanado por un mayor aporte de MS

de vinaza y su efecto aditivo sobre la hidrólisis de los componentes de la pared celular vegetal, reduciendo los niveles de FDN y FDA (tabla 3) en los forrajes y la promoción del crecimiento microbiano a nivel in vitro causado por el aporte de sustratos como aminoácidos libres, minerales y esqueletos carbonados.

## **5.5 CONCLUSIONES**

-La inclusión de vinaza de caña en la confección de ensilajes de maralfalfa aumentó la degradabilidad efectiva y las proporciones la degradabilidad de la degradabilidad de la MS a través del tiempo, favoreciendo la degradabilidad de la fracción soluble (a), la fracción potencialmente degradable (b) y la reducción del tiempo de colonización (*L*) de dichos ensilajes, potencializado por el efecto ejercido por la vinaza sobre la disminución en los valores de los constituyentes de la pared celular presentes en estos ensilajes.

-La adición de vinaza de caña incrementó la cantidad sustrato degradado y el factor de partición en los ensilados de maralfalfa elaborados, confirmando la hipótesis planteada inicialmente.

-El uso de vinaza de caña como aditivo para la confección de ensilajes de gramíneas, puede constituir una estrategia para mejorar el valor el valor nutricional de forrajes de baja calidad y el consumo de MS en dietas para destinadas para rumiantes. De acuerdo al presente estudio, dichos ensilajes pueden ser aprovechados como alternativa para la alimentación animal, los cuales pueden ser complementados con una adecuada suplementación energética, proteica y un aporte regulado de minerales que permitan optimizar la salud y el rendimiento animal.

## **5.6 BIBLIOGRAFÍA**

AOAC (1990). Association of Official Agriculture Chemists, Official Method of Analysis. 15th Edition. 2200 Wilson Boulevard. Arlington, Virginia, USA. Pp69-88.

AOAC International (2005). Official Methods of Analysis of AOAC International. 18 th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.

Araiza RE, Delgado LE, Carrete FO, Medrano RH Solis SA, Murillo OM y Haubi SC. Degradabilidad ruminal in situ y digestibilidad in vitro de diferentes formulaciones de

ensilados de maíz-manzana adicionados con melaza. 2013. Avances en Investigación Agropecuaria.17 (2): 79-96 <http://www.ucol.mx/revia/portal/pdf/2013/mayo/7.pdf>.

Arbabi S., Ghoorchi T. (2008). The effect of different levels of molasses as silage additives on fermentation quality of foxtail millet *Setaria italica*. Asian Journal Animal Science 2: 43-50.

Bach, A., Calsamiglia, S. (2006). La Fibra en los Rumiantes: ¿Química o Física?. XII CURSO DE ESPECIALIZACIÓN FEDNA. Barcelona, España. pp. 99-112.

Baytok, E., Karsli, A., Muruz, H. (2005). The Effects of Formic Acid, Molasses and Inoculant as Silage Additives on Corn Silage Composition and Ruminal Fermentation Characteristics in Sheep. Turkey Journal Veterinary Animal Science 29: 469-474.

Bochi-Brum O, López S, González J, Ovejero F. Determinación de la digestibilidad in vitro de forrajes: comparación entre el procedimiento Daisy-Ankom y la técnica convencional. ITEA 1997; 18:37-39

Caisaguano, L. (2010). Estudio de la respuesta a nivel ruminal y conducta alimentaria de rumiantes fistulados con altos niveles de inclusión de vinaza de caña de azúcar. TESIS DE GRADO. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS. ESCUELA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA. Riobamba-Ecuador. Pág. 32-40. <http://dspace.espech.edu.ec/bitstream/123456789/1286/1/17T0933.pdf>.

Cajarville, C., Britos, A., Garcarena, D., Repetto, J. (2012). Temperate forages ensiled with molasses or fresh cheese whey: Effects on conservation quality, effluent losses and ruminal degradation. Animal Feed Science and Technology 171: 14– 19.

Ceballos A, Noguera R R, Bolívar D M y Posada S L 2008: Comparación de las técnicas in situ de los sacos de nylon e in vitro (DaisyII) para estimar la cinética de degradación de alimentos para rumiantes. *Volume 20, Article #108*. Retrieved June 22, 2015, from <http://www.lrrd.org/lrrd20/7/ceba20108.htm>

Correa Londoño, Guillermo. (2004). Análisis de Medidas Repetidas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia-Sede Medellín.

Fernández, B., Bodas, R., López-Campos, O., Andrés, S., Mantecón, A.R., Giráldez, F.J. (2009). Vinasse added to dried sugar beet pulp: preference rate, voluntary intake and digestive utilization in sheep. Journal of Animal Science. 2009 Jun; 87(6):2055-63.

Fernández, B., López-Campos, O., Rodríguez, A.B., Giráldez, F.J., Mantecón, A.B. (2006). ADICIÓN DE VINAZA DE REMOLACHA A LA PULPA DE REMOLACHA: CINÉTICA DE DEGRADACIÓN RUMINAL. SEOC 2006. ZAMORA - 1. ALIMENTACIÓN pag. 62-65.



García, A., Rojas, C. (2006). Posibilidades de uso de la vinaza en la agricultura de acuerdo con su modo de acción en los suelos. NOTA TÉCNICA: Las vinazas. TECNICAÑA. [http://www.tecnicana.org/pdf/2006/tec\\_v10\\_no17\\_2006\\_p3-13.pdf](http://www.tecnicana.org/pdf/2006/tec_v10_no17_2006_p3-13.pdf).

Giraldo, Luis A, Gutiérrez, Lina A, & Rúa, Claudia. (2007). Comparación de dos técnicas in vitro e in situ para estimar la digestibilidad verdadera en varios forrajes tropicales. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 20(3), 269-279.

Jaurena G., 2008. Contribución de la inoculación bacteriana a la fermentación de silajes de planta entera de maíz y sorgo. Revista Argentina de Producción Animal Vol 28 (1): 21-29.

Larrahondo J., Morales A., Victoria H., Jaramillo A. (2000). Compuestos Orgánicos en vinaza. TESIS MAGISTER EN INGENIERÍA QUÍMICA ORGÁNICA. UNIVERSIDAD DEL VALLE 113 p.

Loaiza, J.K. (2009). Uso de los subproductos de la agroindustria de la caña en la elaboración de dos suplementos nutricionales para rumiantes en el Valle del Cauca. TRABAJO DE GRADO. Ingeniería de Alimentos, Universidad de Caldas.

Marini, R.P. 2003. Approaches to analyzing experiments with factorial arrangements of treatments plus other treatments. HortScience 38:117–120.

Martínez-Avalos, A.M.M., Mendoza, G.D., Cobos, M.A., González, S., García-Bojalil, C.M., Bárcena, R. (1998). Nutritional evaluation of cattle manure silage with molasses for ruminants. Animal Feed Science Technology 70: 257–264.

McDonald, I. (1981). A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen. Journal of Agriculture Science (Cambridge) 96: 251-256.

McDonald, P., Henderson, A.R., & Heron, S.J.E. 1991. The Biochemistry of Silage. 2nd ed. Marlow, UK: Chalcombe Publications.

McDougall, E. I. (1948). Studies on ruminant saliva. I. The composition and output of sheep's saliva. Biochemistry Journal 70: 99-109. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=1274641&blobtype=pdf>.

Mendoza, H, Bautista, G. (2002). Diseño Experimental. Universidad Nacional de Colombia, <http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ciencias/2000352/>.

Moloney, A.P., O'Kiely, P. (1994). Rumen Fermentation and Degradability in Steers Offered Grass Silage Made without an Additive, with Formic Acid or with a Partially

Neutralised Blend of Aliphatic Organic Acids *Irish Journal of Agricultural and Food Research* Vol. 33, No. 1: 11-24.

Ørskov F.R., McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal Agriculture Science, Cambridge* 92: 499-503.

Ortiz, G. (2001). Digestibilidad Aparente de dietas con diferentes niveles de vinaza. Editorial, CENID. Edición 2, p199.

Pereira L.G.R., Gonçalves L.C., Tomich T.R., Borges I., Rodriguez N.M. (2005). Silos experimentais para avaliação da silagem de três genótipos de girassol (*Helianthus annuus* L.). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.57, n.5, p.690-696.

Pérez I., Garrido N. (2006). Tratamiento de residuos: Aprovechamiento integral de vinazas de destilería, Una revisión actual. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar, ICIDCA.

SAS 2001 SAS Institute Inc., SAS/STAT; Software Version 9.00 Cary, NC, USA.

Silva, D. J. (1990). Análise de alimentos. Métodos químicos e biológicos. Universidad Federal de Viçosa. Minas Gerais.

Sinclair, L. A., Garnsworthy, P. C., Newbold, J. R., Buttery, P. J. (1993). Effect of synchronizing the

rate of dietary energy and nitrogen release on rumen fermentation and microbial protein synthesis. *Journal Agriculture Science Cambridge*, 120: 251-263.

Stemme, K., Gerdes, B., Harms, A., Kamphues, J. (2005). Beet-vinasse (condensed molasses solubles) as an ingredient in diets for cattle and pigs – nutritive value and limitations. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 89: 179–183.

Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa M. S., Meallan, A. B., France J.(1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 48:185-197.

Turrado, J., Saucedo, A., Ramos, J., Reynoso, M. L. (2008). Comportamiento de la Fibra de Celulosa Reciclada en el Proceso de Hidratación. *Información Tecnológica* Vol. - 19 N° 5: 129-136 <http://www.scielo.cl/pdf/infotec/v19n5/art14.pdf>.

Van Soest, P. J. (1982). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Cornell University Press. Ithaca, NY. pp 373.

Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal Dairy Science* 74: 3583- 3597.

Vieira Pires, A.J., Pinto de Carvalho, G.G., Garcia, R., de Carvalho Junior, J.N., Oliveira Ribeiro, L.S., Trindade Chagas, D. M. (2009). Elephant grass ensiled with coffee hulls, cocoa meal and cassava meal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, 1: 34-39.

Villa, Andrés F. Meléndez, Adelina P. Carulla, Juan E. Pabón, Martha L. Cárdenas, Edgar A. Estudio microbiológico y calidad nutricional del ensilaje de maíz en dos ecorregiones de Colombia. *Revista Colombiana Ciencias Pecuarias*. 2010, vol.23, n.1, pp. 65-77. ISSN 0120-0690.

Waliszewski K.N., Romero A., Pardo V.T. (1997). Use of cane condensed molasses solubles in feeding broilers. *Animal Feed Science Technology* 67: 253-258.