



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Agropecuarias

MEJORA DEL PROCESO DE ENSILAJE DE MAIZ POR ADICION DE LACTOSUERO

TESIS

que para obtener el Título de
Ingeniero Agroindustrial
Presentan

Moisés Evangelista López

José Armando Ortega Meneses

Asesora de tesis
M.en C. Martha Gayosso Canales.

Tulancingo, Hgo. Mayo de 2006.

ÍNDICE

	pág.
Resumen.	9
I INTRODUCCIÓN	10
II REVISIÓN DE LITERATURA.....	12
2.1 Ensilado	12
2.2 Tipos de silos	13
2.2.1 Llenado de los silos.....	17
2.3 Cosechas para ensilar.....	18
2.4 El proceso de ensilaje	20
2.4.1 La fermentación ácido láctica.....	23
2.4.2 Factores que afectan el ensilado.....	26
2.4.3 Aditivos y suplementos en los ensilados	29
2.4.3.1 El lactosuero	31
2.5 Ensilado de Maíz.....	32
III MATERIALES Y METODOS	34
3.1 Preparación de los microsilos de maíz	34
3.2 Análisis físico-químicos	34
3.2.1 Medición de pH	34
3.2.2 Determinación de la acidez titulable (°D)	34
3.2.3 Cuantificación de nitrógeno	35
3.2.4 Determinación de la humedad.....	36
3.2.5 Cuantificación de las cenizas	36
3.2.6 Determinación de la fibra detergente ácida	37

3.3	Análisis estadístico.....	38
3.3.1	Diseño experimental.....	38
3.3.2	VARIABLES DE MEDICIÓN.....	38
3.3.3	Análisis de los datos.....	38
IV	RESULTADOS	39
4.1	Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre el pH del ensilado.....	39
4.2	Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre la acidez titulable del ensilado.....	39
4.3	Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre el contenido de nitrógeno en ensilado.....	42
4.4	Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre la humedad del ensilado	42
4.5	Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre el contenido de cenizas del ensilado.....	45
4.6	Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre la fibra detergente ácida del ensilado.....	45
V	DISCUSIONES.....	48
5.1	Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre el pH del ensilado.....	48
5.2	Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre la acidez titulable del ensilado.....	49
5.3	Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre el contenido de nitrógeno en ensilado	49
5.4	Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre la humedad del ensilado	50

5.5 Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre el contenido de cenizas del ensilado	51
5.6 Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre la fibra detergente ácida del ensilado	51
VI CONCLUSIONES	52
Prospectiva	52
VII LITERATURA CITADA	53
ANEXO	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.1. Silos para almacenar ensilado. (A) silo de torre, (B) compactación del ensilado en un silo tipo bunker, (C) silos en rollo, (D) silos en fundas de plástico.....	14
Fig. 2. Efecto del tiempo de incubación y del volumen de lactosuero adicionado sobre el pH del ensilado de maíz.	40
Fig. 3. Efecto del tiempo de incubación y del volumen de lactosuero adicionado sobre la acidez del ensilado de maíz	41
Fig. 4. Efecto del tiempo de incubación y del volumen de lactosuero adicionado sobre el contenido de nitrógeno del ensilado de maíz...	43
Fig. 5. Efecto del tiempo de incubación y del volumen de lactosuero adicionado sobre el % de humedad en el ensilado de maíz.	44
Fig. 6. Efecto del tiempo de incubación y del volumen de lactosuero adicionado sobre el contenido de cenizas en el ensilado de maíz.	46
Fig. 7. Efecto del tiempo de incubación y del volumen de lactosuero adicionado sobre el contenido de fibra detergente ácida (FDA) en el ensilado de maíz.....	47

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Análisis estadístico de las variables evaluadas durante el ensilado del maíz	60
Cuadro 2. Separación de medias en función del volumen de lactosuero adicionado para la acidez y la humedad del ensilado de maíz (Tukey $p = 0.05$).....	61
Cuadro 3. Separación de medias en función del tiempo de incubación para el pH, la humedad y la fibra detergente ácida del ensilado de maíz (Tukey $p = 0.05$).....	61

AGRADECIMIENTOS

-A Dios por darnos a conocer todo lo maravilloso que es la vida y darnos fuerza para cumplir todos nuestros objetivos.

-A la M.en C. Martha Gayosso Canales por su paciencia y apoyo incondicional para realizar este trabajo, sinceramente mil gracias.

-A los nuestros revisores por su disponibilidad para la revisión de este documento.

-A la máxima casa de estudios U.A.E.H. y al Instituto de Ciencias Agropecuarias por albergarnos y proporcionar los conocimientos básicos para nuestra formación profesional.

-Al Cinvestav (IPN) por su colaboración y acceso a sus instalaciones para la realización de este trabajo.

DEDICATORIAS

A mis padres José Armando y Valentina por darme la vida, palabras de aliento y brindarme su eterno apoyo moral y económico, por depositar en mi la esperanza de formar un profesionista con valores que les vivirá eternamente agradecido Dios los Bendiga.

A mi linda esposa Imelda por darme todo su amor y tiempo tan valiosos por ser lo mejor que me ha pasado, porque con su ayuda logro las metas propuestas por esto y mucho mas gracias amor mió.

A mi bebe que esta por nacer por darme la fuerza para seguir adelante en todo momento.

A mis hermanas Juana, Maria Guadalupe, Claudia, Georgina y Karina y a sus esposos Amado, Rafael y Carlos Alberto por su apoyo y palabras de aliento.

A mis sobrinos por sus sonrisas Lia, Heli, Ariadna, Amara, Johan, Isaac y Sursadai.

A mi amigo y compañero de tesis Moisés por la colaboración en el trabajo.

A mis suegros Fidencio y Josefina y a mis cuñados Edel y Saúl por el apoyo que me brindan.

A todos mis tíos, tías, primos y primas por estar con migo en todo momento.

A mis compañeros de clase por ayudarme a terminar mi carrera Mauricio, Carlos, Miguel, Lucio, Iliana y Lizlie.

A mis amigos por los buenos momentos que pasamos Raúl, Marco Antonio, Fortunato, Juan José, Humberto, Roberto, Joel, Javier, Edgar y otros mas.

Puede mas
el que quiere
que el que puede.

José Armando Ortega Meneses

DEDICATORIAS

- A mis padres **Daniel** y **Conchita** por darme la vida, su amor y las bases de la educación que me han permitido ser mejor persona así mismo por la confianza siempre han depositado en mi. Muchas gracias.

- A mis hermanas **Ana Lilia** y **Mónica** por su alegría, apoyo y comprensión que siempre me han brindado.

-A ti "**Peque**" que eres una persona muy especial en mi vida y motivación para llevar a cabo mis objetivos muchas gracias por ser como eres y por tenerte a mi lado. Te Amo. (Nancy).

-A mis amigos Armando, Raúl, Fortunato, Marco, Juan, Roberto, Javier, Joel, Humberto, Lucio, Miguel, Edgar, Jesús, Manuel, Ricardo, Iván y Carlos por su amistad, paciencia y confianza que siempre me brindado.

MOISÉS EVANGELISTA LÓPEZ... 99

RESUMEN

En este estudio se evaluó el efecto de la adición del lactosuero en la calidad del ensilado de la planta entera de maíz bajo condiciones de laboratorio. Los análisis se efectuaron en microsilos conteniendo 1 Kg de forraje en bolsas de polietileno. Se determinó el pH, la acidez titulable expresada en °D (como ácido láctico), el % de nitrógeno (N), % de humedad, % cenizas y % de fibra detergente ácida (FDA), las mediciones se realizaron con adiciones de 0, 25, 50 y 75 ml de lactosuero/ Kg de forraje a 60, 90 y 120 días de incubación. Bajo las condiciones de esta investigación no se registraron cambios significativos ($P \leq 0.05$) en las características químicas del ensilado; sin embargo con la adición de 75 ml de lactosuero y 60 días de incubación se obtiene un material de buena calidad.

I INTRODUCCIÓN

En la crianza moderna de ganado lechero y para carne, la cosecha de los forrajes se hace cuando éstos presentan el más alto rendimiento y valor nutricional, y son preservados para asegurar un suministro de alimento continuo y con las mismas características a lo largo del año (Ashbell *et al.*, 2001; Mustafa *et al.*, 2002; Snell *et al.*, 2002; Weinberg y Ashbell, 2003).

Los métodos para preservar los cultivos forrajeros son el trillado (en seco) o el ensilado (húmedo), la preservación mediante el ensilado esta basada en una fermentación ácido láctica en estado sólido bajo condiciones anaerobias, donde las bacterias ácido lácticas convierten los azúcares solubles en ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico, con lo cual el pH disminuye y el cultivo es conservado (Weinberg y Ashbell, 2003; Weinberg *et al.*, 2003).

Así el ensilado de la planta entera de maíz es el forraje principal y la fuente de energía más importante en la industria lechera debido a su palatabilidad, contenido energético, rendimiento y fácil digestibilidad (Johnson *et al.*, 1999; Moss *et al.*, 2001).

Por otra parte, es sabido que la leche y los productos derivados de ella tienen un alto valor nutricional para los animales debido a su contenido en proteínas, grasa, azúcar y minerales, es benéfico utilizar tales productos para la alimentación animal, sin embargo éstos no pueden ser ensilados debido a su alto contenido de humedad (Weinberg *et al.*, 2003), pero

pueden usarse algunos de estos productos, como aditivos en el ensilado de maíz, por lo antes mencionado nosotros proponemos que la adición de lactosuero a la planta entera de maíz mejorará las características químicas del ensilado.

Y el objetivo general de este estudio es evaluar el efecto de la adición de lactosuero en la calidad del ensilado de la planta entera de maíz bajo condiciones de laboratorio.

II REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Ensilado

En las granjas lecheras de los Estados Unidos de Norte América han surgido cambios para mejorar la viabilidad de la industria lechera, el primer reto es económico, ajustar y mantener estable el precio de la leche, aún cuando el costo de la producción se incremente; sin embargo, como las ganancias de las fincas continúan en decadencia, los sistemas de producción deben hacerse más eficientes (Rotz *et al.*, 1999).

Uno de los caminos más efectivos para mejorar la producción ha sido incrementar el número de animales por pradera, pero esto ha provocado un impacto en el medio ambiente. Las granjas han crecido gracias al uso de fertilizantes comerciales y a la importación de suplementos alimenticios, así se han mejorado la eficiencia y las ganancias de la industria lechera (Rotz *et al.*, 1999).

No obstante, la presión económica durante la última década y los altos costos de grano y forraje reducen el margen de ingresos, esto ha dado como resultado el interés en obtener ensilado de planta entera de maíz de alta calidad (Johnson *et al.*, 1999).

Sin embargo el ensilaje es una operación sofisticada y costosa que se usa principalmente en países desarrollados, por ejemplo, anualmente se ensilan 200 millones de toneladas de materia seca (MS) en el mundo,

cuyo costo es de US \$100 a US \$150/ton de MS (Weinberg y Ashbell, 2003). Obviamente, en los países en desarrollo donde la mayoría de los granjeros son pequeños productores, no se puede sufragar este costo de producción (Ashbell *et al.*, 2001).

Así, los animales comúnmente pastan, pero el forraje solo abunda en la época de lluvias y en la temporada de sequía el ganado sobrevive a costa de las reservas de su cuerpo y de algunos rastros, lo cual afecta la producción de leche (Ashbell *et al.*, 2001).

Por ello, el ensilado que es un método de conservación para los cultivos húmedos, que consiste en una fermentación ácido-láctica, en la que las bacterias convierten los azúcares solubles en ácido láctico esencialmente, es una buena opción para sostener la producción continua de leche y carne siempre y cuando el proceso sea óptimo y de costo adecuado (Weinberg y Ashbell, 2003).

2.2 Tipos de silos

Existen varios tipos de silos que se diseñan conforme a las necesidades de alimentación y las dimensiones se calculan en función de la profundidad del silo para que el ensilado tenga una mínima exposición al aire. Los tipos de silos más abundantes son simplemente montones (sin detenerse de paredes), además hay silos de torre, tipo bunker, fundas horizontales de plástico y grandes rollos (Snell *et al.*, 2002; Weinberg y Ashbell, 2003).

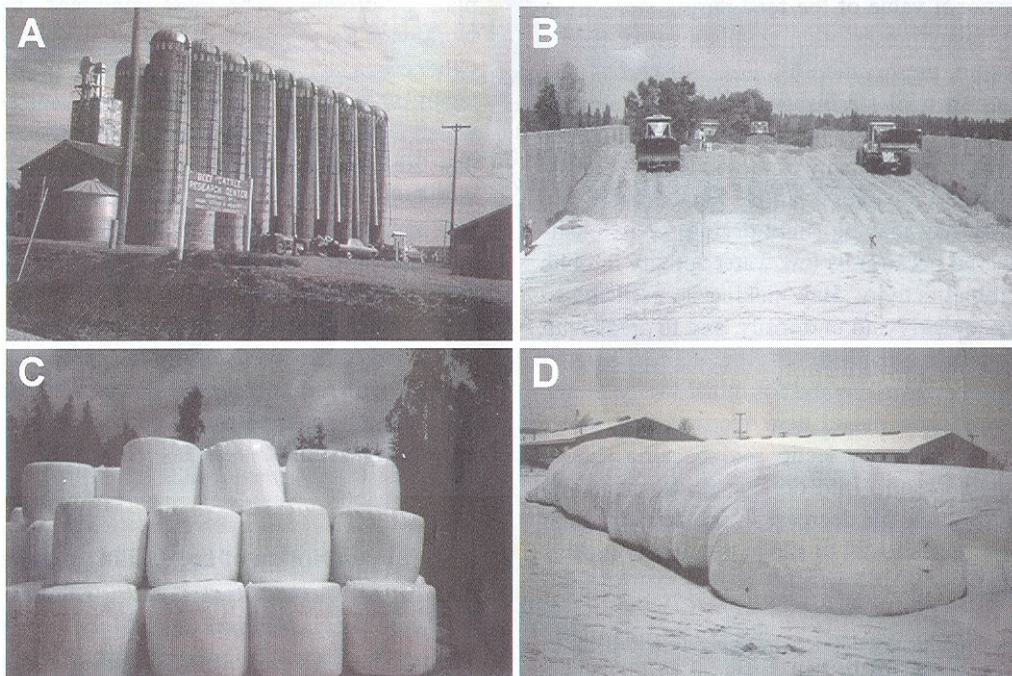


Figura 1. Silos para almacenar ensilado. (A) silo de torre, (B) compactación del ensilado en un silo tipo bunker, (C) silos en rollo, (D) silos en fundas de plástico (Weinberg y Ashbell, 2003).

Para el primer caso, sólo hay que amontonar (típicamente 2-3 m de altura) un tajo de cosecha picada y compactarlo en piso de tierra o de concreto y sobre él se puede o no colocar una superficie plástica, este tipo de silo se ocupa frecuentemente con cantidades relativamente pequeñas de ensilado (Weinberg y Ashbell, 2003).

Los silos de torre son construidos de cemento o metal y están diseñados para ser descargados de encima o del fondo con una mínima exposición del ensilado al aire, sin embargo, la presión ejercida en las paredes del fondo por el peso del forraje puede causar serios problemas de fluidez y daños constantes a la estructura del silo. Para evitar esto, las paredes de concreto puede cubrirse con un sellador, especialmente en las partes más

bajas, donde las fuerzas de fricción ejercidas por la masa del ensilado son mayores (Weinberg y Ashbell, 2003).

Naturalmente, la altura, el diámetro del silo, la permeabilidad de las paredes y la densidad del ensilado determinan el contenido máximo de materia seca que puede soportar el silo para que las pérdidas forraje sean mínimas (Weinberg y Ashbell, 2003).

También, los silos tipo búnker horizontal son de varios tamaños y los hay de piso y paredes de concreto. Su capacidad de almacenaje depende de las dimensiones del silo, del tipo de forraje y del contenido de materia seca, en cualquier caso la manipulación del ensilado debe ser adecuada para evitar exposición al aire y en consecuencia provocar pérdidas en el rendimiento. Como el silo es susceptible a mohos y a la corrosión, las paredes deben ser reforzadas con hierro y ser tratadas periódicamente con brea y sustancias tales como los epóxidos.

Finalmente, los rollos grandes son muy prácticos porque pueden ser transportados de manera individual a las praderas y usarse de acuerdo las necesidades. Están hechos con envolturas individuales de cuatro a ocho capas de películas de polietileno y son colocados dentro de una funda de plástico para su almacenamiento (Weinberg y Ashbell, 2003).

Las fundas de plástico, también llamadas bolsas de presión tienen una variedad de medidas, desde 1.8 a 3.6 m. de diámetro y longitud de 30, 60 y 90 m; el tamaño es variable, pero comúnmente tienen una capacidad de 0.5 a 0.75 t (peso húmedo) (Weinberg y Ashbell, 2003). Pueden llenarse

con máquinas empacadoras y el llenado puede ser parcial, siempre y cuando se cierren perfectamente para impedir la entrada de aire.

Si bien el almacenaje en grandes rollos bajo techo no mejora las características de fermentación o composición química del ensilado, si produce un silo más resistente a la deterioración aerobia, durante periodos de fermentación cortos (menores de dos meses) en el caso del pasto del trópico; sin embargo la temperatura y la oscuridad favorecen las fermentaciones prolongadas (González y Rodríguez, 2003).

Otro tipo de silos, que son adecuados para investigaciones de laboratorio, es el que se hace en bolsas de plástico, donde se obtiene ensilado de buena calidad que puede ser utilizado por pequeños ganaderos; las bolsas no necesitan cerrarse herméticamente y la preservación es debida probablemente al ácido láctico y al ácido acético, que inhiben el desarrollo de levaduras y mohos, y la permeabilidad del oxígeno a través de las bolsas no es un factor importante que influya en la calidad del ensilado Ashbell *et al.* (2001). Además también pueden usarse mini-silos cuyo tamaño de muestra puede ir desde 50 g hasta 1000 g que aunque pueden ser sellados al vacío los resultados más apegados a los parámetros de fermentación a nivel de campo son con mini-silos cerrados sin vacío (Cherney *et al.*, 2004; Colombatto *et al.*, 2004a).

En climas templados, las estructuras comúnmente usadas para ensilar son los silos tipo búnker, de torre y bolsas, por ejemplo en Puerto Rico la producción de silo en rollos es una parte integral en el sistema de alimentación del ganado lechero y para carne, a pesar de que

generalmente produce una fermentación pobre con bajo valor nutritivo y de que el ensilado es susceptible a la deterioración aerobia y a la fermentación de *clostridium*, que provoca una pobre aceptación y bajo consumo debido al contenido de amoníaco y aminas (González y Rodríguez, 2003).

2.2.1 Llenado de los silos

El llenado rápido de los silos y la compactación adecuada son determinantes para obtener una excelente calidad en los silos (Mills y Kung, 2002); el compactado es sumamente importante para la exclusión del aire del silo que asegura un medio anaerobio donde los nutrientes son preservados, para esto se recomienda una densidad de empaque mínima del ensilado de maíz con una base seca de 225 Kg/m³ (Johnson *et al.*, 2001).

El llenado debe ser tan rápido como sea posible para eliminar el aire de inmediato y minimizar las pérdidas que ocasiona la respiración de la planta y la actividad de los organismos aeróbicos, por ejemplo los silos tipo búnker son llenados en capas colocadas una sobre de otra, hasta que el silo alcanza su capacidad y el ensilado es inclinado para facilitar el drenado por la lluvia y reducir la superficie expuesta al aire.

La compactación es efectuada con tractores que ruedan hacia adelante y hacia atrás continuamente durante el llenado; la presión específica en las capas delgadas de forraje es determinante en el grado de compactación y depende de las características del tractor y velocidad. La profundidad del

efecto de compactación que hace el tractor es de 20 a 40 cm. de superficie, el búnker debe ser al menos dos veces más ancho que el tractor para asegurar que cada franja a lo largo del ensilado pueda ser compactada (Weinberg y Ashbell, 2003).

2.3 Cosechas para ensilar

Los forrajes representan la más abundante y económica fuente de nutrición para los rumiantes en los trópicos, debido a esto en Puerto Rico se esta reemplazando la producción de heno por ensilado ya que es más fácil su manejo y sirve como reserva de alimento para la época de sequía en climas de lluvia anual (González y Rodríguez, 2003).

En algunos países, la preservación de forrajes como el heno se puede llevar a cabo solo durante periodos cortos de tiempo, la época de lluvias y el heno seco es menos digerible y por consecuencia disminuye su valor nutricional. Sin embargo el forraje ensilado puede preservarse en cualquier lugar del mundo fuera de tiempo y con una alta calidad (Ashbell *et al.*, 2001).

En general, los cultivos más comunes para ensilar son la planta entera de maíz, alfalfa y varios pastos, otros menos frecuentes son el trigo, sorgo y varias leguminosas (Weinberg y Ashbell, 2003). De ahí en fuera las preferencias dependen de cada país, así, en Japón, la alfalfa, el centeno forrajero italiano y el sorgo son los principales cultivos ensilados (Cai *et al.*, 1999); mientras que en Canadá el maíz y la cebada como cereales y la

alfalfa dentro de las leguminosas (Mustafa *et al.*, 2002); en Turquía, el trigo y se cosecha dos veces al año (Filya, 2003a) y en México es el maíz.

Es importante mencionar que la alfalfa contiene mas proteínas y menos carbohidratos fermentables que los cereales ensilados debido a su bajo contenido de almidón, por lo tanto otras leguminosas forrajeras tales como los chícharos pueden ser ensilados para proveer una fuente de proteína y almidón (Mustafa *et al.*, 2002).

Sin embargo, en lugares donde el cultivo de maíz no es propicio, los ensilados de granos de sorgo son una buena alternativa, ya que proporcionan buenos rendimientos y la fermentación ruminal es adecuada (Abdelhadi y Santini, 2006).

Además, los cultivos de chícharos son anuales y se ajustan bien a la rotación de los cultivos y toleran las condiciones de suelo y clima mejor que la alfalfa y otras leguminosas; más aún, las especies forrajeras anuales pueden emplearse como cultivos de emergencias cuando los cultivos perennes no soportan las heladas invernales (Mustafa *et al.*, 2002).

Por otra parte los ensilados de pasto son deficientes en proteína y almidón, y las dietas a base de éstos deben ser suplementadas con fuentes proteicas y glucosa (Vanhatalo *et al.*, 2003).

Mención especial requiere el maíz ya que es una planta con alto valor energético en comparación con el ensilado de pasto, que además es fácil ensilar y tiene buena palatabilidad para el ganado, lo cual hace que sea

de alto consumo (Keane *et al.*, 2003), incluso países como Irlanda cuyas condiciones climatológicas son desfavorables para cultivarlo se hacen estudios para mejorar el rendimiento del cultivo implementando estrategias para disminuir los tiempos de desarrollo de la planta evitando el estrés por frío (Keane, 2002).

2.4 El proceso de ensilaje

Para este proceso hay que cosechar el cultivo en el tiempo óptimo de madurez, secarlo hasta asegurarse de que el contenido de materia seca sea el adecuado para que se efectúe la fermentación ácido láctica en estado sólido (Johnson *et al.*, 1999; Moss *et al.*, 2001; Filya, 2003a; Weinberg y Ashbell, 2003).

El estado de madurez del forraje al tiempo de ensilar influye drásticamente en el valor nutritivo del mismo, para lograr un buen ensilado se requiere cosechar el cultivo con un 30-35% de materia seca, con ello se logra una mayor producción y la disponibilidad de los nutrientes es mayor, aunque no en todos los casos (Moss *et al.*, 2001). También el nivel de fragmentación del almidón influye en la digestibilidad del ensilado así como el tamaño de partícula y la concentración de lignina (Ferreira y Mertens, 2005).

De acuerdo a Weinberg y Ashbell (2003), los sucesos bioquímicos y microbiológicos que ocurren durante el ensilado pueden dividirse en cuatro etapas:

- Procesos aerobios durante el llenado e inmediatamente después del sellado mientras exista aire entre las partículas de la planta y el pH sea de 6.0-6.5. En esta etapa continúa la respiración así como la proteólisis y la actividad de microorganismos aeróbicos tales como las enterobacterias, hongos y levaduras.
- Fermentación, que es efectuada por una sucesión dinámica de bacterias ácido lácticas (BAL), las cuales cambian de acuerdo a las condiciones que prevalecen en el ensilado, iniciando con *Enterococcus* y *Leuconostoc*, seguidas por *Lactobacillus* y *Pediococcus*. El ácido láctico y los ácidos orgánicos se acumulan y el pH disminuye por debajo de 5.0 dependiendo de la composición de la planta y la capacidad reguladora del sistema.
- Almacenaje, durante éste el silo es sellado, penetra poco aire y solo ocurren cambios insignificantes.
- Descarga para alimentación, el ensilado es reexpuesto al aire, hay una reactivación de los microorganismos aeróbicos, principalmente levaduras y mohos, que pueden descomponer el ensilado.

La preservación de cultivos forrajeros ensilados depende de la generación de acidez que inhibe la actividad de microorganismos indeseables bajo condiciones anaerobias. Así, las bacterias ácido lácticas (BAL) epigeas que están presentes en los cultivos forrajeros y convierten los azúcares en ácido láctico durante el proceso de ensilado disminuyen el pH, sin embargo cuando el silo está abierto las condiciones aerobias prevalecen al tiempo de suministro; el ensilado está sujeto al crecimiento de microbios aerobios y es potencialmente inestable (Cai et al., 1999).

Durante el ensilaje ocurre una proteólisis completa, cuyos productos principales son aminoácidos libres, que posteriormente son catabolizados a aminas, amoniaco y ácidos carboxílicos; esta degradación influye en el valor nutritivo del ensilado (Winters *et al.*, 2002). Del mismo modo, las características de fermentación en el ensilado (pH, ácido láctico y acético), materia seca (MS) y las pérdidas de MS son afectadas por procesos mecánicos, el estado de madurez del cultivo, y la inoculación de bacterias ácido lácticas, no obstante, es necesaria más investigación para entender la interacción del proceso mecánico, madurez e inoculación (Johnson *et al.*, 1999).

Un nutriente importante en la nutrición de vacas lecheras de alto rendimiento es el nitrógeno en forma de proteína bruta, cerca del 25 al 30% de N consumido por las vacas es transferido a la leche producida, el resto es excretado en las heces y la orina; cuando estas se aplican a la tierra de labor como abono, se fija una buena cantidad de N (Rotz *et al.*, 1999).

Por otra parte, los ensilados bien preservados son más propensos al deterioro aerobio que los ensilados pobremente fermentados. El daño se incrementa con la pérdida de materia seca y se reduce el valor nutricional del ensilado (Cai *et al.*, 1999). Por otra parte el incremento del contenido de materia seca disminuye la proteólisis, al igual que los aditivos biológicos o químicos; por el contrario el picado la incrementa y cuando esta presente el mismo contenido de materia seca la fermentación es más rápida en el material picado que en el material cortado a menos que se agregue un inhibidor (Slottner y Bertilsson, 2006).

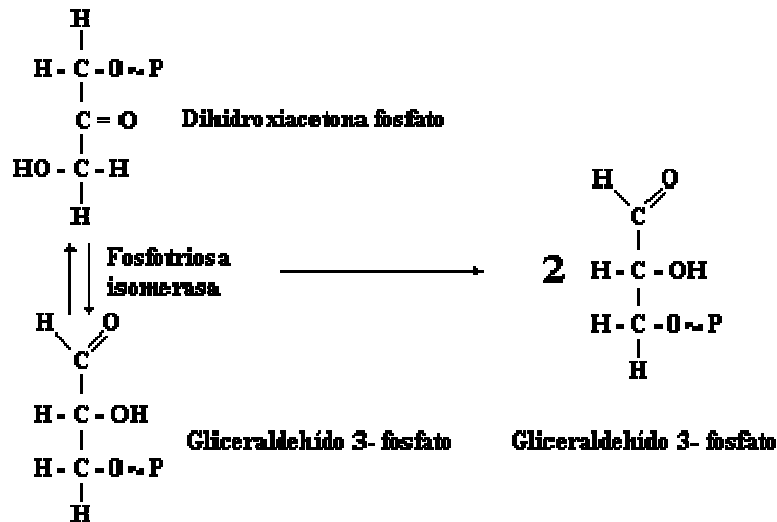
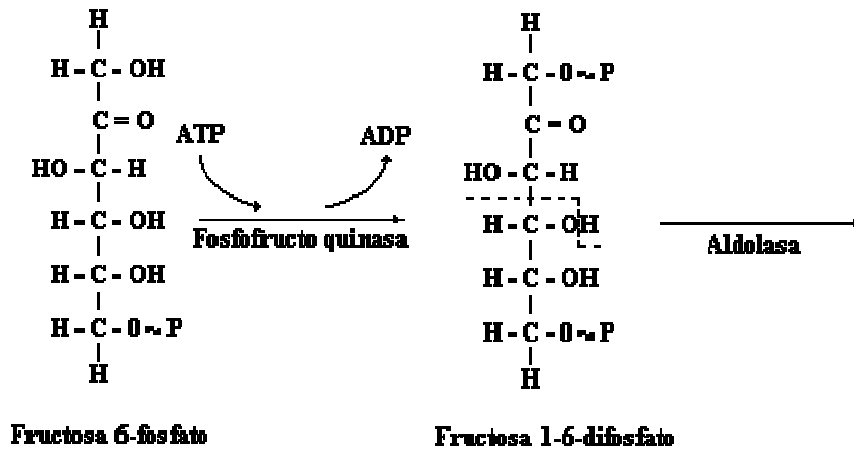
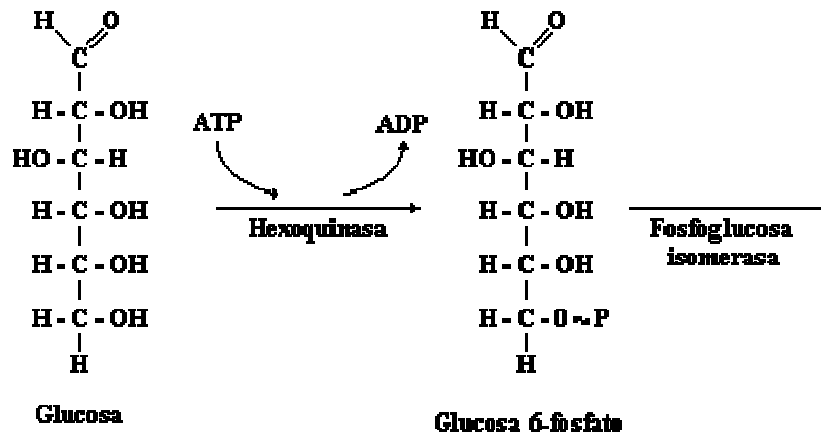
Con todo esto el ensilaje es una operación sofisticada y costosa, en las granjas lecheras de los Estados Unidos de Norte América han surgido cambios para mejorar la viabilidad de la industria lechera, el primer reto es económico, ajustar y mantener estable el precio de la leche, aún cuando el costo de la producción se incrementa; como las ganancias de las granjas continúan en decadencia, los sistemas de producción deben hacerse más eficientes (Rotz *et al.*, 1999; Ashbell *et al.*, 2001; Weinberg y Ashbell, 2003).

2.4.1 La fermentación ácido láctica

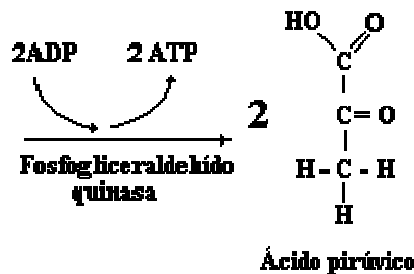
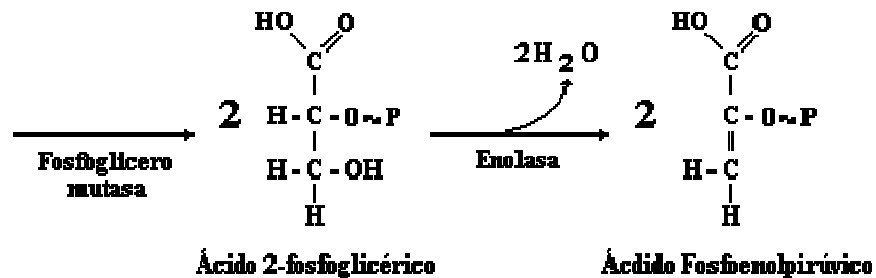
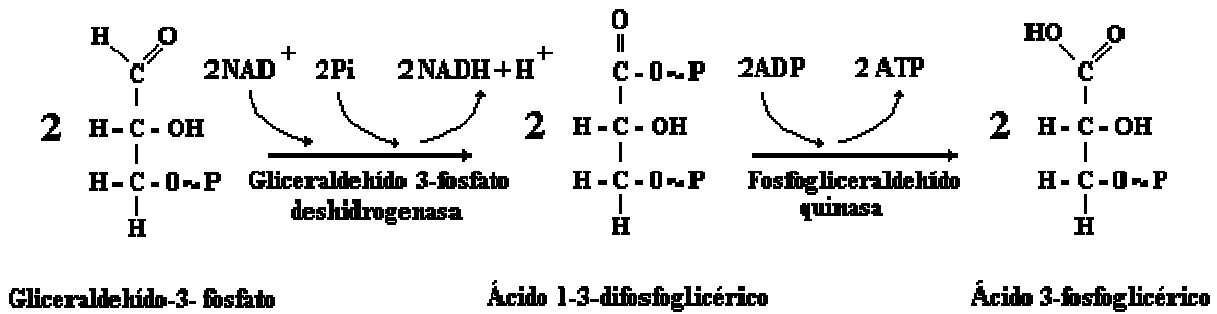
La glucosa se degrada a través de una serie de reacciones, conocida como glucólisis, en la cual una molécula de glucosa se transforma en dos moléculas de ácido pirúvico y se producen dos moléculas de ATP. La reacción general es la siguiente:



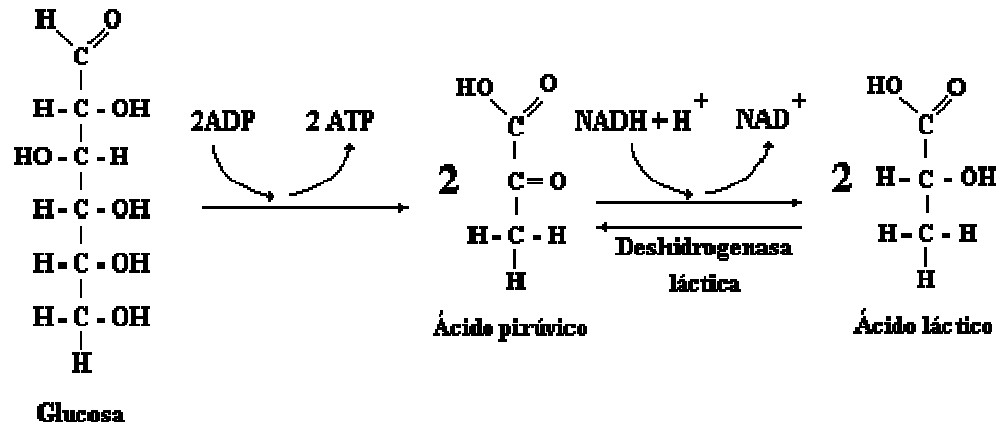
En la glucólisis no se degrada glucosa, sino un derivado fosforilado la glucosa 6-fosfato. Así, otros azúcares pueden entrar al proceso, siempre y cuando se fosforilen. La glucosa fosforilada se descompone hasta dos moléculas de gliceraldehído 3-fosfato con gasto de dos moléculas de ATP; la secuencia de reacciones es la siguiente:



Luego, las moléculas de gliceraldehído 3-fosfato se transforman en ácido pirúvico y se producen 4 moléculas de ATP; las reacciones de esta etapa son las siguientes:



El ácido pirúvico continúa su descomposición anaeróbica hasta etanol o en ácido láctico, procesos conocidos como fermentación alcohólica y fermentación láctica respectivamente, dependiendo del organismo que se trate. La fermentación láctica la llevan a cabo las bacterias ácido lácticas, a través de la reacción siguiente:



2.4.2 Factores que afectan el ensilado

El ensilado debe estar bien empacado y sellado antes y después del suministro, para tal efecto se usan películas de polietileno de diferentes calibres que favorecen las condiciones anaerobias del sistema, ya que éstas determinan la calidad del ensilado (Ranjit y Kung 2000; Snell *et al.*, 2002). No obstante que el color de la película plástica tiene efecto en la temperatura del sistema esto no influye de manera significativa en la calidad del ensilado como tampoco lo hace el grosor de la película (Snell *et al.*, 2003).

La etapa de madurez del cultivo al cosecharlo es el principal factor en la determinación del valor nutritivo del ensilado; sin embargo es difícil evaluar esto por los resultados tan variados que se observan entre las diferentes etapas de madurez (Johnson *et al.*, 1999). Asimismo, el manejo de los métodos de cosecha influye en el valor nutricional del ensilado,

particularmente la altura del corte, que es directamente proporcional a éste, siendo recomendables alturas entre 13 y 45 cm. (Neylon y Kung, 2003).

Del mismo modo el contenido de humedad del cultivo ensilado afecta la cantidad de bacterias, la velocidad de fermentación y la pérdida de energía, debido a la respiración prolongada de la planta y a la fermentación por microorganismos, así, la marchites previa de la planta puede reducir éstas pérdidas y mejorar la digestibilidad (Yahaya *et al.*, 2002). En estudios *in vitro* se observó que un ensilado fresco alcanza más rápidamente su velocidad máxima de fermentación que un ensilado seco, debido a la colonización más rápida de los microorganismos del rumen, aunque la velocidad máxima de fermentación del ensilado seco es mayor (Calabrò *et al.*, 2005).

Otros estudios han reportado que el tamaño del corte y grado de maceración de la planta entera de maíz puede influir en las características de fermentación del ensilado, un corte pequeño o demasiada maceración incrementa la proliferación de bacterias ácido lácticas, altera el contenido de MS y pérdida de la misma y reduce el pH final (Johnson *et al.*, 1999; Johnson *et al.*, 2002).

Después del picado, el forraje debe ser compactado rápidamente dentro de los silos, pues la exposición al aire por periodos de tiempo prolongado provoca el aumento de microorganismos perjudiciales, tales como levaduras y mohos, que retardan el inicio de la fermentación y disminuyen la concentración de los sustratos fermentables, ya que las levaduras metabolizan el ácido láctico provocando una pérdida de nutrientes (Johnson *et al.*, 2001; Mills y Kung, 2002; Weinberg y Ashbell, 2003).

Por ejemplo en el caso del ensilado de maíz, al comparar los datos colectados cosechando la planta en tres estados de madurez con y sin proceso mecánico, y con y sin inoculación bacteriana en la densidad de empacado y estabilidad aeróbica del ensilado, el tamaño de partícula, la densidad de empacado y la estabilidad aeróbica están correlacionadas y a medida que la madurez aumenta, la densidad de empacado disminuye y el contenido de materia seca aumenta y la inoculación mejora la estabilidad aeróbica del ensilado (Johnson *et al.*, 2002).

En el ensilado la falta de oxígeno y la acumulación de ácido láctico resulta en un bajo pH que inhibe el metabolismo microbiano y preserva los nutrientes, pero cuando se expone al aire ciertos microorganismos se vuelven metabólicamente activos y producen calor y consumen los nutrientes del ensilado provocando la pudrición. El lactato es asimilado por levaduras tales como *Saccharomyces*, *Candida*, *Cryptococcus* y *Pichia*, que son la causa principal de la deterioración aerobia y en menor grado la pudrición puede ser causada por mohos, bacilos, bacterias ácido acéticas y ácido lácticas (Ranjit y Kung 2000).

La deterioración del ensilado también está influida por la composición de la población microbiana, el tipo de sustrato y la temperatura, usualmente el lactato es la causa principal de la deterioración aerobia. Algunos lactatos asimilables por las levaduras se generan en medios en los que el pH se encuentran entre 3 y 8 y la temperatura por debajo de los 40°C (Johnson *et al.*, 2001).

Estas son las condiciones comunes en los ensilados cuando son expuestos por primera vez al aire, como el ácido láctico y otros azúcares reductores son desdoblados y asimilados por las levaduras hay un incremento de la temperatura y cuando la temperatura es mayor de 45°C la cantidad de levaduras presentes declina y proliferan otros microorganismos. Los niveles de pH tienden a incrementar el amonio y disminuir la concentración de aminos acumulables y ácidos orgánicos (Johnson *et al.*, 2001).

También se ha observado que la temperatura es un parámetro que influye en el tiempo de incubación para obtener un buen ensilado, de tal manera que cuando la temperatura es mayor el tiempo de incubación disminuye (Yang *et al.*, 2001).

2.4.3 Aditivos y suplementos en los ensilados

Los aditivos para ensilar pueden servir para varios propósitos, se clasifican de acuerdo a sus funciones en: estimulantes e inhibidores de la fermentación, inhibidores de la deterioración aeróbica y de los nutrientes y absorbentes, además pueden ser biológicos o químicos; existe una gran lista de aditivos disponibles los cuales vienen en una variedad de formas: líquidos, sólidos o suspensión y se pueden aplicar durante la cosecha/picado o en el llenado de los silos (Weinberg y Ashbell, 2003; Slottner y Bertilsson, 2006).

Algunas investigaciones han reportado efectos positivos en la fermentación del ensilado cuando se usan algunas bacterias ácido lácticas como aditivos inoculantes, relativamente pocas han reportado la deterioración del

ensilado. El *Lactobacillus casei* y *L. plantarum* son usualmente encontrados viviendo en asociación con cultivos forrajeros ensilados. Los lactobacilos son la población microbiana dominante en los cultivos forrajeros y promueven efectivamente la fermentación ácido láctica, caso contrario al de los *coccos* (por ejemplo *enterococcos*, *streptococcos*, *leuconostoc*, *weissela* y *pediococcos*) que prolongan el tiempo de producción del ácido láctico (Cai *et al.*, 1999).

La adición de bacterias ácido lácticas al ensilado como inoculantes, está destinada a asegurar una rápida y vigorosa fermentación que resulta en una pronta acumulación de ácido láctico y valores bajos de pH a etapas mas tempranas del ensilado con lo cual se mejora la conservación del forraje (Cai *et al.*, 1999; Johnson *et al.*, 2002). Por ejemplo *Lactobacillus buchneri* solo o en combinación con *L. plantarum* es un efectivo agente protector de los ensilados de trigo, sorgo y maíz contra el ataque de levaduras y mohos del aire bajo condiciones de laboratorio, especialmente en climas cálidos (Adesogan *et al.*, 2003; Filya, 2003b,c; Holzter *et al.*, 2003).

Además se ha demostrado que el ensilado tratado con *L. buchneri* tiene más de un 30 % de estabilidad al aire que cuando no es tratado, e incrementa la producción de leche (Kung *et al.*, 2003). Por otra parte, la adición de enzimas mesófilas y termófilas (principalmente xilanasas y endoglucanasas) provenientes de hongos (*Trichoderma reesei*, *Thermoascus aurantiacus*) han mostrado favorecer la acidificación del ensilado incrementando con ello la disponibilidad de sustratos fermentables para los microorganismos del ensilado, obviamente la actividad de éstos

preparados depende del tipo de enzima presente que está relacionada al pH y a la temperatura de actividad óptima, no obstante estas enzimas son más estables a temperaturas bajas y pHs ácidos (Colombatto *et al.*, 2004a,b).

La selección de los aditivos para ensilar y de los cultivos híbridos repercute en los tiempos de madurez de la fermentación del ensilado y en el rendimiento animal (Johnson *et al.*, 1999).

Por otra parte, se puede hacer una suplementación al alimentar vacas lecheras mezclando ensilado de maíz con concentrado y semillas de lino que a la postre influyen en el perfil de ácidos grasos poli-insaturados en la leche (Soita *et al.*, 2005).

También el reciclado de productos lácteos tiene potencial en el ensilado para alimentación animal, ya que estos productos tienen alto valor nutricional para los rumiantes, pero deben ser estabilizados antes de su uso por ello son mezclados con plantas, además si tales productos son desechados causan contaminación ambiental (Weinberg *et al.*, 2003).

2.4.3.1 El lactosuero

La industria láctea del estado de Hidalgo se caracteriza porque está conformada por una gran cantidad de queserías de tamaño pequeño. Este tipo de empresas prácticamente se dedican a subsistir y no tienen las posibilidades económicas de instalar plantas de tratamiento de sus desechos, principalmente del suero. Algunas empresas de gran tamaño

pueden tener la opción de deshidratar el suero y comercializarlo en polvo como ingrediente de otros productos alimentarios, o bien, destinarlo a la extracción de lactosa o caseína. Recientemente se han enfocado los esfuerzos hacia la búsqueda de alternativas que puedan ser utilizadas por empresas de tamaño pequeño, tales como las que caracterizan al estado de Hidalgo y específicamente a las empresas de Acatlán y de Tulancingo. Además de evitar que el lactosuero sea vertido directamente a los efluentes incrementando la contaminación en el Valle de Tulancingo.

El lactosuero o suero un subproducto proveniente de la elaboración de queso, es un líquido cuya composición depende del tipo de coagulación empleada en quesería, en general contiene 4-5% de lactosa, 0.8-0.9 % de proteína y trazas de minerales (Spreer, 1991). La región del Valle de Tulancingo produce durante la manufactura de quesos grandes volúmenes de lactosuero, 300,000 – 500,000 L/día (Unión de Productores del Valle de Tulancingo). Salvo algunos casos donde la proteína soluble es aprovechada (elaboración de requesón o bien para incrementar el rendimiento del queso producido) la fracción proteica junto con el resto de los componentes del lactosuero es considerada como desecho. La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) de 1 L de lactosuero oscila entre 30 y 45 g/L y necesita el oxígeno de 4,500 L de agua no contaminada (Sottiez, 1993).

2.5 Ensilado de Maíz

La etapa de madurez del cultivo es el factor principal en la determinación de la digestibilidad del ensilado (Johnson *et al.*, 1999). Los cultivos

cosechados a edad más temprana reducen la producción de materia seca, y la acumulación de almidón pero, mejoran la digestibilidad de fibra detergente neutra (FDN); el almidón almacenado en el grano provoca que disminuya la digestibilidad en parte de la planta. Sin embargo no hay una ganancia en digestibilidad de materia seca porque el incremento en la digestibilidad de FDN es contrarrestado por el bajo contenido de almidón (Di Marco *et al.*, 2002).

La digestibilidad se mejora potencialmente al obtener un mejor troceado del maíz entero, a través de la utilización de unidades con rodillos cerrados que rotan al revés (ZoBell *et al.*, 2002). La habilidad para manipular el ensilado de maíz es importante para incrementar el valor nutritivo del cultivo; los efectos de los híbridos, la madurez, el procesamiento mecánico, la inoculación y el tamaño de las partículas del ensilado de maíz, están documentados y son básicos en la alimentación de vacas lactantes (Johnson *et al.*, 2001).

Otra estrategia para incrementar el valor nutricional del ensilado es acoplar éste con una fermentación en estado sólido, la cual incrementa el contenido proteico y disminuye los niveles de celulosa y hemicelulosa, y con ello se favorece la generación de azúcares reductores durante el ensilado (Yang *et al.*, 2001).

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Preparación de los microsilos de maíz

Las plantas se cosecharon del cultivo del Rancho Universitario (Exhac. de Aquetzalpa, los linderos de la ciudad de Tulancingo, Hidalgo) haciendo un corte horizontal entre 15 a 20 cm por encima del suelo, después fueron troceadas de 1 a 2 cm. de longitud aproximadamente con todo y elote, luego 1 Kg. del forraje se introdujo en una bolsa de plástico de 30X40 cm. evitando la entrada de aire y se le agregaron 0, 25, 50 y 75 ml de lactosuero/Kg de ensilado respectivamente, finalmente cada microsilo fue incubado por periodos de 60, 90 y 120 días a temperatura ambiente.

3.2 Análisis Fisico-químicos

3.2.1 Medición del pH.

Se pesaron 5 gr de muestra y se mezclaron con 100 ml de agua destilada en una licuadora Osterizer, posteriormente se midió el pH con un potenciómetro (Orion), los análisis se hicieron por triplicado.

3.2.2 Determinación de la acidez titulable (°D).

Lactosuero

La acidez se determinó de acuerdo a la NOM 091 SSA1-1994 (SSA, 1996), se midieron 10 ml de lactosuero con una pipeta volumétrica y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 125 ml, se agregaron 2 gotas de fenolftaleína y se valoró con NaOH 0.1N hasta que apareció la primera coloración rosada que persistió por más de 30 seg.

Ensilado

Se pesaron 1 g de ensilado y se mezclaron con 9 ml de agua destilada y se procedió a valorar la solución con NaOH 0.1N como en el caso de lactosuero.

Considerando que $^{\circ}D = 0.01$ g de ácido láctico

3.2.3 Cuantificación de nitrógeno.

El Nitrógeno total se determinó de acuerdo al método oficial 955.04 de la AOAC (1997), en un equipo Büchi modelo B-426 (unidad de digestión) y Büchi Switzerland modelo B-316 (unidad de destilación).

Se pesó por triplicado 1 gramo de muestra triturada, de cada sustrato, luego cada muestra fue colocada en un tubo para digestión, se agregaron a cada tubo 8 gramos de mezcla digestora (cuya composición fue 7.2 g de K_2SO_4 y 0.8g de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) y tres cuerpos de ebullición, también se adicionaron 20 ml de H_2SO_4 concentrado.

Luego los tubos se colocaron en el digestor durante 2.5 h o hasta observar que la solución del tubo se torno de color verde cristalino; las soluciones se dejaron enfriar y se les adicionó 40 ml de agua destilada, entonces cada tubo se colocó en la unidad de destilación consecutivamente, adicionando 100 ml de NaOH al 40% aproximadamente, luego se procedió a la destilación (3 min).

El destilado fue recuperado en 30 ml de solución de ácido bórico al 4% (p/v) contenida en un matraz Erlenmeyer de 300 ml de capacidad, al que previamente se le agregaron 2 gotas de rojo de metilo. Luego el destilado (200-250 ml) se tituló con una solución estándar de HCl 0.1 N hasta el vire del indicador.

$$\% \text{ Nitrógeno Total} = \frac{(\text{ml de HCl utilizado} - \text{ml blanco}) \times \text{Normalidad del HCl} \times 1.4}{\text{Peso de la muestra}}$$

3.2.4 Determinación de la humedad.

Esta determinación se realizó por triplicado de acuerdo al Método oficial 934.01 AOAC (1997). Se pesaron 2 g de muestra seca en una cápsula de aluminio de 5 cm de diámetro, previamente puesta a peso constante, luego se colocaron en una estufa marca SHEL LAB a 95°C durante 5 h aprox. Después las muestras se enfriaron en un desecador y pesaron. La operación se repitió hasta que cada muestra alcanzó un peso constante; la pérdida en peso se considero como humedad.

3.2.5 Cuantificación de las cenizas.

El contenido de cenizas se estimo de acuerdo al MÉTODO OFICIAL 942.05 de la AOAC (1997). Se pesaron 2 g de muestra pulverizada en un crisol de porcelana, previamente puesto a peso constante. Luego se calcino en una mufla (Box Furnace BF51728C-1 de la marca Lindberg/Blue

M) durante 2 h a $600 \pm 15^{\circ}\text{C}$ y se mantuvo a esta temperatura. Transcurrido este lapso se enfrió la muestra en un desecador y se peso.

3.2.6 Determinación de la fibra detergente ácida.

La cuantificación se realizó según el MÉTODO OFICIAL 962.09 AOAC (1997). Se pesaron 7 g de muestra y se colocaron en un vaso de Berzelius, se adicionaron 200 ml de H_2SO_4 al 1.25 % (p/v), a cada vaso se le agregaron tres perlas de ebullición, luego cada vaso se colocó en el equipo para determinación de fibra (Tecator) para su digestión durante 30 min, transcurrido este período, las soluciones se dejaron enfriar, después la solución se filtró en embudo de vidrio, el residuo se lavo con agua destilada caliente hasta eliminar los residuos de ácido.

Posteriormente, el residuo se colocó otra vez en el vaso de Berzelius y se le agregó un volumen de 200 ml de NaOH al 1.25% (p/v) y tres perlas de ebullición; luego cada vaso se sometió al mismo tratamiento que en la hidrólisis ácida. Finalmente el residuo recuperado de la filtración se lavó con 25 ml de alcohol etílico al 95%. Luego el residuo se secó en una estufa (marca SHEL LAB) durante 2h a $130 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Después se enfrió en un desecador y se pesó, posteriormente, el residuo seco se calcinó a $600 \pm 15^{\circ}\text{C}$ en una mufla (modelo BF51728C-1, Mca. Lindberg / Blue M), se dejó enfriar en el desecador y se volvió a pesar.

$$\% \text{ de fibra bruta} = \frac{\text{Peso del residuo seco (g)} - \text{Peso de las cenizas (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

La cuantificación de esta se realizó según el método oficial 962.09 de la AOAC (1997).

3.3 Análisis estadístico

3.3.1 Diseño experimental

Se utilizará un diseño factorial 4X3 donde el primer factor fue el volumen de lactosuero adicionado al ensilado, cuyos niveles fueron 0, 25, 50 y 75 ml/Kg y el segundo factor fue el periodo de incubación a tres tiempos 60, 90 y 120 días; se realizaron tres repeticiones para cada tratamiento.

3.3.2 Variables de medición

Se evaluarán las siguientes variables: Nitrógeno total, % de cenizas, % de humedad, fibra detergente ácida, pH y acidez, para cada tratamiento.

3.3.3 Análisis de los datos

A los datos obtenidos se les hizo un análisis de varianza (ANOVA) y una separación de medias por prueba de Tukey al 0.05% de significancia con el paquete estadístico SAS (1999).

IV RESULTADOS

4.1 Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre el pH del ensilado

El volumen de lactosuero agregado no afectó significativamente ($P \geq 0.05$) el pH del ensilado, el cual osciló entre 3.58 y 3.66 unidades, siendo de 3.58 cuando se agregaron 75 ml de lactosuero. Mientras que el tiempo de incubación sí influyó en el pH, siendo mejor a los 60 y 120 días ($P \leq 0.05$), con valores de 3.50 y 3.57 unidades, respectivamente; en tanto que a los 90 días hubo un incremento de éste registrándose 3.83 (Fig. 1).

4.2 Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre la acidez titulable del ensilado

El volumen de lactosuero adicionado al ensilado influyó en la acidez ($P \leq 0.05$) oscilando entre 13.55 y 18.11 $^{\circ}$ D; siendo más ácido al agregar 75 ml de lactosuero. Mientras que el tiempo de incubación no afectó en la acidez ($P \geq 0.05$) registrando valores de 14.75 a 15.0 $^{\circ}$ D, siendo más alta a los 90 días de incubación. Además fue significativo el efecto de la interacción de las dos variables en la acidez del ensilado ($P \leq 0.05$) obteniéndose los mejores resultados adicionando 75 ml de lactosuero e incubando el ensilado durante 90 días.

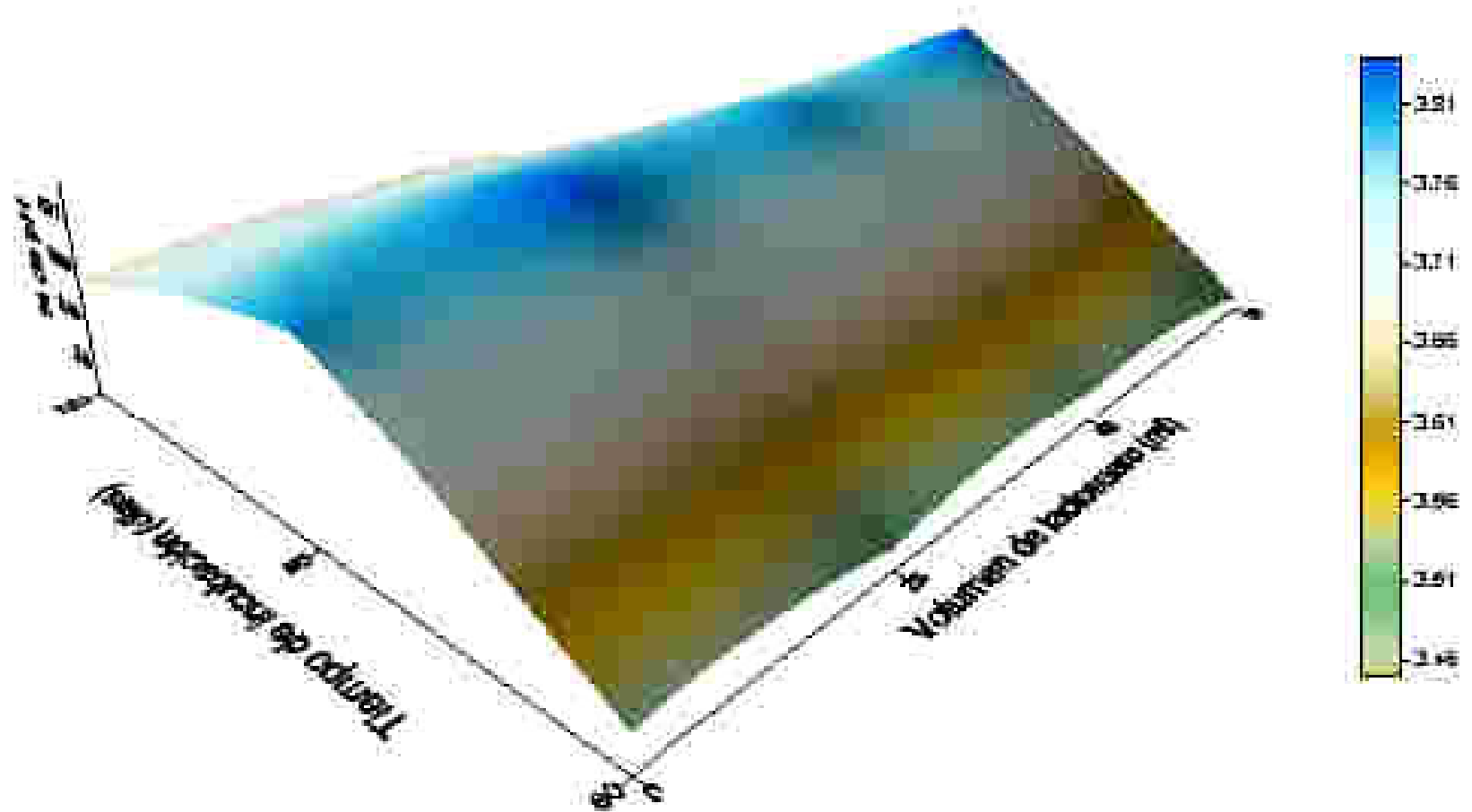


Figura 2. Efecto del tiempo de incubación y del volumen de lactosuero adicionado sobre el pH del ensilado de maíz.



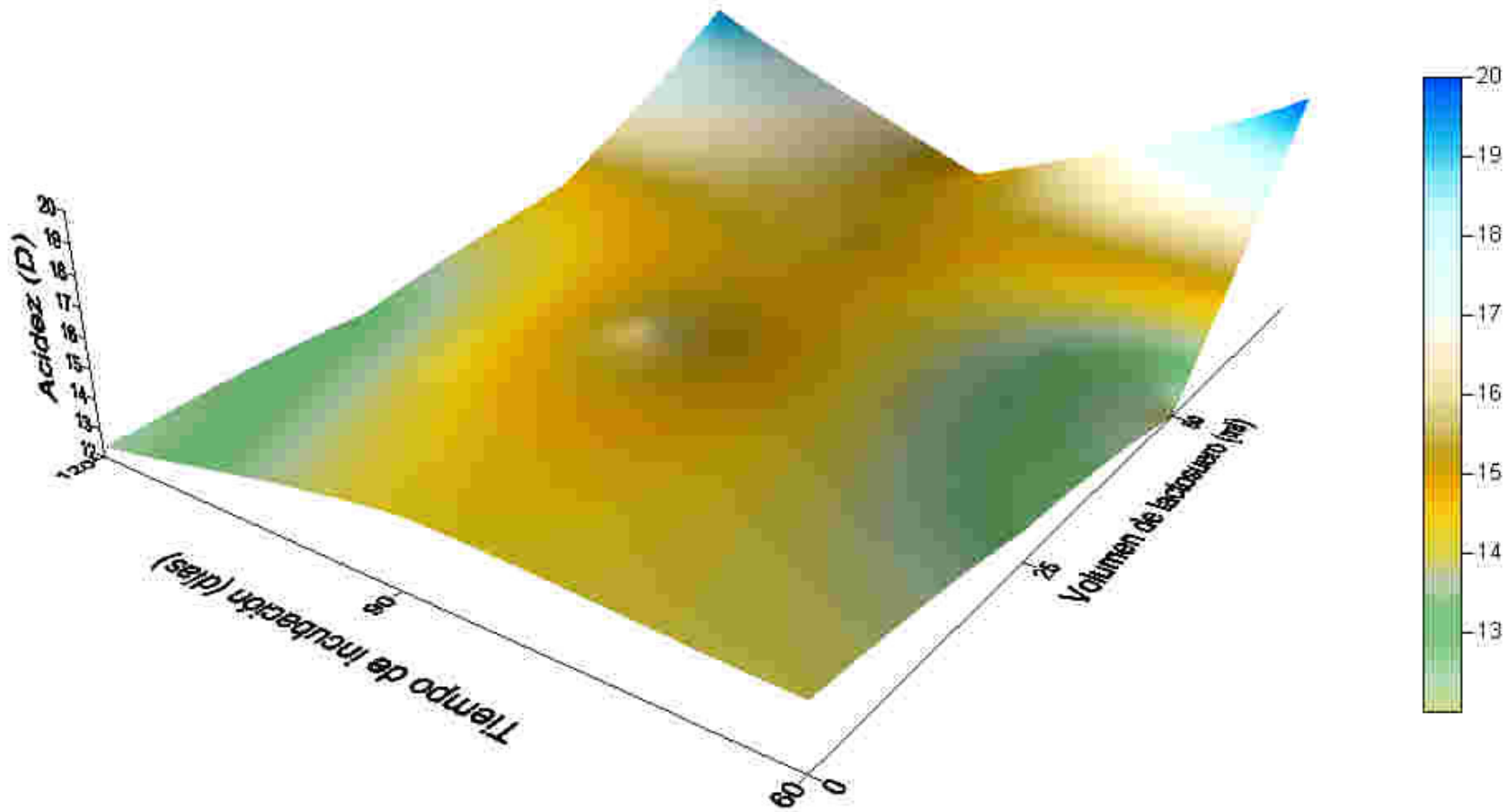


Figura 3. Efecto del tiempo de incubación y el volumen de lactosuero adicionado sobre la acidez del ensilado de maíz.

41

4.3 Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre el contenido de nitrógeno en ensilado

En relación al nitrógeno no hubo un efecto significativo ($P \geq 0.05$) en su contenido por la adición del lactosuero, observándose concentraciones en un intervalo de 0.23 a 0.32%, registrando el mayor porcentaje de N al adicionar 50 ml. Por otra parte, el tiempo de incubación tampoco afectó el contenido de N del ensilado ($P \geq 0.05$), reportando valores de 0.24 a 0.29 %, alcanzando su mayor concentración a los 90 días.

4.4 Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre la humedad del ensilado

La humedad fue influida por el volumen de lactosuero aplicado al ensilado ($P \leq 0.05$), y registró valores de 77.22 a 78.73%, siendo el mejor tratamiento el de 50 ml. Además, el tiempo de incubación también afectó el contenido de humedad en el ensilado ($P \leq 0.05$), obteniendo niveles de 77.24 a 78.63%, teniendo un tiempo de incubación óptimo a los 60 días; también la interacción de ambas variables es significativa ($P \leq 0.05$).

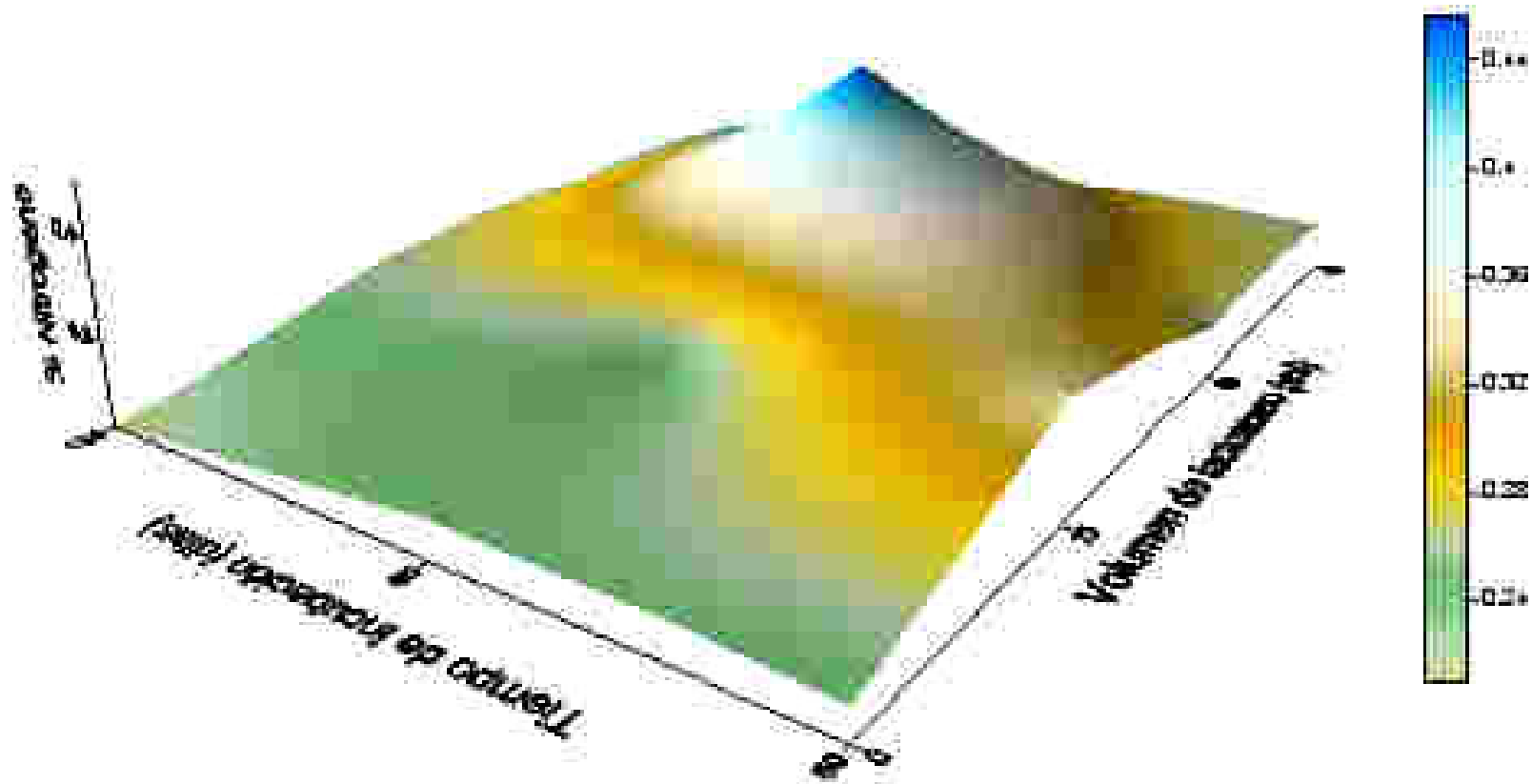


Figura 4. Efecto del tiempo de incubación y del volumen de lactosuero adicionado sobre el contenido de Nitrógeno en el ensilado de maíz.

5

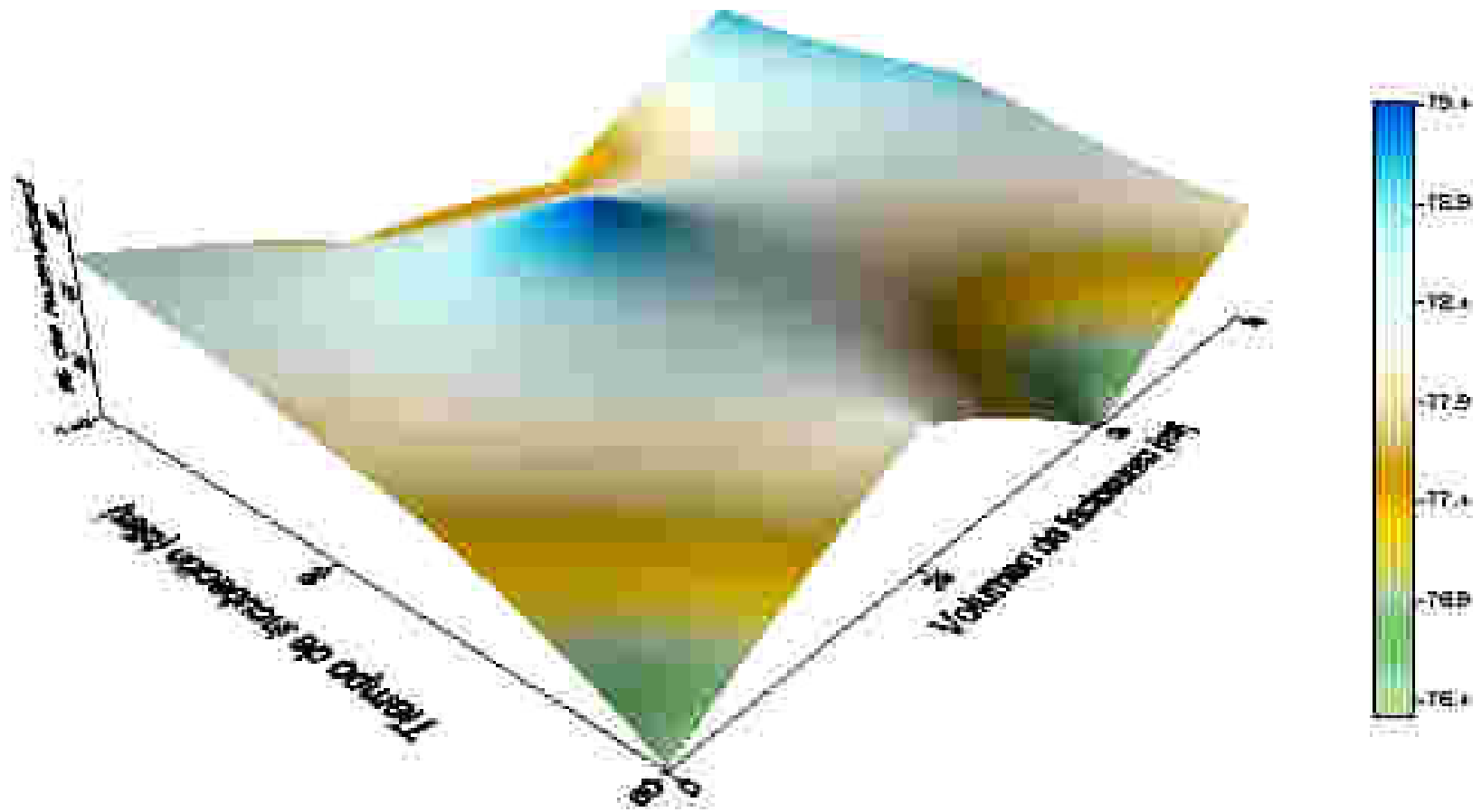


Figura 5. Efecto del tiempo de incubación y del volumen de lactosuero adicionado sobre el % de humedad en el ensilado de maíz.

4.5 Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre el contenido de cenizas del ensilado

El contenido de cenizas del ensilado no fue modificado por el volumen de lactosuero adicionado ni por el tiempo de incubación ($P \geq 0.05$), mostrando contenidos de 2.30 a 2.38 y de 2.22 a 2.43, respectivamente.

4.6 Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre la fibra detergente ácida del ensilado

Finalmente, el contenido de fibra detergente ácida no fue alterado por el volumen de lactosuero adicionado ($P \geq 0.05$), oscilando entre 36.21 a 38.95%, sin embargo el tiempo de incubación si tuvo un efecto altamente significativo sobre dicho contenido ($P \leq 0.01$), cuyos valores fueron 33.72, 39.37 y 39.55% a los 90, 60 y 120 días, respectivamente.

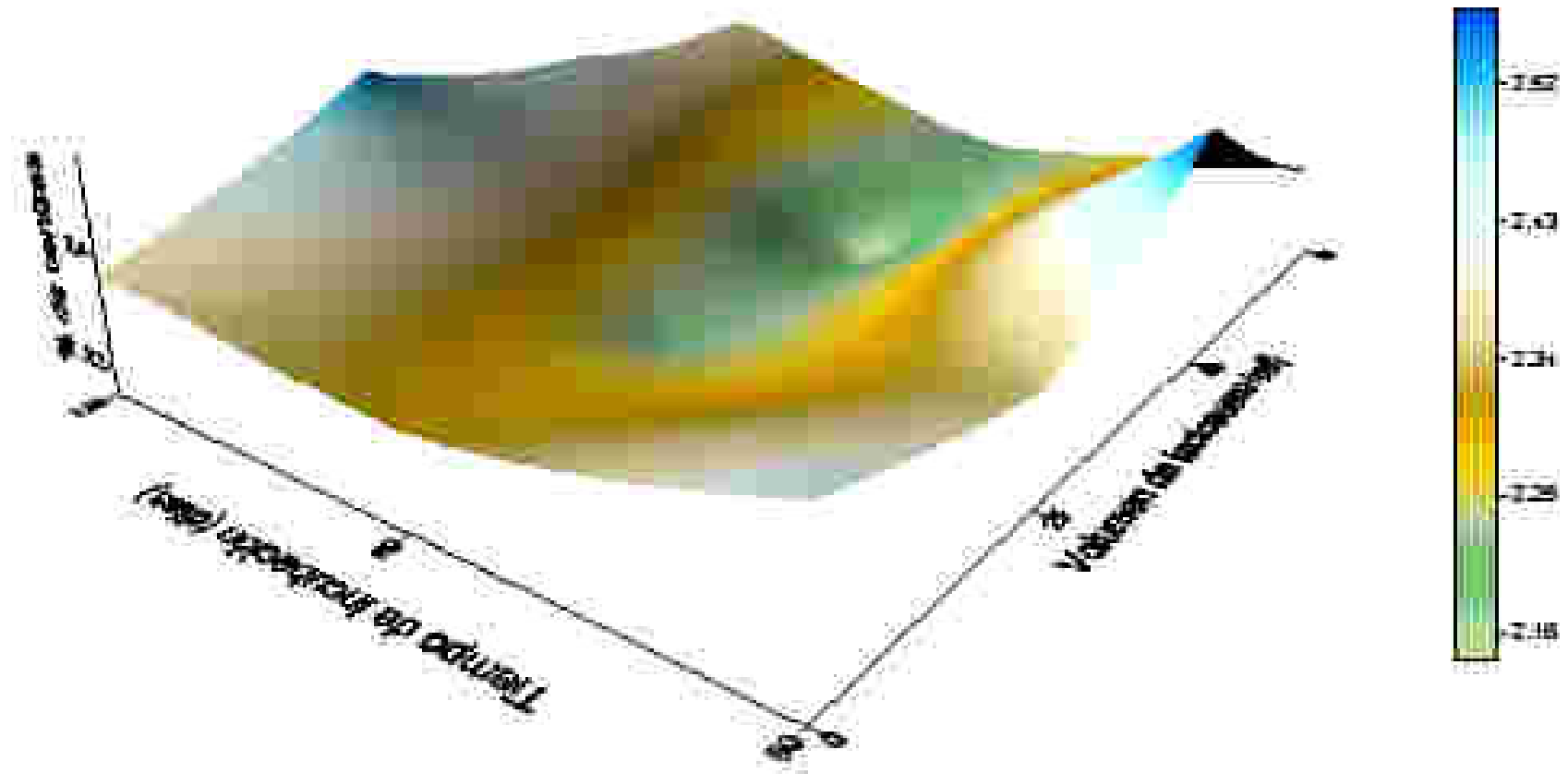


Figura 6. Efecto del tiempo de incubación y del volumen de lactosuero adicionado sobre el contenido de cenizas en el ensilado de maíz.

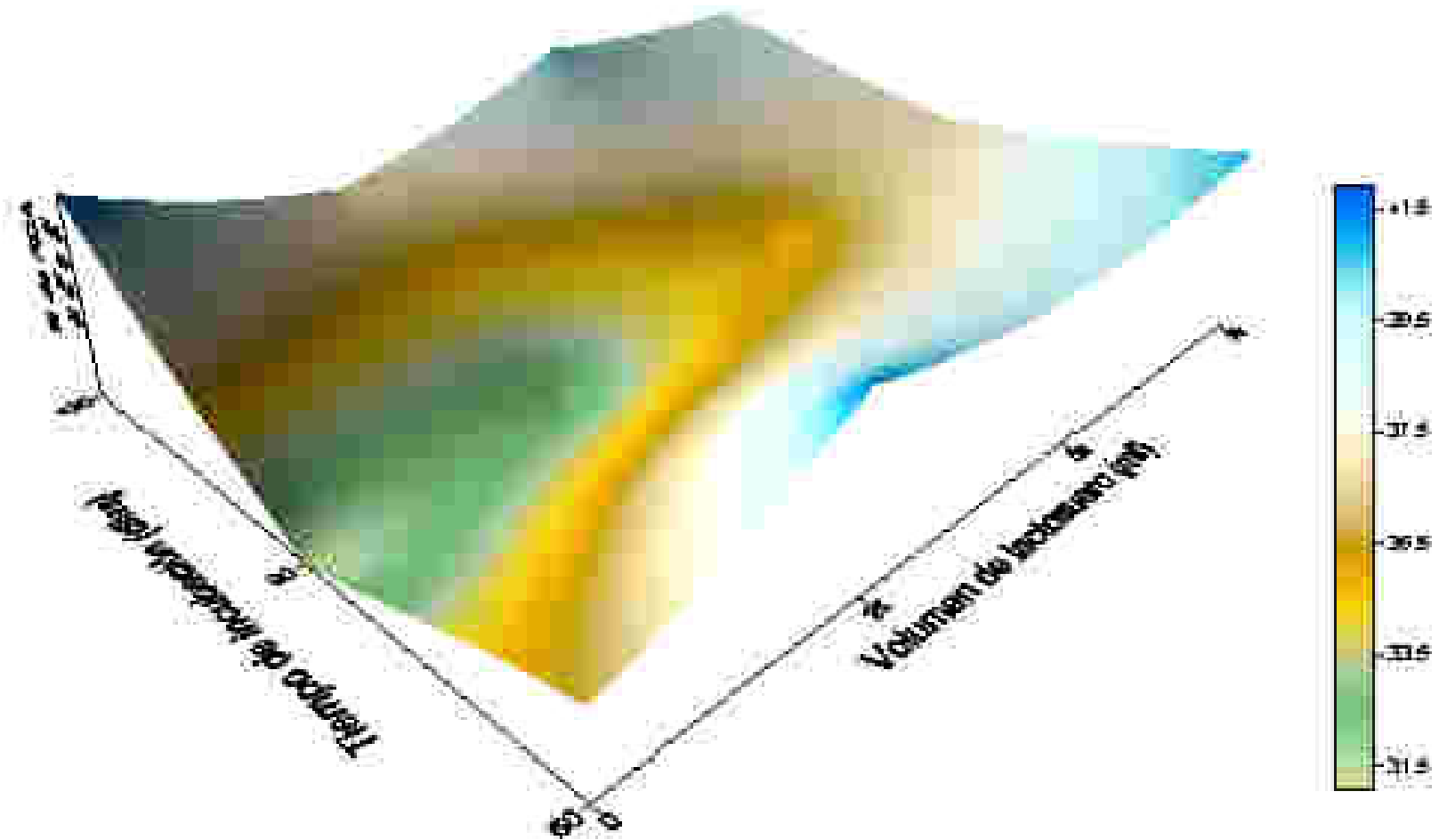


Figura 7. Efecto del tiempo de incubación y del volumen de lactosuero adicionado sobre el contenido de fibra detergente ácida (FDA) en el ensilado de maíz.

V DISCUSIONES

5.1 Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre el pH del ensilado

Los pHs registrados por debajo de 3.83 a partir de los 60 días de incubación y que no dependen del volumen de lactosuero presente, sino de la actividad microbiana, pueden explicarse debido a los cambios que sufre el ensilado a través del tiempo de incubación que dependen de una sucesión de eventos bioquímicos asociados a diversas poblaciones microbianas (Weinberg y Ashbell, 2003). Del mismo modo la disponibilidad de carbohidratos solubles en agua tiene una relación directa con la disminución del pH (Jonson *et al.*, 2003).

Y que bajo las condiciones de este estudio la fermentación tiene una expresión máxima a los 60 días de incubación, que disminuye ligeramente a los 90 días y se incrementa nuevamente a los 120 días, todo ello debido muy probablemente a la dinámica de la población microbiana. Los valores de pH entre 3.44 y 3.84 registrados en esta investigación son similares a los reportados por Miron *et al.*, (2006), para ensilados de sorgo de 3.46 a 3.83 unidades de pH, lo cual indica que el intervalo de pH es adecuado para obtener una buena fermentación (Kozloski *et al.*, 2006).

5.2 Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre la acidez titulable del ensilado

Obviamente la acidez del ensilado se incrementó al adicionar mayor volumen de lactosuero, debido a que el lactosuero ya tenía una acidez inicial de 10°D al aumentar el volumen aplicado al forraje para ensilar también aumentó la acidez del sistema. Por otro lado la interacción del volumen de lactosuero aplicado con el tiempo de incubación también afectó la acidez esto como consecuencia del desarrollo de la fermentación donde la dinámica poblacional de las BAL cambia de acuerdo a las condiciones que prevalecen en el ensilado y se incrementa la concentración de productos ácidos (Cai *et al.*, 1999; Weinberg y Ashbell, 2003). Ello explica que el grado de acidez más alto del ensilado haya sido a los 90 días de incubación adicionando 75 ml de lactosuero.

5.3 Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre el contenido de nitrógeno en el ensilado

Por otra parte, observamos que aunque no hay diferencia estadística entre los tratamientos si hubo un incremento ligero en el contenido de nitrógeno del ensilado por la adición de lactosuero, observable hasta los 90 días de incubación; naturalmente esto es porque el lactosuero contiene cierta cantidad de nitrógeno como parte de las proteínas lácteas. Cabe mencionar que el nitrógeno es una variable importante en el manejo de alimentos para animales, pues cerca del 25 al 30% de N consumido por las vacas en forma de proteína bruta es transferido a

la leche producida, reteniendo un mínimo porcentaje y el resto es excretado en las heces y la orina (Rotz *et al.*, 1999; Mitani *et al.*, 2005). Además de que el contenido de nitrógeno en el ensilado puede incrementarse por aditivos proteicos como en este caso; también tienen importancia las prácticas agrícolas de los cultivos para ensilar, tales como la fertilización (Cone *et al.*, 2005).

5.4 Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre el contenido de humedad en el ensilado

El contenido de humedad en el ensilado bajo las condiciones de este estudio se mantuvo en un rango adecuado que va del 70 al 79%, esto es importante porque afecta la cantidad de bacterias, la velocidad de fermentación y la pérdida de energía, debido a la respiración prolongada de la planta y a la fermentación por microorganismos como levaduras y mohos (Yahaya *et al.*, 2002; Weinberg y Ashbell 2003).

Además, el contenido de humedad adecuado del ensilado es importante para que la digestión en el rumen se desarrolle de manera eficiente, por la acción de los microorganismos del mismo, evitando que los rumiantes despidan mayor cantidad de gases (Calabro *et al.* 2005).

5.5 Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre el contenido de cenizas del ensilado

La cantidad de minerales presentes en el ensilado no sufrió cambios, esto se explica debido a que en la fermentación ácido láctica que se sucede no hay degradación ni síntesis de minerales, además el volumen de lactosuero aplicado no aportó una cantidad importante de ellos.

5.6 Efecto del volumen de lactosuero aplicado y del tiempo de incubación sobre la fibra detergente ácida del ensilado.

La fibra detergente ácida (FDA) es un factor importante en la digestibilidad de los forrajes y está asociada al nivel de almidón que existe en la planta. En estudios previos se ha observado que el contenido de FDA fluctúa con el tiempo de incubación y sugieren que esto se debe en gran medida a los patrones de fermentación microbiana y de los materiales ensilados (Suksombat y Lounglawan, 2004). También se sabe que los contenidos de FDA difieren según el tipo de cultivo ensilado por ejemplo en arroz van desde 46.8% hasta 60.2% (Takahashi *et al.*, 2005), y en planta entera de maíz de 31% hasta 41.9%.

VI CONCLUSIONES

La adición de lactosuero a la planta entera de maíz en niveles de 25, 50 y 75 ml/kg de forraje no modificó las características químicas del ensilado después de 120 días de incubación; sin embargo con la adición de 75 ml de lactosuero y 60 días de incubación se obtiene un material de buena calidad.

- El pH del ensilado fue óptimo a los 60 y 120 días de incubación.
- La acidez del ensilado se favoreció por la adición de 75 ml de lactosuero y un tiempo de incubación de 90 días.
- El contenido de nitrógeno y cenizas del ensilado no fue afectado por la adición de lactosuero ni por el tiempo de incubación, bajo las condiciones de este estudio.
- El nivel de humedad del ensilado alcanzó un rango óptimo cuando se aplicaron 50 ml de lactosuero y se incubó por 60 días.
- A los 60 y 120 días de incubación se obtuvo un ensilado con un contenido adecuado de fibra detergente ácida.

Prospectiva

La aplicación de lactosuero en los procesos de ensilaje de maíz es una alternativa viable para reutilizar éste.

Un estudio posterior a éste implicaría análisis de palatabilidad.

VII. LITERATURA CITADA

- Abdelhadi, L.O. y Santini, F.J. 2006. Corn silage *versus* grain sorghum silage as a supplement to growing steers grazing high quality pastures: effect on performance and ruminal fermentation. Animal Feed Science and Technology. 127:33-43.
- Adesogan, A.T., Salawu, M.B., Ross, A.B., Davies, D.R. y Brooks, A.E. 2003. Effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc mesenteroides* inoculants, or a chemical additive on the fermentation, aerobic stability, and nutritive value of crimped wheat grains. Journal of Dairy Science. 86:1789-1796.
- AOAC. 1997. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 11th Edition.
- Ashbell, G., Kipnis, T., Titterton, M., Hen, Y., Azrieli, A. y Weinberg, Z.G. 2001. Examination of a technology for silage making in plastic bags. Animal Feed Science and Tecnology. 91:213-222.
- Cai, Y., Benno, Y., Ogawa, M. y kumai, S. 1999. Effect of applying lactic acid bacteria isolated from forage crops on fermentation characteristics and aerobic deterioration of silage. Journal of Dairy Science. 82:520-526.
- Calabrò, S., Cutrignelli, M.I., Piccolo, G., Bovera, F., Zicarelli, F., Gazaneo, M.P. y Infascelli, F. 2005. *In vitro* fermentation kinetics of fresh and dried silage. Animal Feed Science and Tecnology. 123-124:129-137.
- Cherney, D.J.R., Cherney, J.H. y Cox, W.J. 2004. Fermentation characteristics of corn forage ensiled in mini-silos. Journal of Dairy Science. 87:4238-4246.

- Colombatto, D., Mould, F.L., Bhat, M.K., Phipps, R.H. y Owen, E. 2004a. *In vitro* evaluation of fibrolytic enzymes as additives for maize (*Zea mays* L.) silage I. effects of ensiling temperature, enzyme source and addition level. Animal Feed Science and Technology. 111:111-128.
- Colombatto, D., Mould, F.L., Bhat, M.K., Phipps, R.H. y Owen, E. 2004b. *In vitro* evaluation of fibrolytic enzymes as additives for maize (*Zea mays* L.) silage II. Effects on rate of acidification, fibre degradation during ensiling and rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology. 111:129-143.
- Cone, J. W., Van Gelder, A. H., Mathijssen-Kamman, A. A. y Hindle, V. A. 2005. Post-ruminal digestibility of crude protein from grass and grass silages in cows. Animal Feed Science and Technology. XXX.
- Di Marco, O.N., Aello, M.S., Nomdedeu, M. y Van Houtte, S. 2002. Effect of Maize crop maturity on silage chemical composition and digestibility (in vivo, in situ and in vitro). Animal Feed Science and Technology. 99:37-43.
- Ferreira, G. y Mertens, D.R. 2005. chemical and physical characteristics of corn silages and their effects on *in vitro* disappearance. Journal of Dairy Science. 88:4414-4425.
- Filya, I. 2003a. Nutritive value of whole crop wheat silage harvested at three stages of maturity. Animal Feed Science and Technology. 103:85-95.
- Filya, I. 2003b. The effect of *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria, on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of wheat, sorghum and maize silages. Journal of Applied Microbiology. 95:1080-1086.
- Filya, I. 2003b. The effect of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus plantarum* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal

- degradability of low dry matter corn and sorghum silages. Journal of Dairy Science. 86:3575-3581.
- González, G. y Rodríguez, A.A. 2003. Effect of storage method on fermentation characteristics, aerobic stability, and forage intake of tropical grasses ensiled in round bales. Journal of Dairy Science. 86:926-933.
- Holzter, M., Mayrhuber, E., Danner, H. y Braun R. 2003. The Role of *Lactobacillus buchneri* in forage preservation. Trends in Biotechnology. 21(6):282-287.
- Johnson, L., Harrison, J.H., Hunt, C., Shinnors, K., Doggett, C.G. y Sapienza, D. 1999. Nutritive value of corn silage as affected by maturity and mechanical processing: A contemporary review. Journal of Dairy Science. 82:2813-2825.
- Johnson, L. M., Harrison, J.H., Davidson, D., Mahanna, W. C., Shinnors, K. y Linders, D. 2001. Corn silage management: effects of maturity, inoculation, and mechanical processing on pack density and aerobic stability. Journal of Dairy Science. 85:434-444.
- Johnson, L. M., Harrison, J.H., Davidson, D., Mahanna, W. C. y Shinnors, K. 2002. Corn silage management: effects of hybrid, maturity, inoculation, and mechanical processing on fermentation characteristics. Journal of Dairy Science. 86:287-308.
- Keane, G.P. 2002. Agronomic factors affecting the yield and quality of forage maize in Ireland: effect of sowing date and plastic film treatment. Grass and Forage Science. 57:3-10.
- Keane, G.P., Kelly, J. Lordan, S. y Nelly, K. 2003. Agronomic factors affecting the yield and quality of forage maize in Ireland: effect of

- plastic film system and seeding rate. Grass and Forage Science. 58:362-371.
- Kozloski, G.V., Senger, C.C.D., Perottoni, J. y Bonnicarrère Sanchez, L.M. 2006. Evaluation of two methods for ammonia extraction and analysis in silage samples. Animal Feed Science and Technology. 127:336-342.
- Kung, L.Jr., Taylor, C.C., Lych, M.P. y Neylon, J.M. 2003. The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. Journal of Dairy Science. 86:336-343.
- Mills, J.A. y Kung, L. Jr. 2002. The effect of delayed ensiling and application of a propionic acid- based additive on the fermentation of barley silage. Journal of Dairy Science. 85:1969-1975.
- Miron, J., Solomon, R., Adin, G., Nir, U., Nikbachat, M., Yosef, E., Carmi, A. Weinberg, Z.G., Kipnis, T., Zuckerman, E. y Ben-Ghedalia, D. 2006. Effects of harvest stage and re-growth on yield, composition, ensilage and *in vitro* digestibility of new forage sorghum varieties. Journal of Science and Food Agricultural. 86:140-147.
- Mitani, T., Takahashi, M., Uedea, K., Nakatsuji, H., Kondo, S. y Okubo, M. 2005. Effects of supplementary corn silage on the feed intake and milk production of time-restricted grazing dairy cows. Animal Science Journal. 76:331-337.
- Moss, B.R., Reeves, D.W., Lin, J.C., Torbert, H.A., McElhenney, W.H., Mask, P. y Kezar, W. 2001. Yield and quality of three corn hybrids as affected by broiler litter fertilization and crop maturity. Animal Feed Science and Technology. 94:43-56.

- Mustafa, A.F., Seguin, P., Ouellet, D.R. y Adelye, I. 2002. Effects of cultivars on ensiling characteristics, chemical composition, and ruminal degradability of pea silage. Journal of Dairy Science. 85:3411-3419.
- Neylon, J.M. y Kung, L. Jr. 2003. Effects of cutting height and maturity on the nutritive value of corn silage for lactating cows. Journal of Dairy Science. 86:2163-2169.
- Ranjit, N. K. y Kung, L. Jr. 2000. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. Journal of Dairy Science. 83:526-535.
- Rotz, C.A., Satter, L.D., Mertens, D.R. y Muck, R.E. 1999. Feeding strategy, nitrogen cycling, and profitability of dairy farms. Journal of Dairy Science. 82:2841-2855.
- SSA. 1996. Norma oficial Mexicana NOM 091 SSA1-1994. Bienes y servicios, leche pasteurizada de vaca, disposiciones y especificaciones sanitarias. México D. F.: Secretaria de Salud.
- Slottner, D. y Bertilsson, J. 2006. Effect of ensiling technology on protein degradation during ensilage. Animal Feed Science and Technology. 127:101-111.
- Snell, H. G. J., Oberndorfer, C., Lücke, W. y Van den Weghe, H. F. A. 2002. Effects of the colour and thickness of polyethylene film on ensiling conditions and silage quality of chopped maize, as investigated under ambient conditions and in mini-silos. Grass and Forage Science. 57:342-350.

- Snell, H. G. J., Oberndorfer, C., Lücke, W. y Van den Weghe, H. F. A. 2003. Effects of polyethylene colour and thickness on grass silage quality. Grass and Forage Science. 58:239-248.
- Soita, H.W. Fehr, M., Christensen, D.A. y Mutsvangwa, T. 2005. Effects of corn silage particule length and forage:concentrate ratio on milk fatty acid composition in dairy cows fed supplemental flaxseed. Journal of Dairy Science. 88:2813-2819.
- Sottiez, P. 1993. "Subproductos derivados de la elaboración de los quesos" en Leche y Productos Lácteos, vaca-oveja-cabra. Vol 2. F.M. Luquet (ed). 287-319. Acribia.
- Spreer, E. 1991. "El Lactosuero y su aprovechamiento" en Lactología Industrial. 527-549. Acribia.
- Steidlová, Š. Kalac P. 2002. Levels of biogenic amines in maize silages. Animal Feed Science and Technology. 102:197–205.
- Suksombat, W. y Lounglawan, P. 2004. Silage from agricultural by-products in Thailand: processing and storage. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 17(4):473-478.
- Takahashi, T., Horiguchi, K. y Goto, M. 2005. Effect of crushing unhulled rice and the addition of fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria on the fermentation quality of whole crop rice silage, and its digestibility and rumen fermentation status in sheep. Animal Science Journal. 76:353-358.
- The SAS System. 1999. SAS institute, V.8.0.
- Vanhatalo, A., Varvikko, T. y Huhtanen, P. 2003. Effects of casein and glucose on responses of cows fed diets based on reproductively fermented grass silage. Journal of Dairy Science. 86:3260-3270.

- Weinberg, Z.G. y Ashbell, G. 2003. Engineering aspects of ensiling. Biochemical Engineering Journal. 13:181-188.
- Weinberg, Z.G., Ashbell, G. y Chen, Y. 2003. Stabilization of returned dairy products by ensiling with straw and molasses for animal feeding. Journal of Dairy Science. 86:1325-1329.
- Winters, A.L., Lloyd, J.D., Jones, R. y Merry, R.J. 2002. Evaluation of a rapid method for estimating free amino acids in silages. Animal Feed Science and Technology. 99:177-187.
- Yahaya, M.S., Kawai, M., Takahashi, J. y Matsuoka, S. 2002. The effect of different moisture contents at ensiling on silo degradation and digestibility of structural carbohydrates of orchardgrass. Animal Feed Science and Technology. 101:127-133.
- Yang, X., Chen, H., Gao, H. y Li, Z. 2001. Bioconversion of corn straw by coupling ensiling and solid-state fermentation. Bioresource Technology. 78(3):277-280.
- ZoBell, D.R., Olson, K.C., Wiedmeier, R.D., Sass, D., Shinnors, K.J. y McAllister, T.A. 2002. Effects of processed corn silage on its digestibility and production of growing beef replacement heifers. Animal Feed Science and Technology. 96:221-228

Cuadro 1. Análisis estadístico de las variables evaluadas durante el ensilado del maíz.

Fuente de variación	G.L.	pH		Acidez titulable		Nitrógeno		Humedad		Cenizas		Fibra detergente acida	
		Fc	Pr>F	Fc	Pr>F	Fc	Pr>F	Fc	Pr>F	Fc	Pr>F	Fc	Pr>F
Tratamientos	11	9.17	0.0001**	4.02	0.0021*	2.34	0.0397*	2.88	0.0147*	0.99	0.4825	3.61	0.0041*
Volumen de lactosuero (V)	3	1.41	0.2642	8.46	0.0005**	2.76	0.0642	3.85	0.0220*	0.26	0.8542	1.27	0.3058
Tiempo de incubación (T)	2	44.88	0.0001**	0.04	0.9615	1.62	0.2191	5.30	0.0124*	3.14	0.0614	12.09	0.0002**
V*T	6	1.14	0.3684	3.13	0.0206*	2.37	0.0612	1.58	0.1956	0.64	0.6994	1.95	0.1135
Error	24												
CME		0.0080		4.9444		0.0060		1.1049		0.0527		10.9008	
CV		2.4752		14.9347		29.0456		1.3480		9.7357		8.7933	
R ²		0.807775		0.6484		0.5173		0.5687		0.3119		0.6231	

Fc= F calculada. CME= cuadrado medio del error. CV= coeficiente de variación. * Significativo. ** Altamente significativo.

Cuadro 2. Separación de medias en función del volumen de lactosuero adicionado para la acidez y la humedad del ensilado de maíz (Tukey $p = 0.05$).

Factor de variación	Variable	
	Acidez	Humedad
Volumen		
75	18.11 ^a	78.73 ^a
50	14.00 ^b	77.22 ^b
25	13.89 ^b	78.35 ^{a,b}
0	13.56 ^b	77.59 ^{a,b}

Cuadro 3. Separación de medias en función del tiempo de incubación para el pH, la humedad y la fibra detergente ácida del ensilado de maíz (Tukey $p = 0.05$).

Factor de variación	Variable		
	pH	Humedad	Fibra detergente ácida
Tiempo			
120	3.57 ^a	78.06 ^{a,b}	39.55 ^a
90	3.83 ^b	78.63 ^a	33.72 ^b
60	3.50 ^a	77.24 ^b	39.37 ^a