

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Características fermentativas y nutricionales de mezclas ensiladas de subproductos de cervecería con melaza, melaza deshidratada y pulpa de cítricos peletizada como fuentes de carbohidratos no fibrosos¹

Carlos M. Campos-Granados^{2✉}, Augusto Rojas-Bourrillon³

RESUMEN

Se evaluó la inclusión de tres fuentes de carbohidratos no fibrosos (CNF) en mezclas ensiladas de subproductos de cervecería, como mejoradores del proceso fermentativo. Mediante la técnica de microsilos y utilizando un diseño irrestricto al azar se prepararon cuatro tratamientos con cinco repeticiones cada uno, para comparar las diferentes fuentes de carbohidratos no fibrosos. La inclusión de estas fuentes se definió para que cada una de ellas aportase un total de 2,8% de CNF de la materia seca, según las siguientes mezclas: a) subproducto de cervecería, b) subproducto de cervecería + 5,70% p/p de melaza de caña de azúcar deshidratada. c) subproducto de cervecería + 4,00% p/p de melaza de caña de azúcar, d) subproducto de cervecería + 4,91% p/p de pulpa de cítricos deshidratada. Después de 60 días de fermentación se evaluó las características organolépticas de los cuatro tratamientos y se obtuvo los mejores valores para el tratamiento con pulpa de cítricos peletizada ($p < 0,05$) con olores agradables, color ideal y textura firme y consistente, los cuales son indicativos de un adecuado proceso fermentativo. Se determinó también las características fermentativas de las cuatro mezclas y se obtuvo los mejores resultados para el tratamiento con pulpa de cítricos peletizada ($p < 0,05$), tanto para materia seca (23%), pH (4,20) y nitrógeno amoniacal (5,00% del total de nitrógeno), lo cual concuerda con los resultados obtenidos en la evaluación organoléptica como indicadores de un adecuado proceso fermentativo. Finalmente se evaluó la composición nutricional de los cuatro tratamientos y los mejores valores fueron obtenidos para el tratamiento con pulpa de cítricos peletizada ($p < 0,05$) para proteína cruda, componente fibroso, carbohidratos no fibrosos y fraccionamiento energético. Se concluye que la técnica de ensilaje puede ser utilizada para conservar las características de calidad e inocuidad del subproducto de cervecería y la utilización de pulpa de cítricos peletizada es la mejor opción para favorecer un adecuado proceso fermentativo.

Palabras clave: Ensilaje, calidad nutricional, características fermentativas, rumiantes

¹Proyecto de Investigación. 739-B4-064. Vicerrectoría de Investigación. Universidad de Costa Rica.

^{2✉}Universidad de Costa Rica. Escuela de Zootecnia y Centro de Investigación en Nutrición Animal. San José, Costa Rica. Autor para correspondencia: carlosmario.campos@ucr.ac.cr

³Universidad de Costa Rica. Escuela de Zootecnia y Centro de Investigación en Nutrición Animal. San José, Costa Rica. Correo electrónico: augusto.rojas@ucr.ac.cr

ABSTRACT

Fermentation and nutritional characteristics of ensiled mixtures of brewery byproducts with molasses, dehydrated molasses and pelleted citrus pulp as sources of non-fiber carbohydrates. The inclusion of three sources of non-fibrous carbohydrates (NFC) in silage mixtures of brewery by-products was evaluated as enhancers of the fermentation process. Using the microsilos technique and using an unrestricted random design, four treatments were prepared with five repetitions each, to compare the different sources of non-fibrous carbohydrates. The inclusion of these sources was defined so that each one of them contributed a total of 2.8% of NFC of the dry matter, according to the following mixtures: a) brewery by-product, b) brewery by-product + 5.70% w/w of dehydrated sugarcane molasses, c) brewery by-product + 4.00% w/w of sugarcane molasses, d) brewery by-product + 4.91% w/w dehydrated citrus pulp. After 60 days of fermentation, the organoleptic characteristics of the four treatments were evaluated and the best values were obtained for the treatment with pelleted citrus pulp ($p < 0.05$) with pleasant smells, ideal color and firm and consistent texture, which are indicative of an adequate fermentation process. The fermentative characteristics of the four mixtures were also determined and the best results were obtained for the treatment with pelleted citrus pulp ($p < 0.05$), both for dry matter (23%), pH (4.20) and ammoniacal nitrogen (5.00% of the total nitrogen), which concurs with the results obtained in the organoleptic evaluation as indicators of an adequate fermentation process. Finally, the nutritional composition of the four treatments was evaluated and the best values were obtained for the treatment with pelleted citrus pulp ($p < 0.05$) for crude protein, fibrous component, non-fibrous carbohydrates and energy fractionation. It is concluded that the silage technique can be used to preserve the characteristics of quality and harmlessness of the brewery byproduct and the use of pelleted citrus pulp is the best option to favor an adequate fermentation process.

Keywords: Silage, nutritional quality, fermentative characteristics, ruminants

INTRODUCCIÓN

A través de los años los sistemas de alimentación utilizados en Costa Rica por el sector pecuario se han desarrollado alrededor de la utilización de materias primas importadas desde otras latitudes, como por ejemplo el maíz y la soya que figuran como importantes componentes en las dietas de las principales especies productivas (Campos-Granados y Arce-Vega, 2016).

Esto se debe a la alta calidad nutricional de dichas materias primas que ha permitido buenos rendimientos productivos en las diferentes especies, al ser utilizadas dentro de los esquemas de alimentación (Castro, 2006).

A pesar de esto, los precios internacionales de las materias primas importadas como la soya y el maíz, han experimentado un incremento en los últimos años que compromete cada vez más la rentabilidad de las explotaciones dedicadas a la producción animal, así como acentuar esa dependencia a insumos externos, no solo a los sistemas productivos, sino al país (Campos-Granados y Arce-Vega, 2016).

Debido a lo anterior se dedica gran parte de los esfuerzos a la búsqueda de alternativas que permitan disminuir los costos de alimentación que figuran como el principal rubro dentro del esquema de costos de las fincas. Una de las principales acciones para abaratar costos de producción de las fincas ganaderas es mejorar la utilización de las pasturas invirtiendo en prácticas y tecnologías que permitan una mayor producción y eficiencia de uso del recurso forrajero disponible (Lazo-Salas et al., 2018).

No obstante, en muchos casos, el aporte de nutrimentos del pasto es insuficiente para cubrir los requerimientos nutricionales de animales con alto potencial productivo, por lo que es necesario la suplementación como parte de la dieta. Por esta razón, con miras a cubrir los requerimientos nutricionales de la manera más económica posible, se ha explorado la utilización de materiales que se obtienen como co-productos de procesos agroindustriales, permitiendo así de una manera económica cubrir los requerimientos nutricionales de los animales disminuyendo la dependencia de maíz y soya importados, al

mismo tiempo que se utiliza un material, que de otra forma sería un desecho con alto potencial contaminante (Elizondo-Salazar y Campos-Granados, 2014).

Como parte de esos co-productos que se generan en la industria alimentaria humana, el proceso de elaboración de cerveza genera diversos materiales que incluyen: el grano gastado, la levadura gastada y la mezcla de ambos que se denomina subproducto de cervecería (Alaniz-Villanueva, 2008).

El subproducto de cervecería es generado a partir del procesamiento del grano de cebada para la obtención del etanol, y este representa el mayor residuo generado por esta industria. Este subproducto tiene varios potenciales de uso, ya sea como materia prima para la producción de bioetanol, o como alimento para animales por su alto contenido de proteína cruda (aproximadamente 26%), gracias a la biomasa microbiana (principalmente levaduras) que se generan a través del proceso de hidrólisis de los carbohidratos que contiene (Alaniz-Villanueva, 2008).

Su utilización en alimentación animal se enfoca principalmente a dietas de ganado bovino lechero, con la consideración de que debe almacenarse en períodos cortos de tiempo (no más de 15 días), pues sus altos contenidos de humedad (aproximadamente 78%) y de nutrientes, lo hacen atractivo para los microorganismos descomponedores, principalmente hongos, los cuales generan micotoxinas, principalmente zearalenona y aflatoxina, con las consecuencias negativas que estas conllevan para la producción animal (Alaniz-Villanueva, 2008).

Dado el potencial de uso que tiene este subproducto dentro de los sistemas de producción de Costa Rica, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el proceso de ensilaje como método de conservación que permita eliminar los efectos adversos del mal almacenamiento del subproducto de cervecería, así como evaluar la inclusión de 3 fuentes de carbohidratos no fibrosos, como mejoradores del proceso fermentativo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El experimento se llevó a cabo durante los meses de julio y octubre de 2015 en el Centro de Investigación en Nutrición Animal de la Universidad de Costa Rica, ubicado en la Ciudad de la Investigación, Sabanilla de Montes de Oca, provincia de San José, Costa Rica.

Materiales utilizados

El subproducto de cervecería fresco fue recolectado en la planta de secado de subproductos agroindustriales Alimentos Saroba, ubicada en San José de Aguas Zarcas, San Carlos, provincia de Alajuela.

La melaza, la melaza deshidratada y la pulpa de cítricos peletizada (Cuadro 1) utilizadas como fuente de carbohidratos no fibrosos, fueron adquiridas en el almacén agroveterinario de Dos Pinos, ubicado en Vázquez de Coronado, provincia de San José.

Cuadro 1. Concentración de carbohidratos no fibrosos de las tres fuentes utilizadas en las mezclas ensiladas de subproductos de cervecería.

Ingrediente	Materia seca (%)	Carbohidratos no fibrosos (% de la materia seca)
Melaza de caña de azúcar	78%	70%
Melaza de caña de azúcar deshidratada	91%	49%
Pulpa de cítricos peletizada	90%	57%

Fuente: Laboratorio de Bromatología y Química del Centro de Investigación en Nutrición Animal.

Preparación de los ensilajes

Utilizando un diseño irrestricto al azar se prepararon cuatro tratamientos con cinco repeticiones cada uno, para comparar el efecto del uso de diferentes fuentes de carbohidratos no fibrosos en el ensilaje, los cuales se estandarizaron a una concentración de CNF de 2,8% de la materia seca, según las siguientes mezclas:

- ✓ Tratamiento 1: Control (SC): subproducto de cervecería.
- ✓ Tratamiento 2 (SC+MI): subproducto de cervecería + 5,70% p/p de melaza de caña de azúcar deshidratada.
- ✓ Tratamiento 3 (SC+ME): subproducto de cervecería + 4,00% p/p de melaza de caña de azúcar.
- ✓ Tratamiento 4 (SC+PCD): subproducto de cervecería + 4,91% p/p de pulpa de cítricos deshidratada.

Una vez definidos los tratamientos, se procedió a realizar las mezclas físicas antes propuestas, y se utilizó la técnica de microsilos de 2 kg en bolsas de polietileno como método de conservación. Se llevó a cabo una evaluación que se efectuó antes del proceso de fermentación para determinar la composición nutricional y características fermentativas de las mezclas, tomando una muestra compuesta por tratamiento. Posteriormente, a cada bolsa se le removió el oxígeno mediante la utilización de una aspiradora, con el fin de generar el ambiente anaeróbico para favorecer la fermentación de las bacterias.

Una vez removido el oxígeno, se procedió a cerrar las bolsas con ligas de hule y cinta tipo tape eléctrico, para evitar el ingreso de oxígeno y se procedió a almacenarlas en el Laboratorio de Anatomía y Fisiología Animal de la Facultad de Ciencias Agroalimentarias de la Universidad de Costa Rica con una temperatura promedio de 25°C y una humedad relativa promedio de 65%, con el fin de proteger las bolsas de los efectos adversos de la humedad y de la luz solar. Los silos estuvieron almacenados durante un período de 60 días.

Análisis de laboratorio

Una vez transcurridos los 60 días de fermentación se llevó a cabo una evaluación organoléptica que se efectuó inmediatamente luego de abrir las bolsas de ensilaje, mediante la adaptación de la metodología descrita por Betancourt et al., (2005), la cual considera los parámetros olor, color y textura, como determinantes de la calidad fermentativa del producto obtenido siguiendo la siguiente escala de medición:

Escala de olor:

4 = agradable, 3 = ligeramente olor a moho, 2 = moderado olor a moho, 1 = fuerte olor a moho, 0 = fétido

Escala de color:

4 = café claro, 3 = pardo, 2 = pardo oscuro, 1 = café oscuro, 0 = negro

Escala de textura:

4 = firme y consistente, 3 = consistente, 2 = medio, 1 = suave, 0 = mucílago

Donde:

4 = Excelente calidad

3 = Buena calidad

2 = Regular calidad

1 = Mala calidad

0 = Pésima calidad

Una vez terminada la evaluación organoléptica se procedió a tomar una muestra de cada uno de los microsilos (20) elaborados de acuerdo con los cuatro tratamientos propuestos para realizar análisis de laboratorio. Dichas muestras fueron ingresadas al Centro de Investigación en Nutrición Animal (CINA) para realizarles los siguientes análisis bromatológicos: materia seca (MS), proteína cruda (PC) (AOAC 2001,11), extracto etéreo (EE) (AOAC 920.39), cenizas (AOAC 942.05), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), lignina, digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMS) (Van Soest y Robertson, 1985), y nitrógeno ligado a la FDN y a la FDA (Licitra et al., 1996). Con esta información se procedió a calcular el contenido de carbohidratos no fibrosos (Eastridge, 1994), contenido de nutrientes digestibles totales por medio de las ecuaciones descritas por Weiss et al., (1992) y el fraccionamiento de la energía según las ecuaciones del NRC (2001). Además, se realizó una estimación de la degradabilidad de la materia seca y de la proteína cruda de los materiales ensilados utilizando las ecuaciones descritas por Yan y Agnew (2004).

En el caso de las variables fermentativas, el pH se determinó utilizando un medidor de pH con electrodo de hidrógeno, la capacidad buffer (CB) se determinó utilizando la metodología de McDonald y Henderson (1962) y el contenido de nitrógeno amoniacal fue analizado utilizando la metodología descrita por Tobía et al., (2004).

Análisis de la información

El análisis de la información se realizó a través de un análisis de varianza (ANOVA) utilizando el software estadístico InfoStat (Di Rienzo et al., 2016) de acuerdo con el siguiente modelo:

$$Y = \mu + \text{Trat}_i + e_{ij}$$

Donde:

μ : media de las variables analizadas.

Trat_i : efecto del i-ésimo tratamiento.

e_{ij} : error experimental.

La comparación entre medias de tratamientos, en caso de que dicho efecto resultase significativo ($p < 0,05$), se realizó a través de la prueba de Waller-Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características nutricionales y fermentativas previas al proceso de ensilaje (día 0)

Se evaluó las características fermentativas y el valor nutricional de las cuatro mezclas propuestas previo al proceso fermentativo, los resultados se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Composición nutricional y características fermentativas de los tratamientos experimentales previos al proceso de fermentación.

Nutriente	Tratamiento			
	SC	SC+MI	SC+ME	SC+PCD
Variables fermentativas				
pH (unidades de pH)	4,58	4,97	4,72	4,65
CB (mEq NaOH/100g MS)	19,60	21,20	22,10	22,00
Composición nutricional				
MS (%)	20,37	24,20	21,61	23,07
PC (%)	27,94	22,48	26,30	26,06
EE (%)	12,65	16,53	14,26	17,01
Cenizas (%)	4,17	21,97	5,19	4,46
FDN (%)	53,70	44,80	45,35	47,40
FDA (%)	21,20	18,80	18,90	20,70
Lignina (%)	2,90	2,20	2,70	2,70
DIVMS (%)	56,20	63,20	64,80	61,50
CNF (%)	6,45	7,84	14,35	14,60
NDT (%)	80,89	72,02	84,19	87,69
EM (Mcal/kg)	3,15	2,76	3,30	3,46
EN _i (Mcal/kg)	1,86	1,64	1,94	2,03

N: 5 repeticiones. SC: subproducto de cervecería. SC+MI: subproducto de cervecería + melaza deshidratada. SC+ME: subproducto de cervecería + melaza. SC+PCD: subproducto de cervecería + pulpa de cítricos deshidratada. CB: capacidad buffer. MS: materia seca. PC: proteína cruda. EE: extracto etéreo. FDN: fibra detergente neutro. FDA: fibra detergente ácido. DIVMS: digestibilidad in vitro de la materia seca. CNF: carbohidratos no fibrosos. NDT: nutrientes digestibles totales. EM: energía metabolizable. EN_i: energía neta de lactancia. ,

Con respecto a las características fermentativas, se observa en el Cuadro 2 que para los cuatro tratamientos propuestos el valor de capacidad buffer es favorable, si se considera valores excelentes aquellos menores a 150 mEq NaOH/100 g MS (Titterton y Bareeba, 2001). Esto a pesar de los altos contenidos de PC, los cuales normalmente se asocian con altas capacidades buffer, dado el potencial amortiguador de la proteína. Este

parámetro es muy importante, pues permite evaluar *a priori* si un material tiene un potencial interesante para ser fermentado de manera favorable durante el proceso de ensilaje, pues está directamente relacionado con la resistencia que este ofrece a la rápida disminución de pH, que se espera ocurra durante el proceso de ensilaje, con la intención de conservar el material y evitar la proliferación de microorganismos descomponedores (hongos y bacterias clostridiales), los cuales no sobreviven en condiciones de pH ácido (Ojeda, 1999).

En cuanto al contenido de materia seca, se observa que los materiales previos a la fermentación, presentan mayores contenidos para el tratamiento SC+MI y SC+PCD, esto debido a los aportes que estos dos materiales (minelaza (78% MS) y pulpa de cítricos deshidratada (87% MS)) brindan a la mezcla (Cuadro 2); no obstante los valores no llegan al mínimo esperado para poder ensilar correctamente un material, el cual debería estar por encima de 30% (Ojeda, 1999); esta situación es común que se presente en condiciones tropicales, dado que normalmente hay una alta humedad relativa en el ambiente, aunado a los bajos contenidos de materia seca de muchos de los materiales disponibles para ensilar, como es el caso del subproducto de cervecería (20,37%) (Elizondo-Salazar y Campos-Granados, 2014).

Respecto al contenido de nutrientes previo al proceso fermentativo, el contenido de EE es menor en el tratamiento SC respecto de los demás, y las cenizas son mayores en el tratamiento SC+MI, esto porque la minelaza contiene sales minerales dentro de su composición. En cuanto a la PC, esta es menor para el tratamiento SC+MI dado los bajos contenidos en este nutriente de la minelaza.

En cuanto a la fracción fibrosa, la FDN es mayor en el tratamiento SC, dado que la inclusión de las fuentes de carbohidratos tiende a diluir el contenido de esta fracción; los valores de FDA y lignina también son mayores en el tratamiento SC, pues el subproducto de cervecería todavía conserva en su composición gran parte de cáscaras y granos sin fermentar que realizan aportes importantes de fibra (Alaniz-Villanueva, 2008).

Con respecto a la DIVMS, esta es menor para el tratamiento SC con respecto a los demás, dado los bajos aportes de CNF (6,45%) producto de la fermentación de estos durante el proceso de elaboración de la cerveza (Alaniz-Villanueva, 2008); la digestibilidad

está asociada directamente con los contenidos de FDA y CNF, a mayor FDA menor DIVMS y a mayor CNF mayor DIVMS (Van Soest et al., 1991). Los contenidos de CNF son mayores para los tratamientos SC+ME y SC+PCD, por lo que los valores de NDT, EM y ENI, también son mayores en estos tratamientos (Cuadro 2).

Características organolépticas de las mezclas ensiladas luego de 60 días de fermentación

Una vez abiertos los silos, se procedió con la evaluación sensorial, cuyos resultados se muestran en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Evaluación sensorial de los ensilajes de subproducto de cervecería con diferentes fuentes de carbohidratos no fibrosos (CNF).

Tratamiento	Olor	Color	Textura
SC	2,4 ^a	1,0 ^a	2,2 ^a
SC+MI	2,9 ^a	1,2 ^a	4,0 ^b
SC+ME	4,0 ^b	3,2 ^b	3,2 ^a
SC+PCD	4,0 ^b	4,0 ^b	4,0 ^b

N: 5 repeticiones. SC: subproducto de cervecería. SC+MI: subproducto de cervecería + melaza deshidratada. SC+ME: subproducto de cervecería + melaza. SC+PCD: subproducto de cervecería + pulpa de cítricos deshidratada.

^{a,b}Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según la prueba de Waller-Duncan.

Al realizar el análisis de las pruebas organolépticas, se determinó que existían diferencias significativas entre tratamientos para todas las características evaluadas. Para el color, los ensilados presentaron una coloración desde café claro hacia café oscuro, relacionado a la inclusión de la fuente de carbohidratos no fibrosos, obteniendo el mejor color el tratamiento SC+PCD. Según lo que señala Betancourt et al., (2005), conforme la coloración del material ensilado se oscurece podría interpretarse que se disminuye la calidad fermentativa del mismo, no obstante, existe un efecto llamado “pardeamiento enzimático” en el que una alteración química aparece en productos vegetales que han

sido troceados o que han sufrido procesos fermentativos (Alaniz-Villanueva, 2008), y no siempre la formación de estos pigmentos se ha de considerar como un fenómeno químico indeseable.

En cuanto al olor, se logró percibir para los tratamientos SC+ME y SC+PCD, olores dulces, los cuales son propios de los procesos donde se formó ácido láctico, no obstante, pueden ser también obtenidos cuando se da fermentación alcohólica gracias al metabolismo de las levaduras (Driehuis y Van Wixselaar, 2000). Si se considera al color como indicativo de calidad fermentativa en conjunto con los buenos resultados de olor, estos dos tratamientos se consideran de buena calidad (Betancourt et al., 2005). Para los tratamientos SC y SC+MI, los olores que se percibieron eran más característicos a humedad y ligeramente a moho, esto podría ser propio de fermentaciones de mala calidad, donde se ha generado cierta concentración de ácido butírico el cual se produce cuando hay mayor actividad de bacterias clostridiales y generalmente se asocia a procesos fermentativos inadecuados (Titterton y Bareeba, 2001).

Finalmente, para la textura, los tratamientos SC+PCD y SC+MI obtuvieron los mejores valores para este rubro, con materiales firmes y consistentes, que no eran viscosos, ni se destruían al contacto, además se segregaban con facilidad; por lo tanto, se pueden considerar en cuanto a su textura como ensilajes de buena calidad (Betancourt et al., 2005). Para los tratamientos SC y SC+ME la textura se considera medianamente consistente, por lo que también se podría relacionar con procesos fermentativos inadecuados, dado que las bacterias degradadores tienden a desmejorar la textura y consistencia de los materiales en el proceso de ensilaje (Titterton y Bareeba, 2001).

Características fermentativas de las mezclas ensiladas luego de 60 días de fermentación

En el Cuadro 4 se presentan los valores obtenidos para las principales características que definen la calidad fermentativa de los tratamientos propuestos.

Cuadro 4. Características fermentativas de los ensilajes de subproducto de cervecería con diferentes fuentes de carbohidratos no fibrosos (CNF).

Tratamiento	Materia seca (%)	pH (unidades de pH)	Nitrógeno amoniacal (% del nitrógeno total)
SC	19,76 ^a	4,47 ^b	8,90 ^b
SC+MI	22,82 ^b	4,98 ^c	11,00 ^c
SC+ME	21,52 ^b	4,21 ^a	5,50 ^a
SC+PCD	22,25 ^b	4,23 ^a	5,00 ^a

N: 5 repeticiones. SC: subproducto de cervecería. SC+MI: subproducto de cervecería + melaza deshidratada. SC+ME: subproducto de cervecería + melaza. SC+PCD: subproducto de cervecería + pulpa de cítricos deshidratada.

^{a,b} Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según la prueba de Waller-Duncan.

Materia seca (MS): los contenidos de materia seca para todos los tratamientos son insuficientes con respecto al mínimo recomendado para un buen proceso fermentativo (30%) (Ojeda, 1999); es importante considerar que no se mejoraron los contenidos de MS durante el proceso fermentativo, pues los valores obtenidos son muy similares a los que se obtuvieron previo al proceso de fermentación (día 0). También se debe considerar que la técnica de microsilos no permite la suficiente pérdida de humedad al material, pues esta se realiza con una bolsa de polietileno que debe permanecer cerrada para evitar el ingreso de oxígeno y esto podría generar situaciones negativas al proceso, pues es bien sabido que los excesos de humedad estimulan la proliferación de bacterias que producen ácido butírico, lo cual eventualmente pudre el material y genera pérdidas (Ojeda, 1999). A pesar de que el muestreo se realiza con el mayor cuidado posible de no añadir humedad del fondo de la bolsa, en algunas ocasiones esta puede ser absorbida por el material una vez que es muestreado.

Un alto contenido de MS favorece la estabilización de la fermentación dentro del silo, y por ende reduce las pérdidas de nutrimentos por efluentes; también existe una correlación positiva entre este parámetro y el consumo del animal (Rojas-Bourrillon et al., 1998), por lo que en las condiciones de ensilajes en el trópico, se considera conveniente hacer uso

de materiales desecantes en los ensilados, tales como la heno, pollinaza, y otros subproductos de la agroindustria tales como semolina de arroz (Elizondo-Salazar y Campos-Granados, 2014).

pH: el valor más alto se obtuvo para el tratamiento SC+MI (4,98), lo que podría interpretarse como un valor indeseado para un adecuado proceso fermentativo, el cual debe ser menor a 4,00 (Ojeda, 1999). El pH es un indicativo de la calidad del proceso fermentativo, pues es la forma más sencilla de saber si las bacterias ácido-lácticas pudieron consumir una cantidad suficiente de carbohidratos no fibrosos para poder disminuir el pH y conservar el material (Titterton y Bareeba, 2001). El pH también se ve afectado por la presencia de cationes (Ojeda, 1999), en este caso la melaza de caña de azúcar deshidratada contiene dentro de su composición sales minerales, lo cual explica el alto valor de pH obtenido.

Un ensilado alto en humedad, como los obtenidos en este experimento, debe poseer un pH entre 4,00 y 4,20 para ser calificado de buena calidad (Moore y Peterson, 1995). Por lo tanto, si se considera solamente al pH indicador de calidad fermentativa, los ensilados de este experimento no son de buena calidad. Sin embargo, también se ha encontrado que niveles de pH muy bajos (por debajo de 3,5) se relacionan con disminuciones del consumo voluntario de materia seca (Soderlund, 1995).

Nitrógeno amoniacal (NH_3/NT): el contenido de nitrógeno amoniacal es mayor en el tratamiento SC+MI (Cuadro 3) con respecto a los demás. Ojeda et al., (1991) determinaron que, para considerar de excelente calidad un ensilado, este debe tener valores de nitrógeno amoniacal de menos del 7%; valores de hasta el 11% de NH_3/NT se califican como ensilados buenos, mientras que ensilados de mala calidad se relacionan con valores superiores al 15% de NH_3/NT . Por lo tanto, bajo este indicador, ninguna de las mezclas ensiladas es considerada de mala calidad y se consideran los tratamientos SC+ME y SC+PCD como ensilados de excelente calidad, mientras que los tratamientos SC y SC+MI se clasifican de buena calidad.

Los valores de nitrógeno amoniacal son un indicativo muy importante de la presencia de procesos proteolíticos, desaminación de las proteínas o la conversión de otros constituyentes nitrogenados a amoníaco, los cuales afectan negativamente el contenido de proteína verdadera en el ensilaje y por ende aumentan los contenidos de nitrógeno no

proteico, así como disminuyen considerablemente la palatabilidad del ensilaje (Ojeda et al., 1991).

Características nutricionales de las mezclas ensiladas luego de 60 días de fermentación

Los valores obtenidos de composición nutricional para los cuatro tratamientos propuestos se muestran en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Composición nutricional de los ensilajes de subproducto de cervecería con diferentes fuentes de CNF, luego de 60 días de fermentación.

Nutriente	Tratamiento			
	SC	SC+MI	SC+ME	SC+PCD
MS (%)	19,76 ^a	22,82 ^b	21,52 ^b	22,25 ^b
PC (%)	26,11 ^b	21,43 ^a	26,35 ^b	26,17 ^b
EE (%)	15,52 ^c	13,00 ^a	14,23 ^b	13,89 ^{ab}
Cenizas (%)	4,40 ^a	19,57 ^b	4,69 ^a	4,20 ^a
FDN (%)	50,30 ^c	40,72 ^a	43,02 ^b	43,78 ^b
FDA (%)	22,86 ^b	18,88 ^a	19,18 ^a	19,96 ^a
Lignina (%)	3,56 ^b	2,52 ^a	3,34 ^b	3,26 ^b
DIVMS (%)	48,92 ^a	61,50 ^c	57,84 ^b	59,14 ^{bc}
CNF (%)	5,35 ^a	6,62 ^a	13,50 ^b	13,58 ^b
NDT (%)	83,98 ^b	70,71 ^a	84,83 ^b	84,48 ^b
EM (Mcal/kg)	3,29 ^b	2,70 ^a	3,33 ^b	3,31 ^b
ENI (Mcal/kg)	1,94 ^b	1,61 ^a	1,96 ^b	1,95 ^b

N: 5 repeticiones. SC: subproducto de cervecería. SC+MI: subproducto de cervecería + melaza deshidratada. SC+ME: subproducto de cervecería + melaza. SC+PCD: subproducto de cervecería + pulpa de cítricos deshidratada. MS: materia seca. PC: proteína cruda. EE: extracto etéreo. FDN: fibra detergente neutro. FDA: fibra detergente ácido. DIVMS: digestibilidad in vitro de la materia seca. CNF: carbohidratos no fibrosos. NDT: nutrientes digestibles totales. EM: energía metabolizable. ENI: energía neta de lactancia.

^{a,b} Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según la prueba de Waller-Duncan.

Proteína cruda (PC%): el valor más bajo de esta fracción se obtuvo en el tratamiento SC+MI, lo que coincide con lo que se observó previo al proceso fermentativo (día 0), esto asociado a los bajos valores de PC de la melaza de caña de azúcar deshidratada, y también a la posible desnaturalización de las proteínas causada por las sales presentes en este material. Los contenidos para todos los tratamientos son mayores a los que Milford y Minson (1965) sugieren como mínimos para asegurar salud ruminal (7% de PC), por lo que suministrar estos ensilajes puede contribuir a elevar la concentración proteica de dietas con forrajes deficientes en esta fracción, especialmente forrajes de zona baja y cosechados a edades inadecuadas. Estos bajos aportes de PC pueden asociarse a bajos consumos, y por tanto un ambiente ruminal limitante para el desarrollo de las bacterias, lo que disminuiría la tasa de digestión de la fibra y la tasa de pasaje ruminal. En consecuencia, se reduce el consumo de MS, la ganancia de peso y el rendimiento de los animales (Del Curto et al., 2000).

Por otro lado, altas concentraciones de PC en dietas de ganado bovino, puede generar nitrógeno ureico alto en sangre y con esto las consecuencias negativas a nivel reproductivo (capacitación espermática e implantación del embrión) y productivo (costo ureico) por su eliminación del organismo (Pardo et al., 2008).

Cenizas: se observa una diferencia significativa ($p < 0,05$) para el contenido de cenizas, obteniéndose el valor más alto para el tratamiento SC+MI, esto se asocia al contenido de sal y fuentes minerales de la melaza. Altas concentraciones de cenizas (por encima del 10%) en las dietas del ganado bovino disminuyen el consumo de materia seca y afectan negativamente al contenido de nutrientes digestibles totales, y por ende al contenido energético de las mismas (Weiss et al., 1992), lo que puede impactar negativamente la producción de los animales.

Extracto etéreo: el contenido de EE es significativamente mayor ($p < 0,05$) en el tratamiento SC, respecto a los demás tratamientos, lo que se asocia al contenido propio de grasa del subproducto de cervecería, el cual tiende a diluirse al añadir las fuentes de CNF, las cuales son bajas en esta fracción. Considerando el valor máximo en la materia seca total sugerido por Palmquist (1986) para dietas de rumiantes de un 7% de extracto etéreo, se puede inferir de los resultados de la presente investigación que hay un alto riesgo de toxicidad sobre los microorganismos ruminales si se utilizaran estas mezclas en exceso dentro de los programas de alimentación.

Componentes de la fibra: los contenidos de FDN, FDA y lignina son significativamente ($p < 0,05$) mayores para el tratamiento SC con respecto a los demás tratamientos. Este comportamiento puede asociarse a la dilución que se genera por la inclusión de las diferentes fuentes de CNF, los cuales son menores en el contenido de fracciones de la fibra. Alaniz-Villanueva (2008) sugiere también que las bacterias podrían estar hidrolizando parcialmente la fibra dentro del proceso de ensilaje.

Digestibilidad in vitro de la materia seca: el valor de digestibilidad para el tratamiento SC es significativamente ($p < 0,05$) menor respecto de los demás tratamientos, asociado a los mayores contenidos de FDA y lignina, los cuales están relacionados inversamente proporcional con la digestibilidad del material y por ende disminuyen el potencial de consumo de los mismos (Van Soest et al., 1991).

Valores altos de DIVMS, han sido asociados con la capacidad de los rumiantes para mantener niveles adecuados de producción, pues se considera un indicativo de la capacidad de un alimento para aportar nutrientes a la flora ruminal (Preston y Leng, 1990).

Carbohidratos no fibrosos: esta fracción es significativamente ($p < 0,05$) mayor en los tratamientos SC+ME y SC+PCD, lo que era de esperarse dado el alto contenido (40-55%) de esta fracción en ambos materiales.

Valores de CNF ideales en la ración total del ganado lechero deben estar entre 30 y 40% (Chase y Sniffen, 1991), por lo que los valores obtenidos en este experimento distan de estos.

Fraccionamiento energético: los valores de NDT, EM y ENI son significativamente ($p < 0,05$) mayores en los tratamientos SC+ME y SC+PCD, asociados al alto contenido de estos en la fracción de CNF, los cuales tienen gran impacto sobre el potencial energético de los materiales que consumen los rumiantes (Weiss et al., 1992).

Los valores obtenidos para todos los tratamientos son superiores a los reportados para todos los forrajes de uso común en los sistemas de producción costarricenses (50-65%) (Campos-Granados y Rojas-Bourrillon, 2015; Campos-Granados y Rojas-Bourrillon, 2016;

Campos-Granados y Rojas-Bourrillon, 2017), por lo que su inclusión dentro de los programas de alimentación de rumiantes, representan una oportunidad para mejorar las concentraciones energéticas de las dietas y poder compensar las deficiencias en este componente de los forrajes de zonas tropicales.

Degradabilidad de la MS y de la PC: con base en las ecuaciones establecidas por Yan y Agnew (2004), la tasa de degradación estimada de la proteína fluctuó entre 58,17% y 82,99% y la de la materia seca entre 24,65% y 53,00% (Cuadro 6). Esta mejora, en el aprovechamiento de la proteína cruda, permite potenciar el uso de esta alternativa en programas de alimentación de rumiantes. Estos autores, también señalan que la degradabilidad de la proteína a una tasa de pasaje de 0,02/h (consumo 1x) en un ensilaje aumenta conforme la concentración de proteína en el material aumenta.

Cuadro 6. Estimación de la degradabilidad de la proteína y la materia seca, de acuerdo con la tasa de pasaje de los ensilajes de subproducto de cervecería con diferentes fuentes de CNF, luego de 60 días de fermentación.

Tasa de pasaje (%/h)	Degradabilidad de la PC (%)		Degradabilidad de la MS (%)	
	0,02	0,08	0,02	0,08
SC	82,24 ^b	70,77 ^b	53,00 ^b	30,44 ^b
SC+MI	67,60 ^a	58,17 ^a	42,93 ^a	24,65 ^a
SC+ME	82,99 ^b	71,42 ^b	45,35 ^a	26,04 ^a
SC+PCD	82,43 ^b	70,93 ^b	46,15 ^a	26,50 ^a

N: 5 repeticiones. SC: subproducto de cervecería. SC+MI: subproducto de cervecería + melaza deshidratada. SC+ME: subproducto de cervecería + melaza. SC+PCD: subproducto de cervecería + pulpa de cítricos deshidratada.

^{a,b} Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) según la prueba de Waller-Duncan.

CONSIDERACIONES FINALES

Los subproductos de cervecería representan una alternativa de uso interesante para mejorar la calidad de las dietas de los sistemas de producción en Costa Rica.

La principal limitante de su uso es el almacenamiento, dado el potencial de este material para ser descompuesto por los microorganismos, entre los cuales los hongos son los más importantes, por su capacidad de producir micotoxinas.

Este trabajo permite concluir que los subproductos de cervecería pueden ser ensilados, y con esto disminuir el efecto negativo que el mal almacenamiento pueda provocar sobre la calidad e inocuidad de este material.

Se concluye también que la adición de melaza y pulpa de cítricos peletizada como fuente de carbohidratos no fibrosos, mejoran sustancialmente la calidad fermentativa y nutricional del ensilaje del subproducto de cervecería.

Resulta importante continuar la investigación mediante pruebas de campo con animales para determinar los niveles más recomendados de consumo sin afectar la producción de los animales.

LITERATURA CITADA

Alaniz-Villanueva, O. 2008. Adición de residuo de la industria cervecera al ensilaje de maíz como alternativa de forraje para ganado. Tesis para optar por el grado de Maestro en Ciencias en Gestión Ambiental. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango. 48p.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1991. Methods of analysis. Washington D.C.

Betancourt, M., I. González, M. Martínez. 2005. Evaluación de la calidad de los ensilajes. Revista Digital CENIAP HOY. 8:1-5.

- Campos-Granados, C.M., J. Arce-Vega. 2016. Sustitutos de maíz utilizados en la alimentación animal en Costa Rica. *Nutrición Animal Tropical*. 10(2): 91-113.
- Campos-Granados, C.M., A. Rojas-Bourrillon, A. Martínez-Machado. 2015. Digestibilidad in vitro de la fibra detergente neutro de 9 forrajes de piso utilizados en lecherías de altura y de bajura en Costa Rica. *Memorias Congreso Nacional Lechero*. p. 3.
- Campos-Granados, C.M., A. Rojas-Bourrillon, A. Martínez-Machado. 2016. Digestibilidad in vitro de la fibra detergente neutro de 8 forrajes de corte utilizados en lecherías de altura y de bajura en Costa Rica. *Memorias Congreso Nacional Lechero*. p. 3.
- Campos-Granados, C.M., A. Rojas-Bourrillon, A. Martínez-Machado. 2017. Calidad de la fibra y su impacto sobre el contenido energético de forrajes. *Memorias Congreso Nacional Forrajero*. p. 8.
- Castro, M. 2006. Composición nutricional de materias primas utilizadas en la alimentación animal en Costa Rica: Un estudio preliminar para la elaboración de la tabla de composición de alimentos para animales de Costa Rica. Tesis para optar por el título de Licenciatura en Ingeniería Agronómica con énfasis en Zootecnia, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. p. 161.
- Chase, L., C. Sniffen. 1991. Balancing dairy rations to optimize rumen fermentation and milk production. In: *Professional Dairy Management Seminar*. Dubuque, USA. p. 5.
- Del Curto, T., B. Hess, J. Huston, K. Olson. 2000. Optimum supplementation strategies for beef cattle consuming low-quality roughages in the western United States. *Journal of Animal Science*, 77: 1-16.
- Di Rienzo, J., F. Casanoves, I. Balzarín, L. González, M. Tablada, C. Robledo. 2016. *InfoStat*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible en <http://www.infostat.com.ar>

Driehuis, F., Y. Van Wikselarr. 2000. The occurrence and prevention of ethanol fermentation in high dry matter grass silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80(6): 711 – 718.

Eastridge, M. 1994. Influence of fiber intake on animal health and productivity. *Tri-State Dairy Nutrition Conference*. p. 45.

Elizondo-Salazar, J., C. Campos-Granados. 2014. Características nutricionales de la cáscara de piña ensilada con cantidades crecientes de urea y heno. *Nutrición Animal Tropical*. 8(2): 51-71.

Lazo-Salas, G., A. Rojas-Bourrillon, C. Campos-Granados, C. Zumbado-Ramírez, M. López-Herrera. 2018. Caracterización fermentativa y nutricional de mezclas ensiladas de corona de piña con guineo cuadrado Musa (ABB) I. Parámetros fermentativos, análisis bromatológico y digestibilidad in vitro. *Nutrición Animal Tropical*. 12(1): 59-79.

Licitra, G., T.M. Hernández, P.J. Van Soest. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 57: 347-358.

McDonald, P., A.R. Henderson. 1962. Buffering capacities of herbage samples as factor of silage. *Journal of Science Food and Agriculture*. 13: 395-400.

Milford, R., D. Minson. 1965. Intake of tropical pasture species. In *Proceedings 9th International Grassland Congress, Sao Paulo, Brasil*. p. 815-822.

Moore, K., M. Peterson. 1995. Post-Harvest physiology and preservation of forages. *Crop Science Society of America Inc. Special publication N° 22. Wisconsin, USA*. p. 91-107.

NRC (National Research Council). 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th ed. National Academy Press. Washington DC. p. 408.

- Ojeda, F. 1999. La conservación como ensilaje en zonas tropicales. Estación Experimental de pastos y forrajes Indio Huatey. Matanzas, Cuba. p. 1-35.
- Ojeda, F., O. Cáceres, M. Eperance. 1991. Conservación de Forrajes. Editorial Pueblo y Educación. p. 80.
- Palmquist, D. 1986. Fat supplements for lactating cows. Ohio Dairy Day. The Ohio State University. Wooster, USA. p.18.
- Pardo, O., J.E. Carulla, H. Dieter-Hess. 2008. Efecto de la relación proteína y energía sobre los niveles de amonio ruminal y nitrógeno ureico en sangre y leche, de vacas doble propósito del piedemonte llanero, Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. Vol. 21(3): 387-397.
- Preston, T., R. Leng. 1990. Ajustando los sistemas de producción pecuaria a los recursos disponibles: Aspectos básicos y aplicados del nuevo enfoque sobre la nutrición en el trópico. Círculo de Impresores Ltda. Cali, Colombia. p. 312.
- Rojas-Bourrillon, A, H. Ugalde, D. Aguirre. 1998. Efecto de la adición del fruto de pejibaye (*Bactris gasipaes*), sobre las características nutricionales del pasto gigante (*Pennisetum purpureum*). Agronomía Costarricense. Costa Rica. 22(2): 145-151.
- Soderlund, S. 1995. Effect of moisture level and fermentation components of ensiled feedstuffs on voluntary dry matter intake. Okla. Agric. Exp. Sta. Misc. Publ. P-942:264.
- Titterton, M., F. Bareeba. 2001. Ensilaje de gramíneas y leguminosas en los Trópicos, pp. 53-56. In: L. Mannerje (eds). Uso del ensilaje en el trópico privilegiando opciones para pequeños campesinos. Serie Estudios FAO. Producción y protección vegetal. 161. FAO, Roma. p.189.
- Tobía, C., A. Rojas, E. Villalobos, H. Soto, L. Uribe. 2004. Sustitución parcial del alimento balanceado por ensilaje de soya y su efecto en la producción y calidad de la leche

de vaca, en el trópico húmedo de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. 28(2): 27-35.

Van Soest, P.J., J. Robertson. 1985. Analysis of forages and fibrous foods. Lab Manual for Animal Science 613. Dept. Animal Sci. Cornell University. Ithaca, New York. USA.

Van-Soest, P.J., J.B. Robetson, B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.

Weiss, W., H. Conrad, N. Pierre. 1992. A theoretically-based model for predicting total digestible nutrient values of forages and concentrates. *Animal Feed Science and Technology*. 39 (1-2): 95–110.

Yan, T., R.E. Agnew. 2004. Prediction of nutritive values in grass silages: II. Degradability of nitrogen and dry matter using digestibility, chemical composition and fermentation data. *J. An. Sci.* 82: 1367–1379.