

## EVALUACIÓN DE LA PRODUCCION DE METABOLITOS EN EL PROCESO DE ENSILAJE A PARTIR DE BAGAZO DE CAÑA DE AZUCAR (*Saccharum officinarum*)

### EVALUATION OF PRODUCTION OF METABOLITES IN THE PROCESS OF SILAGE FROM SUGAR CANE BAGASSE (*Saccharum officinarum*)

Andrea Carolina Monroy Suárez<sup>1</sup>, Catalina Arroyave Quiceno<sup>2</sup>, Nathalia Botero Orrego<sup>3</sup>, David Rodas Flórez<sup>4</sup>, Carlos Alberto Peláez Jaramillo<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Antioquia (UdeA). Docente de la Universidad de Antioquia. Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares (GIEM), Calle 67 # 53 – 108 Bloque 2-230 Medellín, Antioquia. E-mail: carolina.monroy@udea.edu.co.

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Barcelona. Docente de la Universidad de Medellín. Medellín, Antioquia. E-mail: catyqa@gmail.com

<sup>3</sup> Universidad de Antioquia (UdeA). Investigadora. Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares (GIEM). Calle 67 # 53 – 108 Bloque 2-230 Medellín, Antioquia. E-mail: nathalia.botero@udea.edu.co

<sup>4</sup> Universidad de Antioquia. Auxiliar de laboratorio. Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares (GIEM). Calle 67 # 53 – 108 Bloque 2-230 Medellín, Antioquia. E-mail: david.rodas@udea.edu.co

<sup>5</sup> Instituto Químico de Sarria (IQS). Docente Universidad de Antioquia (UdeA). Director del Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares (GIEM), Inst. De Química, Calle 67 # 53 – 108 Bloque 2-230, Medellín, Antioquia, E-mail: carlos.pelaez@udea.edu.co.com

Recibido: Octubre 15 de 2016

Aceptado: Noviembre 10 de 2016

\*Correspondencia del autor: Andrea Carolina Monroy Suárez, Calle 67 # 53 – 108 Bloque 2-230 Medellín, Antioquia. E-mail: carolina.monroy@udea.edu.co

#### RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar los productos finales del metabolismo producidos en el proceso de ensilaje a partir de bagazo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). Se preparó un silaje de bagazo de caña fresco y otro silaje bagazo de caña fresco y aditivos (melaza y gallinaza), evaluados durante 5 tiempos de fermentación (1, 3, 7, 14 y 21 días). Durante los días de fermentación se evaluaron las siguientes variables: pH, temperatura, humedad, materia seca, cenizas, proteína, extracto etéreo y poder calorífico. Al final del proceso se evaluó el porcentaje de fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA). Los resultados obtenidos muestran que la temperatura máxima que se registró al inicio fue de 22,7 °C y se estabilizó a los 21,9°C a través del tiempo, el valor más bajo de pH registrado fue el de ensilaje de bagazo de caña con aditivos durante el día de fermentación 14 (3,40), el ensilaje sin aditivos en el tiempo de fermentación 1 presentó el porcentaje de proteína más alto (0,897%). Durante el tiempo de fermentación 14 se registró el mayor contenido de FDN (71,64%) para el ensilaje sin aditivos y el mayor contenido de FDA (41,86%). En la evaluación organoléptica se realizó un análisis mediante estadística descriptiva donde se evidenció que todos los ensilajes presentaron características aceptables dentro de los parámetros de calidad en las características de color, olor y textura.

**Palabras claves:** Metabolitos, caña de azúcar, *Saccharum officinarum*

**ABSTRACT**

The objective of this research was to evaluate the metabolic end produced in the process of silage from sugar cane bagasse (*Saccharum officinarum*). Was prepared Silage fresh cane bagasse and one with fresh cane bagasse and additives (molasses and poultry), evaluated for 5 days of fermentation (1, 3, 7, 14 and 21 days). During the days of fermentation the following variables were evaluated: pH, temperature, humidity, dry matter, ash, protein, ether extract and calorific value. At the end of the process the percentage of neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) was evaluated. The results show that the maximum temperature was 22.7 ° C and stabilized at 21.9 ° C over time, the lowest pH value recorded of silage bagasse with additives during fermentation day 14 (3.40), without additives in silage fermentation time 1 had the highest percentage of protein (0.897%). During the fermentation time 14 largest NDF (71.64%) for silage without additives and the highest content of FDA (41.86%) was recorded. In sensory evaluation analysis using descriptive statistics where it was shown that all silages showed acceptable characteristics within the quality parameters on the characteristics of color, odor and texture was performed.

**Keywords:** Metabolites, sugar cane, *Saccharum officinarum*

**INTRODUCCIÓN**

El ensilaje es un método de conservación de forrajes frescos u otros alimentos con alto contenido de humedad, empleando reservorios denominados silos, en ausencia de aire, luz y humedad exterior; es utilizado para alimentar a rumiantes (1). Este sistema es un método menos demandante en maquinaria e infraestructura y menos dependiente de las condiciones climáticas, reduciendo los costos de producción, por lo que se emplea más comúnmente en las actuales explotaciones bovinas. Con este sistema, se obtiene un alimento de aceptable a buena calidad nutricional empleando una mezcla de alimentos ricos en carbohidratos fermentables junto con un substrato proteico no fermentable.

El ensilaje es la forma de preservación de forrajes para la producción ganadera, más común en el mundo y es bien establecido que las bacterias ácido lácticas (BAL) juegan un papel importante en la buena fermentación del silo, por lo que la flora epífita con la que cuente el forraje al momento de ser ensilado influirá fuertemente en la calidad del producto final, especialmente cuando no se utilizan aditivos bacterianos en la preparación del silo (2) ya que en general su concentración inicial es baja con respecto a otros tipos de microorganismos, pero siempre y cuando se ofrezcan las condiciones necesarias para su desarrollo (fuente de energía disponible, temperatura, humedad y anaerobiosis).

Es importante buscar nuevas alternativas alimenticias que garanticen la producción permanente y la renta-

bilidad, así como, sistemas de conservación eficientes para la seguridad alimentaria del ganado para mantener niveles estables de producción sin importar las épocas del año. Por lo que es necesario desarrollar un alimento sostenible y con buenas cualidades nutricionales y económicamente viables. Uno de los procesos por el cual es aprovechado en procesos de ensilaje, dado su volumen puede llegar a reemplazar en buena medida fuentes alimenticias costosas como los concentrados y los suplementos. Una alternativa es emplear residuos agroindustriales como lo es el bagazo de caña de azúcar en la producción de ensilaje a partir de material lignocelulósico, este proceso requiere de cinco fases: fase aeróbica, fase de inicio de la acidificación, fase de fermentación, fase estable y fase de deterioro aeróbico (3). Cada una de estas etapas involucra un gran desafío, puesto que todas deben funcionar adecuadamente para obtener los mejores rendimientos, permitiendo que el proceso sea económicamente viable. No obstante este material es más barato ya que es considerado un desecho y presenta la ventaja de no afectar la producción de alimentos.

El objetivo de esta investigación fue evaluar los productos finales del metabolismo producidos en el proceso de ensilaje a partir de bagazo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*).

**MATERIALES Y MÉTODOS****Materias primas y ensilaje**

La materia prima utilizada para la formulación del ensilaje, corresponde al residuo agroindustrial de la caña de

azúcar: bagazo de caña de azúcar y aditivos.

Aditivos: melaza como fuente de carbohidratos solubles (23%) y gallinaza (2%) como fuente de nitrógeno.

### Fabricación y construcción de silos

Se utilizaron tubos de PVC, pintados de negro, con capacidad de 0,5 kg, los cuales se llenaron por capas intercaladas, compactando el material con un rodillo compactador. Después de llenados los recipientes se sellaron herméticamente y se identificaron según el tratamiento. Por último se pusieron al azar en una superficie a temperatura ambiente con un mínimo contacto de la luz solar (4,5).

### Análisis del valor nutritivo del silaje

Durante esta fase se desarrolló la valoración organoléptica al momento de la apertura de los silos durante los

días de fermentación del ensilaje (1, 3, 7, 14 y 21 días). Los días de fermentación del proceso de ensilaje (respiración y fermentación) se realizó alrededor de 21 días, tiempo necesario para la transformación de todo el azúcar en ácido láctico (Schroeder JW.2004.) Para la valoración organoléptica se tuvieron en cuenta variables como color, olor, estado de madurez y textura (Tabla 1) La caracterización fisicoquímica del ensilado se desarrolló teniendo en cuenta, los siguientes parámetros: humedad (6), materia seca (gravimetría), proteína bruta (6), extracto etéreo (6), cenizas (6), fibra neutro detergente (7), fibra ácido detergente (7) y ácidos orgánicos volátiles: acético, propiónico, láctico y butírico (8).

Finalizado el proceso, se analizará la producción de gas carbónico (9).

**Tabla 1.** Criterios para la valoración organoléptica de los ensilajes (10)

Parámetro organoléptico	Fermentación láctica	Calentado	Fermentación butírica	Fermentación pútrida	Mohoso
Color	Amarillo –verdoso	Marrón	Verde oscuro a pardo	Verde oscuro a negro	Manchas blancas
Olor	Agradable – picante	Caramelo atabacado	Desagradable no picante	Repulsivo	Rancio no picante
Textura	Firme compacto	Floja	Blando viscoso	Blando gelatinoso	Floja gelatinosa
pH	3,5 – 4	Variable	> 4,5	> 5	> 5
Aceptabilidad	Buena	Buena	Muy baja	Rechazo	Rechazo
Valor nutritivo	Alto	Bajo	Regular	Muy bajo, tóxico	Muy bajo, tóxico

**Tabla 2.** Composición de los silos

Ingrediente	Silos	
	Silaje 1	Silaje 2
<b>Bagazo de caña fresco</b>	100 %	75%
<b>Melaza</b>	0 %	23 %
<b>Gallinaza</b>	0 %	2 %

### Análisis microbiológico del silaje

Durante esta etapa se realizó un análisis de sucesión microbiana durante el proceso, donde se tuvo presente el recuento de microorganismos por el método de recuento en placa por siembra en profundidad (standart plate count) (11) y cinética de crecimiento. Se tomaron tres muestras de cada tratamiento en cada período de evaluación (1, 3, 7, 14 y 21 días de ensilaje) para determinar las concentraciones de bacterias ácido lácticas, ácido acéticas, enterobacterias, clostridios, mesófilos, mohos y levaduras. Los cuales son los grupos más comúnmente aislados de ensilajes y los más representativos en el proceso fermentativo (4,12)

### Cuantificación y análisis de la producción de metabolitos secundarios

La concentración de ácidos orgánicos volátiles (ácido láctico, ácido acético, ácido butírico y ácido propiónico) producidos por los microorganismos asociados a cada fase del proceso de ensilaje de bagazo de caña de azúcar, se determinará por cromatografía de gases para cada día de evaluación (8). Se tomaran 20 g de material fresco y se colocan en un matraz, se adicionan 20 ml de ácido metafosfórico al 25% peso/volumen y 80 ml de agua destilada, se agita y se guarda en refrigeración a 4°C durante dos días haciendo agitaciones cada día.

### Diseño experimental

Para la presentación e interpretación de resultados, se utilizaron las medidas estadísticas como la media aritmética, desviación estándar, coeficiente de variación, porcentaje de variación y presentaciones gráficas.

Por consiguiente, para la discusión de resultados obtenidos a lo largo del proyecto, se utilizó la prueba de Tukey para la comparación de medias para establecer cuál era el efecto de los aditivos en los tratamientos durante los días de la fermentación anaerobia. Adicionalmente, estos datos se tabularon mediante el programa estadístico R versión 3.2.2 para observar la dispersión de los datos y así verificar la confiabilidad del estudio.

El efecto de la melaza y la gallinaza como aditivos se evaluó mediante un diseño factorial (2x5); los tratamientos fueron silaje 1 (bagazo de caña fresco) y silaje 2 (bagazo de caña fresco + melaza + gallinaza) durante un tiempo de fermentación de 1, 3, 7, 14 y 21 días.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Influencia de la gallinaza y la melaza como aditivos en la calidad del silaje.

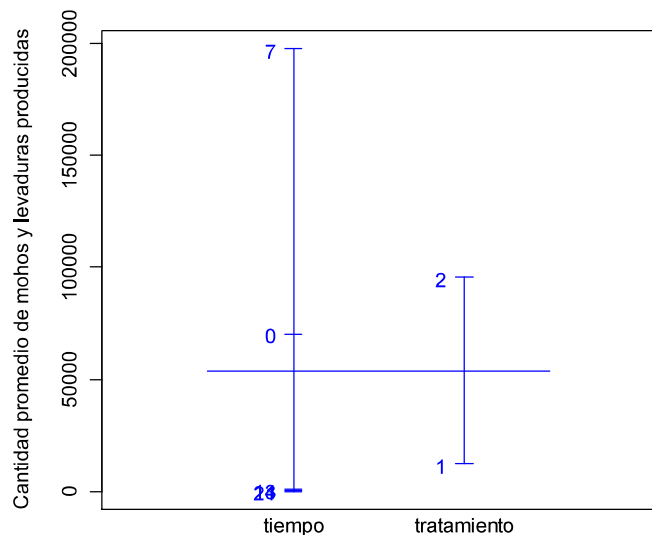
Varios autores han reportado el uso exitoso de la melaza para el crecimiento de bacterias acidolácticas como fuente de carbohidratos (13), describiendo además que, la adición de melaza minimiza la pérdida de carbohidratos hidrosolubles causada por la carga inicial de microorganismos indeseables (levaduras, mohos y bacterias aeróbicas) y asegura que una suficiente cantidad de carbohidratos hidrosolubles permanezcan en las fases donde se presenta el mayor crecimiento de bacterias acidolácticas (14).

Para esta investigación se realizó un recuento microbiano para el silaje constituido por bagazo de caña fresco y un recuento microbiano para el silaje 2 constituido por bagazo de caña con aditivos (gallinaza + melaza). Los resultados indicaron que las poblaciones microbianas más altas para el día 1 fueron para mohos y levaduras en ambos tratamientos, el silaje 2 presentó  $1,1 \text{ E}+05$ , mientras que para el silaje 1 fue de  $2,7 \text{ E}+04$  (Figura 1). Esta diferencia se debe quizás a la carga microbiana que la melaza puede presentar (15). Garzón y Hernández (2009) reportaron de acuerdo a la NTC 607 para la melaza  $2,9 \text{ E}+02$  contenido de mohos y levaduras en ella. (16) reportó que los mohos y levaduras causan detrimento de la fermentación láctica, predominando la fermentación alcohólica. Las bacterias acidoacéticas, mesófilos, clostridios y enterobacterias no presentaron diferencias significativas entre el silaje 1 y el silaje 2. La interacción tiempo\*tratamiento no mostró efecto en

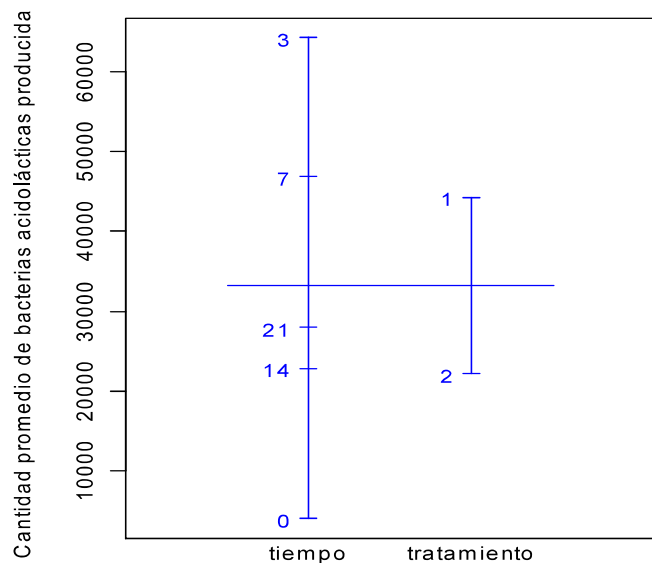
el uso de los aditivos adicionados al bagazo (Figura 1). En mesófilos se encontró que no hay diferencias significativas entre los tratamientos a pesar de haber un importante contenido de estas entre los días 1 y 7.

En este trabajo de investigación la melaza como sustrato fermentable no evidenció desde los primeros días un aumento considerable de BAL en el silaje 2, quizás se deba a que presentaba altas poblaciones de mohos y levaduras. En el silaje 2 las bacterias acidolácticas crecen entre los días 3 y 21, sin presentar un importante incremento en la población bacteriana; mientras que para el silaje 1 las bacterias acidolácticas fueron incrementando hasta el día 14 de manera considerable, este tratamiento no contiene melaza. Cuando la melaza se incluye como alimento base, se sugiere la suplementación con NNP (por ejemplo 2,5% de urea). En esta investigación se utilizó la gallinaza como fuente de nitrógeno, que ha sido utilizada para el ensilaje como fuente de proteína, lo cual favorece el valor nutricional, puede adicionarse a la melaza entre un 10 a 50%. Es posible que quizás para el día 21 en el silaje 2 esta fuente proteica influyera en el aumento de las BAL. Por otro lado, para el día 21 el silaje 1 tuvo una reducción de las BAL en un 15 %, mientras que en el silaje 2 con melaza tuvo un aumento para el día 21 del 9,8% de BAL, lo que lleva a pensar que la melaza favorece el crecimiento de las BAL en una relación con el tiempo de fermentación. Se encontró que en la producción de bacterias ácido lácticas el tiempo, el tratamiento y la interacción de estas dos variables ( $p < 0.1$ ) tienen relación.

Los forrajes que contienen cantidades insuficientes de sustrato para fermentar o un bajo contenido de materia seca arroja un Coeficiente de Fermentación inferior a 35% ( $CF < 35$ ), el bagazo de caña de azúcar evaluado en este estudio arrojó un CF de 30,05 por tanto este valor fue tenido en cuenta para emplear melaza como aditivo. Posiblemente la disminución de un 15% de la población de BAL en el silaje 1, tuvo relación con la reducción en el contenido de azúcares hidrosolubles y posiblemente una pérdida de materia seca. Mientras que, para el silaje 2 es posible que la melaza tenga una relación con la disponibilidad de azúcares hidrosolubles.

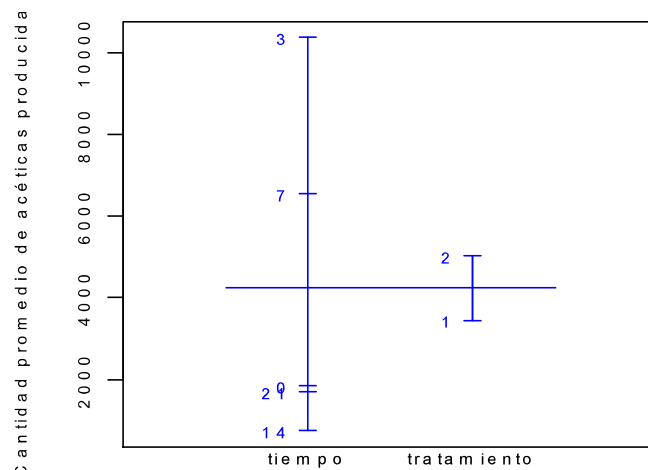


Efectos

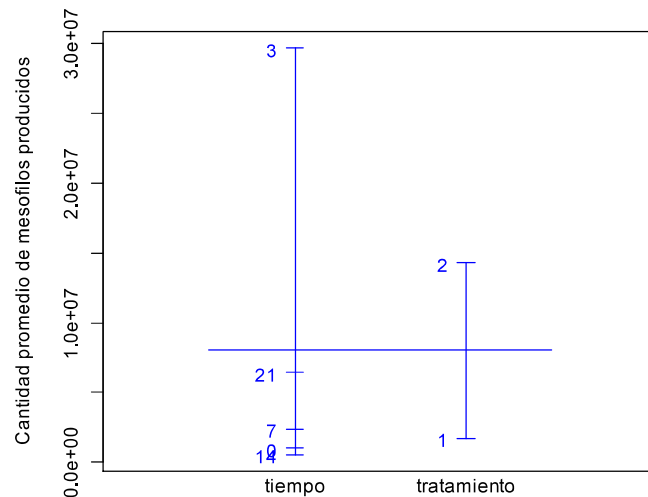


Efectos

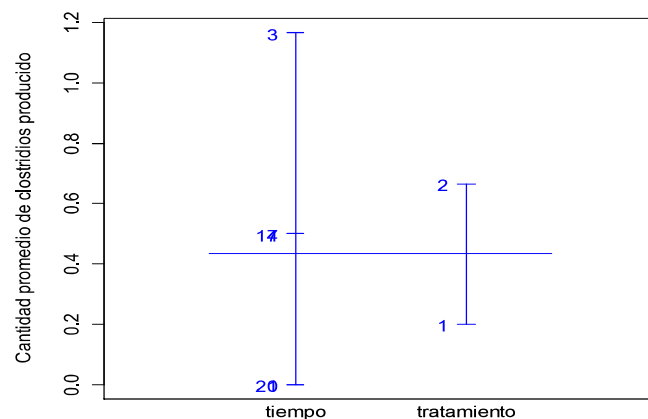
aumentar la oferta de sustratos para el crecimiento de bacterias ácido lácticas. Sin embargo, en este trabajo el silaje 2 que contenía melaza y gallinaza no se evidencia sustancialmente la influencia de estos aditivos en la mejora del ensilaje respecto al bagazo sin aditivos (silaje 1), solo hasta el día 21.



Efectos



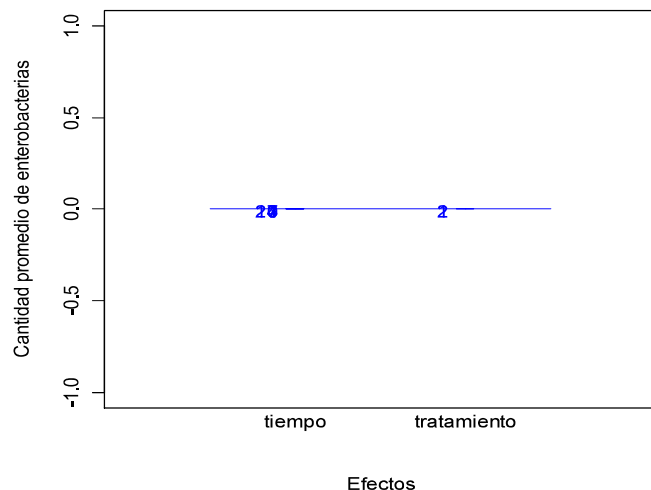
Efectos



Efectos

**Figura 1.** Influencia de la melaza y la gallinaza en la producción de bacterias acidolácticas, mesófilos, mohos y levaduras de los silos

Varios investigadores han reportado el uso exitoso de la melaza para el ensilaje de forraje. En el sistema de producción de silaje la melaza fermenta rápidamente y algunas veces, se añade, durante el proceso de ensilado como preservador, con la ventaja de tener un valor nutritivo y actor de apetecibilidad. La melaza a pesar de su bajo contenido de fósforo, constituye un buen medio nutritivo para muchos microorganismos, tales como levaduras, hongos y bacterias. Para mejorar la calidad de la fermentación de pasto king grass, aditivos tales como sacarosa, glucosa y melaza se han utilizado para



**Figura 1.** Influencia de la melaza y la gallinaza en la producción de bacterias ácido-acéticas, mesófilos, clostridios y enterobacterias de los silos

**Variación del pH dentro de los silos**

Las tablas 3 y 4 muestran para ambos silajes una disminución del pH en el tiempo. Este cambio de pH es probable que se deba a un incremento de las poblaciones BAL y bacterias ácido acéticas (Tabla 3 y Tabla 4), lo cual está asociado a la producción máxima de ácido láctico y ácido acético.

**Tabla 3.** Crecimiento microbiano, pH y temperatura del silaje 1

Ítem	Días de medición a partir del proceso de ensilado				
	1	3	7	14	21
pH					
T (° C)	4,05	3,93	3,84	3,76	3,59
	22,7	22,3	22,2	22,5	21,9
Ácido lácticas	Concentración de microorganismos en UFC/g				
Ácido acéticas	4,0E+02	8,6E+04	8,7E+04	3,5E+04	1,3E+04
Enterobacterias	2,4E+03	9,0E+03	3,1E+03	1,3E+03	1,4E+03
Clostridios	0,0E+00	0,0E+00	0,0E+00	0,0E+00	0,0E+00
Mesófilos	0,0E+00	0,0E+00	0,0E+00	3,3E+00	0,0E+00
Mohos y levaduras	1,0E+06	3,6E+06	2,3E+06	4,7E+05	1,2E+06
	2,7E+04	1,0E+03	3,2E+04	6,7E+02	0,0E+00

**Tabla 4.** Crecimiento microbiano, pH y temperatura del silo 2

Ítem	Días de medición a partir del proceso de ensilado				
	1	3	7	14	21
pH	4,30	4,04	4,02	3,40	3,80
T	22,3	22,1	23,5	23,9	22,5
	Concentración de microorganismos en UFC/g				
Ácido lácticas	7,7E+03	4,2E+03	6,4E+03	1,1E+04	4,3E+04
Ácido acéticas	1,2E+03	1,2E+04	1,0E+04	2,0E+02	2,0E+03
Enterobacterias	0,0E+00	0,0E+00	0,0E+00	0,0E+00	0,0E+00
Clostridios	0,0E+00	6,7E+00	3,3E+00	0,0E+00	0,0E+00
Mesófilos	1,0E+06	5,6E+07	2,4E+06	6,3E+05	1,2E+07
Mohos y levaduras	1,1E+05	0,0E+00	3,6E+05	1,0E+03	0,0E+00



Esto permite la conservación del silo, debido a que se esperaría que esté relacionado con los niveles máximos de producción de ácido láctico. Debido a pH bajas a lo largo del tiempo, se produce en cierto modo una esterilización en la biomasa del ensilaje, el pH del material ensilado baja a un nivel que inhibe la presencia de microorganismos que inducen la putrefacción, como consecuencia, el crecimiento de las poblaciones microbianas queda inactivo, así como todo tipo de actividad enzimática, creándose un estado de estabilización o de reposo, que permite la conservación casi indefinida del alimento ensilado como lo reportan (17). Esto puede evidenciarse en el desarrollo de las bacterias ácido lácticas, en los mohos y las levaduras cuando los silos arrojan cifras de pH entre 3,5 y 4,2,

En ambos ensilajes el pH fue óptimo (Tabla 6), presentándose valores inferiores a 4,2. Barnett, (2004) define como ensilado de buena calidad aquél que presenta un pH menor de 4,5. En una investigación realizada por Trillos *et al.*, 2007, reportan que para el ensilaje ruminal con harina de sorgo, un pH de 4.2, indicando que a medida que disminuye el pH se hace más eficiente el proceso del ensilaje ya que la acidez de los pH bajos contribuyen a la conservación del ensilaje evitando la descomposición del mismo.

#### **Variación de la temperatura dentro de los silos**

Los recuentos elevados de bacterias mesófilas, en alimentos fermentados constituyen la microflora normal y pueden indicar una alteración incipiente asociada a la carga microbiana del alimento y no un peligro potencial para la salud del consumidor. En esta investigación los silos (Tabla 3 y Tabla 4) muestran un rango de temperatura entre 21,9 – 23,9 °C considerado en el rango mesófilo. En la concentración de mesófilos no se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) para la interacción tiempo\*tratamiento. Esta temperatura es considerada por algunos autores como ideal para que el proceso de ensilaje para que se lleve a cabo de una manera adecuada y el material ensilado pueda conservar sus propiedades tanto organolépticas como nutritivas, al igual que el pH.

#### **Cinética poblacional de microorganismos asociados al proceso de ensilaje**

En esta investigación se determinó la carga microbiana inicial del bagazo de caña de azúcar, una vez extraídos los jugos. Se identificaron poblaciones de (bacterias ácido lácticas, bacterias ácido acéticas, enterobacterias, clostridium, mesófilos, mohos y levaduras) que

son grupos comúnmente asociados a la flora epífita del bagazo de caña de azúcar.

#### **Microorganismos indeseables**

Las condiciones de anaerobiosis y la reducción del pH afectaron el crecimiento de microorganismos indeseables (mohos y levaduras) en ambos tratamientos, los cuales están relacionados con el deterioro aeróbico. Por otro lado, las poblaciones de clostridios fueron inhibidas en ambos tratamientos, mientras que para enterobacterias no se obtuvo crecimiento en ninguno de los días evaluados.

Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) para la interacción tiempo\*tratamiento, mostrando un crecimiento diferencial de este tipo de microorganismos en cada tratamiento a lo largo del tiempo. El bagazo en el día 1 en el silaje 2 tuvo una concentración de hongos y levaduras significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) respecto al silaje, posiblemente debido a la carga microbiana asociada a la melaza (Tabla 4).

#### **Microorganismos deseables**

Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.1$ ) en el recuento de BAL para la interacción tiempo\*tratamiento en el silo 1 y el silo 2. Para el día 21 el crecimiento de BAL es mayor para el silo 2 (Tabla 4). Cabe destacar que las poblaciones de BAL en ambos tratamientos persistieron a lo largo del tiempo, esto es un buen indicativo de la calidad del proceso de fermentación en el silo. La calidad del silaje depende principalmente del grado de compactación y la cantidad de oxígeno que ha quedado en el material ensilado. Sin embargo, los niveles de materia seca y carbohidratos solubles son determinantes en la fermentabilidad de un ensilaje, por lo que la inclusión de un mayor contenido de carbohidratos solubles, facilita la capacidad de fermentación y degradación de otros sustratos, por estimular el crecimiento de bacterias ácido lácticas. Los microorganismos deseables como las BAL han sido reportadas en diferentes estudios con maíz, sorgo y trigo con valores a los 60 días de  $2E+07$ ,  $7E+06$  y  $1E+06$  UFC/g respectivamente y en forrajes frescos  $5,7E+08$  UFC/g, para el día 21 en este estudio el crecimiento microbiano más alto fue de  $4,3E+04$  ufc/g (silaje 2).

Los componentes BAL que se asocian con el proceso de ensilaje pertenecen a los géneros: *Lactobacillus*, *Pedococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Streptococcus*. La mayoría de ellos son mesófilos, o sea que pueden crecer en un rango de temperaturas

que oscila entre 5° y 50°C, con un óptimo entre 25° y 40°C. Son capaces de bajar el pH del ensilaje a valores entre 3,5 y 4,2, dependiendo de las especies y del tipo de forraje. Todos los miembros del BAL son aeróbicos facultativos, pero muestran cierta preferencia por la condición anaeróbica (Silver y Franco, 2006; Oude, 1999). En este trabajo se evidenció una persistencia de este tipo de microorganismos en el tiempo para ambos tratamientos, relacionado con una disminución paulatina en el pH para los días evaluados. Los rangos de temperatura obtenidos en las evaluaciones se encontraron cercanos al rango óptimo.

Los recuentos iniciales de mesófilos para el silaje 1 y 2 (Tabla 3 y Tabla 4) fueron mayores que los reportados por Cai et al. (1998) para maíz (1E+06 UFC/g) y para forrajes frescos de alfalfa, ryegrass italiano y sorgo de 8E+06, 8E+05 y 6E+06 UFC/g respectivamente (4). Estos valores muestran la alta concentración de bacterias epífitas que se pueden encontrar en materias primas con posibilidad de ser ensiladas en ambientes tropicales, las cuales tienen un alto potencial para su uso industrial y para mejorar los procesos fermentativos dentro del silo. Se ha reportado en varios estudios que las poblaciones de mohos y levaduras pueden alcanzar recuentos entre 1E+07 y 2,0E+07 ufc/g durante las primeras semanas del proceso de ensilaje (Fase 1:Fase aeróbica y Fase 2:Fase de fermentación), más altos que los encontrados en el presente estudio. Por otro lado Valiño et al. 2002 reportó para ensilajes de bagazo de caña sin aditivos una carga de levaduras a los 21 días de 3,3E+10 ufc/g MS, cuando la materia seca (MS) del bagazo en este tiempo alcanzó el 70%, diferente al crecimiento microbiano obtenido en esta investigación para el mismo día de 0,0E+00 ufc/g con un porcentaje de materia seca de 28,9%. El poco crecimiento de mohos y levaduras está asociado a un contenido elevado de ácido fórmico o ácido acético que reducen la supervivencia de éstos microorganismos indeseables (Driehuis y van Wijkseelaar, 1996; Oude Elferink et al., 1999). En el silo 1 y en el silo 2 las poblaciones de bacterias ácido acéticas y ácido lácticas persistieron a lo largo del tiempo permitiendo estabilizar el sistema, y evitando el deterioro aeróbico y anaeróbico.

Valiño et al., 2002 estudió el bagazo de caña de azúcar en fermentaciones en estado sólido, encontrando un predominio de los géneros *Aspergillus* y *Trichoderma* asociados a la carga microbiana en este sustrato. Los cuales pueden hacer parte de los microorganismos no deseados en el proceso de ensilaje. Sin embargo, la presencia de

éstos podría ser benéfica en la fase 1 (fase aeróbica) y fase 2 (fase de fermentación) del proceso de ensilaje. Debido a que estos microorganismos tienen la capacidad de hidrolizar materiales lignocelulósicos como el bagazo de caña de azúcar (celulosa: 40-50%, hemicelulosa: 25-35% y lignina 15-20% (Maity, 2015)), promoviendo la disponibilidad de azúcares hidrosolubles como fuente de carbono, que favorecen el crecimiento de otras poblaciones microbianas como las BAL y las BAC. Para el bagazo de caña de azúcar en los silos 1 y 2 se encontraron dos hongos que han sido ampliamente reportados como hongos con capacidad lignocelulósica *Aspergillus* y *Fusarium*. Estos organismo tiene la capacidad de degradar el polímero de celulosa, la cual es fuente de glucosa, de acuerdo a Oude, 1999, estos azúcares son aprovechados en la vía de las hexosas (azúcares C6) por las BAL homofermentativas obligatorias que les permite producir un 85% de ácido láctico, pero no pueden degradar las pentosas (azúcares C5) como la xilosa. La hemicelulosa es fuente de 5 tipos de azúcares: xilosa, arabinosa, manosa, galactosa y glucosa. Los heterofermentadores facultativos también producen principalmente ácido láctico a partir de hexosas, pero además pueden degradar algunas pentosas produciendo ácido láctico, ácido acético y/o etanol. Sin embargo en este trabajo, se esperaría que la mayor población de BAL sean las BAL homofermentativas debido a que las BAL heterofermentadores son susceptibles a pH menores de 5 (Villa, 2008)

Para el caso de microorganismos indeseables como las enterobacterias las cuales están relacionadas con la degradación proteica y el deterioro, los cambios de pH en los sistemas de ensilaje no favorecieron el desarrollo de estas poblaciones a pesar de la disponibilidad de fuentes de nitrógeno y carbohidratos. Lo cual es similar a lo reportado por McDonald et al., (1991), quien describió que las enterobacterias no proliferan en ambientes con valores bajos de pH. Las técnicas de ensilaje que aseguren un rápido y significativo descenso del pH en el ensilaje, provocarán una inhibición del desarrollo de las enterobacterias.

Otro tipo causante del deterioro anaeróbico son los clostridios, en esta investigación se encontró una inhibición en el desarrollo de estas poblaciones, siendo más evidente para el tratamiento el silaje 1. La presencia de clostridios en algunos días en ambos tratamientos, puede estar relacionada con un porcentaje de humedad superior al 70%. Los clostridios muestran mayor susceptibilidad a la falta de humedad y a bajos pH (Oude,



1997).

Las condiciones de anaerobiosis, el tiempo de almacenaje y la competencia de microorganismos de rápido crecimiento acompañado de la producción de ácidos orgánicos de bajo peso molecular como ácido láctico y ácido acético controlaron las poblaciones de mohos y levaduras en ambos tratamientos. En este estudio se evidenció una relación inversa en el crecimiento de BAC y hongos, lo cual es consecuente por lo reportado por Oude, (1999), un contenido elevado de ácido fórmico o ácido acético reduce la supervivencia de levaduras (Tabla 5).

**Tabla 5.** Metabolitos evaluados en el silaje 1

Días de fermentación	Ácido acético (%)	Ácido propiónico (%)	Ácido butírico (%)
1	1,174 ± 0,007	ND	ND
3	0,73 ± 0,04	ND	ND
7	0,82 ± 0,03	ND	ND
21	0,69 ± 0,05	ND	ND

**Tabla 6.** Metabolitos evaluados en el silaje 2

Días de fermentación	Ácido acético (%)	Ácido propiónico (%)	Ácido butírico (%)
1	1,66 ± 0,01	ND	ND
3	1,11 ± 0,09	ND	ND
7	1,21 ± 0,03	ND </td <td>ND</td>	ND
21	0,92 ± 0,05	ND	ND

### Caracterización Organoléptica

La valoración organoléptica (olor, color y textura) de los silajes se hace de acuerdo al tipo de fermentación efectuada o al estado del producto en cuanto a su aspecto físico (Tabla 1). Dependiendo de estas condiciones se establece una escala de 1 a 5, siendo 1 una calificación muy mala y 5 una calificación excelente en cuanto a la aceptabilidad del silaje (10). En esta investigación los resultados obtenidos respecto al color, el silaje 1 presentó una calificación excelente (tonalidad amarillo claro) con una valoración de 5 (Figura 1). El silaje 2 obtuvo una calificación excelente (tonalidad amarillo oscuro) con una valoración de 5 (Figura 2), el tono oscuro es posible que se deba a la adición de melaza y gallinaza.

**Tabla 7.** Escala de valores para calificar la calidad organoléptica del ensilaje

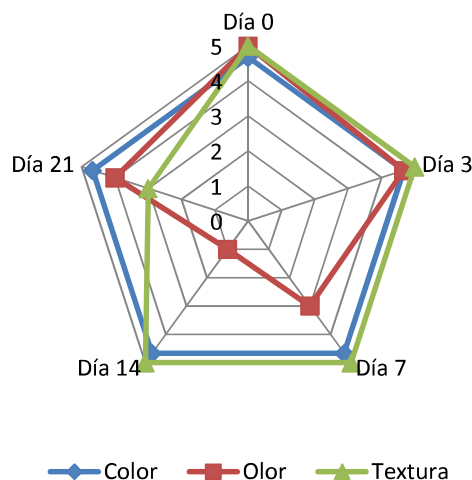
Valor	Calidad del ensilaje
1	Muy malo
2	Malo
3	Regular
4	Bueno
5	Excelente

Los resultados obtenidos en la Figura 2 y Figura 3, muestran una buena calidad del silaje, no mostrando diferencias significativas entre los tratamientos.

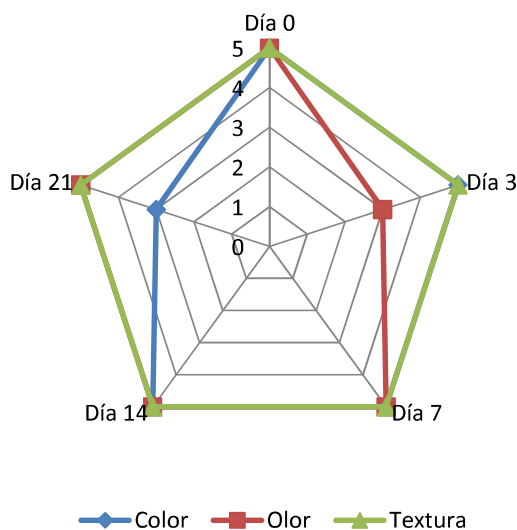
El olor, en el silaje 1 presenta una cualificación buena (calificación 4), presentando un olor azucarado agradable característico del bagazo, sin embargo no fue excelente debido a que había un ligero olor a vino. El silaje 2 presentó una cualificación excelente (calificación 5) con un olor agradable (miel azucarado).

La textura, en los dos silajes 1 y 2, fue excelente (calificación 5) debido a que conservan sus contornos continuos firmes y compactos.

En ninguno de los tratamientos se observó degradación del material ensilado o putrefacción de este. Lo que indica que el reactor construido y el almacenamiento poseen un buen nivel de conservación para ambos tratamientos. De acuerdo a lo anterior, se puede ver (Figura 2) que la adición de melaza y gallinaza, mejoró las características organolépticas del ensilaje en el olor. Sin embargo, esto no indica que haya una relación entre los aditivos y las características organolépticas.



**Figura 2.** Evaluación organoléptica del silaje 1



**Figura 3.** Evaluación organoléptica del silaje 2

La excelente calidad del ensilaje, de acuerdo a las características organolépticas, puede ser debido a un aporte de carbohidratos solubles y materia seca por parte

del bagazo como materia prima. Estos carbohidratos solubles pudieron deberse a la presencia de microorganismos celulolíticos. El color excelente del ensilaje en el silaje 2 donde se utilizó como aditivos la melaza-gallinaza, puede ser atribuido a la mayor concentración de carbohidratos solubles provenientes de la melaza, que permitió una mayor ensilabilidad y conservación del ensilaje. Tal y como se describe en el ensilaje de alfalfa y yuca, que posiblemente en el tratamiento donde se adiciona yuca, los carbohidratos solubles de la yuca permitieron mayor ensilabilidad. En la evaluación organoléptica de los diferentes tratamientos se presentaron características excelentes dentro de los parámetros de calidad en las características de color, olor y textura.

### Caracterización Físicoquímica

En la Tabla 6 se establece la composición físicoquímica de los silajes 1 y 2 de ensilajes de bagazo de caña de azúcar después de 21 días de fermentación.

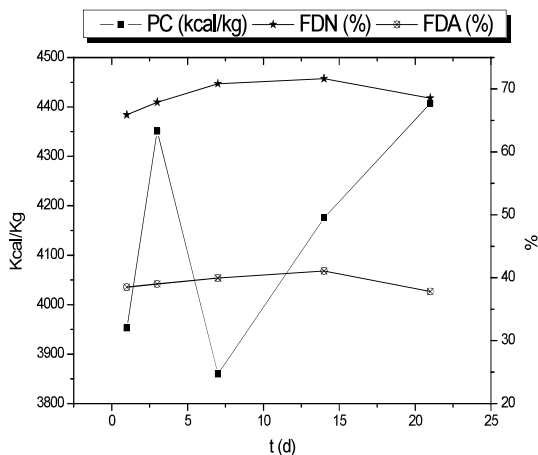
**Tabla 8.** Composición físicoquímica de los silajes 1 y 2 después de 21 días de fermentación

Silos	Humedad	MS	pH	FDN	FDA
Silaje 1	71,10 ± 1,36	28,88 ± 1,36	3,59 ± 0,06	68,54 ± 0,03	37,8 ± 0,02
Silaje 2	82,10 ± 3,59	17,86 ± 3,59	3,80 ± 0,08	67,24 ± 0,03	38,27 ± 0,02

El contenido de humedad (Tabla 6), muestra que no hay diferencias significativas entre los silajes 1 y 2 después de 21 días de fermentación. A pesar de no haber diferencias significativas, la humedad que se presenta en silaje 2 puede estar relacionada con el aporte de la mezcla con aditivos (melaza + gallinaza.). Una humedad mayor a 70% es considerada un problema debido a los efluentes o lixiviados que se puedan presentar durante la fermentación. Soto et al. 2002 reportó que estos efluentes producidos son responsables de la pérdida de nutrientes altamente digestibles, además los ensilajes muy húmedos son indeseables desde el punto de vista nutricional, porque el consumo de materia seca suele ser bajo (Uriarte, 2004). El contenido de humedad óptimo en el ensilaje de forrajes debe estar entre 60 -70% según Bertoia, (2004). En un estudio realizado en ensilajes de contenido de ruminal con harina de sorgo, se registraron valores de humedad entre 37,08 – 43 % (Trillos et al., 2007). Para el silaje 2 la humedad fue mayor del 70 %, debido al tipo de microsilo utilizado no hubo pérdida por efluentes, lo que provocó una retención de humedad, que al momento de abrir los silos y mezclar, todo el material se homogenizó, presentado un olor y aspecto adecuados al día 21.

El mayor valor de MS (Tabla 6) se observa en el silaje 1 después de 21 días de fermentación. En el silaje 2 con la adición de la mezcla de melaza y gallinaza el contenido de MS fue inferior ( $P < 0,05$ ), presentándose diferencias significativas entre los tratamientos. El contenido de materia seca del silaje 1 > silaje 2, esto pudo deberse a que el silaje 2 presentó mayor contenido y desarrollo de las poblaciones de microorganismos, probablemente beneficiados por los aditivos que contenía, influyendo en la disminución de la MS. El contenido de MS es inferior al 35% en ambos tratamientos, lo que indica buena calidad del material ensilado, parámetro establecido como adecuado en ensilajes tropicales cuando no hay producción de efluentes (Clavero y Razz, 2008). La MS ha sido reportada en ensilajes de maíz con valores del 15,71% ± 0,11 (Cubero et al. 2010) y para caña de azúcar sin aditivo 53,08% y con aditivo 52,23% (Aguirre et al 2010). Los valores bajos de pH, para el silaje 1 3.59 y 3.80 para el silaje 2, evitaban el crecimiento de microorganismos indeseables. En relación al olor y textura, no se apreciaron olores desagradables ni degradación del material, quizás por el mismo efecto de los valores de pH bajos.

Fibra detergente ácida (FDA), Fibra detergente Neutra (FDN) y Poder Calorífico.

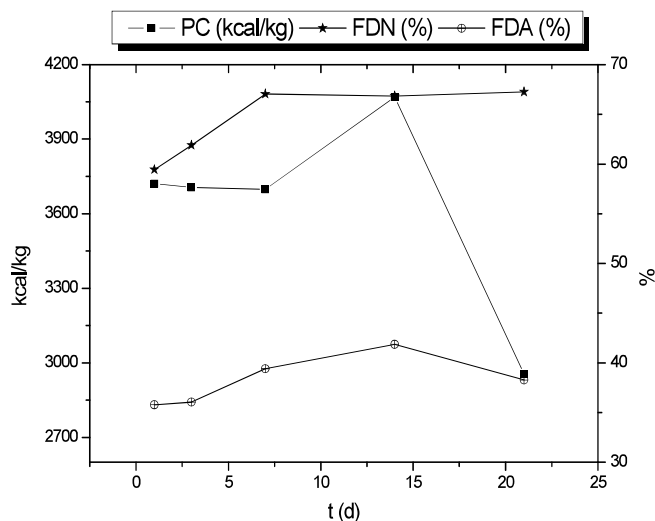


**Figura 4.** Contenido de FDN, FDA y Poder calorífico del silaje 1

Las figuras 4 y 5 muestran la relación entre FDN, FDA y Poder calorífico, encontrándose que para el silaje 1 FDN y FDA son constantes durante todo el proceso de fermentación, sin embargo, para el Poder calorífico fluctúa en los primeros días, luego tiende a aumentar a partir del día 14; mientras que para el silaje 2 este es constante y cae para el día 21 (figura 5). El bagazo de caña de azúcar posee un poder calorífico superior alto dentro de la clasificación que se le da como biomasa. El bagazo se compone principalmente de celulosa 50%, hemicelulosa 30% y lignina 20%. (7) describe que la FDN mide la fibra insoluble en los alimentos e incluye la celulosa, hemicelulosa y lignina como parte de la matriz de la pared celular. El medir esta fracción permite identificar los carbohidratos de lenta degraación en el rumen. Los alimentos cuando presentan una alta proporción de FDN llenan rápidamente el rumen y por tanto limitan el consumo de alimento. La celulosa y hemicelulosa de los forrajes son completamente digestibles, pero la lignina es casi indigerible y su presencia puede inhibir total o parcialmente la digestión de los otros constituyentes orgánicos (Bertoia, 2004). Arreaza et al., (2004) identifican valores promedios de FDN para los principales forrajes utilizadas en la alimentación de rumiantes en Colombia: 52 % pasto kikuyo, 53 % *Brachiaria decumbens* y 69% Colosuana; para granos ha sido reportado 73.39% (Rivas et al., 2006). El bagazo de caña de azúcar presenta valores similares a los pastos, para el

día 1 en el presente trabajo tiene un 65,86% silaje 1 y el silaje 2, 59,43%. Un bajo contenido de FDN puede garantizar un buen ensilaje, de acuerdo a Chalupa et al. (1996).

Los valores de FDA generalmente están correlacionados con la digestibilidad de los forrajes y de los alimentos utilizados como suplementos en rumiantes, en donde a mayor contenido de FDA regularmente son recursos alimenticios de menor digestibilidad (Van Soest, 1994). La fibra detergente ácida (FDA) incluye celulosa y lignina, esta última es casi indigerible y su presencia puede inhibir total o parcialmente la digestión de los otros constituyentes orgánicos (Bertoia, 2004). Entre algunos de los datos reportados se encuentra Archila, 1989 que obtuvo 46.01% de FDA y Rivas et al. (2006) con 43.63% para granos. En otros estudios realizados se han reportado valores de 25.8%, 32%, 27% y 30.3% FDA para maíz en clima frío y valores de 35.4% y 32.9% para maíz en clima cálido, ambos realizados en Colombia (Blaser, 1986; Laredo y Kleermann, 1990; Díaz, 1986; Knowlton et al., 1993 y Staples et al., 1993). Los valores obtenidos de FDA en este estudio son similares al del maíz. La FDA se correlaciona negativamente con la disponibilidad de energía del forraje (Di Nucci et al., 2004), por lo que puede decir que bajos valores de FDA aumentan la digestibilidad del alimento y la energía que contenía. Los residuos agroindustriales son en general materiales de naturaleza fibrosa, aparentemente con alta concentración de fibra en detergente neutro FDN, los cuales podrían ser utilizadas en la alimentación de rumiantes, tales como vacas lecheras y animales de engorde, reconociendo la capacidad de estos animales para transformar alimentos con altos niveles de fibra; generando la integración de dos actividades agropecuarias en la búsqueda de mayor eficiencia para los dos modelos de producción. Desde el punto de vista de la producción animal, los rumiantes en el mundo tienen una gran importancia debido a su habilidad para utilizar alimentos fibrosos y transformarlos en leche, carne, lana y otras fibras y en algunas ocasiones generar trabajo como fuerza para labores agrícolas o pecuarias (Van Soest, 1994).



**Figura 5.** Contenido de FDN, FDA, CO<sub>2</sub> y Poder calorífico del silaje 2

Por otro lado, el poder calorífico nos indica el potencial de energía bruta de la biomasa; Energía bruta (EB) energía que contienen los componentes orgánicos del alimento y que se libera a través de su oxidación (combustión). Se mide en una bomba calorimétrica y se expresa normalmente en calorías o en julios. Se puede correlacionar con la energía que puede contener la biomasa y el potencial nutritivo de los productos evaluados. Los mejores niveles energéticos se presentan en el silaje 1, en especial durante los días de fermentación 3 (4.351) y 21 (4.407) Kcal/Kg; 3721 para el día 1 y 2955 para el día 21 Kcal/Kg; es probable que la disminución del poder calorífico en el silaje 2 se deba al aumento de BAL en el día 21, además de comenzar agotarse la melaza como fuente de carbohidratos. En pajas la melaza se adiciona como saborizante en niveles del 5 al 15% y estos valores pueden incrementarse a 50% para aumentar el contenido energético de la dieta. Se ha descrito que los sistemas de engorda de ganado a base de melaza soportan niveles de ganancia, comparables a las dietas básicas con granos (Preston et al., 1967; Li et al. (2014)). Los forrajes de alta calidad (0,8 kg de MS por 100 kg de peso vivo) y la suplementación con una fuente de proteína, son muy importantes en la calidad del silaje (Preston y Leng, 1987).

## CONCLUSIONES

En la evaluación organoléptica todos los ensilajes presentaron características buenas y excelentes dentro de

los parámetros de calidad en las características de color, olor y textura.

Todos los ensilajes alcanzaron temperaturas alrededor de 22° C durante el proceso de fermentación (21 días), temperatura ideal para que el proceso se lleve a cabo de una manera adecuada y el material ensilado pueda conservar sus propiedades tanto organolépticas como nutritivas.

El pH estuvo dentro de los niveles establecidos y permitidos como indicador de buena calidad, el valor más bajo de pH registrado fue el ensilaje de bagazo de caña del tratamiento que presentaba aditivos, gallinaza + melaza.

Los tratamientos de ensilaje presentaron contenidos de fibra detergente ácida (FDA) inferiores al 39%, lo que indica un contenido óptimo para aumentar la digestibilidad del alimento y la energía contenida.

En los dos tratamientos se evidenció una persistencia de bacterias acidolácticas en el tiempo, relacionado con una disminución paulatina en el pH para los días evaluados, lo que indica una buena calidad del ensilaje.

Los niveles de nitrógeno amoniacal presentados en los dos tratamientos son inferiores al 10%, parámetro favorable que indica la ausencia de bacterias butíricas ambos ensilajes. El ácido acético estuvo presente en todo el ensilaje indicador de media calidad del ensilaje. Se observó una relación entre los metabolitos producidos y las bacterias identificadas.

## AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue realizado en el Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares. Se agradece la colaboración y apoyo para la presentación de este trabajo, a todos los integrantes del grupo en especial al coordinador del grupo de Investigación a las líneas de investigación de Bioensayos y microbiología y a la Universidad de Antioquia por la beca de estudiante instructor.

## REFERENCIAS

1. Church, D. C., Pond, W.G., and Pond, K. R. (2002). *Fundamentos de nutrición y alimentación de animales*. (E. L. S. Edición., Ed.) p. 635. México D.F.
2. Cai Y., Kumai S., Ogawa M., Benno Y. And Nakase T. 1999a. Characterization and Identification of *Pediococcus* species isolated from forage crops and their application for silage preparation. *Applied and Environmental Microbiology*. P. 2901–2906 vol. 65, no. 7.
3. Acosta, Y. M. (2002). Ensilajes de pasturas: algunas consideraciones para su confección. *Boletín de Divulgación* No. 80, p. 13.
4. Cai, Y., Benno, Y., Ogawa, M., and Kumai, S. (1999). Effect of applying lactic acid bacteria isolated from forage crops on fermentation characteristics and aerobic deterioration of silage. *J Dairy Sci*, 82, p. 520–526.
5. Ennahar S., Cai Y., and Fujita Y., (2002). Phylogenetic diversity of lactic acid bacteria associated with paddy rice silage as determined by 16s ribosomal DNA analysis. *National Institute of Livestock and Grassland Science*, p. p.329–2793. Japan.
6. Bernal I., (1994). *Análisis de Alimentos. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* (ed. Guadal., pp. p. 47–48, 51, 104.). Santafé de Bogotá.
7. Van Soest P., J. R. and B. L. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dietary Sci.*, 74, p.3583 – 3597.
8. Tejada, D. H. I. (1992). Sistema de Educación Continua en Producción Animal. In *Control de Calidad y análisis de alimentos para animales*. p. 397. A.C. Mexico D.F.
9. Ashbell, G., and Weinberg., Z. G. (2001). Ensilaje de cereales y cultivos forrajeros en el trópico. *Memorias de La Conferencia Electrónica de La FAO Sobre El Ensilaje En Los Trópicos. Estudio FAO Producción Y Protección Vegetal*, 161, p. 111–119.
10. Gallardo. M., (2003a). Tecnologías para corregir y mejorar la calidad de los forrajes conservados. *Circular Planteos Ganaderos, Aapresid.org.ar. EEA INTA Rafaela-Santa Fe*, p. 51–61.
11. Swanson, K.M., Busta, F.F., Peterson, E.H., and Johnson, M. G. (1992). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. (Third edit.). Washington D.C. U.S.A.
12. Masuko, T., Kitajima, F., Okada, S., and Uchimura, T., (1995). Effects of inoculation with *Lactobacillus casei* Subsp *Rhamnosus* at ensiling on fermentation and flora of lactic acid bacteria of grass silages. *J Dairy Sci*, 54, 45–51
13. Cao, Y., Takahashi, T., Horiguchi, K-i., Yoshida, N., 2010. Effect of adding lactic acid bacteria and molasses on fermentation quality and in vitro ruminal digestion of total mixed ration silage prepared with whole crop rice. *Grassl. Sci.* 56, 19–25
14. Shao, T., Ohba, N., Shimojo, M., Masuda, Y., 2004. Effects of adding glucose, sorbic acid and pre-fermented juices on the fermentation quality of guineagrass (*Panicum maximum* jacq.) silages. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 17, 808–813.
15. Ariza, B. y González, L. 1997. Producción de Proteína Unicelular a partir de levaduras y melaza de caña de azúcar como sustrato. Tesis de pregrado Bacteriología. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de Bacteriología. Bogotá. Colombia. 22-2p.
16. Alvarez Flores F.J. (1977) Experiencia con la caña de azúcar integral en la alimentación animal en México.
17. Silveira P., and E. A. (2006). Conservación de forrajes, segunda parte. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET, Vol 7 núme.* Retrieved from <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111106.html>.