

CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO FERMENTATIVO DE ENSILAJES DE RESIDUOS ORGÁNICOS DE PLANTAS PROCESADORAS DE PIÑA (*Ananas comosus*) Y CHINA (*Citrus sinensis*) Y SU EVALUACIÓN EN DIETAS PARA OVINOS

Por

Suzika Pagán Riestra

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

en

INDUSTRIA PECUARIA

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ

2006

Aprobado por:

Elide Valencia Chin, Ph.D.
Miembro Comité Graduado

Fecha

Paul F. Randel Folling, Ph.D.
Miembro Comité Graduado

Fecha

Abner A. Rodríguez Carías, Ph.D.
Presidente Comité Graduado

Fecha

José R. Latorre Acevedo, Ph.D.
Director Departamento Industria Pecuaria

Fecha

Rafael Ramos Santana, M.S.
Representante Escuela Graduada

Fecha

Abstract

Three experiments were conducted to evaluate the fermentative characteristics, nutritional value, and aerobic stability of organic residues from fruit processing plants. Pineapple (*Ananas comosus*) and orange (*Citrus sinensis*) residues were fermented in laboratory micro-silos constructed with PVC for 0, 4, 7, 11, 29 and 65 days with a complete randomized design (CRD). Triplicate samples from each residue and fermentation period (d) were analyzed for pH, microbial succession [coliforms, (C); lactic acid-producing bacteria, (LAPB); molds and yeast, (MY)], chemical composition, and fermentation end-products. Data were analyzed using the GLM procedure of SAS and Bonferroni t-test for comparison of means. To evaluate nutritional value, voluntary intake and apparent digestibility of DM, NDF, and CP were determined. Nine crossbred rams were assigned to 3 dietary treatments: 100% naturalized tropical grass hay (NTGH, control) and 20% of substitution of NTGH with fermented fruit residue of pineapple (PS) and orange (OS). Daily rations were offered at 3% of the animal body weight (DM basis). Data were analyzed as a 3 x 3 latin square design using the GLM procedure of SAS and Bonferroni t-test for comparison of means. To determine the aerobic stability of PS and OS after 29 or 65 day of fermentation, triplicate samples from fermented residue of each fruit were exposed to air for 5 days. Sub-samples were taken after 1, 3, and 5 days and analyzed to determine changes in pH, microbial populations [total bacteria, (TB); MY]. The recovery of fermented product was calculated after 1, 3 and, 5 days of aerobic exposure. Temperature was monitored periodically. Data were analyzed as CRD with a factorial arrangement a using the GLM procedure of SAS and Bonferroni t-test for comparison of means. The organic residues had a low DM and CP percentage (12.96

and 3.86 for pineapple and 24.28 and 5.78 for oranges residues). While the NDF percentage were 43.37 and 16.28 for pineapple and orange residues respectively. Final pH was 3.21 and 3.32 for PS and OS, respectively. During the whole fermentation and for both silages, populations of C were not detected, while LAPB and MY showed typical microbial growth. After 65 d of fermentation, lactic acid was the main end-product associated with the fermentation process (1.02 and 0.90 % for PS and OS respectively). Concentrations of acetic acid were 0.98% in PS and 0.19% in OS and butyric acid was not detected in either silage. Both, PS and OS were consumed well by the animals. No differences were detected *in vivo* among diets evaluated in voluntary intake of DM (2.19, 2.12 and 2.17% of live weight daily) nor in apparent digestibility of DM (52.2, 56.0 and 54.7%) of NDF (54.4, 55.8 and 51.9%) or of CP (43.0, 44.1 and 50.6%). Both fermented fruit residues were unstable upon aerobic exposure, PS after 1 day when fermented 29 d and OS after 3 days when fermented 65 d. These combined, fermentation process and *in vivo* feeding results, indicate that silage production is a viable and potentially beneficial alternative for the disposal of organic residues from orange and pineapple fruit processing plants. Prolongation of the fermentation period (2 month) helps to delay aerobic deterioration of the silage after opening the silo.

Resumen

Se realizaron tres experimentos para evaluar las características fermentativas, valor nutritivo y estabilidad aeróbica de residuos orgánicos provenientes de plantas procesadoras de frutas. Residuos de piña (*Ananas comosus*) y china (*Citrus sinensis*) fueron ensilados en micro-silos de laboratorio contruidos con PVC y ensilados durante 0, 4, 7, 11, 29 y 65 días según un diseño completamente aleatorizado (DCA). Muestras en triplicado de cada residuo y periodo de fermentación (d) fueron analizadas para determinar pH, sucesión microbiana [coliformes, (C); bacterias productoras de ácido láctico, (BPAL); hongos y levaduras, (HL)], composición química y productos de fermentación. Los datos fueron analizados utilizando el procedimiento GLM de SAS y la prueba de t- Bonferroni para separación de medias. Para evaluar el valor nutritivo se determinó el consumo voluntario y digestibilidad aparente de materia seca (MS). Se asignaron 9 corderos criollos a tres tratamientos: 100% de heno de gramíneas tropicales naturalizadas (HGTN, control) y 20% de sustitución de HGTN con residuos fermentados de china (EC) o piña (EP). Las raciones diarias se ofrecieron al 3% del peso vivo de los animales en base seca. Los datos fueron analizados según un cuadrado latino 3 x 3 utilizando el procedimiento GLM de SAS y la prueba de t- Bonferroni para separación de medias. El diseño experimental fue Para determinar la estabilidad aeróbica de EP y EC después de 29 o 65 días de fermentación, muestras en triplicado de cada residuo de fruta fermentado fueron expuestas al aire durante 5 días. Se tomaron sub-muestras después de 1, 3 y 5 días y se analizaron para determinar cambios en pH, poblaciones microbianas [bacterias totales, BT; HL]. La recuperación del producto fermentado fue calculada después de 1, 3 y 5 días de exposición al aire. La temperatura fue monitoreada

periódicamente. Los datos fueron analizados según un DCA con un arreglo factorial utilizando el procedimiento GLM de SAS y la prueba de t- Bonferroni para separación de medias. Los residuos orgánicos tuvieron porcentajes bajos de MS y PB (12.96 y 3.86 para piña y 24.28 y 5.78 para china). Mientras que los porcentajes de FDN fueron 43.37 y 16.28 para los residuos de piña y china, respectivamente. El pH final fue de 3.21 y 3.32 para EP y EC, respectivamente. Durante toda la fermentación y para ambos ensilajes, no se detectaron poblaciones de C, mientras que BPAL y HL presentaron un crecimiento microbiano típico. Después de 65 d de fermentación el ácido láctico fue el principal producto asociado con el proceso de fermentación, (1.02 y 0.90% para EP y EC, respectivamente). También se detectaron concentraciones de ácido acético de 0.98% en EP y 0.19% en EC y ácido butírico no fue detectado en ninguno de los dos ensilajes. Tanto el EP como el EC fueron consumidos bien por los corderos. No se detectaron diferencias entre las dietas evaluadas *in vivo* ni para consumo voluntario de MS (2.19, 2.12 y 2.17% del peso vivo diariamente) ni digestibilidad aparente de MS (56.0, 54.7 y 52.2%) y tampoco de FDN (54.4, 55.8 y 51.9%) y PB (43.0, 44.1 and 50.6%). Ambos residuos fermentados fueron inestables al exponerse a condiciones aeróbicas, el EP después de 1 d, luego de fermentarse por 29 d y EC después de 3 d, luego de fermentarse por 65d. Los resultados combinados del proceso fermentativo y la prueba de alimentación *in vivo* indican que la producción de ensilajes es una alternativa viable y potencialmente beneficiosa para la disposición de residuos orgánicos de plantas procesadoras de las frutas de piña y china. El periodo de fermentación prolongado (2 meses) ayuda a retrasar el deterioro aeróbico del ensilaje luego de abrir el silo.

A

MI HERMANO MAYOR FAVORITO

Roberto Hiram Pagán Riestra

y

MI HERMANO MENOR FAVORITO

Adrián Gerardo Pagán Riestra

Agradecimientos

Primeramente quiero agradecer a Dios, por ser mi continua fortaleza en cada meta que me propongo y por brindarme la sabiduría para entender las situaciones que me presenta la vida.

A mis padres Ruth E. Riestra Arroyo y Roberto Pagán Cruz, quiero agradecerles con todo mi corazón, por todos estos años de educación y sobre todo apoyo incondicional. También mi más profundo agradecimiento a mis dos queridos hermanos, Roberto H. Pagán Riestra y Adrián G. Pagán Riestra; siempre han estado dispuestos a brindarme apoyo y ayuda en cada trabajo que realizo. Gracias a mis abuelos Carmen Cruz Jiménez y Roberto Pagán Quiñónez, su eterno cariño, oraciones y ayuda han significado mucho para mí.

No puedo olvidar a mi querida amiga Elsa Y. Aguilar Meza, desde la distancia siempre has estado dispuesta a escucharme y ayudarme. Gracias por tomarte el tiempo de revisar este trabajo y por supuesto reírte de mis anécdotas del Laboratorio de Nutrición. También quiero agradecer a tu familia, Iraís Aguilar (dear roommate!!!), Sra. María Meza y Sr. José Aguilar, gracias por su apoyo durante todos estos años.

A todos ustedes, mi familia, nuevamente les quiero agradecer por todo su tiempo y ayuda que me han dedicado, no solo durante estos últimos dos años, sino por los anteriores. Gracias, por entender mi gran interés y atracción por esta carrera.

Debo agradecer también a mis profesores:

El Dr. Abner A. Rodríguez Carías, gracias por permitirme trabajar con usted. Además quiero agradecerle por el tiempo que dedicó a aclarar mis dudas y más aún por su infinita paciencia.

Dr. Elide M. Valencia Chin, gracias por las oportunidades en investigaciones que me brindó. No puedo pasar por alto su sentido de humor, el cual me ha enseñado mucho.

Miles de gracias a ustedes, por todas las oportunidades que me brindaron, por ser mis mentores y por ser amigos a la vez.

Dr. Paul Randel Folling, gracias por aceptar ser parte de mi comité graduado y por dedicar tiempo en la corrección de este documento.

Quiero agradecer a una amiga y compañera de trabajo muy especial, Rebeca Sanabria León. Siempre has estado dispuesta a ayudar en lo que sea y a la hora que sea, gracias por eso; por las largas horas en el Laboratorio de Nutrición realizando análisis, haciendo asignaciones para el curso de SAS, por recibir la lluvia de residuos de china, fueron demasiadas cosas...y claro por estar en los momentos buenos y los no tan buenos. Otros compañeros que ayudaron durante mis experimentos fueron: Damaris Merced, definitivamente la mejor ayudante, gracias por aceptar el trabajo durante mi experimento de consumo y digestibilidad, tu excelente trabajo y humor, además de “Beetlejuice” y “Nimbus 2000” hicieron una gran diferencia. Debo agradecer la ayuda de los estudiantes voluntarios del curso básico de nutrición en el primer semestre del año académico 2004, durante el experimento de consumo y digestibilidad. A Jonael Bosques, gracias por ayudarme en la búsqueda de mis residuos de china. Joel Sud, gracias por tu amistad y brindarme ayuda con mis trabajos, en especial los viajes a Coamo en busca de “sludge”.

Gracias a Héctor L. Díaz Ríos por coordinar la obtención de los residuos de piña para mi experimento. Además quiero agradecer al Sr. Horacio Ramírez de la planta procesadora Jugos Festival en Santa Isabel, de igual forma, gracias al Sr. Aquino de la planta procesadora Cítricos de la Montaña en Lares por brindar los residuos de piña y china, respectivamente. Gracias por donar de su tiempo para explicarme el procesamiento

de jugo en sus plantas. Al Sr. Serrano debo agradecer el préstamo de 10 de sus ovinos para la realización de uno de mis experimentos.

Aprovecho la oportunidad para agradecer a la Sra. Jackeline Rivera, secretaria del Departamento de Industria Pecuaria. Jackie, gracias por las miles de copias y sin número de favores que me hiciste y claro, todo siempre con una grata sonrisa. A todo el personal del Departamento de Industria Pecuaria y otras áreas de la facultad de Ciencias Agrícolas en especial al Sr. Hiram Vélez, Sr. Miguel Rivera, Sr. Jaime Reyes, administrador de la Finca Alzamora, Dr. Héctor Santiago administrador de la Estación Experimental Agrícola en Lajas, Agro. Claudia Olaya, administradora de la Granja en Lajas, Agro. Elvin Ronda, gracias por la ayuda brindada para mis experimentos u otras tareas durante todo el tiempo en mi maestría.

Gracias a todas las personas que directa o indirectamente contribuyeron con su tiempo, materiales, explicaciones y ayuda a través de estos últimos años.

Una vez más, ¡MIL GRACIAS!

Tabla de contenido

Contenido	Página
Abstract	ii
Resumen	iv
Dedicatoria	vi
Agradecimientos	vii
Tabla de contenido	x
Lista de cuadros	xii
Lista de figuras	xiii
Apéndice	xiv
1.0. Introducción	1
1.1. Objetivos	3
2.0. Revisión de literatura	4
2.1. Producción de rumiantes en el trópico	4
2.2. Consumo voluntario en rumiantes	5
2.3. Suplementación animal	7
2.4. Residuos orgánicos	8
2.5. Fermentación anaeróbica de residuos orgánicos	12
2.5.1. Microorganismos asociados al proceso de fermentación anaeróbica	13
2.5.2. Etapas del proceso de fermentación anaeróbica	14
2.6. Utilización de residuos orgánicos fermentados en la alimentación animal	16
3.0. Materiales y Métodos	18

Contenido	Página
3.1. Experimento I: Caracterización del proceso fermentativo	18
3.2. Experimento II: Prueba de consumo voluntario y digestibilidad aparente de nutrimentos	21
3.3. Experimento III: Estabilidad aeróbica de residuos fermentados	24
3.4. Diseños experimentales y análisis estadísticos	24
3.4.1. Experimento I: Caracterización del proceso fermentativo	24
3.4.2. Experimento II: Prueba de consumo voluntario y digestibilidad aparente de nutrimentos	25
3.4.3. Experimento III: Estabilidad aeróbica de residuos fermentados	26
4.0. Resultados y discusión	27
4.1. Experimento I: Caracterización del proceso fermentativo	27
4.2. Experimento II: Prueba de consumo voluntario y digestibilidad aparente de nutrimentos	36
4.3. Experimento III: Estabilidad aeróbica de residuos fermentados	40
5.0. Conclusiones	54
6.0. Implicaciones	55
7.0. Referencias	56
8.0. Apéndice	62

Lista de cuadros

Cuadro	Página
Cuadro 1. pH, poblaciones microbianas y composición química de los residuos frescos de plantas procesadoras de piña y china.	28
Cuadro 2. Efecto del periodo de fermentación sobre el pH, poblaciones microbianas, composición química y productos de fermentación de residuos de piña.	31
Cuadro 3. Efecto del periodo de fermentación sobre el pH, poblaciones microbianas, composición química y productos de fermentación de residuos de china.	33
Cuadro 4. Composición química de los ingredientes utilizados en el ensayo de consumo y digestibilidad aparente de nutrimentos.	37
Cuadro 5. Consumo voluntario de nutrimentos en heno de gramíneas tropicales sustituido parcialmente por ensilaje de piña y ensilaje de china.	38
Cuadro 6. Digestibilidad aparente porcentual de nutrimentos en heno de gramíneas tropicales sustituido parcialmente por ensilaje de piña y ensilaje de china.	39
Cuadro 7. Efecto del periodo de exposición aeróbica del ensilaje de piña sobre el pH y poblaciones de microorganismos.	44
Cuadro 8. Efecto del periodo de exposición aeróbica del ensilaje de china sobre el pH y poblaciones de microorganismos.	45

Lista de figuras

Figuras	Página
Figura 1. Residuos orgánicos provenientes de una planta procesadora de piña.	19
Figura 2. Residuos orgánicos provenientes de una planta procesadora de china.	19
Figura 3. Ovinos en jaulas metabólicas.	23
Figura 4. Recolección de alimento rechazado y heces.	23
Figura 5. Efecto del tratamiento sobre la materia seca consumida diariamente como porcentaje del peso vivo del animal.	39
Figura 6. Efecto del periodo de exposición aeróbica sobre la temperatura del ensilaje de piña.	46
Figura 7. Efecto del periodo de exposición aeróbica sobre la temperatura del ensilaje de china.	46
Figura 8. Efecto del periodo de exposición aeróbica sobre el porcentaje de ensilaje de piña recuperado fermentado 29 y 65 días.	48
Figura 9. Efecto del periodo de exposición aeróbica sobre el porcentaje de ensilaje de china recuperado fermentado 29 y 65 días.	49
Figura 10. Ensilaje de piña fermentado 29 días y expuesto a condiciones aeróbicas durante 0, 1 y 5 días.	50
Figura 11. Ensilaje de piña fermentado 65 días y expuesto a condiciones aeróbicas durante 0, 1, 3 y 5 días.	51
Figura 12. Ensilaje de china fermentado 29 días y expuesto a condiciones aeróbicas durante 0, 1, 3 y 5 días.	52
Figura 13. Ensilaje de china fermentado 65 días y expuesto a condiciones aeróbicas durante 0, 1 y 3 días.	53

Apéndice

Apéndice	Página
Apéndice 1. Consumo de MS de forraje y ensilajes de frutas fermentadas y peso vivo de corderos alimentados con HGTN.	62
Apéndice 2. Consumo de FDN de forraje y ensilajes de frutas fermentadas por corderos alimentados con HGTN.	63
Apéndice 3. Consumo de PB de forraje y ensilajes de frutas fermentadas por corderos alimentados con HGTN.	64

1.0. Introducción

En Puerto Rico, las industrias que se dedican al procesamiento de alimentos generan como resultado de sus operaciones residuos orgánicos que se disponen comúnmente en tierra (relleno sanitario). Este tipo de residuos tienen en su mayoría un alto contenido de humedad y de no procesarse para su conservación, sufren descomposición, generando efluentes que lixivian los nutrientes presentes convirtiéndolos en potenciales contaminantes del suelo y de los acuíferos.

La empresa Campo Fresco, localizada en el municipio de Santa Isabel en el área sur de la Isla, es una fábrica procesadora que enlata y elabora jugo de piña, generando a la vez alrededor de 45 toneladas semanales de residuos orgánicos que incluyen la cáscara, pulpa y hoja, además del agua de limpieza de la maquinaria. En la zona central de Puerto Rico, en el municipio de Lares, se encuentra Cítricos de la Montaña Inc., empresa que procesa china para elaboración de jugo y que genera aproximadamente 35 toneladas semanales de residuos que incluyen la cáscara, pulpa y semilla. Actualmente, ambos residuos orgánicos son adquiridos por ganaderos para incluirlos en estado fresco en dietas de vacunos para carne y leche. Sin embargo, debido a su inestabilidad aeróbica, el uso de estos residuos se limita a periodos menores de 24 horas, lo que los convierte en potenciales contaminantes ambientales. Es necesario evaluar métodos para la conservación de los nutrientes presentes en estos residuos orgánicos y su subsiguiente utilización en dietas para animales.

Asimismo, la producción de rumiantes (vacunos para carne, ovinos y caprinos) en Puerto Rico depende de sistemas de pastoreo que se caracterizan por praderas de gramíneas de baja calidad y poca disponibilidad de material vegetativo durante las épocas

secas del año (Sotomayor-Ríos y Pitman, 2001). Estas condiciones generan la necesidad de sustituir el escaso forraje de pastoreo por fuentes forrajeras alternas y/o suplementar a las dietas de los animales con fuentes de energía y proteína de otros tipos para satisfacer sus requerimientos nutricionales. La sustitución de forrajes mediante la suplementación energética-proteica, se ha popularizado entre productores caprinos y ovinos de la Isla, sin embargo, en muchos casos se utilizan para este propósito concentrados comerciales formulados con ingredientes importados (harina de soya, maíz y trigo, entre otros), que aumentan los costos de producción.

Esta investigación se diseñó con el objetivo de caracterizar el proceso fermentativo de ensilajes de residuos orgánicos de plantas procesadoras de china (*Citrus sinensis*) y piña (*Ananas comosus*) y evaluar su inclusión como sustituto parcial de forraje en dietas para ovinos. La estabilidad aeróbica de los residuos fermentados también fue evaluada.

1.1. Objetivos

- Determinar el pH, la sucesión microbiana, cambios en composición química y productos de fermentación de ensilaje de residuos orgánicos de plantas procesadoras de piña (*Ananas comosus*) y china (*Citrus sinensis*).
- Evaluar la inclusión de ensilaje de residuos orgánicos de plantas procesadoras de piña y china en el consumo voluntario y la digestibilidad aparente de nutrimentos de dietas basadas en heno de gramíneas tropicales naturalizadas.
- Determinar la estabilidad aeróbica de ensilaje de residuos orgánicos del procesamiento de piña y china.

2.0. Revisión de literatura

2.1. Producción de rumiantes en el trópico

Los mamíferos son incapaces de digerir los componentes que forman la fibra que se encuentra en los forrajes (ya sean de gramíneas, leguminosas u otras familias de plantas). Sin embargo, los rumiantes a través de su simbiosis con diversos microorganismos presentes en el complejo retículo-rumen, pueden utilizar la fibra vegetal como una fuente de energía. A partir de esta simbiosis es que surge la importancia de los forrajes en la producción animal con rumiantes.

En el trópico caribeño, los sistemas de producción pecuaria animal (ganado vacuno, caprino y ovino) dependen principalmente de pastoreo de gramíneas tropicales naturalizadas (GTN). Las plantas (incluyendo especies forrajeras) pueden ser clasificadas de acuerdo a la ruta metabólica utilizada para su fotosíntesis; a aquellas cuyo primer producto metabólico se compone de tres átomos de carbono se conocen como plantas C_3 y a las que generan un producto de cuatro carbonos como plantas C_4 . Las plantas C_4 , como son las GTN, tienen una mayor eficiencia en la fotosíntesis y crecimiento al compararse con leguminosas y gramíneas de zonas templadas (C_3) (Sotomayor-Ríos y Pitman, 2001). Como alimento para rumiantes, las gramíneas tropicales se caracterizan por un bajo contenido de proteína bruta y alto contenido de fibra. La fibra dietética se requiere para mantener el funcionamiento normal del complejo retículo-rumen (Van Soest, 1994). Sin embargo, altos contenidos de compuestos fibrosos indigeribles (como lignina) y de nitrógeno insoluble en detergente ácido (ADIN) afectan el valor nutritivo, por lo que las gramíneas tropicales generalmente no satisfacen todos los requisitos nutricionales de los animales en producción (Humphreys, 1994; Van Soest, 1994).

Asimismo, las condiciones climatológicas de los trópicos, como su distribución variable de precipitación pluvial (que resulta en épocas de sequía y suelos de baja fertilidad), afectan la disponibilidad del forraje fresco a través del año (Sotomayor-Ríos y Pitman, 2001). Por estas y otras razones, en el trópico se hace necesaria la conservación de forrajes y la suplementación animal.

2.2. Consumo voluntario en rumiantes

El consumo voluntario de alimentos en animales de la finca representa una de las características más importante en la producción animal (Poppi *et al.*, 1994). Este se define como la cantidad de materia seca ingerida cada día cuando se les ofrece a los animales alimento en exceso (Minson, 1990). El mismo puede estar afectado por varios factores asociados al animal, a las características del alimento o a condiciones ambientales.

Factores asociados al animal

La retroalimentación a nivel de los centros de control nervioso por distensión gastrointestinal es uno de los mecanismos que puede limitar el consumo. Se considera que su importancia es en el control del consumo a largo plazo entre comidas. Tanto en la pared del retículo como el saco craneal del rumen se encuentran receptores de tensión que envían señales al hipotálamo para controlar el llenado del rumen y por lo tanto el consumo. Según Fisher (2002), la distensión del rumen no debe considerarse aisladamente de otros mecanismos de retroalimentación que puedan explicar el control del consumo.

Según el concepto de la retroalimentación quimiostática o metabólica en el control del consumo un desbalance en metabolitos (por ejemplo, proteína y energía) es el resultado de la interacción entre la absorción de nutrimentos y el metabolismo del animal, mediados por diversas hormonas (Poppi *et al.*, 1994). Todas las señales así generadas se interpretan en el hipotálamo, el cual determina cuando el animal debe comenzar o detener el consumo.

Las principales características del comportamiento asociadas al consumo se describen en términos del proceso de saciado y la motivación a comer. La tasa inicial del consumo representa la motivación a ingerir el alimento y la correspondiente reducción en el proceso de saciedad (Baumont *et al.*, 2000). Las experiencias tempranas en el desarrollo del rumiante en cuanto a la alimentación también contribuyen a explicar el comportamiento de consumo (Provenza, 1995).

Factores asociados al alimento

Las características físicas (tamaño de partículas) y químicas (concentración de energía, proteína, pared celular y compuestos anti-nutricionales) de los alimentos también afectan el consumo. Una de las características más evaluadas sobre todo en los forrajes es la concentración de pared celular. Esta ha sido relacionada negativamente con el consumo en los rumiantes (Jung y Allen, 1995), ya que contribuye al llenado del rumen.

Factores asociados al ambiente

La temperatura ambiental también ejerce un efecto sobre el consumo de alimento por los animales. Esto es de mayor importancia en sistemas de producción en el trópico. Cuando la temperatura ambiental es alta o el metabolismo del animal es ineficiente y

convierte la energía en calor corporal, el animal tiende a reducir el consumo de alimento para mantener su homeostasis termal.

2.3. Suplementación animal

La suplementación tiene como fin proveer a los animales los nutrimentos que son limitantes en su dieta basal, para así lograr una mejor producción animal. Para optimizar la eficiencia de la suplementación, se deben seleccionar juiciosamente los animales a suplementar, el periodo cuando más lo necesitan y el tipo de suplemento a utilizar, todo esto con el fin de que el proceso resulte económicamente rentable al productor (Ortiz, 2002; Canton y Dhuyvetter, 1997). Además, se deben tener presentes los siguientes criterios; suplir a los microorganismos del rumen con nutrimentos esenciales para optimizar la utilización del forraje disponible; y proveer a los rumiantes nutrimentos que el proceso de fermentación ruminal no es capaz de suplir en forma adecuada (Ferrel *et al.*, 1999; Phillips *et al.*, 1995). Al suplementar con fuentes de energía suele ocurrir una reducción en el tiempo de pastoreo de los animales, ya que se reduce la demanda de energía para realizar el trabajo de pastoreo (Adams, 1985).

Algunos de los recursos alimentarios más comúnmente utilizados como suplementos energéticos-proteicos son melaza de caña, urea y residuos de cosechas o del procesamiento de alimentos para consumo humano. Estos materiales pueden ser añadidos directamente al forraje a ofrecer a los animales o se pueden incorporar en bloques multinutricionales. La composición de los bloques multinutricionales es variable, dependiendo lógicamente de los recursos disponibles para prepararlos, pero en muchos casos se utilizan residuos de procesamiento de alimentos para consumo humano, melaza, como fuente de carbohidratos solubles y urea, como fuente de nitrógeno no proteico.

También se les pueden añadir vitaminas y minerales (Ben Salem y Nefzaoui, 2003). Al ser ofrecidos a caprinos y ovinos alimentados con una ración basal de forrajes de baja calidad, estos bloques pueden sustituir a los concentrados típicamente usados, sin afectar el desempeño de los animales y reduciendo el costo de alimentación (Ben Salem y Nefzaoui, 2003).

2.4. Residuos orgánicos

En zonas tropicales se genera una gran variedad de residuos orgánicos de origen vegetal (residuos de cosechas) y animal (residuos del procesamiento de pescado y animales de finca) (Chedly y Lee, 2004; Bistanji *et al.*, 2000; Ha *et al.*, 1996). En los últimos años, con el objetivo de reducir los costos de producción que conlleva el disponer de estos residuos orgánicos y la contaminación ambiental, se ha generado interés en evaluarlos como alternativa a los ingredientes convencionales utilizados en dietas para animales domésticos. Para su inclusión eficaz en la alimentación animal es necesaria la caracterización de su valor nutritivo en términos de: composición química, consumo voluntario, digestibilidad, eficiencia de utilización de nutrimentos absorbidos y posible presencia de compuestos anti-nutricionales; además, de conocer el volumen y periodo de su producción (Haro y Martínez, 2004). Algunos granos de cereales o residuos orgánicos de éstos han sido evaluados como suplemento, incluyendo residuos del procesamiento de trigo, soya, maíz y arroz. En un estudio relacionado, se encontró que al suplementar residuos de trigo, soya o gluten de maíz al 1% diario del peso vivo de cabros castrados consumiendo heno de gramíneas como ración basal, no se afectó el consumo de la MS, ni la tasa de ganancia en peso de los animales (Moore *et al.*, 2002). Sin embargo, en

caprinos suplementados con soya, el peso de la canal fue mayor (16.0 vs. 15.6, 15.3 y 14.5 kg) que en aquellos suplementados con residuos de trigo, gluten de maíz, o en animales sin suplementar, respectivamente.

Los residuos del procesamiento de frutas también representan una fuente de alimento para la producción animal (Chedly y Lee, 2004; Bistanji, *et al.*, 2000; Crickenberger y Carawan, 1996). Durante el procesamiento de china y otras frutas cítricas se genera un residuo llamado pulpa de cítricos, el cual se compone típicamente de la cáscara (60-65%), pulpa (30-35%) y semillas (0-10%) y representa el 60% del peso fresco de la fruta (Pascual y Carmona, citado por Ha *et al.*, 1996). La composición química tanto del residuo fresco como procesado varía de acuerdo a la especie de la fruta, época de cosecha y tipo de procesamiento. En términos generales, estos residuos se caracterizan por su alto contenido de pectinas y aporte de energía, razón por la cual se han utilizado en dietas para vacas lecheras (Assis *et al.*, 2004; Wing, 1982) y en vacunos para producción de carne (Peacock y Kirk, 2003; Navamuel *et al.*, 2002). Además, la pulpa de cítricos se utiliza como ingrediente en mezclas de alimentos concentrados y tiene propiedades de equivalencia al forraje, ya que contribuye a mantener niveles altos de acetato y pH neutro en el rumen, previniendo desórdenes metabólicos asociados a raciones deficientes en fibra (Peacock y Kirk, 2003). Al sustituir harina de maíz por pulpa de cítricos en una ración que incluyó, además, harina de semilla de algodón, alfalfa y heno de pangola, no se afectaron las ganancias de peso de novillos de engorde (Peacock y Kirk, 2003). El reemplazo de 10% de la MS en la ración total por pulpa de cítricos seca en ovejas lactantes, no afectó la producción de leche ni su composición, sin embargo, se observó un aumento en la digestibilidad de la fibra (Fegeros *et al.*, 1995). Además, se ha

recomendado la adición de pulpa de cítricos en la preparación de ensilaje de forrajes donde sirve como fuente de energía, material absorbente y substrato para la fermentación microbiana (Wing, 1982).

Otro residuo orgánico utilizado en raciones de rumiantes es la pulpa de piña. Al procesar la piña ya sea para jugo o enlatado, se generan residuos que se componen de la cáscara, las hojas y parte de la pulpa. Su característica más notable es su alto contenido de fibra, por lo que es utilizado como sustituto del forraje (Ba Mui *et al.*, 2001; Huber, 1981). Lousada *et al.* (2005) evaluaron el consumo voluntario y la digestibilidad aparente de nutrimentos en varios residuos orgánicos del procesamiento de frutas secadas al sol, los cuales fueron ofrecidos como única fuente de alimento a ovinos. Los residuos orgánicos de piña evaluados en este estudio mostraron consumos diarios de MS, FDN y PB de 924.2, 670.6 y 75.3 g/animal, respectivamente, mientras que los correspondientes porcentajes de digestibilidad aparente fueron de 47.5, 29.0 y 50.8.

Entre los residuos orgánicos de origen animal se incluyen la gallinaza y residuos de operaciones procesadoras de camarón. Se denomina gallinaza al residuo orgánico de la industria avícola compuesto de las heces, la camada y en menor parte, residuos de plumas y del alimento desperdiciado. Este material se ha evaluado ampliamente como suplidor de nitrógeno no proteico en rumiantes. En un estudio de Mahouachi *et al.* (2003) la suplementación de nitrógeno, utilizando gallinaza, urea o harina de soya, en ovinos alimentados con ensilaje de avena, causó una reducción en el consumo del ensilaje, pero aumentó el consumo total de MS. Además, se observó una reducción en la concentración de N-amoniaco en el rumen y mayor consumo de ensilaje de avena al usar gallinaza, relativo a los otros suplementos evaluados. También, se ha utilizado la gallinaza para

preparar mezclas a ofrecer como suplemento a vacuno para carne. Casas *et al.* (2000) suplementaron con una mezcla de gallinaza, melaza, maíz y pre-mezcla de vitaminas y minerales a toros pastoreando a niveles bajos y moderados de carga animal en predios de pasto guinea. La suplementación produjo 153.6 y 55.2 kg más de ganancia en peso vivo por hectárea relativo al pastoreo sin suplementación.

Los residuos de camarón, surgen como resultado de su procesamiento para consumo humano. Se compone de las cabezas, caparazón y cola de los camarones, los cuales pueden representar más del 33% del camarón fresco. Recientemente, se evaluó en ovinos el efecto de la sustitución de concentrado comercial por harina de residuos de camarón sobre el consumo voluntario y digestibilidad de nutrimentos de HGT. Se encontró que el consumo de PB fue mayor cuando se ofreció harina de residuos de camarón que concentrado comercial. Sin embargo, no se encontraron diferencias en el consumo de FDN y digestibilidad de PB y FDN (González, *et al.* 2005).

Una desventaja en la utilización de la mayoría de los residuos orgánicos como ingrediente fijo en dietas para animales domésticos es su disponibilidad estacional y su alto contenido de humedad, lo que los convierte en compuestos altamente perecederos. Se han evaluado diversos métodos físico-químicos para conservar los nutrimentos de estos residuos. Entre ellos, están la deshidratación y la acidificación directa. La deshidratación es un proceso muy utilizado en el manejo de residuos orgánicos, sin embargo, el alto costo de la maquinaria y los combustibles lo hace en muchos casos económicamente no viable. Además, los métodos físico-químicos son generalmente inaccesibles a nivel de producción. La acidificación directa ocasiona problemas de corrosión en las estructuras utilizadas para la preservación del residuo orgánico, además, de problemas de seguridad

personal para los empleados. En vista de las desventajas citadas, la digestión anaeróbica o preparación de ensilaje es una alternativa real, ya que se puede utilizar el residuo húmedo y es relativamente fácil de llevar a cabo (Chedly y Lee, 2004).

Una ventaja de la fermentación anaeróbica, como método para el manejo de residuos orgánicos, es el bajo costo de producción. Además, los ensilados resultantes se pueden utilizar como suplemento en la alimentación del ganado en pastoreo durante épocas de sequía son generalmente apetecible y la fermentación reduce o elimina la presencia de compuestos tóxicos y microorganismos no deseables que pueden haber estado presentes en el residuo orgánico fresco (Chedly y Lee, 2004).

2.5. Fermentación anaeróbica de residuos orgánicos

La fermentación anaeróbica de residuos orgánicos (producción de ensilajes) es un método comúnmente utilizado para la preservación de sus nutrientes (Kung, 2000; Rees, 1997; McDonald, 1981). El ensilaje se define como un material preservado por ácidos orgánicos (principalmente el ácido láctico) producidos por microorganismos en ambientes anaeróbicos (Woolford, 1984). Para que una fermentación sea efectiva se requiere una proporción de materia seca adecuada (aproximadamente 40%), ya que el exceso de materia seca dificulta la compactación del material y por lo tanto la exclusión del oxígeno. Otras condiciones indispensables, son un medio acuoso óptimo para el crecimiento de bacterias productoras de ácido láctico (BPAL) deseables (Kung, 2000); y un contenido mínimo entre 6 a 8% de carbohidratos solubles en agua (CSA), los cuales sirven de fuente de energía para las BPAL durante el proceso de fermentación (McDonald, 1981).

2.5.1. Microorganismos asociados al proceso de fermentación anaeróbica

Al igual que en la producción de forrajes conservados en forma de ensilaje, durante la fermentación de los residuos orgánicos es necesaria la presencia de ciertos microorganismos en el material a fermentar. La microflora asociada con el proceso fermentativo se clasifica en microorganismos deseables e indeseables (Oude Elferink *et al.*, 2004; Woolford, 1984; McDonald, 1981). Las BPAL constituyen el grupo de microorganismos deseados ya que tienen la habilidad de fermentar CSA generando como principal producto el ácido láctico, el ácido orgánico que más contribuye a la preservación del material. Estas bacterias se encuentran como microorganismos epifíticos en tejidos vegetales frescos e incluyen los géneros *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* y *Streptococcus* (McDonald, 1981). Las BPAL se dividen en tipo homofermentativos y heterofermentativos. Los homofermentativos, a su vez, se subdividen en homofermentativos obligados, que son bacterias capaces de degradar hexosas pero no pentosas y cuyo producto de fermentación es mayormente ácido láctico; y fermentadoras facultativas que también producen ácido láctico a partir de las hexosas, pero que también pueden degradar algunas pentosas con producción de ácido láctico, ácido acético y etanol. Las bacterias homofermentadoras obligadas son las más deseables durante el proceso de fermentación por su alta producción de ácido láctico. Las BPAL heterofermentativos degradan tanto hexosas y pentosas, generando cantidades equimolares de ácido láctico, CO₂, ácido acético y etanol.

Los coliformes, clostridios, hongos y levaduras son considerados microorganismos indeseables asociados con el proceso fermentativo. Los coliformes son clasificados como anaeróbicos facultativos y no patogénicos. Requieren un pH neutral

para su crecimiento óptimo, por lo cual se asocian a las etapas iniciales de la fermentación. Compiten con las BPAL por las azúcares y pueden degradar proteínas (Woolford, 1984; McDonald, 1981). Sin embargo, una vez comienzan a proliferar las BPAL y por consiguiente la producción de ácido láctico, las poblaciones de coliformes se reducen.

Los clostridios son bacterias anaeróbicas formadoras de endosporas. Al igual que los coliformes, fermentan carbohidratos y proteínas. Además, producen toxinas que pueden causar problemas de salud a los animales que consumen el ensilaje contaminado. Un material a fermentarse con alta humedad provee un ambiente propicio para los clostridios, resultando en una fermentación con alto contenido de ácido butírico. La población de clostridios se puede controlar monitoreando la humedad del material fresco y durante la fermentación, con la reducción de pH a causa del aumento en la actividad de las BPAL. Contrario a otros microorganismos asociados al proceso fermentativo, los clostridios no se encuentran en el material vegetativo fresco y su presencia en el ensilaje ocurre como contaminación con suelo o heces de animales.

Los hongos son microorganismos eucarióticos aeróbicos capaces de fermentar azúcares para obtener energía. Las levaduras también son eucariotas, pero unicelulares. Estos microorganismos compiten con las BPAL por los carbohidratos, los cuales fermentan a etanol y están asociados al deterioro aeróbico del material ya fermentado.

2.5.2. Etapas del proceso de fermentación anaeróbica

La fermentación anaeróbica de los residuos orgánicos ocurre de forma similar a la

observada en la producción de ensilaje de pastos y forrajes, proceso que podemos dividir en 5 etapas:

Etapa aeróbica: el oxígeno que queda aún atrapado entre el material vegetativo fresco a fermentar se reduce debido a la respiración celular de la célula vegetal y la actividad de microorganismos aeróbicos y facultativos. El valor de pH se mantiene similar al del material fresco.

Etapa de fermentación: Comienza cuando se logran las condiciones anaeróbicas en el silo. La duración de este periodo depende de las características del material original ensilado (composición química) y de las condiciones del silo. La población de BPAL comienza a dominar el proceso fermentativo, aumenta la producción de ácido láctico y se reduce el pH.

Etapa estable: Mientras prevalecen condiciones anaeróbicas, el material fermentado permanece estable. Las poblaciones microbianas decrecen y se tornan mayormente inactivas y sólo permanecen microorganismos tolerantes a condiciones ácidas, como por ejemplo BPAL (*Lactobacillus*) y levaduras que utilizan ácido láctico.

Etapa de alimentación: Esta etapa comienza tan pronto se expone el material fermentado a condiciones aeróbicas.

Estabilidad aeróbica: Se entiende por este término, la respuesta esperada del alimento fermentado en términos de deterioro a través del tiempo al ser expuesto a condiciones aeróbicas. Alimentos fermentados expuestos al aire se deterioran a consecuencia de la degradación de ácidos orgánicos (ácido láctico) por levaduras, microorganismos aeróbicos y en menor grado por bacterias productoras de ácido acético (Rees, 1997). Durante el deterioro aeróbico, el pH y la temperatura del material fermentado aumentan,

disminuyendo el valor nutritivo y se afecta el consumo voluntario de los animales (Rees, 1997; McDonald, 1981).

La estabilidad aeróbica de un ensilaje, es decir el tiempo que permanece el material estable al aire, se puede monitorear por los cambios en poblaciones microbianas, acidez y temperatura, aumentando ésta como resultado del calor generado por el metabolismo de los microorganismos (Weinberg *et al.*, 2001; Rees, 1997). Además, durante el deterioro aeróbico de alimentos fermentados se reducen las cantidades de CSA presentes y ocurre proteólisis. Algunos de los métodos que se pueden utilizar para minimizar el deterioro aeróbico, son la acidificación del ensilaje y el uso de antibióticos para controlar los microorganismos o inóculos que tengan capacidad anti-microbiana (Rees, 1997; Sanderson, 1993).

2.6. Utilización de residuos orgánicos fermentados en la alimentación animal

La utilidad de residuos orgánicos de origen animal fermentados y utilizados como suplemento en dietas para pequeños rumiantes, basadas en forrajeras gramíneas o leguminosas, ha sido evaluada recientemente con resultados positivos (Díaz, 2004; León, 2003). El suplementar ovinos con ensilaje de residuos provenientes del procesamiento de tilapia y ofrecidos al 0.9 % diario del peso vivo de los animales no afectó el consumo voluntario ni la digestibilidad aparente de nutrimentos en dietas basadas en HGTV y maní forrajero, por lo cual representa una alternativa para proveer proteína a los pequeños rumiantes (Díaz, 2004). En otro experimento con ovinos (León, 2003) se evaluó la suplementación con residuos fermentados de la producción de filete de tilapia y con lodos fermentados de la industria atunera. Ambos residuos fermentados, se ofrecieron al 30%

del consumo estimado de MS de los animales, evaluándose su inclusión sobre el consumo voluntario y digestibilidad aparente de nutrimentos en dietas basadas en HGTN o ensilaje de sorgo. La inclusión dietética de ambos residuos fermentados, aumentó el consumo de ambos forrajes en ovinos y tendió a aumentar la digestibilidad aparente de la MS y PB del HGTN y la digestibilidad de la FDN del ensilaje de sorgo.

Los residuos orgánicos de origen vegetal fermentados, también han sido utilizados en la alimentación de rumiantes. La suplementación de una dieta basal de ensilaje de avena con distintos niveles de residuos del procesamiento del té verde (0, 50 y 200g/kg de avena ensilada) ofrecida *ad libitum* a cabros no afectó el consumo voluntario de MS, ni la digestibilidad de MS, FDN y FDA, pero se observó un aumento en la digestibilidad de la PB y en la retención de N (Kondo *et al.*, 2004). Otro estudio (Gutiérrez *et al.*, 2003) demostró que el ensilaje de piña tiene una degradabilidad *in vitro* de MS de 82.30%, lo que indica que la fibra es altamente degradable en el rumen, y esto favorecería el consumo. Do Prado *et al.* (2003) informaron que se puede sustituir de un 20 a 60% del ensilaje de maíz por ensilaje de piña en toros en confinamiento sin afectar de forma adversa el desempeño animal, la conversión alimenticia o el rendimiento de la canal. También, se observó que ofrecer al ganado caprino ensilajes de pulpa de parcha y pasto elefante en las dos proporciones de 75-25 y 50-50, favoreció la digestibilidad aparente de la MS y PB del pasto elefante (Reis *et al.*, 2000).

3.0. Materiales y Métodos

3.1. Experimento I: Caracterización del proceso fermentativo

La preparación y la caracterización del proceso fermentativo de los ensilajes de residuos orgánicos provenientes de plantas procesadoras de piña y china se realizaron en las facilidades del Laboratorio de Nutrición Animal del Recinto Universitario de Mayagüez. Los residuos orgánicos se obtuvieron de las empresas “Campo Fresco” (piña, Figura 1) y “Productores de Cítricos de la Montaña Inc.” (china, Figura 2) localizadas en los municipios de Santa Isabel y Lares, Puerto Rico, respectivamente. Los residuos orgánicos de cada fruta fueron ensilados el mismo día de su producción en las facilidades de cada planta procesadora. Estos residuos consistían de todo el material sobrante después de procesar la fruta entera para la producción de jugos y frutas enlatadas. Los residuos de piña incluían la cáscara, pulpa y pedazos de la corona, mientras que los residuos de china incluían la cáscara, pulpa y semillas. Para fermentar cada residuo orgánico, se utilizaron 15 micro-silos de laboratorio contruidos con PVC con una capacidad aproximada de 3 kg. Los micro-silos estaban provistos con válvulas para la liberación de gases y se mantuvieron a temperatura ambiente (28-30°C) durante todo el proceso de fermentación.

Muestras en triplicado de cada residuo orgánico fueron recolectadas después de 6 periodos de fermentación (0, 4, 7, 11, 29 y 65 días) y analizadas para determinar pH, sucesión microbiana, composición química y productos de fermentación. Para la determinación de pH, se preparó una solución de fosfato de potasio (KH_2PO_4) al 3.4% y de esta solución se utilizó 1.25ml diluidos en 1L de H_2O para homogenizar las muestras. Se mezclaron 450ml de la solución de KH_2PO_4 con 50g (10:1) de cada residuo orgánico



Figura 1. Residuos orgánicos provenientes de una planta procesadora de piña.



Figura 2. Residuos orgánicos provenientes de una planta procesadora de china.

correspondiente a cada periodo de fermentación, en bolsas plásticas estériles provistas de filtro y se homogenizaron durante 2 minutos (Stomacher 3500). El extracto de la solución homogenizada y filtrada se utilizó para determinar el pH con un medidor de pH equipado con un electrodo de combinación (pH/Ion 510, Eutech Instruments/ Oakton Instruments), estandarizado con soluciones amortiguadoras comerciales de pH 4 y 10 (Fischer Scientific).

Para enumerar la sucesión microbiana, el extracto de cada muestra fue diluido en serie (10^{-1} a 10^{-10}) en la solución de KH_2PO_4 para posteriormente verterse en platos petri con medios de cultivos selectivos para enumerar colonias de coliformes (Violet Red Bile Agar, 5% sacarosa), bacterias productoras de ácido láctico (BPAL; Bacto[®] Rogosa SL Agar, suplementado con ácido acético) y hongos y levaduras (Rose Bengal Agar Base, suplementado con cloranfenicol). Los platos petri se incubaron a una temperatura de 38°C y se cuantificaron manualmente las colonias de microorganismos con un contador digital (Scienceware, Bel-art products) después de periodos específicos de incubación (coliformes, 24 hrs; BPAL, 48hrs; hongos y levaduras, 72hrs). El número de colonias obtenido fue expresado como una transformación logarítmica y promediando todas las diluciones para cada muestra.

Para determinar el contenido de nutrientes se analizaron muestras de cada residuo correspondientes a cada periodo de fermentación para determinar el porcentaje de materia seca (MS), materia inorgánica (MI), materia orgánica (MO), proteína bruta (PB) y carbohidratos solubles en agua (CSA) utilizando métodos estándares (AOAC, 1990; Dubois *et al.*, 1956) y componentes de la pared celular (Van Soest *et al.*, 1991).

Los ácidos orgánicos, productos de la fermentación (láctico, acético, propiónico, iso-butírico y butírico) de cada residuo, se analizaron en un laboratorio comercial (Dairy One Forage Lab, Ihtaca, NY), mientras que el contenido de nitrógeno amoniacal (N-NH₃) se determinó según el método de oxidación (Strickland y Parson, 1972). Se calculó para cada sub-producto ensilado la relación de N-NH₃ / nitrógeno total.

3.2. Experimento II: Prueba de consumo voluntario y digestibilidad aparente de nutrimentos

Para las pruebas del consumo voluntario y digestibilidad aparente de nutrimentos, se fermentó cada residuo orgánico de fruta (piña y china) en 35 baldes con capacidad de 20 kg provistos de válvulas para el escape de gases. La preparación de los silos de cada fruta se realizó el mismo día que se generó el residuo y se dejó fermentar por un periodo no menor de 21 días. Los ensayos metabólicos se realizaron en la Finca Laboratorio Alzamora, en el Recinto Universitario de Mayagüez.

Para las pruebas de consumo y digestibilidad se utilizaron 9 corderos criollos adultos con peso promedio de 22.7 kg como unidades experimentales. Previo al inicio del experimento los corderos se esquilaron, luego se desparasitaron con Ivomec[®] y se verificó que estuvieran en condiciones saludables. Los animales fueron asignados aleatoriamente a jaulas metabólicas provistas de comederos y bebederos (Figura 3). Se permitió que se adaptaran a las facilidades físicas durante 5 días, durante los cuales se alimentaron con heno de gramíneas tropicales naturalizadas (HGTN) *ad libitum*.

El experimento consistió de un ensayo metabólico para evaluar tres tratamientos en tres periodos experimentales (PE). Cada PE tuvo una duración de 13 días, con 8 días

en la etapa de adaptación y 5 días en la de recolección de datos. Se evaluó la sustitución dietética parcial de HGTN por ensilajes de los residuos orgánicos de piña y china. Los tratamientos experimentales fueron:

- ❖ HGTN (tratamiento control)
- ❖ HGTN + ensilaje de piña
- ❖ HGTN + ensilaje de china

Inicialmente se le ofreció a cada animal HGTN *ad libitum*, ajustando el ofrecimiento diariamente para obtener un rechazo aproximado de 20% en base seca. El heno fue triturado con una máquina comercial (Craftsman) a un tamaño aproximado de 5 cm. de largo, para reducir la selección por parte de los animales. Se ofrecieron los ensilajes de residuos orgánicos de frutas buscando un 20% de sustitución del consumo estimado de MS de heno en base a un consumo total anticipado de MS igual a 3% del peso vivo de los animales. Además, se añadió harina de soya a los ofrecimientos para obtener raciones con un mínimo de 8% de PB (NRC, 1985).

Los animales se pesaron al inicio y final de cada PE para ajustar la cantidad de alimento a ofrecerse (Apéndice 1). Se cuantificó el consumo voluntario y se tomaron muestras de los alimentos ofrecidos y rechazados. La digestibilidad aparente de la MS, PB y FDN se determinó utilizando la técnica de recolección fecal total. Se recolectó y se pesó el total de heces excretadas diariamente y se almacenó una muestra representativa (10% del total de las heces) por animal para análisis posterior (Figura 4). Muestras compuestas del alimento ofrecido y rechazado y de las heces se analizaron para determinar MS, PB y FDN, según métodos estándares (Van Soest *et al.*, 1991; AOAC, 1990).



Figura 3. Ovinos en jaulas metabólicas.



Figura 4. Recolección de alimento rechazado y heces.

3.3. Experimento III: Estabilidad aeróbica de residuos fermentados

Después de 29 y 65 días de fermentación se evaluó la estabilidad aeróbica de los residuos ensilados de piña y china. Se colocaron bolsas de plástico conteniendo 1kg de muestra de cada residuo de fruta fermentada en un envase de isopor donde fueron expuestas al aire a temperatura ambiente (27-30°C) durante un periodo de 5 días. A cada muestra se le colocó un termómetro en el medio de la masa del ensilaje y se tomaron lecturas de temperatura cada seis horas durante las primeras 48 hrs de exposición aeróbica y cada 8 hrs del tercer hasta el quinto día. Después de 1, 3 y 5 días de exposición aeróbica se pesaron las muestras de residuo para determinar la materia húmeda recuperada (MHR). Muestras de los ensilajes se recolectaron después de 0, 1, 3 y 5 días de exposición al aire para determinar el pH (según descrito previamente) y los microorganismos asociados al deterioro aeróbico; bacterias totales (Disco™ Tryptic Soy Agar con digeridos de soya y caseína USP), hongos y levaduras (Difco™ Rose Bengal Agar Base, suplementado con cloranfenicol).

3.4. Diseños experimentales y análisis estadísticos

3.4.1. Experimento I: Caracterización del proceso fermentativo

Se analizaron los datos sobre la caracterización microbiológica y química de cada residuo de fruta mediante un diseño completamente aleatorizado [(DCA); (Lyman y Longnecker, 2001)] utilizando el modelo lineal general de SAS (SAS Inst, 1990). El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_i$$

Donde:

Y_{ij} = variable dependiente evaluada (pH, poblaciones microbianas, composición química y productos de fermentación)

μ = media general estimada

α_i = efecto del periodo de fermentación (0, 4, 7, 11, 29 y 65 días)

ε_i = error experimental asociado con la respuesta al factor periodo de fermentación;

3.4.2. Experimento II: Prueba de consumo voluntario y digestibilidad aparente de nutrientes

Los datos de consumo voluntario y digestibilidad aparente de la MS y nutrientes (PB y FDN) se analizaron según un diseño de cuadrado latino 3 x 3 con tres animales por tratamiento en cada periodo. El modelo estadístico utilizado fue:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_k + \beta_i + \gamma_j + \varepsilon_{ijk}$$

Donde los términos del modelo se definen como:

Y_{ij} : variable dependiente evaluada (consumo y digestibilidad aparente de la MS, PB y FDN)

μ : media general estimada

α_k : efecto del tratamiento k (HGTV, HGTV + EP y HGTV+ EC)

β_i : efecto del periodo (I, II, III)

γ_j : efecto del animal (9 corderos)

ε_{ijk} : error aleatorio asociado con la respuesta de los factores ijk

3.4.3. Experimento III: Estabilidad aeróbica de residuos fermentados

Los datos de exposición aeróbica para cada residuo fermentado se analizaron mediante un DCA con un arreglo factorial de tratamientos: 2 (periodos de fermentación, 29 y 65 días) x 4 (días de exposición aeróbica: 0, 1, 3, 5) para las variables de pH y poblaciones microbianas enumeradas, 2 (periodos de fermentación, 29 y 65 días) x 3 (días de exposición aeróbica: 1, 3, 5) para la variable de MHR, 2 (periodos de fermentación, 29 y 65 días) x 15 (lecturas de temperatura, 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.5, 1.75, 2.0, 2.5, 2.75, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 días) para la variable de temperatura. Con los datos de todas las variables evaluadas se realizó un análisis de varianza utilizando el modelo lineal general de SAS (SAS Inst, 1990). El modelo utilizado fue:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha \times \beta)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : Variable dependiente evaluada (pH, poblaciones microbianas, MHR y temperatura)

μ : media general estimada

α_i : efecto del periodo de fermentación del sub-producto_i (29 y 65 días)

β_j : efecto del periodo de exposición aeróbica _j

$(\alpha \times \beta)_{ij}$: interacción entre el periodo de fermentación y periodo de exposición aeróbica del ensilaje de sub-producto

ε_{ij} : error aleatorio asociado con la respuesta de los factores _{ij}

Para todos los análisis estadísticos y variables significativas obtenidas se realizó la separación de medias utilizando la prueba t de Bonferroni.

4.0. Resultados y discusión

4.1. Experimento I: Caracterización del proceso fermentativo

El pH, las poblaciones microbianas y la composición química de los residuos frescos de piña y china se presentan en el Cuadro 1. Ambos residuos orgánicos se caracterizaron por tener un pH ácido o ligeramente ácido, siendo esta acidez típica en frutas maduras como resultado de la presencia de ácidos orgánicos, principalmente, cítrico, málico, ascórbico y tartárico (Falade *et al.*, 2003; Bartolomk *et al.*, 1995).

A pesar de la alta acidez encontrada en el material fresco de los residuos de piña, se detectaron moderadas poblaciones de coliformes y de hongos y levaduras y una alta población de BPAL. No fue así en los residuos de china, donde solamente se detectaron poblaciones moderadas de BPAL y de hongos y levaduras y ausencia de coliformes. Estas diferencias en poblaciones de microorganismos entre ambos residuos frescos podría deberse al manejo de las frutas en las plantas procesadoras. La industria Cítricos de la Montaña lava y desinfecta las frutas y luego las clasifica para fruta fresca o para la extracción de jugo (comunicación personal) lo que podría haber afectado las poblaciones microbianas iniciales y generar un residuo libre de coliformes.

En este experimento, el contenido de MS de los residuos frescos de china fue superior (24.28%), casi duplicando él de los residuos de piña (12.96%). Sin embargo, ambos residuos se caracterizan por tener un alto contenido de humedad relativo a lo ideal para el proceso de ensilamiento. Los dos residuos de fruta utilizados también se caracterizan por tener, en base seca, un alto contenido de MO, un contenido óptimo de CSA (> 4.0%) y un bajo contenido de PB (< 6.0%). Además, los residuos de piña presen-

Cuadro 1. pH, poblaciones microbianas y composición química de los residuos frescos de plantas procesadoras de piña y china.

Componente	Residuo de fruta ¹	
	piña	china
pH	3.67	5.43
Poblaciones microbianas (ufc/g material fresco) ²		
Coliformes	6.08	ND
Bacterias productoras de ácido láctico	10.02	5.83
Hongos y levaduras	5.26	5.31
Composición química (%) ³		
Materia seca	12.96	24.28
Materia orgánica	95.94	96.49
Materia inorgánica	4.06	3.51
Proteína bruta	3.86	5.78
Fibra detergente neutro	43.37	16.28
Fibra detergente ácido	21.89	13.72
Hemicelulosa ⁴	21.52	2.56
Carbohidratos solubles en agua	6.11	5.68

¹Medias de 3 repeticiones

²Base húmeda

³Base seca

⁴Cálculo por diferencia (FDN-FDA)

ND= no detectado

taron un marcadamente mayor contenido de paredes celulares que los residuos de china (43.37 vs 16.28% FDN, respectivamente).

La composición química de los residuos orgánicos del procesamiento de piña y china utilizados en este experimento coincide en algunos casos y difiere en otros con investigaciones relacionadas. El contenido de MI y MO de los residuos de piña concordó con resultados reportados por Gutiérrez *et al.* (2003), 3.49% y 96.51%, respectivamente,

pero no con lo reportado por Ba Mui *et al.* (2001) de 8.6% y 91.4%. Asimismo, los valores reportados en aquellas dos investigaciones de MS (8.04% y 22.30%), PB (6.56% y 6.55%), FDN (77.61%) y FDA (26.67%) fueron diferentes a los encontrados en el presente estudio. En los residuos frescos de china se encontraron valores de pH mayores a los reportados por Crashaw (2001) (5.43 vs. 3.5-4.1) pero los porcentajes de MS, MO y MI (17-24.0, 96.1 y 3.9, respectivamente) fueron similares. Otros investigadores han reportado valores analíticos diferentes a los del presente estudio, de 14.3% a 15.5%, 95.5% y 4.5% para MS, MO y MI, respectivamente (Tripodo *et al.*, 2004; Navamuel *et al.*, 2002).

Otros componentes en los residuos de fruta no evaluados en el presente estudio son los aceites, almidón y pectinas. Estudios previos han reportado valores de extracto etéreo de 4.2 y 1.2% en residuos de piña (Lousada *et al.*, 2005 y Ba Mui *et al.*, 2001). Además, Lousada *et al.* (2005) reportó valores de 25.9, 5.3 y 16.3% para celulosa, lignina y nitrógeno insoluble en detergente ácido, respectivamente. Mientras que en los residuos de china se han reportado valores de 1.1-3.7% de aceites, 0.1-8.8% de almidones (Crashaw, 2001), 3.16-4.5 de extracto etéreo (Navamuel *et al.*, 2002; Itavo *et al.*, 2000; Wing, 1982) y 4.86 % de nitrógeno insoluble en detergente ácido (Itavo *et al.*, 2000).

La acidez de los residuos de piña, medida por pH, se mantuvo estable a través de todo el proceso fermentativo, disminuyendo por 0.36 y 0.42 unidades con relación al material fresco después de 29 y 65 días de fermentación, respectivamente (Cuadro 2). A excepción de las poblaciones de coliformes detectadas en el material fresco, a través del proceso fermentativo de los residuos de piña no se detectaron poblaciones significativas de estos microorganismos. Las poblaciones de BPAL y de hongos y levaduras no

variaron significativamente ($P>0.05$) a través del proceso fermentativo. Sin embargo, se observaron poblaciones de microorganismos más activas durante periodos cortos de fermentación (29 vs 65 días). Además, no se observaron patrones definidos en la composición química de los residuos de piña a través del periodo de fermentación. El contenido de MO, MI, PB y paredes celulares fue variable a través del proceso fermentativo, lo que es indicativo de una ecología (actividad) microbiana variable y activa.

En residuos de piña fermentados el contenido de ácido láctico fue mayor ($P<0.05$) después del cuarto día de fermentación que en el material fresco. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas ($P>0.05$) en dicho contenido entre el día 4 y demás periodos de fermentación. Esto podría indicar que la producción y utilización de lactato estuvo en equilibrio a través del proceso fermentativo. Además, el ácido láctico no llegó a detectarse al nivel deseado de 1.5% del ensilaje en base seca, lo que es indicativo de fermentaciones donde no hay predominancia de poblaciones productoras de ácido láctico tipo homofermentativas. Similar a la producción de ácido láctico, el contenido de ácido acético fue constante después del cuarto día de fermentación, obteniéndose la única producción significativa durante los días de fermentación 0 a 4. No se detectaron concentraciones de ácido propiónico, butírico e iso-butírico a través del proceso fermentativo, lo que es indicativo de una fermentación estable, con ninguna evidencia de degradación de proteínas. Asimismo, el porcentaje de $\text{NH}_3\text{-N}$ / N-total se mantuvo constante durante los 65 días de fermentación. Estos resultados, además de las otras variables evaluadas, parecen indicar que las fermentaciones secundarias indeseables,

Cuadro 2. Efecto del periodo de fermentación sobre el pH, poblaciones microbianas, composición química y productos de fermentación de residuos de piña.

Componente ¹	Periodo de fermentación (días) ⁴						EEM ⁵	Probabilidad
	0	4	7	11	29	65		
pH	3.67a	3.23cd	3.17d	3.40b	3.31c	3.22d	0.02	0.01
Poblaciones microbianas (ufc/g)								
Coliformes	6.08a	.00b	.00b	.00b	.00b	.00b	0.89	0.01
Bacterias productoras de ácido láctico	7.22	6.26	5.31	8.36	5.92	2.49	2.05	0.23
Hongos y levaduras	5.26	4.64	3.43	3.60	2.87	1.49	0.85	0.15
Composición química (%)²								
Materia seca	12.96a	10.78b	10.91b	10.52b	10.39b	10.21b	0.21	0.01
Materia orgánica	95.94a	95.41b	95.41b	95.40b	95.22b	95.14b	0.09	0.01
Materia inorgánica	4.06b	4.59a	4.59a	4.59a	4.78a	4.86a	0.09	0.01
Proteína bruta	3.86b	4.12ab	3.98ab	4.37ab	4.47ab	5.01a	0.20	0.02
Fibra detergente neutro	43.37b	51.22a	51.51a	49.38ab	48.97ab	45.75b	0.81	0.01
Fibra detergente ácido	21.89b	29.24a	31.54a	30.27a	27.60ab	27.21ab	1.07	0.01
Hemicelulosa ³	21.52	21.98	19.97	19.11	21.37	18.54	0.52	0.53
Carbohidratos solubles en agua	6.11	3.91	5.30	3.47	3.63	7.31	0.97	0.08
Productos de fermentación (%)								
Ácido láctico	0.01b	0.93a	0.96a	0.85a	0.99a	1.02a	0.04	0.01
Ácido acético	0.09c	0.41a	0.37ab	0.30b	0.32ab	0.37ab	0.02	0.01
Ácido propiónico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.24
Ácido iso-butírico	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido butírico	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.27
NH ₃	0.010b	0.012a	0.012a	0.012a	0.012a	0.013a	0.00	0.01
N-NH ₃ / N total	1.60	1.80	1.90	1.80	1.70	1.60	0.01	0.34

¹Medias de 3 repeticiones, ²Base seca, ³Cálculo por diferencia (FDN-FDA), ⁴Medias con diferentes letras en la misma fila difieren (P<0.05), ⁵Error estándar de la media y ND= no detectado.

típicas de forrajes tropicales (González y Rodríguez, 2003; Rodríguez, 1996), no ocurren durante la fermentación de residuos orgánicos de plantas procesadoras de piña.

En estudios relacionados, los cambios con relación a la composición química inicial en residuos de piña (pulpa y cáscara) ensilados con 0.05% de NaCl mostraron efectos similares al del presente estudio (Ba Mui *et al.*, 2001). Ba Mui y colaboradores (2001), observaron una leve disminución en el contenido de MS, MO, MI y PB de residuos de piña fermentados al compararse con el material original. Al comparar los valores de composición química después de 60 y 90 días de fermentación no observaron cambios drásticos en concordancia con los resultados presentes. Además, después de 60 días de ensilamiento, se detectaron concentraciones de 1.94% de ácido láctico, 1.90% de ácido acético y trazas de ácido butírico, valores mayores a los encontrados en el presente trabajo. Al comparar las características fermentativas de los residuos de piña fermentados durante periodos cortos (menores de 2 meses) y largos (mayores de 2 meses), Ba Mui *et al.* (2001) observaron el mismo comportamiento en productos de fermentación; sin embargo, durante las fermentaciones largas detectaron mayor producción de ácido acético que de láctico, indicando que al fermentar residuos de piña por periodos mayores de 60 días predomina una fermentación heteroláctica. Gutiérrez *et al.*, (2003) también fermentó residuos de piña por 60 días y reportó valores porcentuales de MS y FDA (10.27 y 35.39) similares a los presentes, pero valores mayores para PB, FDN y hemicelulosa (7.2, 67.08 y 31.69, respectivamente).

El pH de los residuos orgánicos generados del procesamiento de china disminuyó significativamente ($P < 0.05$) después de 7 días de fermentación (3.70), manteniéndose posteriormente bastante constante después de periodos cortos (29 días) o largos (65 días) de en-

Cuadro 3. Efecto del periodo de fermentación sobre el pH, poblaciones microbianas, composición química y productos de fermentación de residuos de china.

Componente ¹	Periodo de fermentación(días) ⁴						EEM ⁵	Probabilidad
	0	4	7	11	29	65		
pH	5.43a	3.92b	3.70bc	3.55bc	3.45c	3.32c	0.09	0.01
Poblaciones microbianas (ufc/g)								
Coliformes	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bacterias productoras de ácido láctico	5.83ab	7.74a	7.55a	7.24a	4.57b	4.40b	0.80	0.03
Hongos y levaduras	5.31	4.14	2.63	2.75	3.97	3.15	1.290	0.68
Composición química (%)²								
Materia seca	24.28a	19.53b	19.76b	18.73b	19.01b	18.73b	0.62	0.01
Materia orgánica	96.49a	95.75b	95.72b	95.25b	95.41b	95.69b	0.14	0.01
Materia inorgánica	3.51b	4.25a	4.28a	4.75a	4.59a	4.31a	0.14	0.01
Proteína bruta	5.78	6.19	5.96	6.39	6.46	6.51	0.35	0.68
Fibra detergente neutro	16.28b	22.84a	23.43a	24.66a	24.29a	23.72a	0.49	0.01
Fibra detergente ácido	13.72c	20.73b	21.57ab	21.34ab	22.69ab	23.25a	0.44	0.01
Hemicelulosa ³	2.56	2.11	1.86	3.32	1.60	1.17	0.43	0.06
Carbohidratos solubles en agua	5.68a	2.09b	1.88b	3.71ab	4.20ab	5.45a	0.46	0.01
Productos de fermentación (%)								
Ácido láctico	0.01c	0.58b	0.59b	0.54b	0.64b	0.91a	0.04	0.01
Ácido acético	0.00c	0.09b	0.10b	0.13b	0.14b	0.19a	0.01	0.01
Ácido propiónico	0.00b	0.00b	0.00b	0.003ab	0.005a	0.005a	0.00	0.01
Ácido iso-butírico	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido butírico	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
NH ₃	0.005ac	0.006ac	0.006ac	0.007bc	0.007bc	0.006bc	0.00	0.01
N-NH ₃ / N total	0.56	0.67	0.69	0.68	0.66	0.67	0.01	0.37

¹Medias de 3 repeticiones, ²Base seca, ³Cálculo por diferencia(FDN – FDA), ⁴Medias con diferentes letras en la misma fila difieren (P<0.05), ⁵Error estándar de la media y ND = no detectado.

silamiento (Cuadro 3). No se detectaron poblaciones de coliformes en el material fresco ni durante el proceso fermentativo de los residuos de china. Las poblaciones de BPAL disminuyeron después de 29 de fermentación, observándose la mayor actividad durante los primeros 10 días de ensilamiento. A modo a la población de coliformes, las poblaciones de hongos y levaduras no mostraron cambios significativos ($P>0.05$) a través del proceso fermentativo.

Similar a la fermentación en los residuos de piña, no se observaron patrones definidos en la composición química de los residuos de china a través del periodo de fermentación. Los contenidos de MS, MO, MI, PB y paredes celulares fueron variables durante el proceso. El contenido de CSA disminuyó, aunque no significativamente, después de 7 días, manteniéndose relativamente constante durante el proceso. Un incremento tardío en el contenido de CSA después de 65 días de fermentación, fue producto posiblemente de la hidrólisis de la fracción de hemicelulosa del residuo fermentado, la cual se redujo de 2.56 a 1.17%. Otras investigaciones al respecto han detectado hidrólisis de la hemicelulosa en ensilajes de maíz y sorgo y han relacionado dicha degradación con la acidez de la masa fermentada (Arias, 1998; Rodríguez, 1996). El contenido de ácido láctico fue mayor ($P<0.05$) después del cuarto día de fermentación que en el residuo fresco. Contrario a la fermentación observada en los residuos de piña, al fermentar residuos de china se observó un mayor contenido de ácido láctico luego de un periodo mayor (65 días) que de un periodo más corto (29 días). Se detectaron bajas concentraciones de ácido acético ($<0.20\%$) y muy bajas de propiónico ($<0.01\%$) durante el proceso fermentativo y no se detectó producción de ácido iso-butírico y butírico. Sin embargo, las concentraciones de

estos ácidos fueron inferiores a las requeridas para tener un efecto significativo sobre el proceso fermentativo. Igual que en los residuos de piña fermentados, durante la fermentación de residuos de china la relación de $N-NH_3 / N\text{-total}$ se mantuvo constante a través de todo el proceso, siendo en promedio 0.65%, lo cual es indicativo de fermentaciones estables.

En otras investigaciones relacionadas con ensilajes de residuos de cítricos (Bosques *et al.*, 2004), se observaron tendencias en las características fermentativas similares a las del presente estudio. Bosques *et al.* (2004) observaron contenidos de ácido acético <0.20% y muy bajas de propiónico (<0.01%) durante el proceso fermentativo y no se detectó producción de ácido iso-butírico, con un pH ácido (3.78 y 3.74 al fermentarse por periodos de 30 y 60 días, respectivamente) y una moderada producción de ácido láctico (0.23 y 0.48% al fermentarse por dichos respectivos intervalos). En cambio, los valores del presente estudio para pH fueron menores y los de la producción de ácido láctico mayores a los reportados por aquellos investigadores.

La fermentación de otros residuos de frutas trozadas (carambola y mangó) mostraron algunas tendencias en las características fermentativas similares a las del presente estudio (Cruz *et al.*, 2005). Los residuos inicialmente ya tenían valores de pH ácidos (4.53 y 5.09, carambola y mangó, respectivamente) y disminuyeron a través del proceso de fermentación. En los residuos de mangó, solo detectaron colonias de coliformes en el residuo inicial, sin embargo los hongos y levaduras predominaron en el material inicial y después de 112 días de fermentación, contrario a las poblaciones de BPAL y lo observado en este estudio. En los residuos de carambola las poblaciones de BPAL fueron constantes mientras que las poblaciones de hongos y levaduras

disminuyeron a través del proceso de fermentación. En cuanto a los productos de fermentación, el ácido láctico fue el producto principal después de iniciado el proceso de fermentación y no se detectó producción de ácido butírico, tanto para los residuos de mangó, carambola y los reportados en este trabajo.

4.2. Experimento II: Prueba de consumo voluntario y digestibilidad aparente de nutrimentos

La composición química del HGTN utilizado en este experimento fue similar a la reportada por Díaz (2004) y León (2003), caracterizándose por un contenido bajo de PB y alto de paredes celulares (Cuadro 4). En el EP utilizado en el presente estudio, el porcentaje de MS fue similar al reportado por Gutiérrez *et al.* (2003) (10.27), pero menor al reportado por Lallo *et al.* (2003) y Ba Mui *et al.* (2001) (14.78 y 28.25, respectivamente). Al EP preparado por estos últimos investigadores le añadieron 0.05% de NaCl, lo que puede haber contribuido a aumentar el contenido de MS. Además, en el presente estudio los porcentajes de PB y FDN fueron menores pero el de MO fue mayor a los presentados por Lallo *et al.* (2003) (8.83, 64.70 y 82.98%, respectivamente). A su vez, Ba Mui *et al.* (2001) observaron porcentajes de PB de 6.42 y MI de 10.34, mayores y menores que en el presente estudio, respectivamente. El contenido de MS fue menor al reportado por Ítavo *et al.* (2000), pero los de MO, MI, PB, FDN y FDA fueron similares. Estas diferencias en la composición química se pueden explicar como un efecto del tipo de procesamiento, o variedad de fruta utilizada, entre otras posibles razones (Ítavo *et al.*, 2000).

Cuadro 4. Composición química de los ingredientes utilizados en el ensayo de consumo y digestibilidad aparente de nutrimentos.

Composición química (%) ¹	Ingredientes ²				EEM ³
	Heno	Ensilaje de piña	Ensilaje de china	Harina de soya	
Materia seca	88.73 ^a	9.96 ^c	18.71 ^b	88.40 ^a	0.47
Materia orgánica	89.62 ^c	94.28 ^a	95.02 ^a	92.84 ^b	0.14
Materia inorgánica	10.38 ^a	5.72 ^c	4.98 ^c	7.16 ^b	0.14
Proteína bruta	4.00 ^b	5.35 ^b	7.56 ^b	46.37 ^a	2.46
Fibra detergente neutro	74.55 ^a	61.30 ^a	24.71 ^b	18.89 ^b	2.83
Fibra detergente ácido	46.78 ^a	34.79 ^b	24.13 ^b	4.99 ^c	2.10
Hemicelulosa ⁴	27.78 ^a	26.51 ^a	1.39 ^c	13.90 ^b	1.35

¹Base seca.

² Medias con letras diferentes en la misma fila difieren significativamente ($P < 0.05$).

³ Error estándar media.

⁴ Calculado por diferencia (FDN - FDA)

No se encontró diferencias significativas ($P > 0.05$) en la cantidad de alimento ofrecido, rechazado y consumido entre los diferentes tratamientos dietéticos evaluados (Cuadro 5; Figura 5). En este ensayo los animales consumieron aproximadamente 98 y 85% de la MS de los residuos fermentados de piña y china ofrecidos, respectivamente. Esto es indicativo que los residuos de fruta fermentados poseen deseables características organolépticas y buena aceptabilidad para los corderos. Además, esto coincide con las observaciones de Volanis *et al.* (2004), quienes alimentaron ovejas lactantes Sfakian con ensilaje de chinas cortadas en mezcla con residuos orgánicos agrícolas (harina de soya, 5%; afrecho de trigo, 5%; prensado de semillas de algodón, 5% y heno de avena, 3%) y reportaron un consumo de 630g/d del ensilaje.

La digestibilidad de PB del HGTVN (Cuadro 6) en el presente estudio fue de 42.99%, la cual es menor a la reportada para el mismo tipo de heno por Díaz (2004) y León (2003) (58.03 y 60.82 % respectivamente), pero mayor a la encontrada en heno de

bermuda (Rivera, 2003) (33.86%). Sin embargo, inesperadamente la digestibilidad de MS del HGTN (52.16%) resultó numéricamente menor a la digestibilidad de FDN (54.39%). Esto es contrario a los resultados obtenidos en otros estudios con diversos henos de gramíneas tropicales y no tiene explicación evidente.

Del estudio revisado que incluyó EP en la dieta, no evaluó el consumo o digestibilidad aparente de nutrientes (Ba Mui *et al.*, 2001). Mas bien el estudio se concentra en la degradabilidad ruminal y la producción de los animales, alimentados con estos residuos fermentados. Aunque actualmente no se han realizado frecuentes investigaciones sobre la utilización de los residuos de piña, estos fueron evaluados extensamente en distintas áreas durante la década de los setenta (Stanley *et al.*, 1979; Wayman *et al.*, 1978; Cervantes *et al.*, 1978 y Bishop y Nell, 1974).

Ítavo *et al.* (2000), evaluó la digestibilidad aparente de nutrimentos de una ración compuesta por 70% heno de avena y 30% de ensilaje de residuos de china. Las digestibi-

Cuadro 5. Consumo voluntario de nutrimentos en heno de gramíneas tropicales naturalizadas sustituido parcialmente por ensilaje de piña y ensilaje de china.

Tratamiento	Alimento ofrecido			Alimento rechazado			Alimento consumido		
	MS	FDN	PB	MS	FDN	PB	MS	FDN	PB
	g/d			g/d			g/d		
HGTN ²	443.10	328.69	24.63	92.42	71.43	2.30	363.21	256.25	22.32
EP	109.28	67.26	5.47	1.25	0.69	0.05	108.03	66.56	5.42
<i>Total</i>	552.28	395.95	30.10	93.67	72.11	2.35	471.24	322.81	27.75
HGTN	514.60	372.80	27.63	106.16	82.23	3.23	408.43	290.60	24.80
EC	115.89	28.54	8.74	16.59	4.57	1.15	99.51	23.96	7.59
<i>Total</i>	630.49	401.34	36.37	122.76	87.46	4.38	507.94	314.56	32.40
HGT	616.39	448.79	31.94	114.97	87.46	2.78	501.42	361.29	28.99
<i>Total</i>	616.39	448.79	31.94	114.97	87.46	2.78	501.42	361.29	28.99
EEM ¹	57.1	39.71	14.60	16.72	58.32	3.34	43.97	31.71	3.34

¹Error estándar de la media. ² El HGTN ofrecido y consumido incluye la harina de soya. No se rechazo harina de soya.

Cuadro 6. Digestibilidad aparente porcentual de nutrientes en heno de gramíneas tropicales sustituido parcialmente por ensilaje de piña y ensilaje de china.

Tratamiento	Digestibilidad aparente (%)		
	MS	FDN	PB
HGTN + EP	55.96	55.76	44.07
HGTN + EC	54.69	51.92	50.57
HGTN	52.16	54.39	42.99
<u>EEM¹</u>	<u>17.25</u>	<u>2.18</u>	<u>11.86</u>

¹Error estándar de la media.

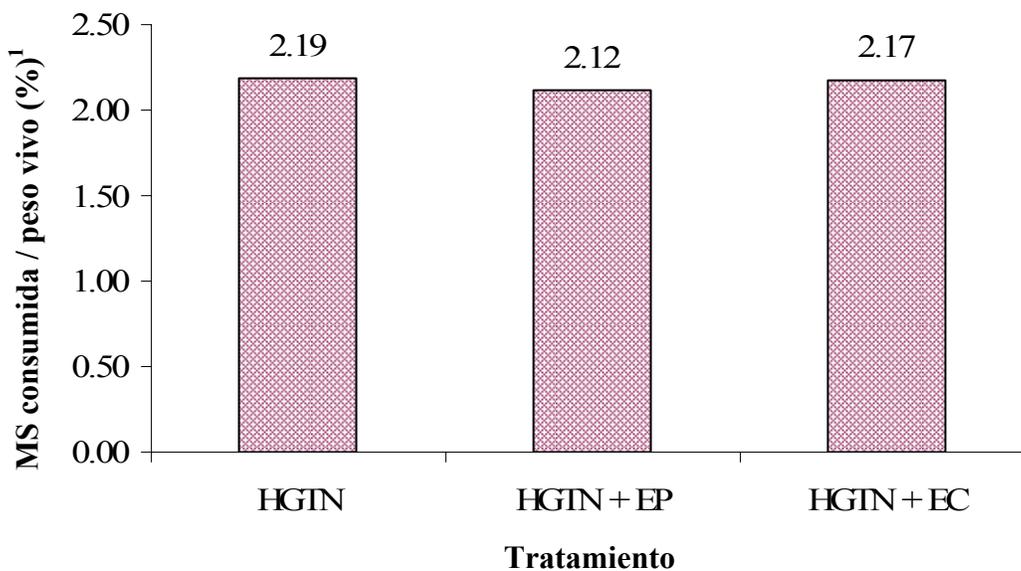


Figura 5. Efecto del tratamiento sobre la materia seca consumida diariamente como porcentaje del peso vivo del animal. ¹Error estándar de la media = 0.26.

bilidades aparentes (MS, 90.15; FDN, 67.00 y PB, 69.55 %) observadas fueron mayores a los del presente trabajo. La composición química del ensilaje de residuos de china fue similar a la utilizada en este trabajo, sin embargo al comparar la composición química del HGTN con el heno de avena se observa un menor contenido de FDN en éste (59.98%) que en el HGTN (74.55%), lo que pudo contribuir a una mayor digestibilidad.

Durante esta prueba, no se observó ningún efecto negativo sobre la salud de los animales al alimentarlos con los residuos de piña y china fermentados. Esto demuestra que los mismos no contienen compuestos nocivos para los animales, al menos a corto plazo. Sin embargo, es necesario evaluar el efecto de estos residuos fermentados sobre las características de fermentación ruminal y el desempeño animal a más largo plazo antes de recomendar su uso a los productores de rumiantes pequeños.

4.3. Experimento III: Estabilidad aeróbica de residuos fermentados

Los alimentos conservados por fermentación anaeróbica comúnmente se deterioran una vez expuestos a condiciones aeróbicas (Danner *et al.*, 2003). Al evaluar un nuevo residuo orgánico conservado por fermentación, no tan solo es importante su capacidad de fermentación, sino que debe mostrar estabilidad una vez expuesto al aire, ya que ésta determina la vida útil del alimento fermentado durante la fase de alimentación. La estabilidad aeróbica es de suma importancia sobre todo en clima tropical, caracterizado por un ambiente cálido y húmedo, lo que favorece el desarrollo de microorganismos asociados al deterioro aeróbico de alimentos fermentados.

De las investigaciones realizadas sobre la fermentación de residuos orgánicos provenientes del procesamiento de frutas, muy pocas han evaluado la estabilidad aeróbica

del producto fermentado (Cruz *et al.*, 2005; Bosques *et al.*, 2004), por lo que se tiene poco conocimiento sobre los factores principales que influyen en su deterioro aeróbico.

En el presente estudio, al evaluar los cambios en pH durante la exposición aeróbica del EP fermentado durante 29 ó 65 días se observó una interacción entre la duración de la fermentación y los días de exposición aeróbica (Cuadro 7). El EP fermentado durante 65 días tuvo una menor ($P<0.05$) disminución en acidez una vez expuesto al aire que los residuos fermentados por 29 días. Estos cambios en pH se observaron a partir de las 72 horas de exposición aeróbica, aumentándose el pH del EP fermentado por 65 días por 0.27 y 0.53 unidades al tercer y quinto día de exposición al aire mientras que el aumento correspondiente fue de 0.52 y 0.91 unidades en el EP fermentado por 29 días. En el EC, e independientemente de la duración del periodo de fermentación, el pH se mantuvo constante durante las primeras 72 horas de exposición al aire (Cuadro 8). Sin embargo, se observó una mayor disminución ($P<0.05$) en acidez en el EC al quinto día de exposición aeróbica al ser fermentado por 29 días que durante 65 días (Cuadro 8). El pH es un indicador de la actividad de microorganismos capaces de deteriorar el alimento fermentado y es utilizado como un criterio para determinar la estabilidad aeróbica del alimento fermentado. El aumento en pH durante el periodo de exposición aerobia es considerado un signo de deterioro (Woolford, 1984). En este experimento ambos residuos fermentados fueron más estables a condiciones aeróbicas, evidenciado por cambios en pH, luego de fermentados durante un periodo mayor de 2 meses (65 días) que durante 1 mes (29 días).

La población de bacterias totales fue mayor ($P<0.05$) después de 3 días de exposición aeróbica en el EP fermentado durante 29 días que en el residuo orgánico

fermentado durante 65 días. Estas diferencias en la población de bacterias totales coinciden con los cambios en pH y poblaciones de hongos y levaduras del EP expuesto al aire. El aumento en pH más rápido en el EP fermentado por un periodo de tiempo más corto, se asocia con la proliferación de bacterias oportunistas al disminuir la acidez del material fermentado. Sin embargo, en el EC no se observaron cambios significativos en las poblaciones de bacterias totales para ambos largos de fermentación.

La proliferación de hongos y levaduras durante las primeras 24 horas de exposición aeróbica fue mayor ($P < 0.05$) en EP expuesto al aire después de 29 que de 65 días de fermentación. Este aumento de 3.80 ufc/g del residuo fermentado puede ser la causa principal del deterioro aeróbico más rápido del EP fermentado durante 29 días. Se ha identificado a las levaduras que degradan ácido láctico como los microorganismos asociados con el inicio de la inestabilidad aeróbica de alimentos (forrajes) fermentados. Especies de levaduras de los géneros *Candida*, *Haensenula* e *Issatchenkia* degradan ácido láctico ocasionando aumentos en el pH, la temperatura y consecuentemente deterioro del producto (Woolford, 1984). En el EC, las poblaciones de hongos y levaduras se mantuvieron similares durante todo el periodo de exposición aeróbica para ambos largos de fermentación. Estos resultados contradicen lo reportado por Bosques *et al.* (2004), quienes al evaluar las poblaciones de hongos y levaduras en residuos de china triturados y fermentados durante 60 días, encontraron que estas poblaciones aumentaron según aumentó la duración de exposición aeróbica.

La temperatura de la masa fermentada una vez expuesta al ambiente es otro criterio utilizado para evaluar la estabilidad del alimento fermentado. La temperatura de alimentos fermentados expuestos al aire aumenta como resultado del calor generado por

el metabolismo de los microorganismos que deterioran la masa del ensilaje. En este estudio, la temperatura del EP fermentado por 29 ó 65 días fue similar durante las primeras 24 horas de exposición aeróbica (Figura 6). Sin embargo, durante el periodo de 30 a 48 horas de exposición al aire, los residuos orgánicos fermentados por un periodo de tiempo menor (29 días) presentaron una temperatura mayor ($P < 0.05$) que los fermentados durante 65 días. En el EC se observó que durante las primeras 36 horas de exposición aeróbica la temperatura fue similar independientemente de la duración de fermentación (Figura 7). Asimismo, entre 36 y 72 horas de exposición aeróbica la temperatura fue mayor ($P < 0.05$) en el EC fermentado durante 29 que durante 65 días.

Estos resultados indican que ambos residuos orgánicos fermentados son de estabilidad aeróbica limitada. Además, la fermentación prolongada (29 vs 65 días) retrasa el proceso de deterioro en los residuos de frutas fermentadas, especialmente en los residuos de piña. La inestabilidad aeróbica del ensilaje de residuos de piña observada en este experimento coincide con las observaciones de Cruz *et al.* (2005), que residuos de otras frutas (mangó y carambola) fermentados durante 112 días fueron más estables que los fermentados durante 30 días. En este experimento el EP fermentado durante 29 días fue estable a condiciones ambientales durante 24 horas mientras que su estabilidad duró 72 horas cuando se expuso al aire después de 65 días de fermentación. Evidenciado por los valores de pH y las poblaciones de bacterias totales y hongos y levaduras, el EC fermentado fue más estable que el EP a condiciones aeróbicas durante 3 días, independientemente de la duración de la fermentación. Después del primer día de exposición al aire se observó un aumento en temperatura en el EC. Estos resultados di-

Cuadro 7. Efecto del periodo de exposición aeróbica del ensilaje de piña sobre el pH y poblaciones de microorganismos.

Componente	Días de exposición	Periodo de fermentación ¹		EEM ²	Probabilidad (P > F)		
		29	65		F ³	E ⁴	F x E ⁵
pH	0	3.31	3.22	0.05	0.01	0.01	0.01
	1	3.37	3.23				
	3	3.83a	3.49b				
	5	4.22a	3.75b				
Poblaciones microbianas (ufc/g)							
Bacterias totales	0	0.00	0.00	0.18	0.01	0.01	0.01
	1	3.86	3.86				
	3	5.46a	4.03b				
	5	6.07	5.68				
Hongos y levaduras	0	2.87	1.69	0.87	0.187	0.01	0.04
	1	6.67a	2.66b				
	3	7.21	7.32				
	5	6.36	8.01				

¹Letras diferentes en la misma fila difieren significativamente (P < 0.05). ²Error estándar de la media. ³Efecto del periodo de fermentación. ⁴Efecto del día de exposición aeróbica. ⁵Interacción entre periodo de fermentación y día de exposición aeróbica.

Cuadro 8. Efecto del periodo de exposición aeróbica del ensilaje de china sobre el pH y poblaciones de microorganismos.

Componente	Días de exposición	Periodo de fermentación ¹		EEM ²	Probabilidad (P > F)		
		29	65		F ³	E ⁴	F x E ⁵
pH	0	3.45	3.32	0.04	0.01	0.01	0.01
	1	3.48	3.33				
	3	3.50	3.29				
	5	3.80a	3.32b				
Poblaciones microbianas (ufc/g)							
Bacterias totales	0	0.00	0.00	0.76	0.22	0.01	0.66
	1	3.79	2.55				
	3	2.91	2.89				
	5	4.03	2.55				
Hongos y levaduras	0	3.97	3.15	0.70	0.63	0.32	0.22
	1	2.91	3.25				
	3	1.92	3.96				
	5	4.47	3.90				

¹Letras diferentes en la misma fila difieren significativamente (P < 0.05). ²Error estándar de la media. ³Efecto del periodo de fermentación. ⁴Efecto del día de exposición aeróbica. ⁵Interacción entre periodo de fermentación y día de exposición aeróbica.

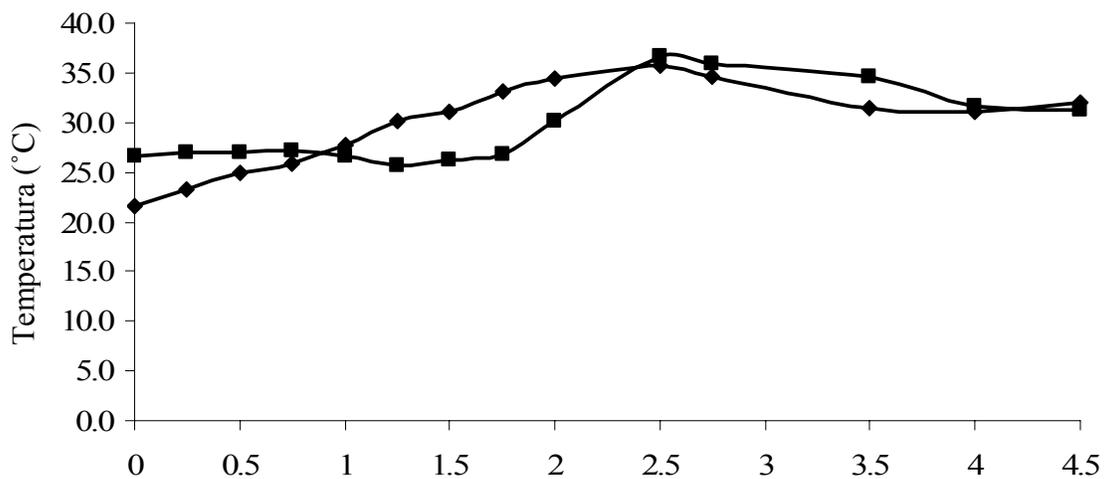


Figura 6. Efecto del periodo de exposición aeróbica sobre la temperatura del ensilaje de piña. (◆ EP fermentado 29 días; ■ EP fermentado 65 días).

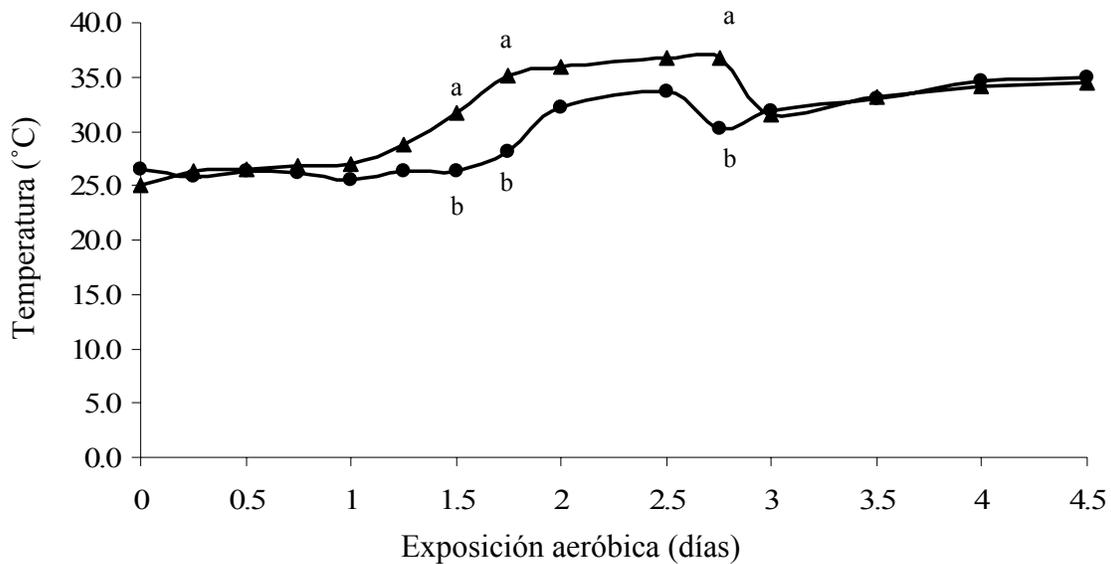


Figura 7. Efecto del periodo de exposición aeróbica sobre la temperatura del ensilaje de china. (▲ EC fermentado 29 días; ● EC fermentado 65 días).

fieren a los reportados por Bosques *et al.* (2004) al evaluar la estabilidad aeróbica de ensilaje de china triturada y fermentado con la adición de 0, 1, 3 ó 5% de urea. Aquellos autores reportaron que el pH, la población de hongos y levaduras y la temperatura del ensilaje de china fermentada con 0 y 1% de urea aumentó directamente con los días de exposición aeróbica.

El porcentaje de recuperación de los residuos de piña fermentados disminuyó ($P < 0.05$) a medida que aumentó la duración de la exposición aeróbica (Figura 8). Esta disminución representó hasta un 20% de pérdidas con respecto al total de EP expuesto al aire inicialmente. En los residuos de china el periodo de fermentación también afectó ($P < 0.05$) el porcentaje de material recuperado. La fermentación por 65 días resultó en una reducción de 8.62 unidades de por ciento en pérdidas de material fermentado inicial después de 5 días de exposición aeróbica comparado con 29 días de fermentación (78.76 vs 87.38%) (Figura 9). Estas pérdidas son mayormente resultado de la actividad de microorganismos asociados al deterioro aeróbico. Además, por la consistencia acuosa de los residuos, tanto de piña y china, la pérdida de peso podría atribuirse también a pérdidas de humedad a través del proceso de evaporación.

Además de las variables cuantificativas evaluadas que demuestran la inestabilidad aeróbica, visualmente se pudo comprobar el deterioro de los residuos de frutas fermentados una vez expuestos al aire. Las Figuras 10, 11, 12 y 13 presentan a través del tiempo los EP y EC fermentados por periodos de 29 ó 65 días una vez expuestos al aire. En estas ilustraciones se pueden observar cambios en el color y el crecimiento de hongos. La inestabilidad aeróbica de los residuos de fruta fermentados observada en este experimento y otras investigaciones relacionadas se asemeja a lo informado en la

literatura sobre el deterioro aeróbico de forrajeras ensiladas en climas tropicales (González y Rodríguez, 2003; Arias, 1998). Sin embargo, al comparar la estabilidad aeróbica de residuos de origen animal fermentados (ej. ensilaje de residuos de tilapia y lodos de la industria atunera, ambos con adición de melaza) contra la de los residuos de frutas fermentados, los primeros han demostrado ser más estables (hasta pe-

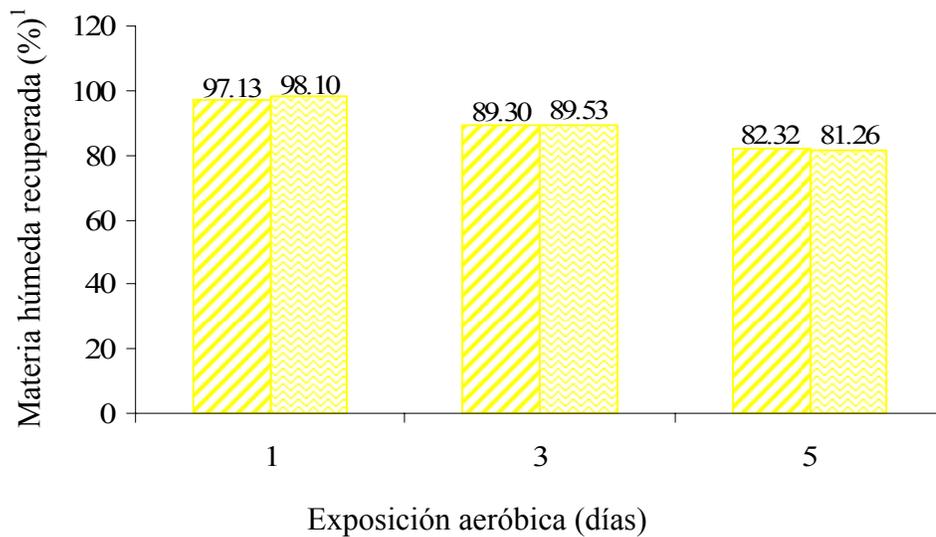


Figura 8. Efecto del periodo de exposición aeróbica sobre el porcentaje de ensilaje de piña recuperado fermentado por 29 y 65 días. ( EP fermentado 29 días;  EP fermentado 65 días).¹Error estándar de la media = 0.47.

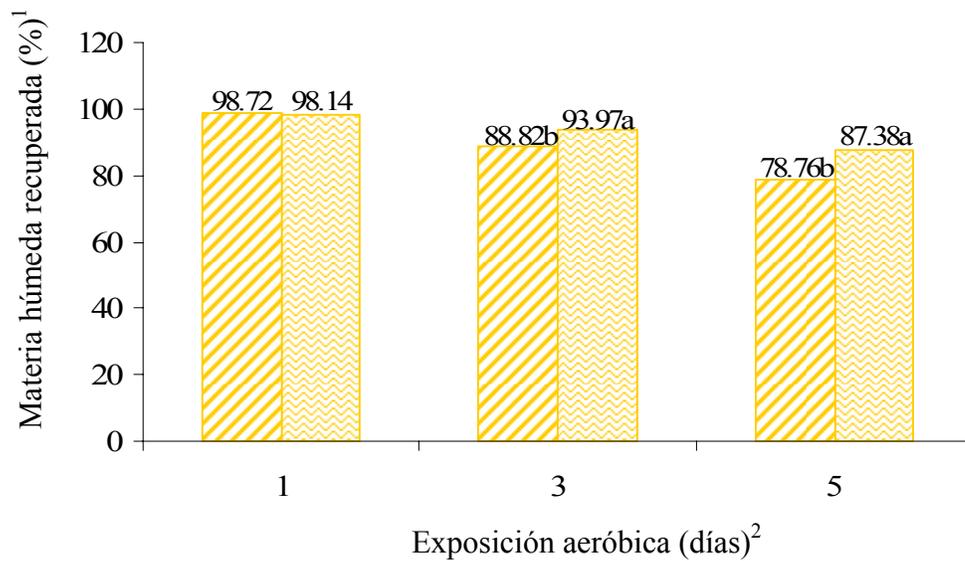


Figura 9. Efecto del periodo de exposición aeróbica sobre el porcentaje de ensilaje de china recuperado fermentado por 29 y 65 días. (EC fermentado 29 días; EC fermentado 65 días). ¹Error estándar de la media = 0.94. ²Medias con letras diferentes en el mismo periodo de exposición aeróbica difieren significativamente (P<0.05).

riodos de 5 días). Díaz (2004) y León (2003) evaluaron la estabilidad aeróbica de ensilaje de pescado y de lodos fermentados de la industria atunera durante dicho lapso y no encontraron cambios significativos en los valores de pH, temperatura y material fermentado recuperado.



Día 0



Día 1



Día 5

Figura 10. Ensilaje de piña fermentado 29 días y expuesto a condiciones aeróbicas durante 0, 1 y 5 días.



Día 0



Día 1



Día 3



Día 5

Figura 11. Ensilaje de piña fermentado 65 días y expuesto a condiciones aeróbicas durante 0, 1, 3 y 5 días.



Día 0



Día 1



Día 3



Día 5

Figura 12. Ensilaje de china fermentado 29 días y expuesto a condiciones aeróbicas durante 0, 1, 3 y 5 días.



Día 0



Día 1



Día 3

Figura 13. Ensilaje de china fermentado 65 días y expuesto a condiciones aeróbicas durante 0, 1 y 3 días.

5.0. Conclusiones

- El ensilamiento de residuos orgánicos de plantas procesadoras de piña (*Ananas comosus*) y china (*Citrus sinensis*) presentó características típicas de fermentaciones anaeróbicas: pH menor de 4.2, poblaciones microbianas predominantemente de BPAL y la producción principalmente de ácido láctico como producto de fermentación. Esto demuestra que la preparación de ensilaje representa una alternativa promisorio para la disposición de estos residuos.
- El sustituir HGTN por EP o EC a 20% de inclusión dietética a base seca no afectó el consumo voluntario ni la digestibilidad aparente de MS, PB y FDN de las mezclas, al utilizar ovinos como animales experimentales.
- Ambos residuos de fruta fermentados son inestables una vez expuestos al aire, pero, la duración más prolongada de la fermentación ayuda a retrasar el proceso de deterioro aeróbico. Tanto el EP como el EC fermentados por 29 días permanecen estables en condiciones ambientales por 1 día vs. 3 días después de 65 días de fermentación.

6.0. Implicaciones

El presente trabajo aporta información sobre la capacidad de fermentación, el consumo y aceptación animal y la digestibilidad de residuos fermentados de plantas procesadoras de piña y china, así como el periodo de estabilidad aeróbica del producto fermentado. Queda demostrado que la fermentación de residuos orgánicos y su posterior utilización en la alimentación de pequeños rumiantes representa tanto una alternativa de disponer los residuos para las plantas procesadoras, como una fuente de alimento adicional para los productores de pequeños rumiantes. Sin embargo, es necesario evaluar el efecto de la utilización de los residuos fermentados de plantas procesadoras de piña y china sobre otros criterios del desempeño animal (ganancia en peso, producción de leche etc.). También hacen falta métodos prácticos de mejorar la estabilidad aeróbica del producto fermentado.

7.0. Referencias

Adams, D. C. 1985. Effect of time of supplementation on performance, forage intake, and grazing behavior of yearling beef steers grazing Russian wild ryegrass in the fall. *J. Anim. Sci.*, 61(4):1037-1042.

Arias Carrasquillo, F. 1998. Características fermentativas y estabilidad aeróbica de dos variedades de maíz tropical y hierba guinea ensilada a diferentes estados de madurez. MS Tesis. Universidad de Puerto Rico. RUM. 77pp.

AOAC. Association of Official Analytical Chemist. 1990. *Official Methods of Analysis*. Arlington, VA.

Assis, A. J., J. M. de Souza Campos, A. C. de Queiroz, S. de C. Valadares Filho, R. F. Euclydes, R. de P. Lana, A. L. Rodrigues Magalhães, J. Mendes Neto y S. de Souza Mendonça. 2004. Citrus pulp in diets for milking cows. 2. Digestibility of nutrients in two periods of feces collection and rumen fluid pH and ammonia nitrogen. *R. Bras. Zootec.* 33(1):242-250.

Ba Mui, N., C. Xuan Dan, y V. Duy Giang. 2001. The effects of kinds of pineapple residue silage on its chemical composition, in sacco degradability, and influence of its partial replacement of green grass in the goats diets on some characteristics of rumen fermentation. *Proceeding – Workshop on improved utilization of by-products for animal feeding in Vietnam*. www.vcn.vnn.vn/sp_pape/spec_5_4_2001_10.htm.

Bartolomk, A. P., P. Rupbrez y C. Fhster. 1995. Pineapple fruit: morphological characteristics, chemical composition, and sensory analysis of Red Spanish and Smooth Cayenne cultivars. *Food Chemistry* 53:75-79.

Baumont, R., S. Prache, M. Meuret y P. Morand-Fehr. 2000. How forage characteristics influence behaviour and intake in small ruminants: a review. *Livestock Production Science*. 64: 15-28.

Ben Salem, H. y A. Nefzaoui. 2003. Feed blocks as alternative supplements for sheep and goats. *Small Ruminant Research* 49: 275–288.

Bishop, E. J. B. y J. A. G. Nell. 1974. Continuous stall feeding of pineapple silage as the only source of roughage to dairy cattle. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 4(2):117-119.

Bistanji, G., S. Hamadeh, H. Hassan, F. Tami y R. Tannous. 2000. The potential agro-industrial byproducts as feeds for livestock in Lebanon. *Livestock Research for Rural Development*. 12(3). www.cipav.org.co

Bosques, J., A. A. Rodríguez y D. Cianzio. 2004. Fermentation characteristics and aerobic stability of orange pulp silage treated with urea. *Proceedings: Undergraduate*

Research Program, Livestock and Environmental Group. Animal Industry Department, University of Puerto Rico, Mayagüez Campus. 1 (1): 14-20.

Casas, A., D. Cianzio, A. Rivera, M. Antoni, L. Añeses y L. Cantisani. 2000. The effect of stocking rate, fertilization level, and winter supplementation on the grazing performance of Senepol purebred and crossbred bulls. *J. Agric. Univ. P.R.* 84(1-2):1- 15.

Canton, J. S. y D. V. Dhuyvetter. 1997. Influence of energy supplementation on grazing ruminants: requirements and responses. *J. Anim. Sci.* 75:533-542.

Cervantes Nuñez, A., D. Arroyo Ramos, A. S. Shimada. Valor nutritivo de un ensilaje de bagazo de piña y bagacillo de caña como fuente de forraje suplementario para ganado durante la época de secas. *Técnica pecuaria en Mexico.* Enero-junio: 9-15.

Chedly, K. y S. Lee. 2004. "Silage from by-products for smallholders". www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/AGRICUT/AGP/AGPC/gp/SILAGE/HTML/Paper6.htm.

Crawshaw, R. 2001. *Co-products Feeds: Animal Feeds from the Food and Drinks Industries.* Nottingham University Press, United Kingdom. 285 pp.

Crickenberger, R. G. y R. E. Carawan. 1996. Using food processing by-products for animal feed. North Carolina Cooperative Extension Service. Publication number: CD-37.

Cruz, N., S. Pagán y A. A. Rodríguez. 2005. Fermentation characteristics and aerobic stability of mango (*Magnifera indica*) and starfruit (*Avherroa carambola*) residues. Proceedings: Undergraduate Research Program, Livestock and Environmental Group. Animal Industry Department, University of Puerto Rico, Mayagüez Campus. 2(1): 43-50.

Danner, H., M. Holzer, E. Mayrhuber y R. Braun. 2003. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Applied and Environmental Microbiology.* 69(1): 562-567.

Díaz, H. L. 2004. Efecto de la suplementación con ensilaje de residuos de una planta procesadora de tilapia (*Oreochromis niloticus*) sobre el consumo voluntario y la digestibilidad de nutrientes de heno de gramíneas y leguminosas tropicales. MS Tesis. Universidad de Puerto Rico. RUM. 74pp.

Do Prado, I.N., F.H. Lallo, L.M. Zeoula, S.F. Caldas Neto, W. G. do Nascimento y J. A Marques. 2003. Bulls performance in feedlot with levels of substituting corn silage by-products silage. *R. Bras. Zootec.* 32(3): 737-744.

Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers y F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28:350.

- Falade, O. S., O. R. Sowunmi, A. Oladipo, A. Tubosun y S. R. Adewusi. 2003. The level of organic acids in some Nigerian fruits and their effect on mineral availability in composite diets. *Pakistan Journal of Nutrition* 2 (2): 82-88.
- Fegeros, K., G. Zervas, S. Stamouli y E. Apostolaki. 1995. Nutritive value of dried citrus pulp and its effects on milk yield and milk composition of lactating ewes. *J. Dairy Sci.* 78: 1116-1121.
- Ferrel, C. L., K. K. Kreikemeier y H. C. Freetly. 1999. The effect of supplemental energy, nitrogen, and protein on feed intake, digestibility, and nitrogen flux across the gut and liver in sheep fed low-quality forage. *J. Anim. Sci.* 77: 3353-3364.
- Fisher, D. W. 2002. A review of key factors regulating voluntary feed intake in ruminants. *Crop Science.* 42:1651-1655.
- González, J., P. Randel, A. Rodríguez, H. Santiago y E. Valencia. 2005. Effect of shrimp residue supplementation on intake and digestibility of grass hay. *Proceedings: Undergraduate Research Program, Livestock and Environmental Group. Animal Industry Department, University of Puerto Rico, Mayagüez Campus.* 2 (1): 25-28.
- González, G. y A. A. Rodríguez. 2003. Effect of storage method on fermentation characteristics, aerobic stability and forage intake of tropical grasses ensiled in round bales. *J. Dairy Sci.* 86:926-933.
- Gutiérrez, F., A. Rojas-Bourillón, H. Dormond, M. Poore y R. Wing Ching-Jones. 2003. Características nutricionales y fermentativas de mezclas ensiladas de desechos de piña y avícolas. *Agronomía Costarricense.* 27(1)78-89.
- Ha, J. K., S. W. Kim y W. Y. Kim. 1996. "Use of agro-industrial by-products as animal feeds in Korea". www.agnet.org/library/article/eb423.html.
- Haro Martínez, J. E. y F. J. Martínez Moyano. 2004. "Estrategias para el aprovechamiento ganadero de subproductos agrícolas en la provincia de Almería". www.gem.es/MATERIALES/DOCUMENT/DOCUMENT/g11/d11201.htm.
- Huber, J. T. 1981. *Upgrading Residues and By-products for Animals.* CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 131pp.
- Humphreys, L. R. 1994. *Tropical Forages: Their Role in Sustainable Agriculture.* Longman Scientific & Technical, England. 166 pp.
- Ítavo, L. C. V., G. T. Santos, C. Cabreira, T. Vinhas, K. Peron y C. C. Brandão. 2000. Composition and apparent digestibility of orange peel silage additives. *Rev. Bras. Zootec.* 29(5):1485-1490.

Jung, H. G. y M. S. Allen. 1995. Characteristics of plant cell walls affecting intake and digestibility of forages by ruminants. *J. Anim. Sci.* 73: 2774-2790.

Kondo, M., K. Kita y H. Yokota. 2004. Feeding value to goats of whole-crop oat ensiled with green tea waste. *Animal Feed Science and Technology* 113: 71-81.

Kung, L. 2000. Silage fermentation & additives. Direct-fed microbial, enzyme & forage additive compendium, Miller Publishing Co., Minnesota, MN.
<http://stephenville.tamu.edu/~butler/foragesoftexas/haysilage/silagemngt.pdf>

Lallo, F. B., I. N. do Prado, W. G. do Nascimento, L. M. Zeoula, F. B. Moreira y F. Y. R. Wada. 2003. Substitution levels of corn silage by pineapple by-products on ruminal degradability in beef cattle. *R. Bras. Zootec.* 32(3): 719- 726.

León, F. 2003. Consumo voluntario y digestibilidad de nutrientes de heno de gramíneas tropicales nativas y ensilaje de sorgo y el efecto de la suplementación con residuos fermentados de pescadería. MS Tesis. Universidad de Puerto Rico. RUM.63pp.

Lousada Junior, J. E., J. N. Miranda Neiva, N. M. Rodríguez, J. C. Machado Pimentel y R. N. Braga Lôbo. 2005. Consumo e digestibilidade de subprodutos do processamento de frutas em ovinos. *R. Bras. Zootec.*34(2):659-669.

Lyman Ott, R. y M. Longnecker. 2001. *An Introduction to Statistical Methods and Data Analysis*. 5th ed. Duxbury, CA, USA. 1152pp.

Mahouachi, M., L. Haddad, C. Kayouli, A. Théwis y Y. Beckers. 2003. Effects of the nature of nitrogen supplementation on voluntary intake, rumen parameters and ruminal degradation of dry matter in sheep fed oats silage-based diets. *Small Ruminant Research* 48: 181-187.

McDonald, P. 1981. *The Biochemistry of Silage*. John Wiley and Sons, Ltd. New York. 226pp.

Minson, D. J. 1990. *Forages in Ruminant Nutrition*. Academic Press, San Diego, CA, USA. 483pp.

Moore, J. A., M. H. Poore y J. M. Luginbuhl. 2002. By-products for meat goats: effects on digestibility, ruminal environment, and carcass characteristics. *J. Anim. Sci.* 80:1752-1758.

Navamuel, J., S. Fioranelli, A. Capellari, M. Revidatti, N. Coppo y J. Coppo. 2002. Ganancia de peso en vacas de invernada suplementadas con pulpa de citrus. *Livestock Research for Rural Development* 14(1). www.cipav.org.co

NRC. *Nutrient Requirements of Sheep*. 1985. 6th Ed. National Academy Press. Washington, D.C. 112pp.

Ortiz Colón, G. 2002. Suplementación con dos fuentes de nitrógeno a toretes pastando gramíneas tropicales. MS Tesis. Universidad de Puerto Rico. RUM. 42pp.

Oude Elfeerink, S. J. W. H., F. Drehuis, J. C. Gottschal y S. F. Spoelstra. 2004. "Silage fermentation processes and their manipulation".
www.fao.org/DOCREP/005/X8486e09.htm.

Peacock, F. M. y W. G. Kirk. 2003. Comparative feeding value of dried citrus pulp, corn feed meal, and ground snapped corn for fattening steers in drylot. Florida Cooperative Extension Service. Bulletin 616.

Phillips, W. A., S. P. Hart, H. A. Glimp y D. L. Von Tugeln. 1995. Supplementation to compensate for differing stocking rates for steers grazing wheat pasture. J. Prod. Agric. 8: 84-88.

Poppi, D. P., M. Gill y J. France. 1994. Integration of theories of intake regulation in growing ruminants. J. Theor. Biol. 167:129-145.

Provenza, F. D. 1995. Postingestional feedback as an elementary determinant of food preference and intake in ruminants. J. Range Manage. 48:2-17.

Rees, T.J. 1997. The development of a novel antifungal silage inoculant. Doctoral Research Dissertation, Cranfield University Biotechnology Centre, UK.

Reis, J. D., P. C. De Aguilar Paiva, I. Von Teisenhausen y C. A. De Rezende. 2000. Chemical composition, voluntary intake, and digestibility of the silages of passion fruit (*Passiflora edulis* Sins f. *flavicarpa*) residues with elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum) CV Cameroon and their combinations. Cienc. Agrotec., Lavras, 24(1):213-224.

Rivera, L. 2003. Determinación de digestibilidad y consumo de materia seca de heno de *Arachis glabrata* en rumiantes. MS Tesis. Universidad de Puerto Rico. RUM. 53pp.

Rodríguez, A.A. 1996. Studies on the efficacy of a homofermentative lactic acid-producing bacterial inoculant and commercial plant cell wall-degrading enzyme mixtures to enhance the fermentation characteristics and aerobic stability of forages ensiled in temperate and tropical environments. Doctoral Research Dissertation. Michigan State University, East Lansing, MI, USA. 351pp.

Sanderson, M. A. 1993. Aerobic stability and in vitro fiber digestibility of microbially inoculated corn and sorghum silages. J. Anim. Sci. 71: 505-514.

SAS Inst. 1990. SAS/STAT® User's Guide (Release 6.12). SAS inst. Inc., Cary, N.C.

Sotomayor-Ríos, A. y W. D. Pitman, 2001. Tropical Forage Plants: Development and use. CRC Press, Boca Raton. 391pp.

Stanley, R. W., S. M. Ishizaki y W. Y. Toma. 1979. Local by-products as feeds for dairy cattle. IV Pineapple greenchop and silage. Hawaii Agricultural Experiment Station. Research report. 15pp.

Strickland, J. y T. R. Parsons. 1972. Practical Handbook of Seawater Analysis. Canada. 310 pp.

Tripodo, M. M., F. Lanuza, G. Micali, R. Coppolino y F. Nucita. 2004. Citrus waste recovery: a new environmentally friendly procedure to obtain animal feed. *Bioresource Technology* 91 (2):111-115.

Van Soest, P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. 2 ed. Comstock Publ. Assoc., Ithaca, N.Y. 374 pp.

Van Soest, P. J., J. B. Robertson y B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:473-481.

Volanis, M., P. Zoiopoulos y K. Tzerakis. 2004. Effects of feeding ensiled sliced oranges to lactating dairy sheep. *Small Ruminant Research* 53:15–21.

Wayman, O., R. O. Kellens, J. C. Nolan, A. H. Nguyen. 1978. Pineapple plant silage for growing and finishing steers. Hawaii University Cooperative Extension Service, USA. Bulletin 143. 20pp.

Weinberg, Z. G., G. Szakacs, G. Ashbell y Y. Hen. 2001. The effect of temperature on the ensiling process of corn and wheat. *J. Appl. Bacteriol.* 90(4):561-566.

Wing, J.M. 1982. Citrus feedstuffs for dairy cattle. Florida Cooperative Extension Service. Bulletin 829.

Woolford, M.K. 1984. The Silage Fermentation. Marcel Dekker. New York. 350pp.

8.0. Apéndice.

Apéndice 1. Consumo de MS de forraje y ensilajes de frutas fermentadas y peso vivo de corderos alimentados con HGTN¹.

Periodo	Cordero	Tratamiento	PV (kg)	Consumo de MS (g/d)					MS/PV (%)	Digestibilidad MS (%)
				HGTN	EP	EC	HS	Total		
I										
	1	HGTN	22.73	389.75	0	0	15.80	405.55	1.78	67.72
	2	HGTN + EC	24.32	510.84	0	164.52	21.08	696.44	2.86	68.19
	3	HGTN	20.23	517.36	0	0	17.58	534.94	2.64	48.42
	4	HGTN	19.09	457.2	0	0	17.60	474.8	2.49	60.6
	5	HGTN + EP	27.73	374.09	98.43	0	12.26	484.78	1.75	41.28
	6	HGTN + EC	24.32	302.59	0	86.77	15.80	405.16	1.67	53.79
	7	HGTN + EC	19.09	234.31	0	76.39	14.02	324.73	1.7	65.8
	8	HGTN + EP	26.59	492.84	166.62	0	26.40	685.86	2.58	63.73
	9	HGTN + EP	21.59	291.41	87.20	0	12.26	390.87	1.81	58.54
Promedio			22.85	396.71	117.42	109.23	16.98	489.24	2.14	58.67
II										
	1	HGTN + EP	23.86	392.94	137.49	0	20.88	551.32	2.31	56.27
	2	HGTN	23.64	586.38	0	0	25.93	612.31	2.59	42.56
	3	HGTN + EP	19.09	388.69	125.82	0	17.4	531.9	2.79	54.42
	4	HGTN + EP	19.09	386	111.28	0	16.7	513.98	2.69	50.74
	5	HGTN + EC	29.77	657.37	0	91.23	28.36	776.95	2.61	46.36
	6	HGTN	24.55	586.95	0	0	26.1	613.05	2.5	43.43
	7	HGTN	19.77	429.05	0	0	17.4	446.45	2.26	49
	8	HGTN + EC	25.23	534.66	0	138.5	26.1	699.25	2.77	50.52
	9	HGTN + EC	22.73	387	0	129.31	20.88	537.2	2.36	48.09
Promedio			23.08	483.23	124.86	119.68	22.19	586.93	2.54	49.04
III										
	1	HGTN + EC	23.64	306.93	0	93.22	17.4	417.55	1.77	59.47
	2	HGTN + EP	21.82	277.4	88.13	0	17.4	382.93	1.76	59.09
	3	HGTN + EC	19.77	305.05	0	71.2	17.4	393.65	1.99	52.67
	4	HGTN + EC	17.95	263.97	0	44.41	12.12	320.5	1.79	47.29
	5	HGTN	29.32	679.47	0	0	27.84	707.31	2.41	52.96
	6	HGTN + EP	22.5	270.77	87.52	0	17.4	375.69	1.67	52.04
	7	HGTN + EP	19.09	243.64	69.77	0	10.44	323.85	1.7	67.49
	8	HGTN	25.68	518.02	0	0	17.4	535.42	2.08	58.3
	9	HGTN	19.77	172.44	0	0	10.44	182.88	0.92	46.47
Promedio			22.17	337.52	81.81	69.61	16.43	404.42	1.79	55.09

¹ PV = peso vivo; HGTN = heno de gramínea tropical naturalizada; EP = ensilaje de piña; EC = ensilaje de china; HS = harina de soya.

Apéndice 2. Consumo de FDN de forraje y ensilajes de frutas fermentadas por corderos alimentados con HGTN¹.

Periodo	Cordero	Tratamiento	Consumo de FDN (g/d)					Digestibilidad FDN
			HGTN	EP	EC	HS	Total	
I	1	HGTN	285.15	0	0	3.28	288.43	69.37
	2	HGTN + EC	379.67	0	43.06	4.38	427.11	59.91
	3	HGTN	383.75	0	0	3.65	387.40	51.16
	4	HGTN	340.86	0	0	3.65	344.51	61.63
	5	HGTN + EP	281.18	72.84	0	2.55	356.57	43.36
	6	HGTN + EC	226.64	0	22.95	3.28	252.87	49.83
	7	HGTN + EC	173.56	0	19.91	2.91	196.38	64.29
	8	HGTN + EP	367.48	123.27	0	5.48	496.23	65.26
	9	HGTN + EP	218.24	64.63	0	2.55	285.42	61.74
Promedio			295.17	86.91	28.64	3.53	337.21	58.51
II	1	HGTN + EP	279.43	72.03	0	3.41	354.87	54.84
	2	HGTN	429.29	0	0	4.22	433.51	45.59
	3	HGTN + EP	286.07	66.07	0	2.84	354.98	55.02
	4	HGTN + EP	275.20	58.47	0	2.73	336.40	50.23
	5	HGTN + EC	487.78	0	18.56	4.62	510.96	44.02
	6	HGTN	435.90	0	0	4.25	440.15	48.12
	7	HGTN	317.98	0	0	2.84	320.82	52.12
	8	HGTN + EC	390.99	0	31.29	4.25	426.52	46.27
	9	HGTN + EC	284.24	0	30.02	3.40	317.67	41.85
Promedio			354.10	65.52	26.62	3.62	388.43	48.67
III	1	HGTN + EC	225.00	0	22.43	3.41	250.84	58.34
	2	HGTN + EP	203.16	50.90	0	3.41	257.47	57.21
	3	HGTN + EC	222.89	0	17.19	3.41	243.48	56.03
	4	HGTN + EC	192.58	0	10.27	2.39	205.24	46.78
	5	HGTN	518.14	0	0	5.46	523.60	55.18
	6	HGTN + EP	197.42	50.55	0	3.41	251.38	49.89
	7	HGTN + EP	169.66	40.30	0	2.05	212.01	64.30
	8	HGTN	380.98	0	0	3.41	384.39	58.21
	9	HGTN	126.75	0	0	2.05	128.80	48.13
Promedio			248.51	47.25	16.63	3.22	273.02	54.90

¹ HGTN = heno de gramínea tropical naturalizada; EP = ensilaje de piña; EC = ensilaje de china; HS = harina de soya.

Apéndice 3. Consumo de PB de forraje y ensilajes de frutas fermentadas por corderos alimentados con HGTN¹.

Periodo	Cordero	Tratamiento	Consumo de PB (g/d)					Digestibilidad PB (%)
			HGTN	EP	EC	HS	Total	
I	1	HGTN	17.93	0	0	7.37	25.30	57.39
	2	HGTN + EC	25.05	0	9.71	9.83	44.59	60.34
	3	HGTN	25.10	0	0	8.20	33.30	44.42
	4	HGTN	22.09	0	0	8.21	30.30	55.00
	5	HGTN + EP	16.54	3.15	0	5.72	25.41	30.10
	6	HGTN + EC	14.01	0	4.83	7.37	26.21	37.19
	7	HGTN + EC	11.58	0	4.21	6.54	22.33	54.01
	8	HGTN + EP	24.99	5.32	0	12.31	42.62	53.57
	9	HGTN + EP	15.04	2.84	0	5.72	23.60	42.56
Promedio			19.15	3.77	6.25	7.92	30.41	48.29
II	1	HGTN + EP	15.63	9.35	0	8.02	33.00	42.50
	2	HGTN	22.83	0	0	9.95	32.78	36.42
	3	HGTN + EP	14.84	8.42	0	6.68	29.94	39.04
	4	HGTN + EP	14.45	7.43	0	6.41	28.29	41.11
	5	HGTN + EC	24.85	0	10.04	10.89	45.77	37.71
	6	HGTN	21.40	0	0	10.02	31.42	24.52
	7	HGTN	17.56	0	0	6.68	24.24	33.66
	8	HGTN + EC	20.18	0	13.70	10.02	43.90	65.57
	9	HGTN + EC	14.47	0	12.35	8.02	34.84	43.27
Promedio			18.47	8.4	12.03	8.52	33.80	40.42
III	1	HGTN + EC	9.29	0	6.20	7.93	23.42	48.52
	2	HGTN + EP	10.59	4.41	0	7.93	22.93	54.02
	3	HGTN + EC	14.92	0	4.63	7.93	27.48	59.15
	4	HGTN + EC	12.48	0	2.65	7.93	23.07	49.38
	5	HGTN	28.52	0	0	11.11	39.62	50.27
	6	HGTN + EP	12.86	4.38	0	7.93	25.16	37.57
	7	HGTN + EP	10.51	3.49	0	4.76	18.76	56.18
	8	HGTN	22.81	0	0	7.93	30.74	47.11
	9	HGTN	8.43	0	0	4.76	13.19	38.15
Promedio			14.49	4.093	4.493	7.58	24.93	48.93

¹ HGTN = heno de gramínea tropical naturalizada; EP = ensilaje de piña; EC = ensilaje de china; HS = harina de soya.

