



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

CAMPUS LOMA BONITA

MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN Y PROCESAMIENTO PECUARIO

ANÁLISIS PROXIMAL Y DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE ENSILADOS DE
RASTROJO DE PIÑA ENRIQUECIDOS CON DIFERENTES
CONCENTRACIONES DE UREA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN PRODUCCIÓN Y PROCESAMIENTO PECUARIO

PRESENTA:

Yael Esbeydy Valenzuela Haro

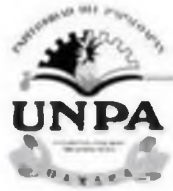
DIRECTORA:

Dra. Gladis Morales Terán

CODIRECTOR:

Dr. Miguel Ángel Sánchez Hernández

LOMA BONITA, OAXACA. MÉXICO, 2024



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO	DEP-MPPP/2023/089
ASUNTO	Autorización de impresión de Tesis

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, a 21 de noviembre de 2023

DRA. TANIA ZÚÑIGA MARROQUÍN
ENCARGADA DEL DESPACHO DE LA VICERRECTORÍA ACADÉMICA
UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

Sirva la presente para informarle que, el jurado evaluador del examen para obtener el grado de Maestra en Producción y Procesamiento Pecuario de la **C. Yael Esbeydy Valenzuela Haro**, con número de **Matricula 21190008**, ha autorizado la impresión del manuscrito que lleva por título " **Análisis Proximal y Digestibilidad In Vitro de Ensilados de Rastrojo de Piña Enriquecidos Con Diferentes Concentraciones de Urea** ", para su posterior presentación y defensa por el sustentante

Agradezco su atención y quedo a sus órdenes para cualquier duda o aclaración.

Atentamente
terra uberrima, mens aperta
Bou Lo-tama, chi ji jú

Dr. José Abad Zavaleta
Jefe de la División de Estudios de Posgrado



C.c.p. Archivo



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO	DEP-MPPP/2023/090
ASUNTO	Jurado para examen de grado

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, a 21 de noviembre de 2023

C. Yael Esbeydy Valenzuela Haro
MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN Y PROCESAMIENTO PECUARIO
UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

Por este medio le informo que el jurado evaluador para obtener el grado de Maestra en Producción y Procesamiento Pecuario estará integrado por los siguientes investigadores.

Dr. Wilber Hernández Montiel	Presidente	Universidad del Papaloapan
Dra. Gladis Morales Terán	Vocal	Universidad del Papaloapan
Dr. Adolfo Amador Mendoza	Secretario	Universidad del Papaloapan
Dr. José Manuel Juárez Barrientos	Primer Suplente	Universidad del Papaloapan
Dr. Miguel Ángel Sánchez Hernández	Segundo Suplente	Universidad del Papaloapan

Sin más por el momento, le envío saludos cordiales.

Atentamente
terra uberrima, mens aperta
Bou Lo-tama, chi ji jú


Dr. José Abad Zavaleta
Jefe de la División de Estudios de Posgrado


Dra. Tania Zúñiga Marroquín
Encargada del despacho de la Vicerrectoría Académica
Vo. Bo.




C.c.p. Dra. Gladis Morales Terán – Directora de tesis.
C.c.p. Dr. José Ángel Rueda Barrientos – Coordinador de la Maestría en Producción y Procesamiento Pecuario
C.c.p. M. E. Yesenia Barrientos Arenal – Jefa del Departamento de Servicios Escolares.
C.c.p. Archivo.

CAMPUS TUXTEPEC
C. Circuito central No. 200, Col. Parque Industrial,
C.P. 38301, Tuxtepec, Oax.
Tel. 01(287)8759240

www.unpa.edu.mx

CAMPUS LOMA BONITA
Av. Ferrocarril S/N, Ciudad universitaria.
C.P. 68400, Loma Bonita, Oax.
Tel. 01(281)8729230

HOJA DE ORIGINALIDAD

El presente trabajo no ha sido aceptado o empleado para el otorgamiento de título o grado diferente o adicional al actual. La tesis es resultado de las investigaciones del autor, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas. El autor otorga su consentimiento a la **Universidad del Papaloapan** para la reproducción del documento con el fin del intercambio bibliotecario siempre y cuando se indique la fuente.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) y a la Universidad del Papaloapan, por su apoyo y patrocinio para la realización de tesis que es parte del proyecto: “Análisis bromatológico y digestibilidad *in vitro* de ensilados de rastrojo de piña enriquecidos con urea en la alimentación de rumiantes” con clave 02-A-32-21-I con registro en el Instituto de Agroingeniería de la Universidad del Papaloapan.

A la Universidad del Papaloapan por darme la oportunidad de estudiar el posgrado en Producción y Procesamiento Pecuario.

A la **Dra. Gladis Morales Terán** y al **Dr. Miguel Ángel Sánchez Hernández** por ser parte fundamental en la elaboración del presente trabajo de investigación.

Al **Dr. José Manuel Juárez Barrientos** por brindarme su amistad y apoyo incondicional.

Al **Dr. José Ángel Rueda** y al **Dr. José Abad Zavaleta** por apoyarme en todo momento.

Al **Ing. César Herrera Fuentes** por motivarme a estudiar un posgrado (un abrazo hasta el Mictlán Inge).

A la **MC. Berenice Chareo Benítez** por su paciencia, enseñanzas y amistad brindada.

DEDICATORIA

A mis gatos Choco y Wero por acompañarme en esas noches de desvelo.

A Taylor Swift y a BLACKPINK por no dejarme caer con su música.

A Saul por estar conmigo siempre y por su apoyo incondicional en los momentos más difíciles.

ÍNDICE

	Página
AGRADECIMIENTOS.....	v
DEDICATORIA.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
ABREVIATURAS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT.....	xvii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Subproductos agrícolas.....	4
2.2. Subproductos de la piña.....	4
2.2.1. Corona.....	5
2.2.2. Cáscara.....	5
2.2.3. Bagazo.....	5
2.2.4. Hojas.....	5
2.2.5. Tallo.....	5
2.2.6. Rastrojo.....	6
2.3. Planta de piña.....	6
2.3.1. Origen.....	7
2.3.1.1. Cayena lisa.....	7
2.3.1.2. MD2.....	7
2.3.2. Contenido nutricional de la planta de piña.....	8

2.4. Ensilado.....	8
2.4.1. Etapa aeróbica.....	10
2.4.2. Etapa de fermentación.....	10
2.4.3. Etapa estable.....	11
2.4.4. Etapa de deterioro aerobio.....	12
2.5. Silo.....	13
2.5.1. Tipos de silo.....	13
2.5.2. Características del ensilado.....	13
2.6. Pérdidas de nutrientes durante el ensilado.....	14
2.6.1. Pérdidas en el campo.....	14
2.6.2. Pérdidas por oxidación.....	14
2.6.3. Pérdidas por fermentación.....	14
2.6.4. Pérdidas de líquidos.....	15
2.7. Aditivos.....	15
2.7.1. Tipos de aditivos.....	15
2.7.1.1. Ácidos orgánicos.....	15
2.7.1.2. Bacterias inoculantes.....	16
2.7.1.3. Enzimas fibrolíticas.....	16
2.7.1.4. Detergentes.....	16
2.7.1.5. Antioxidantes.....	17
2.8. Efecto de la urea en el ensilado.....	17
2.9. Análisis de alimentos.....	18
2.9.1. Tipos de análisis de alimentos.....	19
2.10. Análisis químico proximal de los alimentos.....	19

2.10.1. Análisis químico proximal de Weende.....	20
2.10.1.1. Materia seca.....	20
2.10.1.2. Cenizas.....	20
2.10.1.3. Proteína cruda.....	20
2.10.1.4. Extracto etéreo.....	21
2.10.2. Análisis químico de Van Soest.....	21
2.10.2.1. Fibra detergente neutro.....	21
2.10.2.2. Fibra detergente ácido.....	21
2.11. Digestibilidad.....	22
2.11.1. Tipos de digestibilidad.....	22
2.11.1.1. Digestibilidad <i>in vivo</i>	22
2.11.1.2. Digestibilidad <i>in situ</i>	23
2.11.1.3. Digestibilidad <i>in vitro</i>	23
3. HIPÓTESIS.....	24
4. OBJETIVOS.....	25
4.1. Objetivo general.....	25
4.2. Objetivos específicos.....	25
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
5.1. Localización del área donde se efectuó el estudio.....	26
5.2. Procedencia, recolección y procesamiento de la muestra.....	26
5.3. Tratamientos y diseño experimental.....	27
5.4. Variables evaluadas.....	28
5.5. Variables químicas.....	28
5.5.1. Determinación de materia seca (MS).....	28

5.5.2. Determinación de proteína cruda (PC).....	29
5.5.3. Determinación de Extracto Etéreo (EE) (Método Soxhlet).....	32
5.5.4. Determinación de potencial de hidrógeno (pH).....	33
5.5.5. Determinación de acidez titulable (AT).....	34
5.5.6. Determinación de cenizas (CNZ).....	35
5.5.7. Determinación de fibra detergente neutro (FDN).....	36
5.5.8. Determinación de fibra detergente ácido (FDA).....	39
5.5.9. Determinación de lignina (LIG).....	41
5.5.10. Digestibilidad <i>in vitro</i> (DIV).....	43
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
6.1. Materia seca.....	47
6.2. Proteína cruda.....	49
6.3. Extracto etéreo.....	51
6.4. Potencial de hidrógeno.....	52
6.5. Acidez titulable.....	54
6.6. Cenizas.....	55
6.7. Fibra detergente neutro.....	57
6.8. Fibra detergente ácido.....	58
6.9. Lignina.....	59
6.10. Digestibilidad <i>in vitro</i>	61
7. CONCLUSIONES.....	63
8. PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES.....	64
9. LITERATURA CITADA.....	65
10. ANEXO DE FIGURAS.....	73

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Composición química de la piña (<i>Ananas comosus</i> L. Merr) y los subproductos que de ella se obtienen (Peralta, 2020).....	8
Tabla 2. Piña Cayena lisa, MD2 y el combinado de ambas, niveles de nitrógeno y variables que se midieron en ensilados de rastrojo de piña.	27
Tabla 3. Materia seca en la calidad nutricional de rastrojo de piña.....	47
Tabla 4. Proteína cruda en la calidad nutricional de rastrojo de piña....	50
Tabla 5. Extracto etéreo en la calidad nutricional de rastrojo de piña....	51
Tabla 6. Potencial de hidrógeno en la calidad nutricional de rastrojo de piña.....	53
Tabla 7. Acidez titulable en la calidad nutricional de rastrojo de piña....	54
Tabla 8. Cenizas en la calidad nutricional de rastrojo de piña.....	55
Tabla 9. Fibra detergente neutro en la calidad nutricional de rastrojo de piña.....	57
Tabla 10. Fibra detergente ácido en la calidad nutricional de rastrojo de piña.....	58
Tabla 11. Lignina en la calidad nutricional de rastrojo de piña.....	60
Tabla 12. Digestibilidad <i>in vitro</i> en la calidad nutricional de rastrojo de piña.....	61

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1A. Clasificación de los ensilados (Anrique <i>et al.</i> , 2014).....	73
Figura 2A. Acahual del cultivo de piña.....	73
Figura 3A. Máquina picadora de forraje verde (14 hp).....	73
Figura 4A. Tamaño de partícula del rastrojo de piña.....	73
Figura 5A. Micro silo de rastrojo de piña.....	73
Figura 6A. Muestra fresca de ensilado de rastrojo de piña.....	74
Figura 7A. Materia seca de ensilado de rastrojo de piña.....	74
Figura 8A. Tubos de digestión Kjeldahl preparados para la obtención de proteína cruda.....	74
Figura 9A. Digestor BÜCHI utilizado para la determinación de proteína cruda.....	74
Figura 10A. Muestra digerida de ensilado de rastrojo de piña.....	74
Figura 11A. Obtención del nitrógeno en ensilado de rastrojo de piña.....	74
Figura 12A. Titulación con ácido clorhídrico para determinación de proteína cruda.....	75
Figura 13A. Extracción de lípidos en ensilado de rastrojo de piña.....	75
Figura 14A. Obtención del extracto etéreo en ensilado de rastrojo de piña.....	75
Figura 15A. Obtención de acidez titulable en ensilado de rastrojo de piña.....	75
Figura 16A. Muestra incinerada en ensilado de rastrojo de piña.....	75
Figura 17A. Muestra calcinada de ensilado de rastrojo de piña.....	75
Figura 18A. Preparación del indicador resarzurina.....	76
Figura 19A. Preparación de la solución mineral (SM).....	76

Figura 20A. Filtración del líquido ruminal de bovinos para el análisis de digestibilidad <i>in vitro</i>	76
Figura 21A. Muestra posterior a la digestibilidad <i>in vitro</i>	76

ABREVIATURAS

°C = Grados Celsius

CZN = Cenizas

DIV = Digestibilidad *in vitro*

EE = Extracto etéreo

FDA = Fibra detergente ácido

FDN = Fibra detergente neutro

g = Gramo(s)

hp = Caballos de fuerza

L = Litro(s)

LIG = Lignina

mL = Mililitro(s)

MS = Materia seca

PC = Proteína cruda

RESUMEN

En la ganadería, el ensilado de forrajes es un aporte que incide en la mejora de la dieta animal, al utilizarse cultivos agrícolas de alta demanda en la alimentación humana, los productores han encontrado alternativas como la planta de piña (*Ananas comosus* L. Merr.), que es un subproducto en la industria agrícola, las hojas son gruesas y difíciles de digerir para el animal, optándose por procesarlas y suministrarlas en alimento fresco o ensilado con aditivos como inóculos bacterianos para aumentar su carga en el rumen, melaza para modificar la energía en el animal. La urea se puede utilizar como aditivo en el ensilado para mejorar la fermentación y la calidad de este. Las bacterias presentes en el proceso de fermentación convierten la urea en amonio y en compuestos nitrogenados como las proteínas. El presente trabajo se realizó en Loma Bonita Oaxaca, México en el laboratorio Químico-Biológico de la Universidad del Papaloapan, con la finalidad de obtener valores nutricionales de ensilados de rastrojo de piña de las variedades Cayena lisa, MD2 y el combinado de ambas, con diferentes niveles de urea (0, 0.33, 0.66 y 1.00 %) mediante el análisis químico proximal bajo las normas de la AOAC (2020) donde se evaluaron las variables materia seca (MS), proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), cenizas (CNZ), potencial de hidrógeno (pH), acidez titulable (AT), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), lignina (LIG) y digestibilidad *in vitro* (DIV). Los valores obtenidos se analizaron mediante el software estadístico (Statistical Analysis System) (SAS, 2013). Los resultados indicaron que los niveles de urea no cambian de forma significativa el contenido de MS, FDA y LIG en el ensilado, el contenido de PC, EE, pH y AT aumentó conforme se incrementó el aditivo, en la variedad MD2 se encontró un valor más alto en la variable CNZ

(14.74 %) en el tratamiento sin aditivo y en FDN (58.82 %) en el tratamiento con 0.33 % de urea. La DIV (84.71 %) fue alta en el tratamiento 0.66 % en la variedad Cayena lisa, pero existió un descenso (59.80 %) en la variedad MD2 en el tratamiento 0.33 %. El ensilado de rastrojo de piña es un complemento en la dieta de los animales rumiantes debido a su calidad nutricional (MS= 21.81 %; PC= 10.07 %; EE= 2.40 %; CNZ= 11.56 %; FDN= 51.91 %; FDA= 45.59 %; LIG= 2.36 %; pH= 4.03; AT= 0.18 %; DIV= 70.77 %). Otra bondad del ensilado de rastrojo de piña es que se convierte en una alternativa de manejo del rastrojo al término de cada ciclo de producción de la piña.

Palabras clave: Ensilado, Rastrojo de piña, Urea, Digestibilidad *in vitro*.

ABSTRACT

In livestock farming, fodder silage is a contribution to improve the animal diet, as agricultural crops of high demand in human food are used, producers have found alternatives such as pineapple plants (*Ananas comosus* L. Merr.), which is a by-product in the agricultural industry, the leaves are thick and difficult to digest for the animal, opting to process and supply them in fresh feed or silage with additives such as bacterial inoculums to increase its load in the rumen, molasses to modify the energy in the animal. Urea can be used as an additive in silage to improve fermentation and silage quality. Bacteria present in the fermentation process convert urea into ammonium and nitrogenous compounds such as proteins. The present work was carried out in Loma Bonita Oaxaca, Mexico in the Chemical-Biological laboratory of the Universidad del Papaloapan, with the purpose of obtaining nutritional values of pineapple stubble silage of the varieties Cayena lisa, MD2 and the combined of both, with different levels of urea (0, 0.33, 0.66 and 1.00 %) by proximate chemical analysis under AOAC standards (2020) where the variables dry matter (MS), crude protein (PC), ethereal extract (EE), ash (CNZ), hydrogen potential (pH), titratable acidity (AT), neutral detergent fiber (FDN), acid detergent fiber (FDA), lignin (LIG) and *in vitro* digestibility (DIV) were evaluated. The values obtained were analyzed using the Statistical Analysis System (SAS, 2013). The results indicated that urea levels did not significantly change MS, FDA and LIG content in the silage; PC, EE, pH and AT content increased as the additive was increased. In the MD2 variety, a higher value was found in the CNZ variable (14.74 %) in the treatment without additive and in FDN (58.82 %) in the treatment

with 0.33 % urea. The DIV (84.71 %) was high in the 0.66 % treatment in the smooth Cayenne variety, but there was a decrease (59.80 %) in the MD2 variety in the 0.33 % treatment. Pineapple stubble silage is a complement in the diet of ruminant animals due to its nutritional quality (MS= 21.81 %; PC= 10.07 %; EE= 2.40 %; CNZ= 11.56 %; FDN= 51.91 %; FDA= 45.59 %; LIG= 2.36 %; pH= 4.03; AT= 0.18 %; DIV= 70.77 %). Another advantage of pineapple stubble silage is that it becomes an alternative for stubble management at the end of each pineapple production cycle.

Key words: Silage, pineapple stubble, Urea, *In vitro* digestibility.

1. INTRODUCCIÓN

La piña es la segunda fruta tropical más importante en el mundo, su volumen de producción en 2018 fue de 28.3 millones de toneladas de fruta fresca, encontrándose a Filipinas, Tailandia, India, Indonesia y China como los principales países productores que aportan el 55 % del total de la producción (FAO, 2020).

México tiene una superficie de 1,960,189 km² (INEGI, 2020), el 13 % se clasifica como región tropical húmeda y el 11 % como región tropical seca. En estas áreas tropicales se produce una gran cantidad de subproductos agroindustriales que no son aprovechados, y representan una alternativa viable para la alimentación animal. En los estados de Oaxaca y Veracruz se producen 976,631 toneladas de este fruto, con los que se obtienen subproductos agrícolas como el rastrojo de piña (SIAP, 2020).

La cosecha del fruto de la piña coincide con la época de escasez de pastos. De acuerdo con López *et al.* (2014) por cada hectárea de cultivo de piña cosechada quedan 200 toneladas de material verde (planta entera) que no tiene uso. Después de la cosecha, los rumiantes son introducidos a los terrenos de siembra para aprovechar los residuos de la planta de piña, lo que ocasiona que, por sus características físicas del material vegetal, el animal no lo consuma totalmente, situación que conlleva a que el ensilado de la planta de piña se perfila como una alternativa para la alimentación de rumiantes.

El ensilado incrementa la disponibilidad de forraje para afrontar la época seca y lluviosa, mediante el uso de materiales vegetativos como residuos de cosechas, subproductos agroindustriales, frutos, raíces, tubérculos y otros forrajes de uso no tradicional (López *et al.*, 2009).

Para determinar la calidad del ensilado se utilizan análisis químicos y físicos, que involucran el empleo de tecnología y manejo de la percepción sensorial. Los análisis que se realizan son: materia seca (MS), potencial de hidrógeno (pH), proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), cenizas (CNZ), fibra detergente ácido (FDA), fibra detergente neutro (FDN), lignina (LIG), ácidos grasos volátiles (AGV), digestibilidad *in vitro* (DIV) y pruebas sensoriales como: color, olor y textura (Hiriart, 2008).

En los ensilados de rastrojo de piña se debe considerar que estas plantas tienen alto contenido de carbohidratos no fibrosos (raíces: 12.2 % y el resto del material vegetativo: 37.5 %) (López *et al.*, 2014), lo que obliga a reforzar el contenido de proteína disponible para las bacterias productoras de ácido láctico (*Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Streptococcus*), con la finalidad de optimizar el proceso de ensilado mediante una rápida reducción del pH (6.5-3.8) (López y Briceño, 2017).

El aporte de urea (3 %) en la dieta de rumiantes es fuente de nitrógeno y aumenta el consumo voluntario del animal (Sánchez, 2021). El proceso implica la hidrólisis de la urea en amoníaco y en anhídrido carbónico a través de la enzima ureasa. El amoníaco se combina con los cetoácidos formando así aminoácidos para producir la proteína microbiana (Araque, 2001).

En ensilados de rastrojo de piña la urea no reduce el contenido de humedad cuando se adicionen altos niveles de inclusión de tal aditivo (Rodríguez *et al.*, 2014).

Para establecer el valor nutritivo de los alimentos es importante determinar la digestibilidad, es decir, la cantidad de alimento que desaparece en el tracto digestivo o en un procedimiento de laboratorio debido a su solubilización o aprovechamiento por los microorganismos anaerobios ruminales (Sánchez, 2021).

La digestibilidad *in vitro* es una técnica de laboratorio que se usa para conocer la cantidad de nutrientes de un alimento que el animal es capaz de digerir y absorber en un ambiente controlado mediante la simulación de fluidos digestivos, temperatura (39 °C) y pH (6.8–7.2) (Martínez *et al.*, 2014).

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de incluir niveles crecientes de urea en la capacidad de conservación y en la composición del análisis proximal y digestibilidad *in vitro* de ensilados de rastrojo de piña, para su utilización como alternativa en dietas para animales rumiantes.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Subproductos agrícolas

Son los residuos formados durante la producción agrícola, se componen de tallos, hojas, ramas y restos de cultivos que son materiales orgánicos por lo que es importante darles un manejo adecuado para evitar la proliferación de plagas que afectan al sector ganadero, así como al sector agroindustrial debido a que los subproductos agrícolas son contaminantes (García, 2020).

En el cultivo de piña, después de que se obtiene el fruto, la planta es triturada por maquinaria agrícola para iniciar un nuevo cultivo o ciclo productivo, pero al hacerlo se crean las condiciones adecuadas para la proliferación de la mosca del cuerno (*Haematobia irritans*) que inquieta al ganado mayor, este insecto deposita sus huevecillos en el estiércol y en materiales en descomposición como el alimento que cae de los comederos, las moscas son indeseables, ya que transmiten enfermedades, causan molestias a los animales y ocasionan que haya una disminución en la producción de leche y carne (García, 2020).

2.2. Subproductos de la piña

Son los residuos de la piña como la cáscara, el corazón, el tallo y las hojas, se usan para elaborar productos como alimento para animales, fertilizantes, sustancias químicas y biocombustibles. Las hojas tienen una enzima llamada bromelina utilizada como agente ablandador en la industria alimentaria. La

cáscara y el corazón se emplean en la elaboración de enzimas, alcohol y vinagre (Upadhyay *et al.*, 2010).

2.2.1. Corona. Es la parte superior del fruto, contiene un conjunto de hojas verdes que salen de este. La corona representa del 20 al 80 % del volumen de la fruta. Se usa como medio de cultivo (propágulo) en campo (Ajila *et al.*, 2015).

2.2.2. Cáscara. Es la capa exterior del fruto con textura dura y fibrosa. El mayor desperdicio al procesar el fruto es la cáscara que representa 19 % del total, se forma por lignina, celulosa y hemicelulosa y polímeros naturales, además, contiene una elevada cantidad de azúcar (10 g por cada 100 g del peso de la cáscara), que se utiliza en los procesos de fermentación (bebidas alcohólicas) y para generar metanol, etanol e hidrógeno (Ajila *et al.*, 2015).

2.2.3. Bagazo. Es el residuo fibroso que queda después de la extracción del jugo de la fruta, es utilizado como fertilizante orgánico (Kogagoda y Maraona, 2017).

2.2.4. Hojas. Son estrechas y están ligadas al tallo, tienen forma lanceolada, juntas forman una roseta. Se utilizan en la industria papelera, en la confección de fibras y en la ganadería para la alimentación de los animales (García, 2020).

2.2.5. Tallo. Es el soporte principal para las hojas y la fruta, es corto, formado por capas de tejido fibroso y con yemas axilares, tiene la forma característica de mazo, proporciona estabilidad y resistencia a la planta, está

cubierto de hojas en la parte basal pero rodeado de raíces en la parte inferior. Es importante para la propagación vegetativa de la planta (Herrera-Estrada, 2014).

2.2.6. Rastrojo. Es el material vegetal de la planta y se elimina después del ciclo productivo. Por cada hectárea de cultivo de piña cosechada quedan 200 toneladas de material verde que no tiene uso y puede ser utilizado en la alimentación de rumiantes (García, 2020).

El rastrojo de planta de piña es muy fibroso por lo que el proceso de ensilado es tardío (se recomienda utilizarlo después de 60 días), este periodo permite que el ensilado sea más palatable para el animal rumiante, ya que entre más tiempo se deje fermentar, las bacterias lo degradan mejor y la parte fibrosa es separada a partículas de menor tamaño. En un ambiente anaerobio ocurre la fermentación que dura de días a semanas (7–21 días) (Herrera-Estrada, 2014).

2.3. Planta de piña

Es una planta herbácea perenne, pertenece a la familia de las Bromeliáceas, crece en clima tropical. Mide de 1 a 1.20 m de altura, tiene hojas largas y espinosas en forma de espada, el fruto se origina por la fusión de flores individuales y crece en el centro de la planta rodeada de hojas, tiene forma ovalada con una corona de hojas en la parte superior, la piel del fruto es dura y espinosa de color amarillo a naranja cuando llega a la maduración (Bravo, 1997).

2.3.1. Origen. La piña (*Ananas comosus* L. Merr.), es una bromelia nativa de América, aunque en la actualidad se cultiva en todo el mundo. Se originó en América del Sur, cuando los europeos llegaron al Nuevo Mundo encontraron el fruto de la piña creciendo en el Caribe. Los botánicos creen que el origen de la fruta de la piña está en la cuenca del río Paraná en Paraguay. La planta de piña prospera en zonas cálidas durante todo el año. Las regiones donde el cultivo crece bien son Hawái, Filipinas, Guam, África y América. Existen muchas variedades de piña en el mundo, pero las principales que se comercializan son: Pérola, Panare, Bumanguesa, Perolera, Brecheche, Española roja y Cayena lisa (Herrera-Estrada, 2014).

2.3.1.1. Cayena lisa. Es la más cultivada en el mundo y se envía directo al mercado por sus buenas cualidades industriales (enlatados en almíbar). El fruto es de tamaño mediano, la pulpa es color amarillo pálido y pesa de 1.5 a 2.0 kg. Su sabor dulce y acidez dependen del clima, tiene entre 60-80 hojas. Sus variedades son: Barón de Rothschild, Amritha, Maipure, Sarawak, Champaka, Hilo, Kew y MD2 (Herrera-Estrada, 2014).

2.3.1.2. MD2. Es un híbrido desarrollado por el programa de mejoramiento de la piña Pineapple Research Institute (PRI) en dicho sitio se generaron híbridos con características mejoradas a partir de la variedad Cayena lisa, obtuvieron el híbrido 73-114 que contiene 50 % de Cayena lisa y en 1981 pasó a ser llamado MD2 (Herrera-Estrada, 2014).

2.3.2. Contenido nutricional. El rastrojo de piña se utiliza como forraje para la alimentación de los animales debido a que es rico en fibra dietética y contiene pequeñas cantidades de proteínas, carbohidratos y minerales (Tabla 1), el contenido nutricional depende de factores como la edad de la planta, las condiciones del cultivo y el método de recolección del material (Peralta, 2020).

Tabla 1. Composición química de la piña (*Ananas comosus* L. Merr.) y los subproductos que de ella se obtienen, valores en porcentaje (Peralta, 2020).

Muestra	MS (%)	PC (%)	pH (%)	CNZ (%)	EE (%)	FDN (%)	FDA (%)	LIG (%)	DIV (%)
Planta entera	25.2	7.6	4.6	7.3	2.5	58.2	40.0	-	-
Rastrojo	15.0	10.1	4.6	9.5	1.7	57.1	32.1	-	-
Corona	17.0	12.9	4.6	8.7	2.8	57.5	32.5	2.5	80.6
Tallo	30.2	3.7	4.6	3.4	-	38.6	13.2	-	-
Raíces	59.1	2.5	4.6	15.9	-	63.3	53.0	-	-
Pulpa	51.9	5.9	4.1	5.1	-	34.4	18.9	-	-
Cáscara	13.8	7.51	3.3	4.0	-	50.4	31.8	12.45	-
Corazón	21.9	2.10	3.9	4.6	-	21.6	6.1	-	-

MS= Materia Seca (%); PC= Proteína Cruda (%); pH= Potencial de hidrógeno; CNZ= Cenizas (%); EE= Extracto Etéreo (%); FDN= Fibra Detergente Neutro (%); FDA= Fibra Detergente Ácido (%); LIG= Lignina (%); DIV= Digestibilidad *in vitro* (%).

2.4. Ensilado

El ensilado preserva el forraje húmedo y conserva el valor nutritivo del alimento durante el almacenamiento. Los forrajes son cosechados en la etapa donde su rendimiento y su valor nutritivo están al máximo y se ensilan para asegurar un

suministro de alimento durante el año. Las principales cosechas para realizar el ensilado son el maíz, la alfalfa, los pastos, el trigo y el sorgo (Molina *et al.*, 2004).

En la alimentación animal se proporciona ensilado de maíz forrajero, sorgo y pastos de corte que mantienen a los animales en época de escasez y de abundancia de forrajes como complemento en la dieta por su aporte nutricional. Los pastos constituyen la mayor parte de la dieta de los animales rumiantes, no garantizan una buena nutrición por su bajo contenido de proteína (7.5-11.00 %). Además, son fáciles de producir y el proceso de fermentación es rápido (30–60 días) (Molina *et al.*, 2004) cuando se ensilan.

Durante el proceso de fermentación del ensilado, la proteína sufre grandes transformaciones lo que forma una proporción alta de NNP (nitrógeno no proteico) de 50 %. La proteína se degrada rápidamente por los microorganismos del rumen y no alcanza a ser transformada en proteína microbiana, por ello es importante suministrar energía cuando el ensilado es la principal fuente de alimentación del ganado rumiante (Anrique *et al.*, 2008).

El ensilado se logra por la fermentación láctica espontánea en condiciones anaerobias (Figura 1A). Las bacterias productoras de ácido láctico (BAC) fermentan los carbohidratos hidrosolubles (CHS) del forraje para producir ácido láctico y ácido acético (Molina *et al.*, 2004). El proceso del ensilado se divide en cuatro etapas las cuales son etapa aeróbica, etapa de fermentación, etapa estable y etapa de deterioro aerobio (Herrera-Estrada, 2014).

2.4.1. Etapa aeróbica. Esta fase dura pocas horas (4–6 horas). El ensilado es inestable cuando entra en contacto con el aire (oxígeno), debido a que el oxígeno atmosférico presente en la masa vegetal disminuye rápidamente por la respiración de los microorganismos aerobios y aerobios facultativos como las levaduras y las enterobacterias (Herrera-Estrada, 2014).

Si el pH se mantiene en 6.5 a 6.0 habrá actividad enzimática de las proteasas y las carbohidrasas. Las levaduras bajo condiciones anaerobias fermentan los azúcares y producen etanol y dióxido de carbono (CO₂). La producción de etanol disminuye el azúcar para producir ácido láctico (Molina *et al.*, 2004).

2.4.2. Etapa de fermentación. La fermentación ocurre al producirse un ambiente anaerobio, esta fase dura 7 a 21 días, siempre que las características del material ensilado y las condiciones ambientales en el momento del ensilado lo permitan (Herrera-Estrada, 2014).

La actividad de las bacterias ácido láctico (BAC) prolifera y se convierte en la población predominante. En la producción de ácido láctico y otros ácidos, el pH baja (5.0 a 3.8). Las bacterias que producen ácido láctico (BAC) pertenecen a la microflora epifítica de los vegetales. Los componentes de las bacterias ácido láctico (BAC) que se asocian con el proceso de ensilado pertenecen a los géneros: *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Streptococcus*. Son microorganismos mesófilos, crecen en temperaturas que oscilan entre 5 y 50 °C, con un óptimo entre 25 y 40 °C y pH bajo del ensilado (5.0-4.0) (Herrera-Estrada, 2014).

El contenido de azúcares, contenido de materia seca y composición de los azúcares de los forrajes combinados con las propiedades del grupo de las bacterias ácido láctico (BAC), su tolerancia a condiciones ácidas o de presión osmótica y el uso del sustrato influirán sobre la capacidad de competencia de la flora de las bacterias ácido láctico (BAC) con las enterobacterias durante la fermentación del ensilaje (Herrera-Estrada, 2014).

2.4.3. Etapa estable. Las bacterias ácido láctico (BAC) reducen su presencia. Los acidófilos sobreviven este período en estado inactivo; los clostridios y bacilos sobreviven como esporas. Las proteasas, carbohidrasas y microorganismos especializados como *Lactobacillus buchneri* toleran ambientes ácidos y continúan activos, pero a menor ritmo. Si el ambiente se mantiene sin aire ocurren pocos cambios (Herrera-Estrada, 2014).

En esta fase hay algunas bacterias indeseables como las bacterias acidófilas, ácido tolerantes y aerobias. La *Acetobacter* spp. es perniciosa en el ensilado porque puede oxidar el lactato, el acetato y producir dióxido de carbono (CO₂) y agua, al iniciar un daño aeróbico. El género *Clostridium* es anaerobio, forma endosporas, fermenta carbohidratos y proteínas, por lo que disminuye el valor nutritivo del ensilado. La presencia de *Clostridium* en el ensilado altera la calidad de la leche debido a que sus esporas sobreviven en el tracto digestivo. Los *Bacillus* spp son bacterias aerobias facultativas que forman esporas. Fermentan carbohidratos y producen ácidos orgánicos (acetatos, lactatos y butiratos), etanol y glicerol (Herrera-Estrada, 2014).

2.4.4. Etapa de deterioro aerobio. Ocurre en todos los ensilados al ser abiertos y expuestos al aire para su uso, o por daño de la cobertura del ensilado por picaduras de aves o roedores (Herrera-Estrada, 2014).

El deterioro aeróbico ocurre al contacto del aire con el ensilado durante el almacén como después de que el silo se abra para su consumo. También a que los productos de la fermentación generados en el forraje durante el proceso de ensilado son sustratos del crecimiento aeróbico de los microorganismos (Molina *et al.*, 2004).

El periodo de deterioro se divide en dos etapas. La primera inicia con la degradación de los ácidos orgánicos que conservan el ensilado por acción de levaduras y por bacterias que producen ácido acético. Al aumentar el valor del pH permite el inicio de la segunda etapa de deterioro (Molina *et al.*, 2004).

En la segunda etapa hay un aumento de la temperatura que no debe llegar a los 50 °C, en el ensilado hay actividad de mohos y enterobacterias que se detectan por la aparición de filamentos de diversos colores y se desarrollan en donde encuentran oxígeno en cualquier sitio del ensilado (Herrera-Estrada, 2014).

En un buen ensilado la actividad de mohos y enterobacterias ocurre al inicio del almacenamiento y se restringe a la capa exterior de la masa ensilada. Las especies que se presentan pertenecen a los géneros *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Byssochlamys*, *Absidia*, *Arthrinium*, *Geotrichum*, *Monascus*, *Scopulariopsis* y *Trichoderma* (Herrera-Estrada, 2014).

Los mohos disminuyen el valor nutritivo y la palatabilidad del ensilado y son un riesgo para la salud de los animales y las personas (Molina *et al.*, 2004).

2.5. Silo

El silo es una estructura o lugar donde se almacena material como granos, forraje, son de diferentes tamaños y formas, fabricados con acero, concreto o plástico y tienen dos aperturas, una en la parte superior para la carga y otra en la parte inferior para la descarga del material almacenado. Conservan y protegen el material de factores externos como el clima, los insectos y roedores (Gómez, 2015).

2.5.1. Tipos de silo. Los tipos de silos varían según su forma y su elección depende del suelo, de las instalaciones y de las condiciones económicas. Los silos más utilizados son silo en montón, en trinchera, en torre, tipo bunker y horno forrajero (Valencia *et al.*, 2011).

2.5.2. Características del ensilado

Un ensilado de buena calidad debe tener un olor ácido, no muy fuerte. Carece de moho y no estará rancio o viscoso. Ser uniforme en humedad, color y palatable para los animales (Gómez, 2015).

2.6. Pérdidas de nutrientes durante el ensilado

Desde la cosecha del material vegetativo hasta la obtención del ensilado, hay pérdidas de nutrientes que ocurren en el campo, por oxidación, por fermentación y por líquidos (Valencia *et al.*, 2011).

2.6.1. Pérdidas en el campo. Si el ensilado se realiza el mismo día las pérdidas son muy escasas. El periodo de premarchitamiento de 24 horas no supera el 1 a 2 % de MS, si este se prolonga más de 48 horas se producen grandes pérdidas de nutrientes. Los carbohidratos solubles y las proteínas que se hidrolizan con formación de aminoácidos son los nutrientes más afectados (Molina *et al.*, 2004).

2.6.2. Pérdidas por oxidación. Los silos que se llenan rápido y se cierran, el oxígeno retenido tiene poca importancia y termina en pérdidas cercanas al 1 % de MS. La exposición de oxígeno en las partes laterales y en la superficie del ensilado determina la formación de un producto fermentado incomedible. Las pérdidas son de hasta el 75 % de materia seca (Quintanilla *et al.*, 2008).

2.6.3. Pérdidas por fermentación. Ocurren cambios bioquímicos en los carbohidratos solubles y en las proteínas, las pérdidas de materia seca y energía son bajas (inferiores al 5 %) (Paredes-Mendoza y Espinoza-Victoria, 2010).

2.6.4. Pérdidas de líquidos. Los líquidos contienen azúcares, compuestos nitrogenados solubles, minerales y ácidos producidos en la fermentación. Forrajes ensilados con niveles de MS de 150 g kg⁻¹ experimentan pérdidas del 10 %, forrajes pre marchitos con niveles de hasta 300 g kg⁻¹ de MS producen poca cantidad de líquidos (Quintanilla *et al.*, 2008).

2.7. Aditivos

Los aditivos son sustancias que se agregan al alimento para mejorar su calidad, apariencia, sabor, textura, conservación y seguridad. Aceleran el proceso de fermentación debido a que proveen una fuente de azúcares solubles que la bacteria utiliza para producir ácido láctico. Se debe aumentar el contenido de azúcares al agregar aditivos al ensilado ya que los forrajes que contienen pocos azúcares solubles para fermentar no producen un ensilado de buena calidad (Molina *et al.*, 2004).

2.7.1. Tipos de aditivos. Hay distintos tipos de aditivos que se utilizan en la producción de ensilados para mejorar su calidad y su valor nutricional, aunque los aditivos no compensan un material de baja calidad o una mala conservación del ensilado (Quintanilla *et al.*, 2008).

2.7.1.1. Ácidos orgánicos. Son compuestos químicos que contienen grupos carboxilo (-COOH) en su estructura molecular. Estos ácidos se producen naturalmente por los organismos vivos tales como plantas y animales, tienen una amplia variedad de aplicación en la industria alimentaria. Los ácidos

orgánicos reducen el pH del ensilado y evitan el crecimiento de las bacterias que no son deseadas. Algunos ejemplos son el ácido cítrico, el ácido láctico, el ácido acético y el ácido fólico (Paredes-Mendoza y Espinoza-Victoria, 2010).

2.7.1.2. Bacterias inoculantes. Son microorganismos que mejoran la calidad y la digestibilidad del forraje. Las bacterias lácticas naturales fermentan los azúcares del forraje, producen ácido láctico que reduce el pH y previenen el crecimiento de bacterias dañinas. Las bacterias (*Lactobacillus*, *Pediococcus* y *Enterococcus*) se agregan al forraje antes o durante el proceso del ensilado para así aumentar la población de bacterias benéficas y mejorar la fermentación, la digestibilidad, la calidad del ensilado y reducir las pérdidas de nutrientes (Molina *et al.*, 2004).

2.7.1.3. Enzimas fibrolíticas. Descomponen la fibra vegetal en partículas más simples y fácilmente digeribles. Son producidas por microorganismos que habitan en el rumen como las bacterias, los hongos y los protozoos. Estas enzimas digieren la celulosa y descomponen la fibra no digerible en el ensilado y mejoran su digestibilidad (Quintanilla *et al.*, 2008).

2.7.1.4. Detergentes. Actúan como surfactantes al reducir la tensión superficial del agua y permiten que las partículas de rastrojo se mojen fácilmente. Los detergentes degradan la pared celular del rastrojo convirtiendo a los nutrientes accesibles para los microorganismos que realizan la fermentación. Ejemplos de este aditivo son los detergentes no iónicos que reducen la tensión superficial del agua y distribuyen la humedad en el ensilado y los detergentes

aniónicos que descomponen las paredes celulares del rastrojo y mejoran la digestibilidad del ensilado (Marmolejo *et al.*, 2008).

2.7.1.5. Antioxidantes. Los nutrientes se oxidan debido a la exposición al oxígeno y a la actividad enzimática. La oxidación reduce la calidad nutricional y aumenta la producción de compuestos tóxicos y los antioxidantes previenen la oxidación, mantienen su calidad nutricional y prolongan la vida útil del ensilado. Los antioxidantes que se usan son el ácido ascórbico (vitamina C), tocoferoles (vitamina E), butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno (BHT) (Martín, 2004).

Existen aditivos comerciales que se agregan a los alimentos para mejorar su textura, sabor y conservación (Palmonari *et al.*, 2020).

2.8. Efecto de la urea en el ensilado

La urea depende del efecto de hidrólisis que realizan las ureasas microbianas y de la disponibilidad de agua para su transformación en amoníaco el cual reacciona para formar el hidróxido de amonio y gas amoniacal para aumentar el pH (Brown, 1993).

El pH incrementa el crecimiento microbiano debido a que los mohos y levaduras crecen en un rango de pH de 5–6, si el pH es ácido o alcalino se inhibe el crecimiento microbiano. Para conservar el forraje ensilado se debe disminuir el pH por la fermentación producida por las bacterias ácido-lácticas y por las condiciones anaeróbicas del silo (Rodríguez *et al.*, 2002).

Cuando hay presencia de oxígeno se presentan cambios en los parámetros químicos del forraje ensilado. El pH se incrementa, así como el amoníaco y las aminas se acumulan, los niveles de ácidos orgánicos disminuyen. La susceptibilidad al deterioro aeróbico se determina por factores químicos y microbiológicos como el contenido de materia seca, el tamaño de las partículas, la velocidad de llenado y la densidad de embalaje en el silo (Johnson *et al.*, 2002).

La presencia de oxígeno en el ensilado promueve la actividad de microorganismos que deterioran y reducen los azúcares solubles y ácidos orgánicos que incrementan el pH y disminuyen la digestibilidad, así como el contenido de energía, por lo que los ensilados deteriorados conducen a un bajo desempeño productivo en los animales (Jobim y Gonçalves, 2003).

Johnson *et al.* (2002) reportaron que al mejorar la eficiencia de fermentación implicó una reducción en la formación de ácido butírico, propiónico y acético, estos ácidos tienen una actividad antimicótica. De forma adicional, los autores concluyeron que los ensilados bien conservados son susceptibles al deterioro aeróbico comparado con ensilados que tuvieron procesos de fermentación deficientes.

2.9. Análisis de alimentos

Los análisis son técnicas y procedimientos para evaluar la calidad nutricional y la seguridad del alimento, se realizan en diferentes etapas del proceso de producción y comercialización del material desde la materia prima. Incluyen la

evaluación de la composición química, el contenido de nutrientes y la presencia de microorganismos patógenos (Zumbado, 2020).

2.9.1. Tipos de análisis de alimentos. Los tipos de análisis que se utilizan para evaluar la calidad nutricional del alimento son: análisis microbiológico que detecta la presencia y cantidad de microorganismos patógenos presentes en el alimento. El análisis de micotoxinas determina la presencia y cantidad de micotoxinas en el alimento. El análisis de residuos de pesticidas cuantifica la presencia y cantidad de residuos de pesticidas. El análisis sensorial evalúa las características sensoriales (olor, sabor, color y textura). Y el análisis proximal que determina la composición química de los alimentos (Zumbado, 2020).

2.10. Análisis químico proximal de los alimentos

El análisis proximal evalúa la calidad de un alimento en función de grupos de compuestos con características fisicoquímicas semejantes, pero con diferente valor nutritivo (Anrique *et al.*, 2008).

Comprende las determinaciones que se realizan para conocer la composición de los macro componentes que se encuentran en los alimentos (FAO, 1993). Un alimento debe ser analizado para conocer su valor nutritivo y cómo aporta en la salud y rendimiento productivo de los animales (Gómez *et al.*, 2015).

2.10.1. Análisis químico proximal de Weende. Este análisis establece una serie de procedimientos para explorar la composición de los alimentos para los animales. Determina la composición de un alimento en función de grupos de compuestos con características fisicoquímicas semejantes, pero con diferente valor nutritivo. El análisis químico de Weende comprende las determinaciones de humedad, cenizas, extracto etéreo, proteína cruda y fibra bruta (Anrique *et al.*, 2008).

2.10.1.1. Materia seca. Es la fracción que queda del alimento cuando se retira por completo el contenido de agua. La materia seca incluye todos los componentes del alimento como la proteína, grasas, carbohidratos y minerales (Gutiérrez *et al.*, 2003).

2.10.1.2. Cenizas. Es la materia inorgánica que forma parte de los alimentos, corresponden a las sales minerales y permanecen como residuo luego de la calcinación de la materia orgánica del alimento. Estos minerales son calcio, fósforo, hierro, magnesio, sodio, potasio y zinc (FAO, 1993).

2.10.1.3. Proteína cruda. Es el estimador indirecto del contenido de proteína de la muestra, expresa el contenido de nitrógeno del alimento multiplicado por un factor de conversión para obtener la cantidad de proteína debido a que esta posee el 16 % de nitrógeno. El término "cruda" se utiliza porque no se tiene en cuenta la digestibilidad de las proteínas presentes en la muestra (Zumbado, 2020).

2.10.1.4. Extracto etéreo. Es la fracción del alimento que se extrae con éter y está constituida por lípidos (grasas y aceites), aunque puede incluir otros compuestos solubles en éter como ceras, pigmentos, ácidos orgánicos y alcoholes. Los lípidos son utilizados como fuente de energía por el rumiante, pero no por los microorganismos del rumen debido a su incapacidad de fermentarlos (Zumbado, 2020).

2.10.2. Análisis químico de Van Soest. Con este método se utilizan detergentes que se combinan con la proteína para solubilizarla y un agente quelante (EDTA) que remueve los metales pesados y los iones alcalinos contaminantes (Anrique *et al.*, 2008).

2.10.2.1. Fibra detergente neutro. Es la fracción del alimento que no es completamente digerible, se recuperan casi completamente las paredes celulares del forraje. La fibra detergente neutro se usa en la evaluación de la calidad del forraje. Es la cantidad de material vegetal que no es soluble en detergente neutro. La fibra detergente neutro incluye celulosa, hemicelulosa y lignina, los alimentos con alta concentración de FDN son difíciles de digerir (Segura *et al.*, 2007).

2.10.2.2. Fibra detergente ácido. Es la porción de las fibras de la planta, en esta se encuentra la celulosa y la lignina de la pared celular, se recupera completamente la celulosa, así como cantidades variables de lignina. Es la cantidad de materia vegetal que no es soluble en detergente ácido. La fibra detergente ácido incluye celulosa, lignina y algunas proteínas, se considera un

indicador de la cantidad de fibra estructural que contiene el forraje. Los alimentos con alta concentración de FDA son menos digestibles (Segura *et al.*, 2007).

2.11. Digestibilidad

Es la cantidad de nutrientes que son absorbidos durante la digestión y que no se excretan en las heces. Las heces contienen enzimas y otras sustancias que no son reabsorbidas. Partes de la mucosa intestinal que se desprenden a medida que el alimento pasa a través del intestino también son excretadas en las heces. La digestibilidad depende de la composición del alimento, la edad y la salud del animal, así como de las condiciones de alimentación y manejo. Una alta digestibilidad es deseable en los alimentos para los animales debido a que pueden obtener más nutrientes de cada ración y mejorar su salud y rendimiento (Bravo, 2006).

2.11.1. Tipos de digestibilidad. Los tipos de digestibilidad son importantes para evaluar la calidad nutricional de los alimentos y formular dietas que sean adecuadas para los animales (Martínez *et al.*, 2014).

2.11.1.1. Digestibilidad *in vivo*. Es una medida de la cantidad de nutrientes que un animal es capaz de digerir y absorber de un alimento en particular. Se determina mediante la comparación de la cantidad de nutrientes consumidos con la cantidad de nutrientes excretados en las heces (Anrique *et al.*, 2008).

2.11.1.2. Digestibilidad *in situ*. Estima la tasa de desaparición de los constituyentes de un alimento en el rumen. El procedimiento consiste en colocar muestras de alimento seco y molido en bolsas de nylon las cuales se incuban y se retiran después de varios intervalos de tiempo, se lavan y se secan para así estimar la degradabilidad de la materia seca, nitrógeno y energía en un determinado tiempo. El tamaño de las bolsas permite la entrada de microorganismos y la bolsa se mantiene en el ambiente natural de un rumen funcional para favorecer la colonización microbiana del alimento (Anrique *et al.*, 2008).

2.11.1.3. Digestibilidad *in vitro*. Es la determinación de la calidad de un alimento y presenta una alta correlación con los resultados de la digestibilidad *in vivo*. Esta técnica evalúa la digestibilidad de los alimentos en un ambiente controlado de laboratorio. Es una simulación de las condiciones del tracto digestivo en un tubo de ensayo, se utiliza una solución que imita los fluidos digestivos del animal a una temperatura y pH específicos durante un tiempo determinado para analizar la cantidad de nutrientes digeridos y absorbidos por la solución (Martínez *et al.*, 2014).

3. HIPÓTESIS

La adición de urea (0, 0.33, 0.66 y 1.00 %) en ensilados de rastrojo de piña Cayena lisa, MD2 y una combinación de ambas variedades, mejora la composición nutritiva y la digestibilidad *in vitro* para su inclusión en dietas de animales rumiantes.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Determinar el valor nutricional y la digestibilidad *in vitro* en ensilados de rastrojo de piña Cayena lisa, MD2 y una combinación de ambas variedades, al adicionar diversas concentraciones de urea, para considerarlos en la alimentación de rumiantes.

4.2. Objetivos específicos

- Analizar el efecto de diferentes concentraciones de urea en la materia seca, proteína cruda, cenizas, pH, acidez titulable, lignina, fibra detergente neutro y fibra detergente ácido en ensilados de rastrojo de piña Cayena lisa, MD2 y el combinado de ambas variedades.
- Evaluar la digestibilidad *in vitro* en ensilados de rastrojo de piña Cayena lisa, MD2 y una combinación de ambas variedades mediante la técnica de producción de gas *in vitro*.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización del área donde se efectuó el estudio

El experimento se realizó en el laboratorio Químico-Biológico de la Universidad del Papaloapan, ubicada en Loma Bonita, Oaxaca, México. Las coordenadas geográficas son: 95° 53' 47.68" W, 18° 6' 1.3" N. A una altura de 22 metros sobre el nivel del mar (INEGI, 2020).

5.2. Procedencia, recolección y procesamiento de la muestra

El rastrojo de piña provino de acahuales del municipio de Loma Bonita, Oaxaca (Figura 2A), después de cosechados los hijuelos para establecer un siguiente ciclo de siembra, se tomaron plantas de piña de la variedad Cayena lisa y MD2, las plantas tenían ocho meses de edad después de la cosecha del fruto, se trasladaron a un lugar donde se encontraba una picadora de forraje verde (14 hp) (Figura 3A), el material vegetal se almacenó por un periodo de tres días desde que se efectuó el corte hasta la molienda del material.

Las plantas se molieron en la picadora de forraje verde (Figura 4A), y se hicieron micro silos en botes de plástico de 1 L, sellados con bolsa nylon y liga para evitar la entrada del aire (Figura 5A). Se fermentaron durante 60 días y se realizó el análisis químico proximal y la digestibilidad *in vitro*.

El material vegetal de cada micro silo se utilizó para hacer análisis en base húmeda como materia seca (MS), potencial de hidrógeno (pH) y acidez titulable (AT). Posteriormente se secó de manera homogénea a 40 °C mediante la técnica de convección y se molió en una licuadora industrial INTERNACIONAL LI12A. La

muestra se guardó en bolsas ziploc® de 500 g para realizar análisis proximal en base seca como cenizas (CNZ %), extracto etéreo (EE %), proteína cruda (PC %), fibra detergente neutro (FDN %), fibra detergente ácido (FDA %), lignina (LIG %) y digestibilidad *in vitro* (DIV %).

5.3. Tratamientos y diseño experimental

Se evaluaron tres ensilados diferentes, Cayena lisa, MD2 y el combinado de ambas variedades en conjunto con el uso de diferentes niveles de nitrógeno: T1= 0.00 g, T2= 0.33 g, T3= 0.66 g, T4= 1.0 g, que corresponden a 0.0, 0.33, 0.66 y 1.0 %, respectivamente. Los tratamientos (combinación de variedades y niveles de nitrógeno) se asignaron tomando en cuenta un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones (Tabla 2).

Tabla 2. Piña Cayena lisa, MD2 y el combinado de ambas, niveles de nitrógeno y variables que se midieron en ensilados de rastrojo de piña.

Variedad	0 %	0.33 %	0.66 %	1.00 %
C	MS	pH	EE	FDN
	CNZ	AT	PC	FDA
M	MS	pH	EE	FDN
	CNZ	AT	PC	FDA
CM	MS	pH	EE	FDN
	CNZ	AT	PC	FDA

C= Cayena lisa; M= MD2; CM= Combinado de Cayena lisa y MD2; MS= Materia Seca (%); CNZ= Cenizas (%); pH= Potencial de hidrógeno; AT= Acidez Titulable (%); PC= Proteína Cruda (%); EE= Extracto Etéreo (%); FDA= Fibra Detergente Ácido (%); FDN= Fibra Detergente Neutro (%); DIV= Digestibilidad *in vitro* (%).

5.4. Variables evaluadas

Para el análisis químico proximal del ensilado de rastrojo de piña se evaluó el potencial de hidrógeno (pH), materia seca (MS) (%), cenizas (CNZ) (%), extracto etéreo (EE) (%), proteína cruda (PC) (%), fibra detergente ácido (FDA) (%), fibra detergente neutro (FDN) (%) y lignina (LIG) (%), así como digestibilidad *in vitro* (%). Las determinaciones se realizaron bajo las normas de la AOAC (2020).

5.5. Variables químicas

5.5.1. Determinación de materia seca (MS)

Equipo y material:

- Charolas de aluminio (5 cm de ancho por 10 cm de largo).
- Balanza analítica VIBRA AJ Tuning-For Balance capacidad de 420 g x 0.001 g.
- Desecador.
- Horno de secado ECOSHEL (300 °C).

Procedimiento:

Se marcaron las charolas de aluminio y se introdujeron al horno de secado ECOSHEL a 105 °C durante 24 horas. Se sacaron las charolas, se colocaron en un desecador con sílica gel activada durante 30 minutos y se anotó su peso. Se colocaron 5 g de muestra en las charolas (Figura 6A) y se llevaron al horno de secado ECOSHEL a 105 °C durante 12 horas. Se sacaron las charolas, se colocaron en un desecador con sílica gel activada durante 20 minutos y se anotó su peso con la muestra seca (Figura 7A).

Cálculos:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso húmedo (g)} - \text{Peso seco (g)}}{\text{Peso húmedo (g)}} * 100$$

$$\% \text{ Materia seca} = 100 - \% \text{ humedad}$$

5.5.2. Determinación de proteína cruda (PC)

Parte 1) Digestión

Equipo y material:

- Equipo de digestión SpeedDigester K-425 (BÜCHI).
- Vidrio de reloj.
- Espátula.
- Tubo de digestión (BÜCHI).
- Balanza analítica VIBRA AJ Tuning-Fork Balance capacidad de 420 g x 0.001 g.
- Tableta de catalizadores Kjeldahl Tablets Missouri (BÜCHI).
- Ácido sulfúrico (H₂SO₄).

Procedimiento:

Se pesó 1 g de muestra desengrasada y se transfirió al tubo para destilación BÜCHI.

Se adicionó una tableta de mezcla de catalizadores Kjeldahl Tablets Missouri (BÜCHI) y se añadió 10 mL de ácido sulfúrico absoluto (H₂SO₄) (Figura 8A).

Se colocaron los tubos preparados (muestra + catalizadores + H₂SO₄) en el soporte del equipo de digestión SpeedDigester K-425 (BÜCHI), el cual se precalentó en el nivel 5 durante 15-20 minutos (Figura 9A).

Se verificó que la manguera de salida de gases estuviera debidamente conectada al tubo extractor, que embonó adecuadamente con cada uno de los seis tubos.

Una vez verificado lo anterior, el tubo extractor se aseguró corriendo los seguros hasta escuchar un clic. Después se transfirió el soporte con los tubos preparados a la posición 5 para iniciar la digestión. La digestión terminó en el momento en que la muestra presentó un color claro o transparente (Figura 10A). Ya alcanzado este punto, el soporte se transfirió a la parte delantera del equipo para que los tubos con la muestra digerida se enfriaran (40 °C) por una hora aproximadamente y estuvieran listos para la destilación.

Parte 2) Destilación

Materiales y equipo:

- Equipo de destilación BÜCHI Distillation Unit K-350.
- Tubo para destilación (BÜCHI) con la muestra diluida.
- Ácido bórico al 4 %.
- Hidróxido de sodio (NaOH) al 32 %.
- Ácido clorhídrico (HCl) al 0.1 N.
- Indicador Shiro T-Shiro.
- 6 matraz de 250 mL.
- 1 probeta de 100 mL.
- Agua destilada.

Procedimiento:

Se diluyó con agua destilada (40 mL) la muestra digerida (se hizo lentamente y por las paredes del tubo). La dilución evitó que la reacción fuera demasiado violenta al agregar el hidróxido de sodio en pasos posteriores.

Se encendió el dispositivo y se esperó a que el generador de vapor estuviera preparado. Para verificar el estado del generador de vapor se mantuvo pulsado <<START>>, si aparecen dos puntos constantes y <<HHH>> en la pantalla <<TIME>>, el generador estará calentando. Cuando se escuche una señal sonora de 1 segundo indicará que el generador de vapor está preparado.

Se insertó el tubo de digestión con la muestra diluida asegurándolo correctamente. Se colocó un matraz de 125 mL con 60 mL de ácido bórico al 4 % y 3 gotas de indicador Shiro T-Shiro en el espacio receptor del destilador.

Se añadió el hidróxido de sodio al 32 % pulsando <<REAGENT>>. El color de la muestra se tornó azul (Figura 11A). Se ajustó el tiempo de destilación pulsando el botón <<TIME>> y los botones <<UP>> <<DOWN>>. Se comenzó la destilación pulsando <<START>>.

Se continuó la destilación hasta que se recolectó el nitrógeno de la muestra en el matraz receptor. En este punto, la muestra del matraz estuvo lista para su valoración. La muestra obtenida se tituló con ácido clorhídrico al 0.1 N (Figura 12A).

Cálculo:

$$\% \text{ Nitrógeno Proteico} = \frac{\text{mL gastados HCl} * \text{H}_2\text{SO}_4 * (1.4)}{\text{g muestra}}$$

$$\% \text{ Proteína cruda} = \% \text{ nitrógeno proteico} * 6.25$$

5.5.3. Determinación de extracto etéreo (EE) (Método Soxhlet)**Equipo y material:**

- Equipo Soxhlet Extraction Unit E-812 (BÜCHI).
- Balanza analítica VIBRA AJ Turning-Fork Balance capacidad de 420 g x 0.001 g.
- Desecador.
- Vidrio de reloj.
- Espátula.

Reactivo:

- Éter de petróleo.

Procedimiento:

Se pesó 3 g de muestra en una balanza analítica, y se transfirió al dedal para destilación BÜCHI.

Se colocaron los dedales con la muestra dentro del Soxhlet, se colocaron los vasos del equipo Soxhlet Extraction Unit E-812 (BÜCHI) a peso constante (105 °C por 30 min) con 120 mL de éter de petróleo, se encendió el equipo y se

programó la extracción a 60 min, 6 ciclos, lavado 10 min y secado por 20 min (Figura 13A).

Una vez terminado el periodo programado del Soxhlet Extraction Unit E-812 (BÜCHI) se colocaron los vasos en un desecador y se metieron al horno para secar la muestra a 100 °C por 15 min, posteriormente se pesaron (Figura 14A).

Cálculos:

$$\text{Extracto etéreo} = \frac{\text{Peso del vaso después de la extracción (g)} - \text{Peso constante del vaso (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} * 100$$

5.5.4. Determinación de potencial de hidrógeno (pH)

Equipo y material:

- Mortero con pistilo.
- Agua destilada.
- Potenciómetro LAQUAtwin-pH-11 (HORIBA Scientific).
- 1 probeta de 50 mL.
- 1 vaso de precipitado de 50 mL.

Procedimiento:

- 1) Se pesó 5 g de muestra.
- 2) Se añadió 10 mL de agua destilada y se molió en un mortero durante 1 minuto.
- 3) Se estandarizó el pH en el potenciómetro LAQUAtwin-pH-11 (HORIBA Scientific) con buffer de fosfatos con pH = 4.0.
- 4) Se filtró la mezcla, y se hizo la lectura del pH y se enjuagó el electrodo con agua destilada.

5.5.5. Determinación de acidez titulable (AT)

Equipo y material:

- Papel filtro.
- 1 bureta de 25 mL.
- 1 probeta de 100 mL.
- 1 matraz de 125 mL.
- 1 matraz de 250 mL.
- 1 vaso de precipitado de 200 mL.
- 1 vidrio de reloj.
- 1 soporte universal.
- 1 matraz aforado de 100 mL.
- 1 mortero con pistilo.
- 1 espátula.

Reactivos:

- Agua destilada.
- Fenolftaleína.
- Hidróxido de sodio al 0.1 N.

Procedimiento:

Preparación del hidróxido de sodio (NaOH 0.1 N) para 100 mL

Se pesó 0.4 g de hidróxido de sodio en un vidrio de reloj, se colocó en un matraz aforado de 100 mL y se aforó con agua destilada.

Determinación de acidez titulable

Se pesó 5 g de muestra en un vidrio de reloj, la muestra se colocó en el mortero junto con 20 mL de agua destilada. En un vaso de precipitado de 200 mL se colocó un papel filtro, se decantó la muestra del mortero y se filtró para retirar las

partículas, se colocaron 20 mL de la muestra filtrada junto con 180 mL de agua destilada y se decantaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, posteriormente en una probeta de 100 mL se midieron 25 mL de muestra filtrada y 75 mL de agua destilada, se transfirió a un matraz de 125 mL y se añadieron 2 gotas de fenolftaleína, se agitó suavemente y se tituló con NaOH al 0.1 N (Figura 15A).

Cálculos:

$$\% \text{ Acidez} = \frac{B * N * K * 100}{W}$$

Donde:

B= NaOH gastado.

N= 0.1 N del hidróxido de sodio.

K= 0.064 ácido cítrico.

W= Peso de la muestra.

5.5.6. Determinación de cenizas (CNZ)

Equipo y material:

- Mufia.
- Crisoles de porcelana de 30 mL.
- Balanza analítica VIBRA AJ
Tuning-Fork Balance capacidad
de 420 g x 0.001 g.
- Desecador con sílica gel.
- Mechero bunsen.
- Tela de asbesto.
- Pinzas para crisol.

Procedimiento:

Se marcaron los crisoles y se introdujeron a la mufla a 300 °C durante 2 horas.

En un crisol de porcelana a peso constante se colocó $1 \text{ g} \pm 0.5 \text{ g}$ de muestra seca y se incineraron a fuego directo; como punto de control, la muestra estuvo lista cuando ya no hubo desprendimiento de humo (Figura 16A).

Se colocó el crisol en la mufla y se calcinó a 600 °C durante 3 horas (Figura 17A), se apagó la mufla y se dejó enfriar hasta que la temperatura del equipo disminuyó a 200 °C, los crisoles se sacaron y se colocaron en un desecador, se dejaron enfriar durante 30 minutos y se pesaron.

Cálculos:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(\text{Peso después de la mufla (g)}) - (\text{Peso del crisol (g)})}{\text{Peso seco (g)}} * 100$$

5.5.7. Determinación de fibra detergente neutro (FDN)**Equipo y material:**

- Marcador permanente (F08, ANKOM Technology).
- Bolsas filtro ANKOM F57 (ANKOM Technology).
- Balanza analítica VIBRA AJ Tuning-Fork Balance capacidad de 420 g x 0.001 g.
- Desecador.
- Vidrio de reloj.
- Selladora de calor.
- Horno de secado ECOSHEL.
- Equipo analizador de fibra ANKOM²⁰⁰.

Reactivos:

- Solución neutro detergente (ND).
- Alfa amilasa.
- Sulfito de sodio (Na_2SO_3).
- Acetona.
- Agua destilada.

Procedimiento:

Se marcaron y pesaron las bolsas. Se agregaron 2 bolsas control. Se pesaron 0.5 g de muestra y se sellaron las bolsas. Se colocaron 3 bolsas por cada soporte (máximo 24 bolsas).

24 bolsas → 2 L de solución ND en la vasija ANKOM

20 bolsas → 100 mL/bolsa y al contenedor 1.5 L de solución ND

Para preparar la solución ND: se pesó 20 g de **Neutral Detergent Solution, concentrate** y se aforó en un matraz de 2 L. Se agregó un poco de la solución ND, 20 g de Sulfito de sodio y 4 mL de Alfa amilasa al contenedor, se colocaron los soportes con las bolsas dentro de la solución y se agregó el resto de la solución ND.

Se cerró la válvula y se presionaron los botones AGITE y HEAT, con el tiempo de reloj en 75 min (el tiempo se empezó a contar cuando el equipo alcanzó los 100 °C). Terminando el tiempo se apagaron los botones AGITE y HEAT, se abrió la válvula para drenar el líquido caliente.

Se agregó 2 L de agua destilada caliente (70 a 90 °C) y 4 mL de Alfa amilasa, se presionaron los botones AGITE y HEAT, con el tiempo en reloj de 5 min (no es

necesario que la temperatura alcance los 100 °C), finalizado el tiempo se drenó el líquido caliente.

Se agregó 2 L de agua destilada caliente (70 a 90 °C), se presionaron los botones AGITE y HEAT, con el tiempo en reloj de 5 min y se drenó el líquido caliente una vez finalizado el tiempo.

Se sacaron las bolsas del equipo y se presionaron ligeramente, se colocaron las bolsas en un vaso de precipitado de 150 mL y se agregó acetona hasta quedar totalmente sumergidas durante 4 min.

Se sacaron las bolsas del vaso de precipitado y se presionaron ligeramente, se esparcieron en charolas de aluminio para dejarlas secar a temperatura ambiente durante 15 min, posteriormente se secaron en un horno de secado a 105 °C durante 3 horas. Se colocaron en un desecador por 30 min y se pesaron.

Cálculos:

$$\% \text{ Fibra detergente neutro} = \frac{(W3 - (W1 * C1))}{W2} * 100$$

Donde:

W1 = Peso (g) de la bolsa.

W2 = Peso (g) de la muestra.

W3 = Peso seco (g) de la bolsa con muestra después del proceso de extracción.

C1 = Corrección de la bolsa en blanco (media del peso final secado en horno dividido por el peso original de la bolsa en blanco).

5.5.8. Determinación de fibra detergente ácido (FDA)

Equipo y material:

- Equipo analizador de fibra ANKOM²⁰⁰.
- Marcador permanente (F08, ANKOM Technology).
- Bolsas filtro ANKOM F57 (ANKOM Technology).
- Balanza analítica VIBRA AJ Tuning-Fork Balance capacidad de 420 g x 0.001 g.
- Desecador.
- Vidrio de reloj.
- Espátula.
- Selladora de calor.
- Horno de secado ECOSHEL.

Reactivos:

- Solución ácido detergente (AD).
- Ácido sulfúrico (H₂SO₄).
- Acetona.
- Agua destilada.

Procedimiento:

Se marcaron y pesaron las bolsas. Se agregó 1 bolsa control. Se pesó 0.5 g de muestra y se sellaron las bolsas. Se colocaron 3 bolsas por cada soporte (máximo 24 bolsas).

24 bolsas → 2 L de solución AD en la vasija ANKOM

20 bolsas → 100 mL/bolsa y al contenedor 1.5 L de solución AD

Para preparar la solución AD: se midió 54.45 mL de Ácido sulfúrico concentrado y se aforó en un matraz de 2 L (preparación H₂SO₄ al 0.1 N). Se pesó 40 g de **Acid Detergent Solution** y se disolvió en un vaso de precipitado con el Ácido sulfúrico al 0.1 N previamente preparado; se aforó en un matraz de 2 L con el H₂SO₄ al 0.1 N.

Se colocaron los soportes con las bolsas dentro del equipo y se vació la solución AD. Se cerró la válvula y se presionaron los botones AGITE y HEAT, con el tiempo de reloj en 60 min (el tiempo se empieza a contar cuando el equipo alcanza los 100 °C). Al finalizar el tiempo se apagaron los botones AGITE y HEAT, se abrió la válvula para drenar el líquido caliente.

Se agregó 2 L de agua destilada caliente (70 a 90 °C), se presionaron los botones AGITE y HEAT, con el tiempo en reloj de 5 min (no es necesario que la temperatura alcance los 100 °C), al finalizar el tiempo se drenó el líquido caliente. Se repitió este paso dos veces más.

Se sacaron las bolsas del equipo y se presionaron ligeramente, se colocaron las bolsas en un vaso de precipitado de 150 mL y se agregó acetona hasta quedar totalmente sumergidas durante 4 minutos.

Se sacaron las bolsas del vaso de precipitado y se presionaron ligeramente, se esparcieron en charolas de aluminio y se dejaron secar a temperatura ambiente durante 15 min, posteriormente se secaron en un horno de secado a 105 °C durante 3 horas. Y se colocaron en un desecador por 30 min y se pesaron.

Cálculos:

$$\% \text{ Fibra detergente ácido} = \frac{(W3 - (W1 * C1))}{W2} * 100$$

Donde:

W1 = Peso (g) de la bolsa filtro.

C1 = Corrección de la bolsa en blanco (media

W2 = Peso (g) de la muestra.

del peso final secado en horno dividido

W3 = Peso seco (g) de la bolsa

por el peso original de la bolsa en

blanco).

con la muestra después del proceso

de extracción.

5.5.9. Determinación de lignina (LIG)**Equipo y material:**

- Horno de secado ECOSHEL.
- Desecador.
- Balanza analítica VIBRA AJ
- Tuning-Fork Balance capacidad de 420 g x 0.001 g.

Reactivos:

- Ácido sulfúrico (H₂SO₄).
- Acetona.
- Agua destilada.

Procedimiento:

Primero se determinó la FDA de la muestra en bolsas filtro con el analizador de fibra ANKOM²⁰⁰. Se colocaron las bolsas en un vaso de precipitado de 500 mL con 250 mL de H₂SO₄ (Ácido sulfúrico) al 72 %. Se agitaron las bolsas cada 30 minutos con una varilla de vidrio.

Pasadas 3 horas se retiraron las bolsas filtro con muestra del vaso y se lavaron con agua destilada caliente hasta que se removi6 (promedio tres lavadas) todo el 6cido (el pH debe ser neutro). Se sumergieron las bolsas en acetona tres veces por 5 min cada vez y se dejaron secar al aire libre por 15 min.

Para terminar de secarlas, se introdujeron en un horno de secado a 105 6C por 2 horas. Se sacaron las bolsas del horno y se colocaron en un desecador hasta enfriarse a temperatura ambiente y se pesaron. Se colocaron las bolsas dentro de crisoles de porcelana a peso constante (una bolsa por crisol) dentro de la mufla a 550 6C durante 2 horas. Se sacaron y se dejaron enfriar en un desecador y se pesaron.

C6culos:

$$\% \text{ Lignina} = (C - (A * D)) / B$$

Donde:

A: Peso (g) de la bolsa blanco.

C: Peso (g) de la ceniza.

B: Peso (g) de la bolsa filtro Ankom.

D: Peso (g) de la muestra.

5.5.10. Digestibilidad *in vitro* (DIV)

Equipo y material:

- Horno de secado ECOSHEL.
- Balanza analítica VIBRA AJ
Tuning-Fork Balance capacidad
de 420 g x 0.001 g.
- Desecador.
- Frascos de 120 mL con tapón de goma.
- Baño maría eléctrico FELIZA.
- Autoclave vertical EVAR.
- Incubadora ECOSHEL.

Reactivos:

- Fosfato dipotásico (K_2HPO_4).
- Fosfato monopotásico (KH_2PO_4).
- Sulfato de amonio $(NH_4)_2SO_4$.
- Cloruro de sodio (NaCl).
- Dióxido de carbono (CO_2).
- Carbonato de sodio (Na_2CO_3).
- Sulfato de magnesio ($MgSO_4$).
- Hidróxido de sodio (NaOH).
- Sulfuro de sodio (Na_2S).
- Cisteína ($C_3H_7NO_2S$).
- Inóculo ruminal.
- Agua destilada.
- Resarzurina.
- Cloruro de calcio ($CaCl_2$).

Procedimiento:

Preparación de la resarzurina:

Se pesó 0.01 g de resarzurina y disolvió en 10 mL de agua destilada en un vaso de precipitado, posteriormente se mezcló en un matraz balón de 100 mL, se aforó con agua destilada, se esterilizó en baño maría a 100 °C durante 1 hora y se refrigeró la solución (Figura 18A).

Obtención y preparación del inoculo ruminal:

Se colectó con los animales en ayunas; se extrajo 150 mL de líquido ruminal (pH 6.9) de la parte media ventral del rumen de bovinos, usando una sonda esofágica. El líquido ruminal se filtró a través de una tela de manta y se almacenó a 39 °C hasta el momento de su uso.

Se pesó 0.5 g de muestra y se agregó a cada frasco, se adicionaron 2 frascos sin muestra los cuales fueron los frascos blancos. Se taparon los frascos con el tapón de goma y se incubaron a 39 °C hasta el momento de iniciar el análisis.

Se prepararon las soluciones minerales stock, para ello se hizo lo siguiente:

Solución mineral I: se usó 6 g L⁻¹ de Fosfato dipotásico (K₂HPO₄).

Solución mineral II: se usó 6 g L⁻¹ de Fosfato monopotásico (KH₂PO₄), 6 g L⁻¹ de Sulfato de amonio ((NH₄)₂SO₄), 12 g L⁻¹ de Cloruro de sodio (NaCl), 2.45 g L⁻¹ de Sulfato de magnesio (MgSO₄), 1.60 g L⁻¹ de Cloruro de calcio (CaCl₂).

Se preparó 80 g L⁻¹ de Carbonato de sodio (Na₂CO₃).

Se mezclaron las soluciones stock en las siguientes proporciones para obtener la Solución mineral (SM):

En 750 mL de agua destilada se adicionó 50 mL de Carbonato de sodio, 75 mL de Solución mineral I, 75 mL de Solución mineral II y 2 gotas de Resarzurina. Se colocaron en un baño maría a 39 °C bajo un flujo continuo de dióxido de carbono (CO₂) (Figura 19A).

- **Solución reductora (SR):** Se disolvieron en 50 mL de agua destilada 2 mL de Hidróxido de sodio (1 N) (NaOH), 0.5 g de Sulfuro de sodio (Na₂S), 0.5 g de Cisteína y 1 gota de Resazurina. Se calentó sin agitar hasta que perdió el color.

Se adicionaron los 50 mL de SR a 950 mL de SM y se esperó hasta que perdió el color característico de la Resazurina (azul-rosa), para obtener la solución mineral reducida (SMR), antes de adicionar el líquido ruminal.

Para estimar la cantidad total de inóculo, se consideró que cada frasco contiene 90 mL de inóculo ruminal equivalente a una parte de líquido ruminal filtrado y 9 partes de SMR.

Se obtuvo una muestra compuesta de líquido ruminal fresco, para ello se extrajo la cantidad suficiente de 2 bovinos. Se mezcló en un termo cerrado para transportarlo al laboratorio Químico Biológico de la Universidad del Papaloapan. Posteriormente se licuó el líquido ruminal durante 10 segundos y se filtró con ocho capas de gasa (Figura 20A), se adicionó a la SMR en proporción de 1:9.

Se agregó 90 mL de inóculo diluido en cada frasco bajo un flujo continuo de CO₂ con ayuda de una jeringa de 60 mL se tomaron 45 mL de inóculo diluido dos veces.

Simultáneamente se retiró el flujo de CO₂ y se colocó el tapón de goma, inmediatamente se selló con un aro de aluminio y una pinza engargoladora. Se extrajo el excedente de CO₂ hasta igualar la presión del frasco a cero. Se colocaron los frascos en baño maría a 39 °C por 72 horas, en el transcurso de

este tiempo se midió la presión del gas con un manómetro (1 kg cm⁻²) cada 1, 2, 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 42, 48, 60 y 72 horas. Después de cada lectura, se igualó la presión del frasco a cero.

Se marcó con lápiz el papel filtro No. 40 y se secaron en el horno de secado a 65 °C por 24 horas, posteriormente se pesaron los papeles. Al terminar la fermentación (72 h), el contenido de los frascos se filtró con una bomba de vacío a través del papel filtro secado y pesado (Figura 21A). El residuo de muestra no digerido que permanece en el papel filtro, se secó en el horno de secado a 65 °C por 48-72 horas y se pesó.

Cálculos:

$$\% \text{ Disgetibilidad } in vitro = \frac{100 - ((W3 - (W1 * C1)) * 100}{W2}$$

Dónde:

W1= Peso (g) del papel filtro.

W2= Peso (g) de la muestra.

W3= Peso (g) final de la muestra después de la digestión *in vitro*.

C1= Corrección de la bolsa (blanco) (peso final de la bolsa / peso inicial de la bolsa).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Materia seca

Con los datos obtenidos del análisis químico proximal (Tabla 3) se observó, que la materia seca (MS) del ensilado de rastrojo de piña sin urea fue superior en la muestra combinada de Cayena lisa y MD2, encontrándose que la variedad MD2 tuvo mayor contenido de agua (80.40-82.35 %). Al incrementar el porcentaje de urea (0.33, 0.66 y 1.00 %) se observó una disminución en la materia seca independientemente de la variedad de la planta de piña.

Tabla 3. Materia seca en la calidad nutricional de ensilados de rastrojo de piña.

Piña	Testigo	Urea			Media	EEM	Valor P
		0.33 %	0.66 %	1.00 %			
Cayena Lisa	26.60a	23.68ab	21.92bc	19.63c	22.96	0.82	0.0005
MD2	19.60a	18.80a	18.39a	17.65a	18.61	0.36	0.3114
Combinado	28.43a	25.36ab	22.92b	18.80c	23.88	1.11	0.0001
Promedio	24.87	22.61	21.07	18.69			

EEM= Error estándar de la media, abc= letras iguales en hileras no muestran diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$).

Información que difiere con la que presentaron Rodríguez *et al.* (2014), quienes probaron diferentes niveles de urea en ensilados de rastrojo de piña y demostraron que el contenido de materia seca (10.0 %) no cambió significativamente en los materiales ensilados, debido a que el nivel de inclusión de urea no fue suficiente para reducir el contenido de humedad (90.90 %) en dicha Bromeliaceae.

Los contenidos de materia seca en Cayena lisa (26.60 %), MD2 (19.60 %) y en el combinado (28.43 %) en el tratamiento testigo fueron más elevados en relación

con lo reportado por López *et al.* (2009), quienes en rastrojos de piña sin aditivos obtuvieron un 10 % de MS. Las variaciones en el contenido de MS en la presente investigación pueden atribuirse a la época de recolección del material vegetal, a la edad de la planta y al manejo agronómico que se le da al cultivo desde la siembra hasta la cosecha del fruto, así como a las cantidades de agroquímicos que se aplicaron durante el desarrollo del cultivo.

Al ensilar alimentos altos en humedad, el contenido de agua promueve una fermentación por clostridios (*Cl. tyroburiticum*, *Cl. beijeronckii* y *Cl. sporogenes*) los cuales provocan pérdidas de nutrientes y calidad de los ensilados, además de que reducen el consumo voluntario de los animales. López *et al.* (2009), advirtieron que cuando los ensilados alcanzan altos contenidos de humedad (88.80 %) se producen efluentes que pueden llevarse gran parte de los nutrientes digestibles de la planta.

Al efectuar los análisis de los ensilados en condiciones de laboratorio se observó que las características físicas de los genotipos de piña ayudaron a que hubiera retención de líquidos lo que favoreció que el silo mantuviera la humedad. Ya que al abrir el bote de plástico y homogeneizar la muestra del ensilado, se combinó la parte superficial, la cual contenía menos humedad, con la parte inferior que es donde se encontraba la mayor cantidad de líquido. De acuerdo con Banderas, (2012), un ensilado puede juzgarse como de calidad regular cuando hay presencia de efluentes. Situación que no estuvo en concordancia con la calidad de los ensilados de rastrojo de piña que se tuvieron en el ensayo que se discute, ya que los ensilados si fueron de calidad aceptable.

El ensilado de rastrojo de piña es un material con poco contenido de MS, por lo que se puede utilizar como complemento dentro de una ración y no como base para la alimentación del ganado rumiante como lo indican Gutiérrez *et al.* (2003), en un estudio donde encontraron que mezclas ensiladas de piña y avícolas (10, 20 y 30 % de pollinaza) tuvieron bajo contenido de materia seca (12.97, 15.67 y 18.91 %, respectivamente).

En ensilados de sorgo, Cattani *et al.* (2017), reportaron un valor de 22.27 % de MS, mientras que Bernard y Tao (2015), observaron un nivel de 28.7 % de MS, estos valores son parecidos a los obtenidos en ensilados de rastrojo de piña con niveles crecientes de urea (0, 0.33, 0.66 y 1.00 %) donde se muestran datos de materia seca de 24.87, 22.61, 21.07 y 18.69 % para cada tratamiento.

6.2. Proteína cruda

El contenido de proteína cruda incrementó en las dos variedades del ensilado de rastrojo de piña y el combinado, conforme aumentó la inclusión de urea, aunque, en la variedad MD2 el contenido proteico fue menor comparado con la variedad Cayena Lisa al incrementar los niveles de urea (0, 0.33, 0.66 y 1.00 %). En el combinado el nivel proteico fue alto desde el tratamiento testigo e incrementó hasta el 1.00 % de urea (9.14-12.66 %) (Tabla 4).

Tabla 4. Proteína cruda en la calidad nutricional de ensilados de rastrojo de piña.

Piña	Testigo	Urea			Media	EEM	Valor P
		0.33 %	0.66 %	1.00 %			
Cayena Lisa	7.18b	10.52a	10.37a	12.09a	10.04	0.57	0.0005
MD2	7.30c	9.08bc	9.74ab	11.40a	9.38	0.48	0.0010
Combinado	9.14b	10.04b	11.42a	12.66a	10.82	10.82	0.0002
Promedio	7.87	9.88	10.51	12.05			

EEM= Error estándar de la media, abc= letras iguales en hileras no muestran diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$).

La proteína en el ensilado de rastrojo de piña es influenciada por la urea debido a que la urea actúa como fuente de nitrógeno para los microorganismos del rumen y mejora la producción de proteína y aumenta la digestibilidad (Rodríguez *et al.*, 2014).

En Costa Rica evaluaron ensilados de cáscara y pulpa de piña mezclada con pollinaza y encontraron que fuentes altas de nitrógeno (10, 20 y 30 %) mejoran el contenido de proteína cruda en el ensilado de rastrojo de piña (10.28, 11.60 y 12.33 %) (Gutiérrez *et al.*, 2003).

Gómez *et al.* (2015), en ensilado de maíz variedad DK2034 obtuvieron niveles de proteína de 8.97–10.51 % que están en sintonía con los obtenidos en este trabajo de investigación, donde existieron para ensilados de rastrojo de piña valores de proteína (7.18-12.66 %) que son importantes para adicionarse en raciones para ganado rumiante.

En ensilado de maíz, Ferrarreto y Shaver (2015), determinaron un nivel de proteína de 7.9 % y en ensilado de sorgo, Cattani *et al.* (2017), calcularon 7.37 % de proteína, estos resultados tienen relación con los contenidos de proteína

obtenidos en el presente análisis de ensilados de rastrojo de piña, con valores de 7.87–12.05 % para los tratamientos con inclusión de urea (0, 0.33, 0.66 y 1.00 %).

6.3. Extracto etéreo

En el ensilado de rastrojo de piña no hubo diferencias estadísticas significativas para la variedad MD2 en ninguno de los tratamientos, en Cayena lisa y en el combinado se incrementó el contenido de extracto etéreo conforme aumentó el nivel de urea (Tabla 5).

Tabla 5. Extracto etéreo en la calidad nutricional de ensilados de rastrojo de piña.

Piña	Testigo	Urea			Media	EEM	Valor P
		0.33 %	0.66 %	1.00 %			
Cayena Lisa	1.20b	1.56ab	2.09a	2.29a	1.79	0.15	0.0072
MD2	2.05a	2.58a	2.88a	3.32a	2.71	0.20	0.1205
Combinado	2.04b	2.44b	2.94ab	3.50a	2.73	0.19	0.0072
Promedio	1.76	2.19	2.63	3.03			

EEM= Error estándar de la media, ab= letras iguales en hileras no muestran diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$).

Los tratamientos de ensilados de rastrojo de piña sin inclusión de urea y con 0.33 % presentaron menor cantidad de extracto etéreo (1.76 % y 2.19 %). Al comparar los resultados obtenidos con algunos pastos que se utilizan en la alimentación de rumiantes, se identificó que el pasto Gigante (*Pennisetum purpureum*) a los 60 días que se hizo el corte de uniformidad contenía 2.60 % de extracto etéreo y el pasto Estrella de África presentó 1.89 % (Jones *et al.*, 2004).

El rastrojo de piña tiene menor cantidad de extracto etéreo comparándolo con el ensilado de maíz que presentó valores superiores a 6.13 % en la variedad DK2034 (Gómez *et al.*, 2015).

En ensilados de rastrojo de piña con niveles crecientes de pulpa deshidratada (0, 5, 10, 15 y 20 %), López *et al.* (2009), mostraron valores de 1.71–2.24 % de extracto etéreo. Dicha información es consistente con los resultados de EE en este estudio. El extracto etéreo es la cantidad de lípidos que se encuentran en el forraje, esto depende del tipo de muestra.

6.4. Potencial de hidrógeno (pH)

En el ensilado de rastrojo de piña se observó que conforme se incrementó el nivel de urea, el pH aumentó tanto en la variedad Cayena lisa como en MD2 y en el combinado de ambas (Tabla 6). Se considera a la variedad Cayena lisa con un pH más ácido. Aunque no se agreguen aditivos al momento de ensilar el rastrojo de piña fresco, estos poseen características favorables para ser ensilados debido a que el pH es menor al del forraje fresco de maíz, pero si se adicionan aditivos como la urea se potencia la capacidad de fermentación, en el rastrojo de maíz fresco se obtuvo 4.41 de pH y 3.87 a los 180 días de ensilado el material (Gómez *et al.*, 2015).

Tabla 6. Potencial de hidrógeno en la calidad nutricional de ensilados de rastrojo de piña.

Piña	Testigo	Urea			Media	EEM	Valor P
		0.33 %	0.66 %	1.00 %			
Cayena Lisa	3.57b	3.63ab	3.67ab	3.70a	3.64	0.02	0.0453
MD2	4.13b	4.23ab	4.37a	4.30ab	4.26	0.03	0.0530
Combinado	3.97a	4.10a	4.37a	4.40a	4.21	0.07	0.0753
Promedio	3.89	3.98	4.13	4.13			

EEM= Error estándar de la media, ab= letras iguales en hileras no muestran diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$).

Rodríguez *et al.* (2014), mencionaron que el pH del ensilado de rastrojo de piña varía dependiendo de la edad de la planta, el tiempo de almacenamiento y del tipo de aditivo que se utiliza durante el proceso del ensilado. Además, indican que el pH debe estar en una categoría de 3.5 a 4.5 como señal de buena conservación y calidad del alimento. Si el pH es menor a 3.5 significa una fermentación excesiva y un pH alto es sinónimo de falta de fermentación con tendencia a una mayor probabilidad de deterioro.

En este trabajo, los resultados obtenidos de pH se ubican dentro del rango aceptable (3.5–4.5), lo que indica que los ensilados de rastrojo de piña tienen una buena conservación y calidad independientemente de la adición o no de niveles de urea, aunque numéricamente se observa aumento del pH al incrementar los porcentajes de inclusión de urea, estadísticamente no fueron significativos.

En los valores obtenidos en ensilado de rastrojo de piña con niveles crecientes de urea (0, 0.33, 0.66 y 1.00 %) se muestran resultados de 3.89–4.13 que en base a Rodríguez *et al.* (2014), es un pH adecuado para conservación.

6.5. Acidez titulable

La acidez titulable varía con la edad de la planta y el tiempo de almacenamiento. Esta variable debe estar en un rango de 0.5-1.5 % para asegurar la calidad del alimento y una buena conservación. Si se excede la acidez es indicativo de una fermentación excesiva, mientras que si es un rango menor a 0.5 % indica una falta de fermentación y probabilidad de deterioro (Rodríguez *et al.*, 2014).

La acidez en todos los tratamientos (Tabla 7) fue superior en el tratamiento de 1.00 % de urea para los ensilados de Cayena lisa, MD2 y el combinado. En un trabajo realizado con ensilados de *Megathyrsus maximus* cv Mombasa en Colombia, demostró que el tiempo de corte no afectó significativamente el nivel de acidez titulable en el ensilado de pasto Mombasa cortado a tempranas horas del día (1.05 % AT) y adicionado con inóculo homo-fermentativo, comparado con el material vegetal que se cortó en la tarde (1.26 % AT) (Patiño *et al.*, 2022).

Tabla 7. Acidez titulable en la calidad nutricional de ensilados de rastrojo de piña.

Piña	Testigo	Urea			Media	EEM	Valor P
		0.33 %	0.66 %	1.00 %			
Cayena Lisa	0.13b	0.17b	0.23a	0.28a	0.20	0.02	0.0005
MD2	0.11c	0.15bc	0.19ab	0.24a	0.17	0.02	0.0024
Combinado	0.13c	0.18bc	0.21b	0.26a	0.20	0.01	0.0004
Promedio	0.12	0.16	0.21	0.26			

EEM= Error estándar de la media, abc= letras iguales en hileras no muestran diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$).

En Colombia, en un trabajo en ensilado de maíz cosechado en diferentes tiempos de corte, muestra que con inóculo homo-fermentativo y cosechado en la mañana

el porcentaje de acidez (3.85 %) no fue significativamente diferente al cosechado en la tarde (3.77 %), mientras que el ensilado de maíz sin aditivo cosechado en diferentes tiempos de corte no es significativamente diferente (3.42–3.80 %) (Patiño *et al.*, 2022). La acidez titulable obtenida en ensilado de maíz difiere con los resultados obtenidos en este análisis donde los niveles de acidez son menores a 0.5 %.

6.6. Cenizas

La variedad Cayena lisa tiene niveles de cenizas bajos (11.49, 9.32, 8.58 y 7.18 %) comparados con la variedad MD2 (14.74, 13.91, 13.65 y 11.77 %) y el combinado (14.95, 12.77, 11.84 y 8.67 %) (Tabla 8). López *et al.* (2009), mencionaron, que un alto contenido de minerales como el que se indicó para el rastrojo de piña MD2 puede ser atribuido a que se trata de un híbrido o clon de Cayena lisa y presenta una estructura química diferente, además de buena capacidad de extracción y retención de minerales por las plantas.

Tabla 8. Cenizas en la calidad nutricional de ensilados de rastrojo de piña.

Piña	Testigo	Urea			Media	EEM	Valor P
		0.33 %	0.66 %	1.00 %			
Cayena Lisa	11.49a	9.32b	8.58bc	7.18c	9.14	0.50	0.0005
MD2	14.74a	13.91a	13.65a	11.77b	13.52	0.37	0.0034
Combinado	14.95a	12.77ab	11.84b	8.67c	12.06	0.72	0.0002
Promedio	13.72	12.00	11.34	9.20			

EEM= Error estándar de la media, abc= letras iguales en hileras no muestran diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$).

En ensilados de rastrojo de piña con adición de niveles crecientes de pulpa de cítricos deshidratada (0, 5, 10, 15 y 20 %) y 3 % de melaza e inóculo bacterial, obtuvieron resultados bajos de cenizas (9.31, 8.15, 7.75, 7.36 y 6.68 %, respectivamente) al incrementar el nivel de pulpa de cítricos deshidratada (López *et al.*, 2009).

En ensilados de rastrojo de piña con adición de melaza deshidratada con minerales (0, 0.2, 0.4 y 0.6 %) e inclusión de urea (0, 0.5, 1.0 y 1.5 %), tuvieron resultados altos conforme se incrementaron estos aditivos, los niveles de cenizas aumentaron (8.5–9.4, 9.3–11.3, 11.0–11.3 y 12.1–13.6 %, respectivamente) y la fracción mineral fue afectada debido al contenido de calcio que está presente en la melaza deshidratada (López *et al.*, 2014).

Al incluir *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) como aditivo a ensilados de rastrojo de piña en diferentes niveles de inclusión (0, 10, 20, 30 y 40 %) en Brasil, obtuvieron resultados mayores de cenizas (14.82, 14.78, 14.90, 14.42 y 14.32 %) (Silva *et al.*, 2023). Comparados con los obtenidos en la presente investigación (13.72, 12.00, 11.35 y 9.20 %) en ensilados de rastrojo de piña con niveles de urea (0, 0.33, 0.66 y 1.00 %). Información que contrasta con Gómez *et al.* (2015), quienes mencionaron que en ensilados de maíz variedad DK2034 con diferentes tiempos de sellado el silo (0, 180, 210 y 240 días) determinaron valores de 1.11–2.04 % en el contenido de cenizas.

6.7. Fibra detergente neutro (FDN)

El ensilado de rastrojo de piña con niveles crecientes de urea (0, 0.33, 0.66 y 1.00 %) contiene un porcentaje de fibra detergente neutro elevado en la variedad MD2 y en el combinado (Tabla 9). Estos resultados se relacionan a los obtenidos por López *et al.* (2009), en ensilados de rastrojo de piña frescos con adición de niveles crecientes de pulpa de cítricos deshidratada (0, 5, 10, 15 y 20 %) y 3 % de melaza e inóculo microbial con valores de FDN de 40.20–57.70 %.

Tabla 9. Fibra detergente neutro en la calidad nutricional de ensilados de rastrojo de piña.

Piña	Testigo	Urea			Media	EEM	Valor P
		0.33 %	0.66 %	1.00 %			
Cayena Lisa	44.20bc	42.99c	46.57ab	47.31a	45.31	0.60	0.0037
MD2	57.73ab	58.82a	53.84c	56.23b	56.66	0.58	<0.0001
Combinado	52.94b	56.02a	54.95a	51.69b	53.90	0.53	<0.0001
Promedio	51.48	52.61	51.84	51.74			

EEM= Error estándar de la media, abc= letras iguales en hileras no muestran diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$).

Núñez *et al.* (2001), analizaron ensilados de híbridos de maíz de ciclo intermedio con valores de FDN de 57.3–63.3 % y en maíz precoz con resultados de 47.6–56.4 %, los datos tienen similitud a los reportados en este trabajo (42.99–58.82 % FDN). En maíz precoz puede deberse a las características físicas de la planta del maíz, en el rastrojo de piña el estado de madurez de la planta y la elección de la muestra pudieron tener incidencia en los resultados de FDN.

Silva *et al.* (2023), realizaron un perfil de fermentación y valor nutricional del ensilado de planta de piña ‘Pérola’ marchita con niveles de heno de *Leucaena* como aditivo (0, 10, 20, 30 y 40 %), se tuvo resultados en fibra detergente neutro (51.29–54.40 %) parecidos a los hallados en este estudio (51.48–52.61 %).

En ensilado de sorgo, Durán y Hernández (2011), reportaron un valor de 59.99 % de FDN, mientras que Bernard y Tao (2015), obtuvieron un dato de FDN de 54.2 %, resultados parecidos a los encontrados en ensilado de rastrojo de piña con niveles crecientes de urea (0, 0.33, 0.66 y 1.00 %) con 51.48, 52.61, 51.84 y 51.74 % de fibra detergente neutro.

6.8. Fibra detergente ácido (FDA)

Al incrementar el nivel de urea (0, 0.33, 0.66 y 1.00 %) en los tratamientos de los ensilados de rastrojo de piña, existió variación en la cantidad de fibra detergente ácido (33.70-62.47 %) (Tabla 10).

Tabla 10. Fibra detergente ácido en la calidad nutricional de ensilados de rastrojo de piña.

Piña	Testigo	Urea			Media	EEM	Valor P
		0.33 %	0.66 %	1.00 %			
Cayena Lisa	34.19c	33.70d	44.16a	35.03b	36.77	1.29	<0.0001
MD2	46.51a	46.91a	41.28c	44.27b	44.74	0.68	<0.0001
Combinado	50.45c	62.47a	56.70b	51.50c	55.28	1.47	<0.0001
Promedio	43.71	47.69	47.38	43.60			

EEM= Error estándar de la media, abcd= letras iguales en hileras no muestran diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$).

López *et al.* (2009), analizaron ensilados de rastrojo de piña con diferentes niveles de pulpa de cítricos (0, 5, 10, 15 y 20 %), 3 % de melaza e inóculo bacterial obtuvieron menores porcentajes de FDA (26.50–35.0 %), comparándolos con este trabajo (33.70–62.47 %), el tratamiento testigo tiene el nivel más alto de FDA, al agregar aditivos al ensilado estos propiciaron la degradación del material vegetativo.

Núñez *et al.* (2001), evaluaron ensilados de maíz híbrido y encontraron que en el maíz de ciclo intermedio los niveles de FDA fueron más elevados (32.0–40.3 %) que en el maíz de ciclo precoz (27.4–34.3 %), comparándolos con los resultados de este trabajo, los niveles de FDA en ensilado de rastrojo de piña son de 33.70–62.47 %, debido a que el rastrojo de piña tiene mayor contenido de hemicelulosa con relación al maíz.

Cattani *et al.* (2017), reportaron un valor de 45.99 % de fibra detergente ácido en ensilado de sorgo sin aditivos. Es similar con el tratamiento testigo de ensilados de rastrojo de piña donde el valor de FDA es de 43.71 %.

La fibra detergente ácida evalúa la calidad del ensilado, debido a que un contenido de fibra detergente ácido bajo indica que hay menos fibra insoluble y más nutrientes disponibles para el animal (Rodríguez *et al.*, 2014).

6.9. Lignina

En el tratamiento combinado de ambas variedades de rastrojo de piña no hubo diferencia significativa (2.45, 2.32, 2.37 y 2.42 %) (Tabla 11), en la variedad

Cayena lisa (2.32, 2.33, 2.44 y 2.29 %) y MD2 (2.45, 2.37, 2.32 y 2.38 %) se observaron diferencias menores de lignina, aunque la tendencia no es clara al adicionar urea a los ensilados de rastrojo de piña, existió una disminución del contenido de lignina.

Tabla 11. Lignina en la calidad nutricional de ensilados de rastrojo de piña.

Piña	Testigo	Urea			Media	EEM	Valor P
		0.33 %	0.66 %	1.00 %			
Cayena Lisa	2.32b	2.33b	2.44a	2.29b	2.35	0.02	0.0011
MD2	2.45a	2.37ab	2.32b	2.38ab	2.38	0.02	0.0126
Combinado	2.45a	2.32a	2.37a	2.42a	2.39	0.02	0.1499
Promedio	2.40	2.34	2.37	2.36			

EEM= Error estándar de la media, ab= letras iguales en hileras no muestran diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$).

En ensilados de rastrojo de piña adicionado con niveles crecientes de pulpa de cítricos deshidratada, López *et al.* (2009), obtuvieron resultados de lignina (2.46–2.93 %) cercanos a los reportados en este trabajo en ensilados de rastrojo de piña a los que se les adicionó diferentes niveles de urea (2.29–2.45 %).

Los niveles de lignina en los ensilados de rastrojo de piña (2.29–2.45 %) son bajos comparados a los que se encuentran en el pasto Estrella de África (*Cynodon nlemfuensis*) (5.3 %), Ruzi (*Brachiaria ruziziensis*) (5.2 %) y King Grass (*Pennisetum purpureum*) (6.9 %). Pero son similares a aquellos niveles de lignina presentes en el ensilado de maíz (2.6–3.5 %) (Jones *et al.*, 2004).

Gómez *et al.* (2015), en ensilado de maíz obtuvieron 2.27–3.52 % de lignina, resultados parecidos a los que se encontraron en este trabajo (2.29–2.45 %). En ensilado de sorgo, Schmidt-Walter *et al.* (2020), reportaron 2.55 % de lignina y

en ensilado de sorgo con pulpa de piña encontraron 2.60 % de lignina. En ensilados de rastrojo de piña con niveles crecientes de urea se obtuvieron valores de 2.34-2.40 % por lo que difieren de los obtenidos en ensilado de sorgo.

6.10. Digestibilidad *in vitro*

La digestibilidad *in vitro* de las variedades Cayena lisa, MD2 y el tratamiento combinado de ambas variedades de rastrojo de piña presentó diferencias significativas entre tratamientos (59.80–84.71 %) (Tabla 12).

Tabla 12. Digestibilidad *in vitro* en la calidad nutricional de ensilados de rastrojo de piña.

Piña	Testigo	Urea			Media	EEM	Valor P
		0.33 %	0.66 %	1.00 %			
Cayena Lisa	72.45b	69.15b	84.71a	69.90b	74.05	2.12	0.0036
MD2	66.70ab	59.80b	70.75ab	73.70a	67.74	1.34	0.0179
Combinado	71.75a	73.05a	70.90a	66.55a	70.56	1.88	0.3892
Promedio	70.30	67.31	75.45	70.05			

EEM= Error estándar de la media, ab= letras iguales en hileras no muestran diferencia estadística significativa ($P \leq 0.05$).

En el tratamiento combinado la digestibilidad del ensilado de rastrojo de piña no se vio modificada al adicionar urea (0, 0.33, 0.66 y 1.00 %), situación que cambió para las variedades Cayena lisa y MD2. La primera tuvo una alta digestibilidad (84.71 %) en el tratamiento de 0.66 % de urea, mientras que la MD2 (73.70 %) la tuvo en el 1.00 % de aditivo.

En una investigación realizada por Ramírez-Ramírez *et al.* (2020), sobre aprovechamiento de desechos de pescado y cáscara de piña para producir ensilado biológico obtuvieron valores de 76.20–84.40 % de digestibilidad *in vitro* observaron diferencias significativas entre tratamientos (15, 30 y 45 % de cáscara de piña). En relación con los reportados en ensilados de rastrojo de piña donde la digestibilidad fue de 67.31-75.45 %.

En ensilados de rastrojo de piña con pulpa de cítricos deshidratada López *et al.* (2009), encontraron valores de 74.88–85.12 % de digestibilidad, estos datos tienen similitud con los obtenidos en este análisis (59.80–84.71 %).

7. CONCLUSIONES

El uso de diferentes concentraciones de urea (0, 0.33, 0.66 y 1.00 %) en ensilados de rastrojo de piña Cayena lisa, MD2 y una combinación de ambas variedades modificó el contenido promedio de proteína cruda (7.87-12.05 %), extracto etéreo (1.76-3.03 %), pH (3.89-4.13), acidez titulable (0.12-0.26 %) y disminuyó la concentración de materia seca (24.87-18.59 %), cenizas (13.72-9.20 %), fibra detergente neutro (51.62-51.74 %) y fibra detergente ácido (43.71-43.60 %); mientras que lignina mantuvo un intervalo de 2.36-2.40 %.

La digestibilidad *in vitro* en ensilados de rastrojo de piña Cayena lisa, MD2 y una combinación de ambas variedades tuvo un rango promedio de 70.05-75.45 %, que se encuentran dentro del porcentaje normal (60-80 %) en la planta de piña ensilada.

8. PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES

El ensilado de rastrojo de piña es un material vegetal que se conserva adecuadamente con la adición de urea (0, 0.33, 0.66 y 1.00 %) que mejora los niveles de PC, EE, pH y AT. Aunque la MS limita este forraje como alimento principal por su alto contenido de humedad, puede ser utilizado como un complemento en la dieta de los rumiantes. Además, presenta una digestibilidad *in vitro* aceptable (70.05-75.45 %) para ser aprovechado por los rumiantes.

Los ensilados de rastrojo de piña Cayena lisa, MD2 y una combinación de ambas, son una alternativa de manejo de los subproductos agrícolas después de cada ciclo productivo.

Se recomienda evaluar el análisis proximal en ensilados de rastrojo de piña con otros aditivos (melaza, yogurt, suero de leche) y compararlos con diferentes niveles de urea, como una alternativa en la alimentación de los animales rumiantes en época de escasez de forrajes.

9. LITERATURA CITADA

- Ajila C.M., Sarma S.J., Brar S.K., Godbout S., Cote M., Guay F., Verma M. Valéro J.R. (2015). Fermented apple pomace as a feed additive to enhance growth performance of growing pigs and its effects on emissions. *Agriculture*, 5: 313-329.
- Anrique R., Fuchslocher R., Iraira S., Saldaña R. (2008). Composición de alimentos para el ganado bovino. 3ª edición. Universidad Austral de Chile, Instituto de Investigaciones Agropecuarias-CRI Remehue, Consorcio Lechero. 87 p.
- AOAC. (2020). Official Methods of Analysis of AOAC International (OMA). AOAC International, Gaithersburg, MD. Consultado el 04 de febrero del 2022.
- Araque C. (2001). Uso de la urea en la alimentación de animales rumiantes. Inve. FONAIAP. Centro de Investigaciones Agropecuarias del Estado Táchira, Venezuela. Consultado en: www.produccion-animal.com.ar
- Banderas Vega, M. J. (2012). Análisis proximal de los principales componentes nutricionales de arroz pulido, harina de trigo de flor, maíz amarillo y papa chola. Tesis de licenciado en ciencias químicas. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador. 112 p.
- Bernard J. K., Tao S. (2015). Production response of lactating dairy cows to brachytic forage sorghum silage compared with corn silage from first or second harvest. *Journal of Dairy Science*, 98(12): 8994-9000.

- Bravo A. J. (2006). Caracterización nutricional de forrajes verdes, forrajes secos, concentrados y subproductos agroindustriales para la alimentación del ganado en la zona sur. Tesis Ing. Agr. Valdivia. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias. 160 p.
- Brown W. (1993). Amoniación de heno y suplementación de energía y proteína para ganado de carne. Memorias de la Conferencia Internacional sobre Ganadería en los Trópicos. Universidad de Florida: 39-47.
- Cattani M., Guzzo N., Montovani R., Bailoni L. (2017). Effects of total replacement of corn silage with sorghum silage on milk yield, composition, and quality. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8(15): 1-8.
- Durán A. C. E., Hernández R. H. J. (2011). Alimentación de vacas lecheras con ensilajes de sorgos híbridos sureño y pampa-centurión. Tesis de grado licenciatura. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. Pp. 11.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). (1993). Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos. Disponible en: <https://www.fao.org/3/ab489s/AB489S03.htm#ch3.2>. Consultado el: 08 de febrero del 2022.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). (2020). Las principales frutas tropicales Análisis de mercado. pp. 6–7.
- Ferrarreto L. F., Shaver R. D. (2015). Effects of whole-plant corn silage hybrid type on intake, digestion, ruminal fermentation, and lactation performance

by dairy cows through a meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 98(4): 2662-2675.

García N. B. (2020). Evaluación y caracterización de subproductos de la piña (*Ananas comosus* L. Merr) y adición de quitosano como agente gelificante en la elaboración de productos imitación mermelada. Tesis de maestría en ciencias agronómicas en el área de producción e inocuidad agroalimentaria. Universidad Autónoma de Aguascalientes. pp. 9, 11.

Gómez G. A., Sanginés G. L., Hernández B. J. A., Benítez M. J. A. (2015). Evaluación químico proximal de ensilado de maíz (variedad DK2034) en diferentes tiempos de fermentación. *Revista Edúcate con Ciencia*, 7(8): 62-68.

Gutiérrez F., Rojas A., Dormond H., Poore M., WingChing R. (2003). Características nutricionales y fermentativas de mezclas ensiladas de desechos de piña y avícolas. *Agronomía Costarricense*, 27(1): 79-89.

Herrera-Estrada L. F. (2014). Costos de Producción en un Sistema de Ensilaje. Tesis de licenciatura. Antioquía. pp. 11-12.

Hiriart M. (2008). Ensilados. Procesamiento y Calidad. Editorial Trillas. México. 110 p.

INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática). (2020). Marco Geoestadístico Nacional. México. Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/temas/mg/>.

- Jobim C. C. y Gonçalves G. D. (2003). Microbiologia de forragens conservadas. In: Reis R. A., T. F. Bernardes, G.R. Siqueira. (Eds.) *Volumosos na produção de ruminantes: valor alimentício de forragens*. Jaboticabal: Funep. pp. 1-26.
- Johnson L. M., Harrison J. H., Dadvison D., Mahanna W. C., Shinnors K., Linder D. (2002). Corn silage management: Effects of maturity, inoculation, and mechanical processing on pack density and aerobic stability. *Journal of Dairy Science*, 85: 434-444.
- Jones C. M., Heinrichs A. J., Roth G. W., Ishler V. A. (2004). From harvest to feed: Understanding silage management. Pennsylvania State University. *College of Agriculture Sciences*, 2-11 p.
- Kogagoda, K., & Maraoana, R. (2017). Utilization of fruit processing by-products for industrial applications: A review. *International Journal of Science and Nutrition*, 2(6): 24-30.
- López H. M., WingChing J. R., Rojas B. A. (2009). Características fermentativas y nutricionales del ensilaje de rastrojo de piña (*Ananas comosus*). *Agronomía Costarricense*, 33(1): 1–15.
- López H. M., WingChing J. R., Rojas B. A. (2014). Meta-análisis de los subproductos de piña (*Ananas comosus* L.) para la alimentación animal. *Agronomía Mesoamericana*, 25(2): 383-392.
- López H. M., Briceño A. E. (2017). Efecto de la especie de leguminosa y la fuente de carbohidratos en la calidad física y química de mezclas para ensilaje. *Nutrición Animal Tropical*, 11(1): 52-73.

- Marmolejo L., Pérez A., Torres P., Cajigas Á., & Cruz C. (2008). Aprovechamiento de los residuos sólidos generados en pequeñas industrias de almidón agro de yuca. *Livestock Research for Rural Development*, 20(7): 4-10.
- Martín P. C. (2004). La melaza en la alimentación del ganado vacuno. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 8(3): 1-13.
- Martínez R.S., Wawrzkievicz M., Jaurena G. (2014). Inter comparación de resultados de digestibilidad *in vitro* obtenidos por diferentes técnicas. *Revista Argentina de Producción Animal*, 34(1): 379
- Molina A. M. G., Roa L. B., Alzate S. R., León J. G. S. D., Arango A. F. B. (2004). Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Revista Lasallista de Investigación*, 1(1): 66-71.
- Montilla dB., Fernández S., Alcalá dM. D., Gallardo M. (1997). El cultivo de la piña en Venezuela. IICA Maracay, Venezuela. 155 p.
- Núñez H. G., Faz C. R., Tovar G. M., Zavala G. A. (2001). Híbridos de maíz para la producción de forraje con alta digestibilidad en el norte de México. *Técnica Pecuaria en México*, 39(2): 77-88.
- Paredes-Mendoza M., Espinosa-Victoria D. (2010). Ácidos orgánicos producidos por rizobacterias que solubilizan fosfato: una revisión crítica. *Terra Latinoamericana*, 28(1): 61-70.
- Palmonari A., Cavallini D., Sniffen C. J., Fernandes L., Holder P., Fagioli L., Fusaro I., Biagi G., Formigoni A., Mammi L. (2020). Characterization of molasses chemical composition. *Revista de Ciencia Láctea*, 103(7): 6244-6249.

- Patiño-Pardo R. M., Benítez-Ríos Y. J., Valdés-Vargas E. D. (2022). Ensilados de *Megathyrus maximus*: Efecto del horario de corte y de la inoculación microbiana. *Revista MVZ Córdoba*, 27(3): 2-9.
- Peralta O. A. (2020). Composición química de la piña (*Ananas comosus* L.) y los subproductos a nivel de campo como materia prima alternativa para la producción animal. Tesis de Ingeniería. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador. pp. 15-16.
- Quintanilla V. C. R., Sehtman A., Allevato M. (2008). Urea. *Actualización Terapéutica Dermatológica*, 31: 170-172.
- Ramírez-Ramírez J., Loya-Olguín J., Ulloa J., Rosas-Ulloa P., Gutiérrez-Leyva R., Silva-Carrillo Y. (2020). Aprovechamiento de desechos de pescado y cáscara de piña para producir ensilado biológico. *Abanico Veterinario*, 10(1): 1-12.
- Rodríguez C. S., López H. M., WingChing J. R., Rojas B. A. (2014). Adición de melaza deshidratada y urea en ensilados de rastrojos de piña. *Agronomía Mesoamericana*, 25(2): 313-321.
- Rodríguez R. N., O. Araujo F., B. González y R. Santos. (2002). Efecto de la amonificación con urea sobre el pH y la presencia de microorganismos en heno de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick. *Revista Científica*, 12(2): 572-574.
- SAS. (2013). Statistical Analysis System. Base SAS® 9.4 Procedures Guide: Statistical procedures. Second edition. SAS Institute Inc. Cary NC, USA. 550 p.

- Sánchez L. A. (2021). Ensilaje de rastrojo de maíz asociado con diferentes niveles de urea y melaza para la alimentación de rumiantes. Caracterización y posicionamiento estratégico. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba, España. Pp. 29-132.
- Segura F., Echeverri, R., Li, A. C. P., & Mejía, A. I. (2007). Descripción y discusión acerca de los métodos de análisis de fibra y del valor nutricional de forrajes y alimentos para animales. *Vitae*, 14(1): 72-81.
- SIAP (Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera). (2020). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Disponible en: http://infosiap.siap.gob.mx/Agricola_siap/ResumenProducto.do. Consultado en Diciembre de 2021.
- Silva R. R., Rodríguez R. C., Rodríguez M. M., Abdalla A. L., Cabral D. L., Araújo da C., Viciado D. O., Costa C. dos S., da Silva E. C., Barros D. M. A. (2023). Available at SSRN 4391550. <https://dx.doi.org/10.2139/ssm.4391550>
- Schmidt-Walter P., Meusburger K., Zacios M., Meesenburg H. (2020). Advancing simulations of water fluxes, soil moisture and drought stress by using the LWF-Brook90 hydrological model in R. *Agricultural and Forest Meteorology*, 29(1). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2020.108023>
- Upadhyay A., Prava L. J., Tawata S. (2010). Utilization of Pineapple Waste: A Review. *Journal of Food Science and Technology Nepal*, 6: 10-18.
- Valencia C. A., Hernández B. A., López B. L. (2011). El ensilaje: ¿qué es y para qué sirve?. *Revista de divulgación científica y tecnológica de la Universidad Veracruzana*, 24(2): 11-13.

Zumbado F. H. (2020). Análisis químico de los alimentos: métodos clásicos.
Editorial Universitaria Cuba. p. 345.

10. ANEXO DE FIGURAS

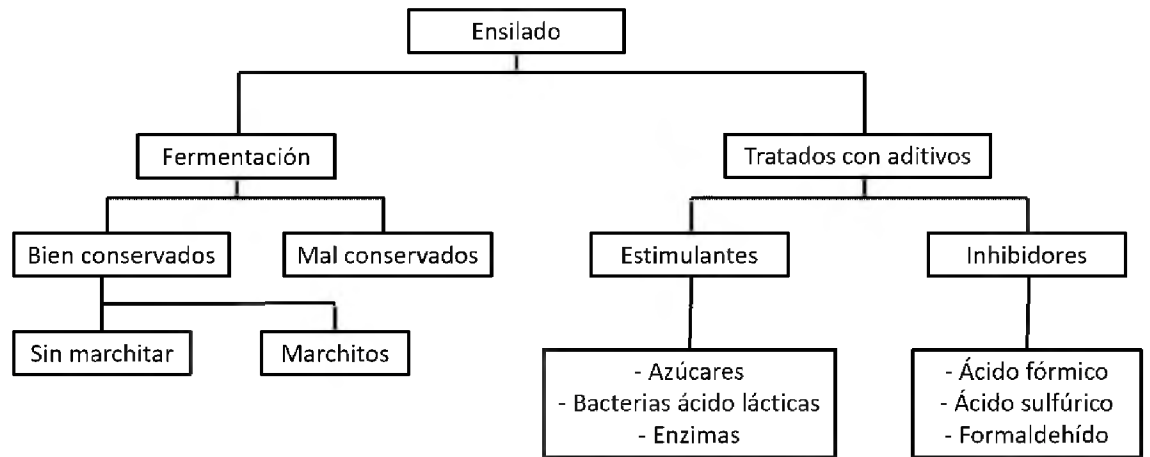


Figura 1A. Clasificación de los ensilados (Anrique *et al.*, 2014).



Figura 2A. Acahual del cultivo de piña.



Figura 3A. Máquina picadora de forraje verde (14 hp).



Figura 4A. Tamaño de partícula del rastrojo de piña.



Figura 5A. Micro silo de rastrojo de piña.



Figura 6A. Muestra fresca de ensilado de rastrojo de piña.



Figura 7A. Materia seca de ensilado de rastrojo de piña.



Figura 8A. Tubos de digestión Kjeldahl preparados para la obtención de proteína cruda.



Figura 9A. Digestor BÜCHI utilizado para la determinación de proteína cruda.

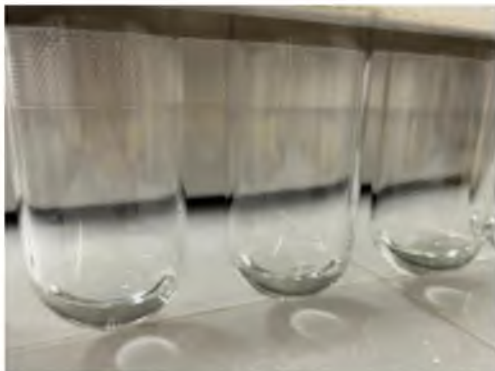


Figura 10A. Muestra digerida de ensilado de rastrojo de piña.



Figura 11A. Obtención del nitrógeno en ensilado de rastrojo de piña.



Figura 12A. Titulación con ácido clorhídrico para determinación de proteína cruda.



Figura 13A. Extracción de lípidos en ensilado de rastrojo de piña.



Figura 14A. Obtención del extracto etéreo en ensilado de rastrojo de piña.



Figura 15A. Obtención de acidez titulable en ensilado de rastrojo de piña.



Figura 16A. Muestra incinerada de ensilado de rastrojo de piña.



Figura 17A. Muestra calcinada de ensilado de rastrojo de piña.



Figura 18A. Preparación del indicador resazurina.



Figura 19A. Preparación de la solución mineral (SM).



Figura 20A. Filtración del líquido ruminal para el análisis de digestibilidad *in vitro*.



Figura 21A. Muestra posterior a la digestibilidad *in vitro*.