



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**“EVALUACIÓN Y APROVECHAMIENTO BIOTECNOLÓGICO  
DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES DE ZANAHORIA Y SUERO  
DE LECHE GENERADOS EN EL CANTÓN RIOBAMBA EN LA  
ELABORACIÓN DE BIOENSILAJE COMO ALIMENTO PARA  
RUMIANTES”**

Trabajo de titulación presentado para adoptar el grado académico de:  
**INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**AUTORA: CHACHA POZO ELVA GEOCONDA**

**TUTOR: Ing. Byron Díaz Monroy, PhD**

Riobamba – Ecuador

2016

©2016, Elva Geoconda Chacha Pozo.

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

El Tribunal de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: “EVALUACIÓN Y APROVECHAMIENTO BIOTECNOLÓGICO DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES DE ZANAHORIA Y SUERO DE LECHE GENERADOS EN EL CANTÓN RIOBAMBA EN LA ELABORACIÓN DE BIOENSILAJE COMO ALIMENTO PARA RUMIANTES”, de responsabilidad de la señorita Elva Geoconda Chacha Pozo, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de Trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

ING. BYRON DÍAZ, PhD.

**DIRECTOR DE TRABAJO**

**DE TITULACIÓN**

\_\_\_\_\_

ING. PAOLA CHILUIZA, MSc.

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

\_\_\_\_\_

## **DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD**

Yo, Elva Geoconda Chacha Pozo, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autora, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 18 de noviembre del 2016.

---

Elva Geoconda Chacha Pozo

020211533-3

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo de titulación a Dios por ser quién me ha dado la dicha de existir y conseguir mis metas. A mi madre por ser el pilar fundamental en mis logros conseguidos con sus consejos llenos de amor, a mi padre por ser la persona que es y enseñarme a ser valiente ante cualquier obstáculo en la vida. A mi hermana Elizabeth por ser mi confidente la persona que nunca ha dicho no a una petición esa mujer luchadora guerrera, infinitamente llena de amor para mí. Al amor de mi vida Fernando por caminar junto a mí estos años de sacrificio por ser apoyo incondicional y sobre todas las cosas por amarme con mis defectos y virtudes.

*Geoconda*

## AGRADECIMIENTO

Agradecida con el creador del universo Dios por haber guiado y despejado mi caminar durante la vida politécnica, llenándome de fe esperanza y sabiduría para alcanzar uno de mis logros tan deseados. A mi padre, madre y hermana por ser quienes han estado ahí siempre con su ejemplo y apoyo absoluto. A Fernando por ser mi apoyo incondicional de inicio a fin en este logro, gracias a su amor, paciencia y por darme tantos años de felicidad. Agradezco a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por haberme guiado y ayudado por medio de sus docentes a cumplir esta meta tan importante en mi vida. Al Ing. Byron Díaz por su paciencia y colaboración en el desarrollo de esta investigación, así también a la Ing. Paola Chiluzza por su predisposición de ayuda y colaboración. Al equipo LABIMA por su apoyo incondicional su predisposición de ayuda y colaboración. A mi familia política por ser parte importante en el camino hacia conseguir esta meta planteada. A mis amigos por ser apoyo y colaboración y por formar parte importante en mi vida

*Geoconda*

## TABLA DE CONTENIDO

	Páginas
RESUMEN.....	xv
SUMMARY.....	xvi
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO I.....	4
1. MARCO TEÓRICO.....	4
1.1. Fermentación en estado sólido (FES).....	4
1.1.1. Ventajas y desventajas de la fermentación en estado sólido.....	4
1.1.1.2. Desventajas.....	5
1.2. Bioensilaje.....	5
1.3. Fases Del Ensilaje.....	6
1.3.1. Fase Aeróbica.....	6
1.3.2. Fase de fermentación.....	6
1.3.3. Fase estable.....	7
1.4. Microflora del ensilaje.....	7
1.4.1. Bacterias ácido lácticas.....	8
1.4.2. Microorganismos indeseables.....	8
1.4.2.1. Enterobacterias.....	8
1.4.2.2. Levaduras.....	8
1.4.2.3. Clostridium.....	9
1.4.2.4. Hongos.....	9
1.4.2.5. Bacillus.....	9
1.4.2.6. Listeria.....	10
1.5. Elaboración del ensilaje.....	10
1.5.1. Ventajas y desventajas.....	11
1.5.1.1. Ventajas.....	11
1.5.1.2. Desventajas del ensilaje.....	12
1.5.2. Pérdidas en los ensilajes.....	12
1.5.2.1. Pérdidas de oxidación.....	12
1.5.2.2. Pérdidas fermentativas.....	12
1.5.2.3. Pérdidas por lixiviación.....	13
1.5.2.4. Pérdidas de campo.....	13
1.6. Tipos de silo.....	13
1.6.1. Silo torre.....	13
1.6.2. Silo de trinchera o bunker.....	14

1.6.3.	<i>Silo de bolsa</i> .....	14
1.7.	<b>Componentes del ensilaje</b> .....	14
1.7.1.	<i>Probióticos</i> .....	14
1.7.1.1.	<i>Características de los microorganismos probióticos</i> .....	15
1.7.1.2.	<i>Beneficios de los microorganismos probióticos en rumiantes</i> .....	15
1.7.2.	<i>Prebióticos</i> .....	15
1.7.3.	<i>Zanahoria</i> .....	16
1.7.3.1.	<i>Origen</i> .....	17
1.7.3.2.	<i>Morfología</i> .....	17
1.7.3.3.	<i>Requerimientos Edafológicos</i> .....	17
1.7.4.	<i>Suero de leche</i> .....	18
1.7.4.1.	<i>Composición del suero de leche</i> .....	20
1.8.	<b>Indicadores fermentativos</b> .....	20
1.8.1.	<i>Materia seca</i> .....	21
1.8.2.	<i>pH</i> .....	21
1.8.3.	<i>Nitrógeno amoniacal como porcentaje del nitrógeno total</i> .....	21
1.8.4.	<i>Ácidos grasos volátiles</i> .....	21
1.8.5.	<i>Ácido láctico</i> .....	22
1.8.6.	<i>Alcoholes</i> .....	22
1.9.	<b>Calidad del producto final</b> .....	23
1.9.1.	<i>Características Organolépticas</i> .....	23
1.9.1.1	<i>Excelente calidad</i> .....	23
1.9.1.2.	<i>Buena calidad</i> .....	23
1.9.1.3.	<i>Regular calidad</i> .....	24
1.9.1.4.	<i>Mala calidad</i> .....	24
1.9.2.	<i>Características bioquímicas</i> .....	25
1.10.	<b>Aplicaciones del ensilaje en el ganado</b> .....	25
1.10.1.	<i>Producción láctea</i> .....	25
	<b>CÁPITULO II</b> .....	26
2.	<b>METODOLOGÍA</b> .....	26
2.1.	<b>Hipótesis y especificación de variables</b> .....	26
2.2.	<b>Tipo y Diseño de Investigación</b> .....	27
2.3.	<b>Unidad de Análisis</b> .....	29
2.4.	<b>Población de Estudio</b> .....	29
2.5.	<b>Tamaño de Muestra</b> .....	29
2.6.	<b>Selección de muestra</b> .....	29
2.7.	<b>Técnicas de Recolección de Datos</b> .....	30

<b>2.7.1.</b>	<b><i>Acopio de la materia prima</i></b> .....	30
<b>2.7.1.1.</b>	<i>Preparado microbiano nativo (probiótico)</i> .....	30
<b>2.7.1.2.</b>	<i>Zanahoria</i> .....	30
<b>2.7.2.</b>	<b><i>Elaboración del preparado microbiano a base de suero de leche (probiótico)</i></b> .....	30
<b>2.7.2.1.</b>	<i>Materiales</i> .....	30
<b>2.7.2.2.</b>	<i>Equipos de laboratorio</i> .....	31
<b>2.7.2.3.</b>	<i>Método</i> .....	31
<b>2.7.3.</b>	<b><i>Elaboración del bioensilaje de zanahoria</i></b> .....	31
<b>2.7.3.1.</b>	<i>Materiales</i> .....	31
<b>2.7.3.2.</b>	<i>Equipos del laboratorio</i> .....	32
<b>2.7.3.3.</b>	<i>Reactivos</i> .....	32
<b>2.7.3.4.</b>	<i>Método</i> .....	32
<b>2.8.</b>	<b>Análisis físicos</b> .....	<b>33</b>
<b>2.8.1.</b>	<b><i>Grados Brix: Cociente total de sacarosa (°B)</i></b> .....	33
<b>2.8.2.</b>	<b><i>pH</i></b> .....	33
<b>2.8.2.1.</b>	<i>Materiales</i> .....	33
<b>2.8.2.2.</b>	<i>Reactivos</i> .....	33
<b>2.8.2.3.</b>	<i>Método</i> .....	34
<b>2.8.3.</b>	<b><i>Temperatura</i></b> .....	34
<b>2.8.3.1.</b>	<i>Materiales</i> .....	34
<b>2.8.3.2.</b>	<i>Método</i> .....	34
<b>2.9.</b>	<b>Análisis bromatológicos</b> .....	<b>35</b>
<b>2.9.1.</b>	<b><i>Proteína</i></b> .....	35
<b>2.9.1.1.</b>	<i>Cálculo</i> .....	36
<b>2.9.1.2.</b>	<i>Técnica</i> .....	36
<b>2.9.2.</b>	<b><i>Fibra</i></b> .....	36
<b>2.9.2.1.</b>	<i>Método</i> .....	36
<b>2.9.2.2.</b>	<i>Cálculo</i> .....	37
<b>2.9.3.</b>	<b><i>Materia seca (MS)</i></b> .....	37
<b>2.9.3.1.</b>	<i>Técnica</i> .....	37
<b>2.9.3.2.</b>	<i>Cálculo</i> .....	38
<b>2.10.</b>	<b>Análisis microbiológicos</b> .....	<b>38</b>
<b>2.10.1.</b>	<b><i>Bacterias lácticas</i></b> .....	38
<b>2.10.1.1.</b>	<i>Materiales</i> .....	38
<b>2.10.1.2.</b>	<i>Equipos de laboratorio</i> .....	38
<b>2.10.1.3.</b>	<i>Reactivos</i> .....	39
<b>2.10.1.4.</b>	<i>Método</i> .....	39

2.10.2.	<i>E. coli, hongos y levaduras y Salmonella sp</i> .....	40
2.10.2.1.	<i>Materiales</i> .....	40
2.10.2.2.	<i>Equipos de laboratorio</i> .....	40
2.10.2.3.	<i>Reactivos</i> .....	40
2.10.2.4.	<i>Método</i> .....	40
2.10.3.	<i>Clostridium perfringens</i> .....	41
2.10.3.1	<i>Materiales</i> .....	41
2.10.3.2.	<i>Equipos de laboratorio</i> .....	41
2.10.3.3.	<i>Reactivos y muestra</i> .....	41
2.10.3.4.	<i>Método</i> .....	42
2.11.	<b>Suministro del bioensilaje al ganado</b> .....	<b>42</b>
2.11.1.	<i>Selección de ganado</i> .....	42
2.11.2.	<i>Aplicación de las dietas</i> .....	42
2.11.3.	<i>Producción de leche</i> .....	43
	<b>CÁPITULO III</b> .....	<b>44</b>
3.	<b>ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....	<b>44</b>
3.1.	<b>Análisis de resultados y discusión</b> .....	<b>44</b>
3.1.1.	<i>Características Bromatológicas de la materia prima</i> .....	44
3.1.1.1.	<i>Zanahoria</i> .....	44
3.1.1.2.	<i>Follaje de zanahoria</i> .....	45
3.1.1.3.	<i>Suero de leche</i> .....	45
3.1.2.	<i>Análisis físico- químicos del ensilaje</i> .....	46
3.1.2.1.	<i>Grados brix</i> .....	46
3.1.2.2.	<i>pH y Temperatura</i> .....	47
3.1.3.	<i>Características bromatológicas del ensilaje</i> .....	48
3.1.3.1.	<i>Humedad, %</i> .....	48
3.1.3.2.	<i>Materia seca %</i> .....	51
3.1.3.3.	<i>Proteína %</i> .....	52
3.1.3.4.	<i>Fibra</i> .....	54
3.1.4.	<i>Características microbiológicas del ensilaje</i> .....	56
3.1.4.1.	<i>Bacterias Ácidas Lácticas</i> .....	57
3.1.4.2.	<i>Levaduras</i> .....	58
3.1.5.	<i>Análisis de producción de leche</i> .....	61
3.1.5.1.	<i>Producción de leche</i> .....	62
3.1.6.	<i>Análisis económico</i> .....	63
3.1.6.1.	<i>Relación Beneficio/Costo</i> .....	63
	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>65</b>

<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>66</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

N°		Páginas
<b>Tabla 1-1</b>	Taxonomía de la zanahoria amarilla.	16
<b>Tabla 2-1</b>	Composición nutricional de la zanahoria amarilla en 100 g de porción comestible	18
<b>Tabla 3-1</b>	Composición del suero de leche	20
<b>Tabla 4-1</b>	Características organolépticas para la evaluación de la calidad de ensilajes	24
<b>Tabla 1-2</b>	Condiciones meteorológicas en la ESPOCH.	26
<b>Tabla 2-2</b>	Esquema del experimento de campo	28
<b>Tabla 3-2</b>	Esquema del experimento laboratorio	29
<b>Tabla 4-2</b>	Composición del Bioensilaje	32
<b>Tabla 1-3</b>	Resultados de análisis bromatológico de la zanahoria y follaje.	44
<b>Tabla 2-3</b>	Resultados análisis del suero de leche.	45
<b>Tabla 3-3</b>	Resultados para grados brix del probiótico °B.	46
<b>Tabla 4-3</b>	Resultados de pH y Temperatura para el bioensilaje de zanahoria.	47
<b>Tabla 5-3</b>	Análisis bromatológicos del ensilaje a ser administrado a los rumiantes	49
<b>Tabla 6-3</b>	Análisis microbiológicos del ensilaje	56
<b>Tabla 7-3</b>	Resultados microbiológicos para patógenos iniciales y finales del bioensilaje	60
<b>Tabla 8-3</b>	Análisis de producción de leche con el bioensilaje	61
<b>Tabla 9-3</b>	Análisis económico de la obtención del bioensilaje de zanahoria	63

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

	Páginas
<b>Figura 1-2</b>	Elaboración del probiótico 31
<b>Figura 2-2</b>	Picado de la zanahoria 32
<b>Figura 3-2</b>	Picado del follaje. 33
<b>Figura 4-2</b>	Medición del pH 34
<b>Figura 5-2</b>	Medición de la Temperatura del ensilaje 35
<b>Figura 6-2</b>	Siembra de muestras del ensilaje en Agar MRS 39
<b>Figura 7-2</b>	Inoculación de muestras del ensilaje en placas Petrifilm™ 41
<b>Figura 8-2</b>	Alimentación a los rumiantes con el bioensilaje 43
<b>Figura 1-3</b>	Gráfico de evaluación de grados brix 46
<b>Figura 2-3</b>	Gráfico de evaluación de pH y temperatura 48
<b>Figura 3-3</b>	Gráfico de evaluación de humedad 50
<b>Figura 4-3</b>	Gráfico de regresión para la variable humedad 51
<b>Figura 5-3</b>	Gráfico de evaluación de Materia Seca 51
<b>Figura 6-3</b>	Gráfico de regresión para la variable Materia Seca 52
<b>Figura 7-3</b>	Gráfico de evaluación de Proteína 53
<b>Figura 8-3</b>	Gráfico de análisis de regresión para Proteína 54
<b>Figura 9-3</b>	Gráfico de evaluación para fibra 54
<b>Figura 10-3</b>	Gráfico de análisis de regresión para Fibra. 55
<b>Figura 11-3</b>	Gráfico de evaluación de Bacterias Ácido Lácticas. 57
<b>Figura 12-3</b>	Gráfico de análisis de regresión para Bacterias Ácido Lácticas. 58
<b>Figura 13-3</b>	Gráfica de evaluación de crecimiento de levaduras 59
<b>Figura 14-3</b>	Gráfico de análisis de regresión para Levaduras. 60

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A** Estadística para los análisis bromatológicos y microbiológicos
- ANEXO B** Composición del preparado microbiano nativo utilizado en la investigación
- ANEXO C** Resultados de análisis bromatológicos de zanahoria y del bioensilaje
- ANEXO D** Realización del ensilaje
- ANEXO E** Análisis microbiológicos
- ANEXO F** Aplicación en los rumiantes

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar y aprovechar biotecnológicamente los residuos agroindustriales de zanahoria y suero de leche, generados en el cantón Riobamba en la elaboración de bioensilaje como alimento para rumiantes. Se realizaron en el bioensilaje de zanahoria análisis: físicos, bromatológicos y microbiológicos. Se utilizaron cuatro tratamientos de bioensilaje de zanahoria, con diversas concentraciones de preparado microbiano nativo (probiótico) de 2, 4, 6, y 8%. Se obtuvieron resultados de pH 3,9 y temperatura de 19°C. Durante la caracterización bromatológica del bioensilaje se identificó que el tratamiento con el 6% de concentración de probiótico en el bioensilaje de zanahoria, es el que mejores resultados presentó, con un 15,39% de proteína, 74,78% de humedad, y 14,04% de fibra. En cuanto a su caracterización microbiológica, los resultados indicaron que está libre de patógenos como: *Salmonella*, *Clostridium*, *E. coli* y mohos; identificándose una mayor concentración de bacterias ácido lácticas, en el tratamiento al 6% de probiótico con 2,40E+04 Unidades Formadoras de Colonia (UFC) por mililitro. El mejor beneficio costo se obtuvo con el tratamiento del 6% de probiótico con un índice del 33% de rentabilidad. Se concluyó que en la producción de leche en vacas Holstein mestizas se logró aumentar la producción empleando el 6% de preparado microbiano nativo en el bioensilaje de zanahoria ya que se observó un aumento de 14,08 litros a 17,40 litros al finalizar el experimento, mostrando diferencias numéricas entre los niveles evaluados. Se recomienda que la aplicación del ensilaje de zanahoria debe considerarse no como alimento principal si no como un suplemento alimenticio, para lo cual se sugiere utilizar el ensilaje con la adición del 6% de probiótico ya que presenta los mejores resultados en contenido de fibra, proteína y producción lechera.

**PALABRAS CLAVES:** <BIOTECNOLOGÍA Y CIENCIAS DE LA INGENIERÍA>, <TECNOLOGÍA>, <BIOENSILAJE>, <PROBIÓTICO>, <BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS>, <FERMENTACIÓN SOLIDA>, <PROTEÍNA>.

## SUMMARY

This research evaluated and recycled biotechnologically the agro industrial wastes of carrot and whey, produced in the canton Riobamba in the development of bio silage as feed for ruminants. The analysis carried out in the bio silage of carrot was: physical, bromatological and microbiological. Four treatments of bio silage of carrot with various concentrations of prepared microbial native (probiotic) of 2, 4, 6 and 8% were used. The results obtained of pH 3.9 and temperature 19°C. The characterization bromatological of bio silage identified that the treatment with the 6% concentration of probiotic showed the best result, with a 15.39% protein, 74.78% humidity and 14.04% of fiber. Its microbiological characterization indicated as results that is free of pathogens such as *Salmonella*, *Clostridium*, *E. coli* and molds; identifying a greater concentration of lactic acid bacteria in the treatment to 6% of probiotic with 2.40E+04 colony forming units (CFU) per milliliter. The best economic result of cost-benefit was obtained with the treatment of 6% of probiotic with a rate of the 33% profitability. It concluded that milk production in cows Holstein increase of 14.08 liters to 17.40 liters at the end of the experiment by using the 6% of prepared microbial native in the bio silage of carrot, showing differences numeric between the levels evaluated. It recommends feed the cows with silage of carrot as a supplementary diet, and suggests the use of the bio silage with the addition of 6% of probiotic because it presents the best result in content of fiber, protein and dairy production.

**KEY WORDS:** <BIOTECHNOLOGY AND ENGINEERING SCIENCES>, <TECNOLOGY>, <BIO SILAGE>, <PROBIOTIC>, <LACTIC ACID BACTERIA>, <SOLID FERMENTATION>, <PROTEIN>

## INTRODUCCIÓN

### Identificación del Problema

El cultivo de zanahoria en el Ecuador ocupa una superficie mayor a las 4000 ha, entre las principales provincias productoras se encuentran: Pichincha con 870 ha, Bolívar con 480 ha, Cotopaxi con 446 ha y Chimborazo con 1350 ha sembradas (Carranza, 2006, <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/2590>).

En la producción de Leche, la región Sierra es la que más aporta con un 75,9%, seguido de la Costa con el 16,6% y el Oriente con el 7,6%. En relación al promedio de litros de leche por vaca producidos, la región que más se destaca es la Sierra con 6,7 L/vaca, debido principalmente a la gran cantidad de ganado lechero presente y a pastos cultivados y naturales que sirven para su alimentación. La región Oriental ocupa el segundo lugar con 4,7 L/vaca y por último la región Costa con 3,6 L/vaca (INEC, 2011, [http://www.inec.gob.ec/espac\\_publicaciones/espac-2011/INFORME\\_EJECUTIVO%202011.pdf](http://www.inec.gob.ec/espac_publicaciones/espac-2011/INFORME_EJECUTIVO%202011.pdf)).

Chimborazo es la provincia más lechera de todo el grupo, ya que la ganadería de leche es especialmente importante en la región. Es así que según el Censo Nacional Agropecuario realizado en el año 2000 se producen en la provincia 131459 litros de leche diarios. (Ministerio de la Coordinación de Producción Empleo y Competitividad., 2011, <http://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/02/AGENDA-TERRITORIAL-CHIMBORAZO.pdf>)

Estas actividades agroindustriales generan anualmente en el Ecuador miles de toneladas de residuos cuya cifra aún no se ha determinado, los mismos que se generan por procesos aplicados y por pérdidas postcosecha. Estos desechos aún no son aprovechados eficientemente, en parte, porque su valor es aún desconocido y, sobretodo, por la falta de métodos apropiados para la preparación y caracterización de sustancias de mayor valor agregado con la suficiente calidad e inocuidad como para ser usadas en procesos alimenticios. Algunos de ellos son arrojados a vertederos a cielo abierto, convirtiéndose en focos de contaminación por su elevado contenido de materia orgánica.

Los subproductos generados son principalmente residuos de camales, suero de leche (185 toneladas métricas anuales según datos del Ministerio de Industrias y Productividad) y, desechos agrícolas. Dentro de los desechos agrícolas podemos citar con datos del MAGAP 2013 que se genera 344418 toneladas métricas de cascarilla de arroz, 57020 toneladas métricas de residuos de la cosecha de zanahoria, 1043 toneladas métricas de cascara de trigo; desechos de industrias de

pulpas y mermeladas las cuales generan anualmente 281m<sup>3</sup> por tonelada de materia prima. Estos subproductos representan un importante problema ambiental para los productores, afectando tanto a la calidad del ambiente como a la economía local, generando considerables gastos económicos orientados a minimizar los efectos que estos subproductos producen.

### **Formulación del problema**

¿La evaluación y aprovechamiento biotecnológica de residuos agroindustriales zanahoria y suero de leche nos permitirá elaborar bioensilaje como alimento para rumiantes?

### **Justificación de la investigación**

Enmarcados en el Plan del Buen Vivir del Ecuador en su objetivo siete nos dice “*Garantizar los derechos de la naturaleza y promover la sostenibilidad ambiental territorial y global*”, (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo, 2013, <http://www.buenvivir.gob.ec/objetivos-nacionales-para-el-buen-vivir>).

Se procede con la realización del siguiente estudio ya que en el Ecuador los desechos agroindustriales no tienen un tratamiento adecuado es decir no son aprovechados por lo que conlleva a problemas ambientales.

Es por esto que se ve la necesidad de aprovechar los residuos mediante alternativas tecnológicas disponibles a través de la biotecnología que nos permiten aprovechar este tipo de residuos mediante el uso de microorganismos benéficos en la generación de alimentos con características adecuadas para rumiantes.

Con esta tecnología los pequeños y grandes productores agroindustriales pueden aprovechar sus residuos ya que se les genera una alternativa de uso y obtener ingresos económicos, y disminuir el impacto ambiental, del mismo modo que los ganaderos dispondrían de un producto alimenticio sano y nutritivo elaborado a base de residuos para sus semovientes, con lo cual los dos sectores citados contribuirían a la economía del país.

## **Objetivos de la investigación**

### **Objetivo General**

Evaluar y aprovechar biotecnológicamente los residuos agroindustriales de zanahoria y suero de leche generados en el cantón Riobamba en la elaboración de bioensilaje como alimento para rumiantes.

### **Objetivos Específicos**

- ✓ Caracterizar los residuales de la cosecha y clasificación de la zanahoria amarilla y del suero de leche
- ✓ Desarrollar una tecnología en base a fermentación sólida para aprovechar los residuales en un proceso de bioensilaje.
- ✓ Determinar las características y bondades del producto obtenido, como alimento para rumiantes.
- ✓ Calcular el beneficio costo de esta tecnología.

## CAPITULO I

### 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1. Fermentación en estado sólido (FES)

La fermentación en medio sólido, o también fermentación en estado sólido, se especifica como el crecimiento de microorganismos en medios sólidos o semisólidos en ausencia de agua libre. En las cuales el sustrato sobre el que actúa no está disuelto ni en suspensión ni en un gran volumen de agua. (Robinson *et al.*, 2002a, <http://www.redalyc.org/pdf/1698/169818107003.pdf>).

La FES ha sido utilizada para la producción de alimentos para animales, combustibles y enzimas, y además degradación de colorantes. La FES puede ser llevada a cabo sobre una variedad de residuos agrícolas, tales como paja de trigo, cascarilla de arroz y tuza de maíz. Debido a la ausencia de agua libre, se emplean fermentadores pequeños, y por tanto se requiere menos esfuerzos para los procesos de separación. Las cepas nativas o silvestres de bacterias y hongos tienden a un mejor comportamiento en condiciones de FES que los microorganismos genéticamente modificados, reduciendo además costos de energía y de requerimientos. (Robinson *et al.*, 2002c, <http://www.redalyc.org/pdf/1698/169818107003.pdf>).

##### 1.1.1. *Ventajas y desventajas de la fermentación en estado sólido*

###### 1.1.1.1 *Ventajas*

- ✓ Simplicidad de los medios de cultivo, ya que generalmente un único sustrato proporciona casi todos los nutrientes necesarios.
- ✓ Fermentadores con menores requerimientos espaciales, ya que los sustratos se utilizan más concentrados y no se utilizan grandes volúmenes de agua.
- ✓ Mayor simplicidad en el diseño de los fermentadores y de los sistemas de control.
- ✓ Mayores facilidades para la obtención y aplicación del inoculo, pudiendo utilizarse las esporas directamente en la mayor parte de las situaciones.
- ✓ Facilidad para el escalado de los procesos.
- ✓ Necesidades reducidas de disolventes para la extracción de los productos.
- ✓ Rendimientos comparables, e incluso superiores, a los correspondientes procesos en cultivo sumergido.

- ✓ Reducido riesgo de contaminaciones bacterianas, menos aptas para soportar la baja actividad de agua que caracteriza a estos sistemas. Posibilidad en locaciones de trabajar incluso en condiciones no asépticas.
- ✓ Elevada aireación del sistemas, lo que hace a esta modalidad de cultivo especialmente adecuada a aquellos procesos que impliquen un metabolismo oxidativo intenso.
- ✓ Bajos requerimientos energéticos. A menudo no es preciso autoclavar, airear ni agitar.
- ✓ Ambiente similar al de los hábitats naturales de los microorganismos utilizados.
- ✓ Reducido volumen de efluentes. (Pastrana, 1996, <http://www.redalyc.org/pdf/724/72410301.pdf>)

#### 1.1.1.2 Desventajas

- ✓ Frecuente necesidad de pretratamiento de los sustratos (molienda, prehidrolisis parciales).
- ✓ Dificultad para mantener los niveles óptimos de humedad durante la fermentación.
- ✓ Ausencia de métodos analíticos simples para determinar el crecimiento microbiano.
- ✓ Dificultad de control y regulación de variables del cultivo como temperatura, humedad, pH y oxígeno libre durante el proceso.
- ✓ Dificultad para la agitación en aquellos procesos que así lo requieran.
- ✓ Frecuente necesidad de inóculo voluminoso.
- ✓ Escasez (al menos por el momento) de diseños y desarrollos de ingeniería para la construcción de los fermentadores, así para ciertas operaciones (inoculación, extracción de los productos). (Ramos, 2000. p 7)

## 1.2. Bioensilaje

El bioensilaje o ensilaje es una práctica que se utiliza en la conservación de los heno, lo cual se consigue mediante una fermentación sólida en condiciones anaeróbicas. Las bacterias presentes en el ácido láctico, fermentan los carbohidratos hidrosolubles del pasto generando ácido láctico y en cantidades menores ácido acético. Del pH del ensilado depende que la putrefacción aparezca y este depende de los ácidos mencionados anteriormente. (FAO. 2000, <http://www.fao.org/3/contents/5645cc42-5f28-579c-a4fc-4fb17e92014c/x8486s04.htm>).

El ensilaje o ensilado consiste fundamentalmente en almacenar pasto al estado verde, proceso en el que bajo condiciones especiales de ausencia de oxígeno (aire), ocurre una serie de transformaciones químicas y bioquímicas que definen su calidad a esto se le conoce comúnmente como fermentación del material ensilado. (Hiriart, 2008. p. 9).

La técnica trata de conservar en ausencia de oxígeno, los carbohidratos presentes en el material

vegetal, los cuales tienen un proceso de respiración, liberando CO<sub>2</sub> y ácidos orgánicos (láctico, acético y butírico) y energía. El proceso de fermentación láctica se produce de manera espontánea o inducida por bacterias benéficas, bajo condiciones anaerobias, bajando los niveles de pH e inhibiendo el crecimiento de bacterias, Hongos, levaduras, *Listeria*, *Clostridium* y *Bacillus*, entre otros, que causan la pudrición del forraje. (Guevara, 2013, p. 251).

### **1.3. Fases Del Ensilaje**

#### **1.3.1. Fase Aeróbica**

El oxígeno atmosférico presente en el pasto se reduce ya que se produce la respiración de los microorganismos aerobios y aerobios facultativos (levaduras y enterobacterias). También, hay actividad de diversas enzimas vegetales, como las proteasas y carbohidrasas, lo que sucede siempre que el pH tenga rangos normales para el jugo de forrajes frescos (pH 6,5-6,0). Esta fase dura pocas horas. (Flores, 2004, <http://oa.upm.es/161/1/02200425.pdf>).

La fermentación inicia con la respiración aeróbica inmediatamente después de que la planta es cosechada. Durante esta fase, los carbohidratos hidrosolubles son convertidos a CO<sub>2</sub>, calor y agua por la célula vegetal y microorganismos aeróbicos específicos. Este proceso durará hasta que el oxígeno disminuya o los carbohidratos hidrosolubles vegetales se finalicen. (Alaniz, 2008, <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/3620/ADICIONDERESIDUO.pdf?sequence=1>)

Presenta ventajas como el aumento de condiciones anaeróbicas y elaboración de ciertos antimicrobóticos, compuestos benéficos que pueden servir para acrecentar la estabilidad aeróbica del ensilaje durante la alimentación; así también desventajas siendo la principal la enorme pérdida de materia seca que ayudaría en el desarrollo de bacterias creadoras de ácido láctico o para los rumiantes al consumir el ensilaje (Alaniz, 2008, <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/3620/ADICIONDERESIDUO.pdf?sequence=1>)

#### **1.3.2. Fase de fermentación**

Empieza al producirse un ambiente anaeróbico. Es de larga duración de varios días hasta varias semanas, mismo que depende las características del material que se va a ensilar y de las condiciones en que sea llevado a cabo el ensilaje. Si la fermentación es exitosa la actividad de las bacterias ácido lácticas prolifera convirtiéndose así en la cantidad de microorganismos dominantes. Por la producción de ácido láctico y otros ácidos, el pH se reducirá a valores entre 3,8 a 5,0 (Suarez, 2011, p. 16).

### **1.3.3. Fase estable**

A medida que se impide la entrada de aire en el silo, relativamente poco frecuente; la mayoría de los microorganismos de la fase de fermentación decrecen lentamente. Una parte de estos microorganismos tolerantes al ácido sobreviven a esta fase en un estado casi inactivo, otros como los *Clostridium* y *Bacillus* sobreviven como espores. Solamente algunas proteasas y carbohidrasas y algunos microorganismos especializados tolerantes al ácido, como *Lactobacillus buchneri*, continúan en actividad en un nivel bajo. (Cárdenas, *et al.*, 2004).

### **1.3.4. Fase de deterioro aeróbico**

Empieza con la apertura del silo y con esto la exposición del bioensilaje al aire. Ya que es un procedimiento inevitable cuando se requiere extraer y distribuir el bioensilaje, pero esto también puede ocurrir antes que se abra el silo por daños en su cobertura. (FAO, 2001, [https://books.google.com.ec/books?id=IUU1ihKYVgkC&dq=ensilaje&hl=es&source=gbs\\_navlinks\\_s.](https://books.google.com.ec/books?id=IUU1ihKYVgkC&dq=ensilaje&hl=es&source=gbs_navlinks_s.))

La fase de deterioro aeróbico se divide en dos etapas: primero inicia la degradación de los ácidos orgánicos que conservan el ensilaje, por la acción de levaduras y bacterias que producen ácido láctico. Por consiguiente aumenta el pH en su valor, lo que permite la segunda etapa de esta fase; en ella se comprueba un aumento de la temperatura y de la actividad de microorganismos que deterioran el ensilaje, como algunos *Bacillus*. Esta etapa también envuelve la actividad de otros microorganismos como mohos y enterobacterias. (FAO, 2001, [https://books.google.com.ec/books?id=IUU1ihKYVgkC&dq=ensilaje&hl=es&source=gbs\\_navlinks\\_s.](https://books.google.com.ec/books?id=IUU1ihKYVgkC&dq=ensilaje&hl=es&source=gbs_navlinks_s.))

## **1.4. Microflora del ensilaje**

Aporta un papel importante para el éxito del proceso de conservación. La microflora del ensilaje puede ser dividida en dos grupos importantes: los microorganismos benéficos y los microorganismos indeseables. (FAO, 2001, [https://books.google.com.ec/books?id=IUU1ihKYVgkC&dq=ensilaje&hl=es&source=gbs\\_navlinks\\_s.](https://books.google.com.ec/books?id=IUU1ihKYVgkC&dq=ensilaje&hl=es&source=gbs_navlinks_s.))

Los microorganismos benéficos son las bacterias ácido lácticas. Los indeseables son aquellos organismos que causan el deterioro anaeróbico por ejemplo *Clostridium* y enterobacterias; o deterioro aeróbico por ejemplo levaduras, *Bacillus*, *Listeria* sp y mohos. Varios de estos microorganismos indeseables no sólo bajan el valor nutricional del ensilaje sino que también pueden afectar la salud de los animales que consumen el ensilaje y por lo tanto alterar la calidad de la leche. (FAO, 2001,

#### **1.4.1. Bacterias ácido lácticas**

Pertencen a la microflora epifítica de los vegetales. El periodo en que su población crece notoriamente es entre la cosecha y el ensilaje. Lo que se manifiesta por la reactivación de células latentes y otras no cultivadas. (Guamán, 2013, p. 36).

Las características del cultivo como, contenido de azúcares, contenido de materia seca y composición de los azúcares, combinados con las propiedades de las bacterias ácido lácticas así como su tolerancia a condiciones ácidas o de presión osmótica, y el uso del sustrato, influirán de forma decisiva sobre la capacidad de competencia de las bacterias ácido lácticas durante la fermentación del ensilaje. (Guamán, 2013, p. 36).

Las bacterias lácticas metabolizan muchos constituyentes del medio donde se desarrollan. Sus principales metabolitos son el ácido láctico, ácido acético, etanol, diacetilo y acetaldehído. Los ácidos orgánicos se metabolizan en un orden definido, dentro de estos tenemos el piruvato donde que los lactobacilos heterofermentativos van a transformarlo en ácido láctico. (Bourgeois y Larpent, 1995, p. 117).

#### **1.4.2. Microorganismos indeseables**

##### **1.4.2.1. Enterobacterias**

Compiten con las BAL por los carbohidratos solubles en la fase inicial del ensilaje y algunas pueden producir amonio. La actividad metabólica de las enterobacterias es principalmente inhibida durante el proceso de conservación por anaerobiosis a la acidificación. Las sustancias tóxicas contenidas en muchas bacterias Gram negativas son estables y podrían mantenerse por grandes periodos. La concentración final de estas endotoxinas podría estar estrictamente relacionada a la máxima población alcanzada por las enterobacterias. Esto hace posible, aunque no esté comprobado, que las endotoxinas pueden tener un efecto dañino sobre la palatabilidad y por consecuencia en el valor nutritivo del ensilado. (Alaniz, 2008, <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/3620/ADICIONDERESIDUO.pdf?sequence=1>)

##### **1.4.2.2. Levaduras**

Todas las levaduras crecen en presencia de oxígeno, y su papel importante se manifiesta sobre el

deterioro aeróbico del ensilado bien establecido. Las levaduras en el ensilado son un grupo de microorganismos que pueden competir con éxito por los carbohidratos. Estos microorganismos son sustituidos por un grupo capaz para utilizar ácidos orgánicos. El ensilado con alto contenido de levaduras es inestable a la presencia de aire. (Alaniz, 2008, <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/3620/ADICIONDERESIDUO.pdf?sequence=1>).

#### **1.4.2.3. *Clostridium***

Los *Clostridium* sacarolíticos y proteolíticos están presentes en el ensilado como contaminantes derivados de partículas de suelo. Los *Clostridium* son particularmente sensibles a la disponibilidad de agua y en cultivos muy húmedos y aunque se obtenga un pH 4 no se puede inhibir su crecimiento. Los *Clostridium* juegan un papel importante en el fracaso anaeróbico del ensilado y las esporas de *Clostridium* causan problemas en la producción de quesos. (Guamán, 2013, p. 41)

Un ensilaje con *Clostridium* muestra un alto contenido de ácido butírico (más de 5 g/kg de materia seca), un pH alto (>5 en ensilajes con bajo contenido de materia seca), y altos contenidos tanto de amoníaco como de aminos, los *Clostridium* muestran mayor susceptibilidad a la falta de humedad que las bacterias ácido lácticas. Por ello, toda medida tomada para disminuir el valor aw de un forraje, como inducir su marchitez y por ende aumentar el valor del contenido de materia seca, permite la inhibición selectiva de *Clostridium*. Finalmente, los nitritos y el NO u otros compuestos que puedan ser degradados en el ensilaje, también inhibirán el desarrollo de los *Clostridium*. (FAO, 2000, <http://www.fao.org/3/contents/5645cc42-5f28-579c-a4fc-4fb17e92014c/x8486s04.htm>).

#### **1.4.2.4. *Hongos***

La mayoría de los hongos dependen del oxígeno para su crecimiento y propagación, pero unos cuantos minutos en presencia de oxígeno son suficiente para mantener el metabolismo de ciertos miembros del grupo. Las micotoxinas no solo están presentes en el ensilado podrido, sino también en áreas aledañas a las zonas de crecimiento. (Alaniz, 2008b, <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/3620/ADICIONDERESIDUO.pdf?sequence=1>).

#### **1.4.2.5. *Bacillus***

Los *Bacillus* son similares a los *Clostridium* de forma cilíndrica que forman esporas. Se los puede diferenciar con facilidad ya que estos son aerobios facultativos mientras que los *Clostridium* todos son anaerobios obligados. Los *Bacillus* aeróbicos facultativos fermentan un rango amplio de

carbohidratos generando compuestos tales como ácidos orgánicos por ejemplo acetatos, lactatos y butiratos o etanol, 2,3-butanodiol y glicerol. (FAO, 2000, <http://www.fao.org/3/contents/5645cc42-5f28-579c-a4fc-4fb17e92014c/x8486s04.htm>).

Algunos *Bacillus* spp. Son capaces de producir sustancias fungicidas, y se los ha usado para inhibir el proceso de deterioro aeróbico en ensilajes. Exceptuando estas estirpes, se considera indeseable el desarrollo de los bacilos en el ensilaje. Esto se debe a que los *Bacillus* no solo son menos eficaces como productores de ácido láctico y acético, si no que en las etapas finales, incrementan el deterioro aeróbico. Las esporas de *Bacillus* son transferidas del ensilaje a la leche mediante las heces al igual que los *Clostridium*. Los factores que determinan la proliferación de *Bacillus* en el ensilaje son: la alta temperatura de almacenaje y el ingreso de aire. Adicional se debe eliminar toda contaminación inicial del ensilaje con estiércol o tierra. (FAO, 2000, <http://www.fao.org/3/contents/5645cc42-5f28-579c-a4fc-4fb17e92014c/x8486s04.htm>).

#### **1.4.2.6. *Listeria***

El género *Listeria* son organismos aeróbicos o anaeróbicos. Con relación a los efectos negativos sobre la calidad del ensilaje, la más importante especie es el *L. monocytogenes*, anaeróbico facultativo, que es una especie patógena para varios animales y para el hombre.

El uso de ensilaje de mala calidad ha sido una de las fuentes importantes de contaminación de la leche cruda con *L. monocytogenes*. El crecimiento y supervivencia de *Listeria* spp en el ensilaje están determinados por fallas en asegurar un ambiente anaeróbico, y por el valor del pH en el ensilaje. *L. monocytogenes* puede tolerar bajos niveles de pH entre 3,8 a 4,2 por largos períodos siempre y cuando exista oxígeno aunque esté presente en bajas concentraciones. *L. monocytogenes* no crece en ensilajes bien fermentados que tienen un bajo nivel de pH. El mejor método para prevenir el desarrollo de *L. monocytogenes* es mantener un ambiente estrictamente anaeróbico. (FAO, 2000, <http://www.fao.org/3/contents/5645cc42-5f28-579c-a4fc-4fb17e92014c/x8486s04.htm>).

### **1.5. Elaboración del ensilaje**

La producción de ensilaje es un proceso complicado. Diversos son los factores que pueden afectar de manera positiva o negativa la producción del ensilaje, dentro de los cuales la acción del hombre juega un importante papel. Se puede asegurar que en este proceso se pone en práctica todos los conocimientos teóricos y prácticos adquiridos y que el éxito o el fracaso de la conservación se deciden en la forma de elaborar el ensilaje.

Factores tales como la potencia de los tractores, el tipo de silo cosechadora utilizada, la capacidad de los remolque, el estado técnico de la maquinaria, las habilidades y la experiencia de los operadores, las características del forraje y del terreno, la distancia media entre el área forrajera y el silo, así como los pretratamientos previstos para los forrajes a conservar, decidirán en un momento determinado que la composición deberá tener un grupo operativo para la fabricación del ensilaje. (Veloz, 2005, <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1870/1/17T0698.pdf>)

Equipos necesarios para realizar un ensilaje

- ✓ Máquina de corte de forraje
- ✓ Transportes hacia el silo
- ✓ Implementos para la compactación
- ✓ Equipos para la extracción de los ensilajes

#### ***1.5.1. Ventajas y desventajas***

##### ***1.5.1.1. Ventajas.***

- ✓ Mantiene al alimento agradable
- ✓ No hay pérdida por deshoje, deslave o decoloración
- ✓ No hay desperdicio en la alimentación, todo es consumido.
- ✓ Se puede incluso aprovechar las malas hierbas
- ✓ Se puede ensilar bajo cualquier condición de clima
- ✓ Permite la pronta reutilización de la tierra para obtener dobles cosechas
- ✓ Menor peligro de incendios como con los henos u otros cultivos secos.
- ✓ El ensilado conserva claramente mejor el valor energético, proteico y los carotenos que el forraje seco.
- ✓ Se conserva mayor cantidad de principios nutritivos para la alimentación de los animales, por un mayor período de tiempo.
- ✓ Se elimina en parte la utilización de alimentos complementarios, especialmente alimentos concentrados ricos en proteínas.
- ✓ El alimento que se obtiene mediante el ensilado es de mayor calidad que el de otros métodos de conservación.
- ✓ En ensilaje se puede tener almacenado con mínimas pérdidas de nutrientes mientras que por ejemplo el heno, a los dos años habrá perdido la mayor parte de sus riquezas de vitamina A principalmente.

- ✓ La planta a ensilar se puede cosechar cuando está en su máxima producción y calidad nutritiva. (Chalacan y Valencia, 2004, <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/386/1/T-SENESCYT-0157.pdf>.)

#### ***1.5.1.2. Desventajas del ensilaje***

- ✓ Se requiere mayor mano de obra
- ✓ Se necesita equipo para la producción de ensilado
- ✓ No es muy adecuado para uso intermitente
- ✓ Existe el riesgo de perder el forraje cuando el ensilaje no sale bien. (Veloz, 2005, p. 48)

#### ***1.5.2 Pérdidas en los ensilajes***

Es posible clasificar las pérdidas que suceden en los ensilajes haciendo referencia a dos parámetros importantes la materia seca y el valor nutritivo. Las mismas que también se dividen en evitables e inevitables, según sea su naturaleza. Las primeras son de mayor importancia no solo por la magnitud con que pueden causarse, sino también porque en ellas incide más el sistema tecnológico empleado. (Chalacan y Valencia, 2004, <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/386/1/T-SENESCYT-0157.pdf>.)

##### ***1.5.2.1. Pérdidas de oxidación***

Ya integrado el material al silo, la presencia de oxígeno resultara en pérdidas de oxidación por los siguientes factores: respiración a base del oxígeno atrapado en la masa, desintegración del material por el ingreso de aire, lo que sucede especialmente en las orillas y superficie del silo; y la acción del aire sobre el ensilaje expuesto después de abrirlo.

Dentro de las pérdidas oxidativas, la putrefacción del material por entrada de aire en los contornos del silo es numéricamente la más importante en la mayoría de los casos. La apropiada compactación y su relación con el diseño del silo, junto con un sellado conveniente de este, son medidas que permitirían reducir a un mínimo las pérdidas por este concepto. (Veloz, 2005, p. 49)

##### ***1.5.2.2. Pérdidas fermentativas***

La cantidad de perdidas fermentativas es variable, depende en gran parte de los nutrientes fermentados y de los microorganismos implicados, la transformación de azucares en ácidos por medio de las bacterias del ácido láctico se manifiesta en pérdidas de materia seca fermentada que

varían entre 0 y 33%, en tanto que la participación de *Clostridium* y levaduras excede en pérdidas notoriamente más altas, debido a la marcada producción de hidrógeno, etanol, anhídrido carbónico, sumado a la desaminación y descarboxilación a aminoácidos por *Clostridium*. Las pérdidas de energía son considerablemente menores que las de materia seca, en razón a que el valor energético de los productos derivados de la fermentación es mayor que el de los sustratos. (Cordovez, 2014a, <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4282#sthash.P8A9pPoC.dpuf>)

### **1.5.2.3. Pérdidas por lixiviación**

Estas pérdidas son las que se generan por eliminación de líquido lo cual depende principalmente de cuanta humedad tengan los forrajes que vayan a ser ensilados, otro factor importante es el grado de compactación, el tipo de silo y el pre tratamiento que se le dé a la materia prima. (Cordovez, 2014b, <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4282#sthash.P8A9pPoC.dpuf>)

### **1.5.2.4. Pérdidas de campo**

Estas pérdidas corresponden principalmente al forraje cortado y que queda en el potrero, y al marchitamiento inevitable del forraje antes de ensilar para reducir su contenido de humedad. Al utilizar maquinaria para cosechar el forraje, pequeñas proporciones pueden quedar en el suelo, y a esto sumado el restante en pie de las plantas cortadas se lo denomina “Pérdidas de Campo”. (Veloz, 2005, p. 51)

## **1.6. Tipos de silo**

Existen varios tipos de silos que se diseñan conforme a las necesidades de alimentación y las dimensiones se calculan en función a la profundidad del silo para que el ensilado tenga una mínima exposición al aire. Los tipos de silos más abundantes son simplemente montones, además hay silos de torre, tipo bunker, fundas horizontales de plásticos y grandes rollos. (Evangelista y Ortega, 2006, <http://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/10675/Mejora%20del%20Proceso%20de%20en%20silaje.pdf?sequence=1>)

### **1.6.1. Silo torre**

Este tipo de silo se construye con diferentes materiales como ladrillo, bloques de cemento, cemento armado, piedra, láminas metálicas, entre otros. Tienen techo que proporciona una buena protección contra la lluvia. Presta una mejor compactación del forraje en relación a otro tipo de

silo, menores pérdidas superficiales del ensilaje pero produce mayores pérdidas por jugos exprimidos. Sus costos son altos y además requieren para llenarlos y vaciarlos maquinaria especializada. (Huaraca, 2007, <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1806/1/17T0735.pdf>)

### **1.6.2. Silo de trinchera o bunker**

La construcción de este silo es más barata en comparación al silo torre. Las pérdidas son menores por líquidos, pero al existir mayor superficie expuesta a las condiciones ambientales, las pérdidas aumentan. Su forma es longitudinal, se los construye sobre el piso, tienen aberturas en uno o ambos de sus extremos; sus paredes son en ladrillo, piedra o bloques de cemento deben tener una pequeña pendiente para facilitar el apisonamiento. (Huaraca, 2007, <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1806/1/17T0735.pdf>)

### **1.6.3. Silo de bolsa**

Consiste en colocar el material que se va a ensilar dentro de bolsas de plástico calibre 4 a 6 y capacidad de 30 a 40 kilogramos, una vez que el material este dentro se deben cerrar herméticamente extrayendo la mayor cantidad de aire y evitando la entrada del mismo, así el forraje se comprime y se evitan las fermentaciones indeseables. (Huaraca, 2007, <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1806/1/17T0735.pdf>)

## **1.7. Componentes del ensilaje**

### **1.7.1. Probióticos**

El termino probiótico deriva del griego “a favor de la vida “y se concibe en contraposición al uso del antibiótico, que se aplicó intensamente hace algunas décadas para incrementar el peso de animales en sistemas de cría intensivos. En la actualidad los probióticos son “microorganismos vivos que se administran al hospedador y que ejercen un efecto fisiológico beneficioso sobre su salud“. (Ramos, *et al.*, 2012, p. 3).

El termino probiótico fue empleado por primera vez por Stillwell (1965), para referirse a sustancias secretadas por microorganismos que estimulan el crecimiento de otro. Parker (1974), los define como “organismos y sustancias que contribuyen al balance microbiano intestinal”. Fuller (1989), define como un “suplemento alimentario vivo que afecta beneficiosamente al hospedador animal mejorando su balance microbiano intestinal “. Años después los define como “cultivos simples o mixtos de microorganismos vivos que se administran al hospedador para

ejercer un efecto beneficioso sobre la microbiota indígena”. (Ramírez y Pérez, 2010, p. 131).

La mayoría de especies de microorganismos probióticos pertenecen al grupo de lactobacilos ácido lácticos, aunque también están consideradas algunas especies de bifidobacterias, al igual que ciertos tipos de hongos y levaduras. Diversas combinaciones de estas especies se utilizan en la industria de alimentos para la elaboración de productos fermentados. (Ramírez y Pérez, 2010, p. 131).

#### **1.7.1.1. Características de los microorganismos probióticos.**

- ✓ Debe ser habitante natural del tracto digestivo.
- ✓ Debe contener un elevado número de cepas vivas.
- ✓ Debe conservar sus características y número de cepa vivas a lo largo de los procesos de manufactura, almacenamiento y distribución.
- ✓ Debe ser capaz de sobrevivir y metabolizar en ambientes intestinales, esto es, llegar vivo al intestino, soportando el contacto con los jugos gástricos, biliares y pancreáticos.
- ✓ No debe ser patógeno ni toxigénico. (Ramírez y Pérez, 2010, p. 131).

#### **1.7.1.2. Beneficios de los microorganismos probióticos en rumiantes**

Estos microorganismos actúan subiendo los índices económicos dan una mayor productividad, aumentando la ganancia de peso y la conversión del pienso. Reducen la colonización intestinal por microorganismos patógenos, como *Salmonella*. En los rumiantes los probióticos han logrado lo siguiente: (Ramírez y Pérez, 2010, p. 131).

- ✓ Acrecentar la digestibilidad de la fibra
- ✓ Disminuir los niveles de amoníaco ruminal
- ✓ Acrecentar el consumo de materia seca
- ✓ Estabilidad en los procesos digestivos
- ✓ La anticipación de la rumia en los terneros.
- ✓ Disminución de la diarrea en los terneros

#### **1.7.2. Prebióticos**

Son ingredientes alimentarios que tienen el potencial de beneficiar al hospedador por estimulación selectiva del crecimiento de ciertos microorganismos en el tracto. Así, los oligosacáridos presentes en la leche humana son prebióticos. La función principal de los prebióticos es estimular el crecimiento y el metabolismo de bacterias beneficiosas en el tracto intestinal. Los prebióticos

trabajan estrechamente relacionados con los probióticos, que forman el "alimento" de las bacterias probióticas. (Ramos, et al., 2012a, p. 5)

El término prebiótico hace referencia a aquellos alimentos que contienen ingredientes que el organismo no es capaz de digerir, pero que tienen la propiedad de mejorar la salud al promover el crecimiento de bacterias intestinales beneficiosas. (Ramos, et al., 2012b, p. 5)

Algunas de las características deseables de un prebiótico:

- ✓ No debe ser metabolizado o absorbido durante el paso por el tracto digestivo superior.
- ✓ Debe ser un sustrato para las bacterias intestinales que se estimula su crecimiento y/o convertirse en metabólicamente activo.
- ✓ Poseer capacidad de alterar la microbiota intestinal de una manera beneficiosa.
- ✓ Inducir efectos sistémicos o beneficiosos en el intestino del huésped. (Ramírez y Pérez, 2010, p. 131).

### 1.7.3. *Zanahoria*

Su nombre científico es *Daucus carota* subespecie *sativus*, pertenece a la familia de las Umbelíferas, también denominada Apiáceae. (Iza, 2011, <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3089/1/AL472.pdf>)

Se caracteriza por su alta digestibilidad, mayor que las otras raíces, por lo que se considera propia para hembras en estado de preñez. (Bourgeois y Larpent, 1995, p. 130).

**Tabla 1-1:** Taxonomía de la zanahoria amarilla.

<b>Clasificación taxonómica de la zanahoria amarilla</b>	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Apiales
Familia	Apiaceae
Género	Daucus

**Fuente:** Atuncar, 2012, [hortalizanahoria.blogspot.com/2012/04/2-taxonomia.html](http://hortalizanahoria.blogspot.com/2012/04/2-taxonomia.html)

**Realizado por:** Geoconda Chacha. 2016

### 1.7.3.1. *Origen*

Los historiadores ubican el origen de la zanahoria en Asia y Europa. Los pueblos del Mediterráneo ya lo consumían hace más de 2000 años, se trataba una variedad de color púrpura o amarillenta, larga y delgada que nada tenía que ver con la zanahoria consumible en la actualidad. Fue en el siglo XVII cuando se obtuvo la zanahoria, hoy está presente en nuestros mercados, robusta y de color anaranjado de precedencia Holandesa. (Iza, 2011, <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3089/1/AL472.pdf>)

### 1.7.3.2. *Morfología*

La zanahoria amarilla es una planta bianual.

- ✓ **RAÍZ.**-Es de raíz napiforme, carnosa, lisa, recta y no ramificada. Penetra profundamente en la tierra, tiene función almacenadora y también presenta, numerosas raíces secundarias que sirven como órganos de absorción.
- ✓ **TALLO.**-El tallo no es perceptible y está ubicado en el punto de inserción de las hojas con la raíz.
- ✓ **HOJAS.**-Son compuestas con hojuelas pequeñas y hendidas, pecíolos largos y afilados. El número de hojas es de seis a diez, miden 25 a 40 cm. de largo a medida que la planta emite nuevas hojas, las más viejas se van amarillando e inclinándose.
- ✓ **FLORES.**-De color blanco, con largas brácteas, en su base agrupadas en inflorescencias en umbela compuesta.
- ✓ **FRUTO.**-Diaquenio, soldado por su cara plana
- ✓ **SEMILLAS.**-Es de color gris o verdosa, abombado por un lado, provista de espinas agudas y curvas. Un gramo puede contener de 700 a 950 semillas. (Cuaran, 2009, <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/332>.)

### 1.7.3.3. *Requerimientos Edafológicos*

- ✓ **Temperatura:** Para esta planta los climas templados son sus preferidos, su temperatura óptima para el cultivo es de 15-18 °C, bajo temperaturas inferiores a 12 °C, puede presentar florecimiento anticipado lo cual produce una raíz no comercial.
- ✓ **Suelos:** Los suelos preferidos por la zanahoria son los calizos, sueltos y profundos que puedan ararse hasta unos 30 cm. con bastante contenido de materia orgánica, ricos en

potasio con pH comprendidos entre 5.8 a 6,5; pues la zanahoria no tolera acidez alta. (Iza, 2011, <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3089/1/AL472.pdf>)

**Tabla 2-1:** Composición nutricional de la zanahoria amarilla en 100 g de porción comestible

<b>Composición nutricional de la zanahoria amarilla</b>	
Agua	87,7 g
Energía	43 Kcal
Grasa	0,19 g
Hidratos de carbono	10,14 g
Fibra	3 g
Potasio	323 mg
Fosforo	44 mg
Sodio	35 mg
Calcio	27 mg
Magnesio	15 mg
Vitamina C	9,3 mg
Vitamina B 6	0,14 mg
Niacina	0,92 mg
Ácido fólico	14 mg

**Fuente:** (Almeida y Zambrano, 2007, <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/2725>)

**Realizado por:** Geoconda Chacha. 2016

#### **1.7.4. Suero de leche**

El lactosuero o suero de leche es un producto lácteo obtenido de la separación del coágulo de la leche, de la crema o de la leche semidescremada durante la elaboración del queso, mediante la acción ácida o de enzimas del tipo del cuajo (renina, enzima digestiva de los rumiantes) que rompen el sistema coloidal de la leche en dos fracciones:

- 1) Una fracción sólida, compuesta principalmente por proteínas insolubles y lípidos, las cuales en su proceso de precipitación arrastran y atrapan minoritariamente algunos de los constituyentes hidrosolubles.
- 2) Una fracción líquida, correspondiente al lactosuero en cuyo interior se encuentran suspendidos todos los otros componentes nutricionales que no fueron integrados en la coagulación de la caseína. (Poveda, 2013a, [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182013000400011&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182013000400011&script=sci_arttext))

El suero en consecuencia, no constituye un sustituto integral de la leche de vaca por ser una fracción de la misma, pero contiene compuestos con potenciales beneficios nutricionales y de salud que pueden ser aprovechados para la fabricación de productos alimenticios y suplementos, o como materia prima para la producción de otros ingredientes, y compuestos (Poveda, 2013b, [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182013000400011&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182013000400011&script=sci_arttext))

Sin embargo, a pesar del potencial valor nutricional del suero y al aumento en su aprovechamiento

para la producción de otros alimentos, aún gran parte es descartado, causando importantes problemas de contaminación en ríos y suelos. A pesar de que la producción y suministro de productos lácteos y derivados han incrementado, el consumo (y la ingesta de calcio) sigue siendo bajo en la mayoría de los países, en comparación con las cantidades recomendadas. (Poveda, 2013c, [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182013000400011&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182013000400011&script=sci_arttext))

El procesamiento biotecnológico del suero de leche genera productos de interés para el sector agroindustrial, tales como bebidas fermentadas, ácidos orgánicos (ácido láctico y propiónico) y proteína microbiana para la obtención de estos productos se utiliza microorganismos (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida pelliculosa*, *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus thermophilus* y *Kluyveromyces*), que son capaces de consumir los nutrientes del suero, principalmente la lactosa, disminuyendo así su potencial contaminante, al mismo tiempo que se obtienen productos útiles. (Galietta, *et al.*, 2005, <http://www.redalyc.org/pdf/813/81360209.pdf>).

### 1.7.4.1. Composición del suero de leche

**Tabla 3-1:** Composición del suero de leche

Composición del suero de leche	
Componente	Observaciones
Lactosa	95% de la lactosa de la leche, en una proporción de (4,5-5,0 % p-v). 46,0-52,0 g/L en lactosuero dulce.
Proteína	En una proporción 0,8-1,0% p/v. Corresponde alrededor del 25% de las proteínas contenidas normalmente en la leche. 6,0g/l en lactosuero dulce.
$\alpha$ -Lactoalbumina	30% del total del contenido proteico
$\beta$ -Lactoglobulina	Es importante porque tiene propiedades emulsionantes y cumple una función importante al interactuar con compuestos como el retinol y los ácidos grasos.
Globulina	Corresponden a 10% del total de proteínas
Proteasas-peptonas	Corresponden a 10% del total de proteínas. Lactoferrinas, albúmina (idéntica a la albúmina sérica de la sangre), inmunoglobulinas, factores de crecimiento, glicoproteínas y enzimas. Son proteínas de alto valor biológico al proporcionar aminoácidos esenciales para el organismo, entre ellos, triptófano, leucina, e isoleucina.
Lípidos	0,5% y 8% de la materia grasa de la leche
Vitaminas	Tiamina 0,38mg/ml; Riboflavina 1,2mg/ml; Acido nicotínico 0,85 mg/ml. Ácido Pantoténico 3,4mg/ml; Piridoxina 0,42mg/ml; Cobalamina 0,03 mg/ml; Ácido ascórbico 2,2mg/ml
Minerales	8-10% del extracto seco. Calcio (0,4-0,6g/l en lactosuero dulce y 1,2-1,6g/l) en lactosuero ácido), potasio, fósforo, sodio y magnesio
Compuestos biológicamente activos y péptidos bioactivos	Para ejercer determinados efectos biológicos y fisiológicos. Con potencial antihipertensivo, actividad antimicrobial, antioxidante, incremento de la saciedad.

**Fuente:** (Poveda, 2013, [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182013000400011&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182013000400011&script=sci_arttext)).

**Realizados por:** Geoconda Chacha. 2016

## 1.8. Indicadores fermentativos

Los principales indicadores fermentativos para valorar los ensilajes son: materia seca (MS), pH, ácidos grasos volátiles, nitrógeno amoniacal como porcentaje del nitrógeno total.

### **1.8.1. *Materia seca***

La materia seca es importante como controladora de la calidad del proceso fermentativo. Vallejo (1995) indica que cuando el contenido de MS en el material a ensilar sobrepasa el 25%, se reduce el nivel de efluentes y las pérdidas de carbohidratos por esta vía; disminuye las pérdidas por respiración, permite un predominio de las bacterias ácido-lácticas y un pH adecuado. Su valor óptimo para la conservación se sitúa entre 30 y 35% (Betancourt, *et al.*, 2005, <http://www.engormix.com/MA-agricultura/cultivos-tropicales/articulos/evaluacion-calidad-forrajes-t1110/078-p0.htm>)

### **1.8.2. *pH***

Este indicador fermentativo es muy importante en el proceso del ensilado, ya que es una de las transformaciones más radicales que sufren los forrajes y por su cercana relación con los procesos degradativos durante la fermentación. Es importante que el valor del pH disminuya lo más pronto posible para evitar hábitats para microorganismos patógenos y reducir la respiración. Los valores de pH están estrechamente relacionados con la materia seca del bioensilaje y de la proporción que exista entre los carbohidratos solubles y las proteínas, es considerado un ensilaje estable cuando el pH alcanza valores inferiores a 4,2. (Betancourt, *et al.*, 2005, [http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas\\_tec/ceniaphoy/articulos/n8/arti/betancourt\\_m/betancourt\\_m.htm](http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/ceniaphoy/articulos/n8/arti/betancourt_m/betancourt_m.htm)).

### **1.8.3. *Nitrógeno amoniacal como porcentaje del nitrógeno total***

El amoniaco en los ensilajes está relacionada con el metabolismo de los aminoácidos y los nitritos presentes en las plantas por las bacterias. Para ser utilizado dentro de los criterios de evaluación es necesario expresarlo en porcentaje del nitrógeno total presente en el ensilaje, lo que da una idea de la proporción de las proteínas que se han desdoblado. En los ensilajes bien conservados se considera como óptima una concentración menor de 7% de nitrógeno amoniacal como porcentaje del nitrógeno. (Valdivieso, 2001, p. 23).

### **1.8.4. *Ácidos grasos volátiles***

El ácido láctico es el más importante dentro de los ácidos orgánicos formados durante la fermentación, por su alta acidez y por ser el resultado del metabolismo de las bacterias más importantes, eficientes y adaptadas entre todas las que se desarrollan en el ensilaje. Entre los principales factores que afecta la fermentación láctica están: el contenido de carbohidratos solubles presentes en el forraje y la capacidad amortiguadora que poseen. (Guamán, 2013a, p. 36).

Para conseguir una fermentación láctica conveniente se necesita la presencia de tres elementos básicamente: un medio ambiente anaeróbico, un sustrato adecuado para las bacterias ácido láctico y una suficiente cantidad de bacterias de este tipo. De allí la necesidad de adicionar azúcares como melaza a los ensilajes, ya que estimulan el crecimiento de las bacterias ácido lácticas. El valor mínimo de ácido láctico que requiere un ensilaje agradable y catalogado como de buenas características es de 1.5 a 2%. En cuanto al ácido acético, una concentración de 1.8% se considera como excelente, mientras que 6% se estima como muy malo. (Guamán, 2013b, p. 36).

Los ácidos propiónicos, isobutírico, butírico, isovalérico y valérico, son originados exclusivamente por el metabolismo de bacterias indeseables, por lo cual forman parte de los mejores indicadores en la determinación de la calidad fermentativa del ensilaje. En los ensilaje bien conservados la presencia de estos ácidos debe ser nula ya que indica la proliferación de bacterias clostridicas, fundamentalmente del grupo proteolítico. Estas bacterias metabolizan los aminoácidos liberados por la solubilización de las proteínas dando mal olor y sabor a los ensilajes, también promueven la formación de amoníaco el cual por su poder neutralizante, impide que el pH se estabilice y alcance valores bajos. No obstante, se consideran como admisibles concentraciones de ácido butírico inferiores a 0.1% y como muy malas las superiores al 2%, los contenidos de ácido láctico y ácido acético están dentro del valor mínimo considerado como óptimo (1,5 a 2%) y (0,7 a 1,8%) respectivamente, para que el ensilaje sea agradable y de buenas características. (Guamán, 2013c, p. 38).

#### **1.8.5.     *Ácido láctico***

Es considerado de mucha importancia dentro de los ácidos orgánicos formados durante las fermentaciones, por la acidez que induce al medio. Este ácido es preferido en los silos ya que es un ácido más fuerte que el ácido acético. El ácido láctico baja los valores del pH con más rapidez, en consecuencia disminuye la respiración de la planta y actividad enzimática, inhibiendo otras bacterias. (Fernández, 2000, p. 32)

#### **1.8.6.     *Alcoholes***

Entre los principales alcoholes encontrados en los ensilajes son: metanol, propanol, etanol y butanol. Se producen en cualquiera de las fases de la fermentación y por un variado grupo de bacterias coliformes, *Clostridium* y heterolácticas. Se diferencia de otros compuestos orgánicos ya que no implica pérdidas energéticas o nutritivas para los animales. En general, el alcohol que siempre se encuentra en proporciones más apreciables es el etanol, aun mas cuando se utiliza melazas como conservantes, debido a que esta aporta un número considerable de levaduras, las

cuales en condiciones anaeróbicas transforman los azúcares en dicho compuesto. (Betancourt, *et al.*, 2005, [http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas\\_tec/ceniaphoy/articulos/n8/arti/betancourt\\_m/betancourt\\_m.htm](http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/ceniaphoy/articulos/n8/arti/betancourt_m/betancourt_m.htm)).

## **1.9. Calidad del producto final**

La calidad es una medida de la eficacia con que se ha llevado a cabo el proceso del ensilaje, de la importancia de las pérdidas de principios nutritivos y de la aceptación relativa por los animales. El pH alcanzado durante la fermentación del sustrato es un indicador de la calidad del producto final. Valores cercanos a 3,5 son deseables cuando se ha conservado maíz o sorgo, tanto forraje como granífero. (Cordovez, 2014, <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4282#sthash.P8A9pPoC.dpuf>)

Esta característica se basa en la apreciación subjetiva de la calidad de un ensilaje a través de los sentidos, la exactitud de este método depende de la experiencia del evaluador y sus posibilidades para clasificar rangos intermedios dentro de las categorías establecidas, entre excelente y podrido, es muy utilizado y práctico. Los parámetros a considerar son: olor, color, textura y humedad. (Fernández 2005, citado en (Cordovez, 2014, <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4282#sthash.P8A9pPoC.dpuf>)

### **1.9.1. Características Organolépticas**

La evaluación de la calidad del ensilaje se lo puede hacer de manera subjetiva mediante los sentidos, la certeza que esto tenga va a depender de la experiencia por parte de los evaluadores. Los parámetros que se consideran son: el olor, color, textura y humedad. (Salazar, 2007, p. 41)

#### **1.9.1.1 Excelente calidad**

- ✓ Color: Verde aceituna.
- ✓ Olor: Agradable, de fruta madura, después de ser tocado no deja ningún olor desagradable.
- ✓ Textura: El pienso conserva todos sus contornos bien definidos: se aprecian vellosidades si los tenía el forraje original: las hojas permanecen unidas a los tallos.
- ✓ Humedad: Al ser comprimido dentro del puño no humedece las manos.

#### **1.9.1.2 Buena calidad**

- ✓ Color: Verde amarillento, los tallos con tonalidad más clara que las hojas.
- ✓ Olor: Agradable con ligero olor a vinagre, al ser tocado no deja residuos en las manos.
- ✓ Textura: Igual que en la evaluación anterior.

- ✓ Humedad: Igual que en la evaluación anterior.

#### 1.9.1.3. Regular calidad

- ✓ Color: Verde oscuro, tallos y hojas con igual tonalidad.
- ✓ Olor, Ácido, con fuerte olor a vinagre, en las manos se impregna un olor a manteca rancia, lo cual es característica del ácido butírico.
- ✓ Textura, Las hojas se separan fácilmente de los tallos; los bordes del forraje aparecen mal definidos: las hojas tienden a ser transparentes: muy amarillos los vasos leñosos.
- ✓ Humedad, Si se comprime en los puños presentan goteos de efluentes, los cuales pueden ser compactados y formar una masa.

#### 1.9.1.4. Mala calidad.

- ✓ Color, Carmelita, casi negro o negro.
- ✓ Olor, Desagradable, con olor putrefacto o a humedad, es decir sin olor ninguno, deja un permanente olor a manteca rancia en las manos que permanece por horas.
- ✓ Textura, No se aprecia diferencia entre hojas y tallos, los cuales forman una masa amorfa, que llega incluso a ser jabonosa al tacto.
- ✓ Humedad, Destila líquido efluente al ser tomado del silo, se compacta con facilidad y llega incluso a tomar la forma deseada

**Tabla 4-1:** Características organolépticas para la evaluación de la calidad de ensilajes

<b>Características organolépticas para evaluar la calidad de los ensilajes</b>				
<b>Indicador</b>	<b>Excelente</b>	<b>Buena</b>	<b>Regular</b>	<b>Mala</b>
Color	Verde aceituna o amarillo oscuro	Verde amarillento. Tallos con tonalidad más pálida que las hojas	Verde oscuro	Marrón oscuro, casi negro o negro
Olor	A miel o azucarado de fruta madura	Agradable, con ligero olor a vinagre	Fuerte, ácido olor a vinagre.	Desagradable a mantequilla rancia
Textura	Conserva sus contornos continuos	Igual al anterior	Se separan las hojas fácilmente de los tallos tienden a ser transparentes y los vasos venosos muy amarillos.	No se observa diferencia entre tallos y hojas. Es más amorfa y jabonosa.

Fuente: Libardo. *et al.*, 2011, <http://www.scielo.org.co/pdf/mvz/v16n2/v16n2a11.pdf>.

Realizado por: Geoconda Chacha. 2016

### **1.9.2. Características bioquímicas**

Una de las características más dominantes de la composición del ensilaje es la extrema variación de los resultados del análisis cuantitativo químico y bacteriológico. (Watson y Smith, 1984, p. 135)

En los ensilajes de buena calidad, el pH tiene un valor de 4,5 a menos, el contenido de nitrógeno amoniacal es bajo, el de ácido butírico es pequeño o nulo y el contenido de ácido láctico varía de un 3 al 13 % de la materia seca. Los ensilajes de calidad deficiente tienen un pH de 5,2 o más, y un contenido de nitrógeno amoniacal del 3 al 9 %, alto contenido de ácido butírico de 0,5 a 7,0 %; gran número de esporas y un contenido de ácido láctico tan sólo del 0,1 al 2,0 %. A continuación se detalla los valores promedios de los compuestos más representativos de la calidad del ensilaje. (Cordovez, 2014, <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/4282#sthash.P8A9pPoC.dpuf>)

### **1.10. Aplicaciones del ensilaje en el ganado**

Constituye un excelente alimento para los rumiantes, pero se debe tener en consideración hacer pruebas de campo y de laboratorio, para lo cual las muestras deberán ser tomadas una vez que el proceso biológico haya terminado; es conveniente racionar a fuera del ordeño cuando se trabaja con vacas lecheras, sin embargo está probado que por ingestión no se transmite el olor a la leche. (Frankel, 1984, p. 109)

#### **1.10.1. Producción láctea**

La curva de lactancia muestra la producción de leche de una vaca que empieza en la fase calostrual (2 a 6 días) hasta el momento del secado. Dura 300 días, en la curva de lactancia se puede ver el pico de producción la persistencia y los efectos de eventos específicos en la producción láctea.

Al realizar el análisis de la curva de lactancia permite identificar problemas de alimentación y manejo. Por cada kilo extra en el pico de producción se producirán 200 a 230 Kg extra de leche durante todo el periodo completo de lactación. Los ganaderos deben usar el pico como guía para monitorear el rendimiento lechero en la lactancia. (Cordovez, 2014, <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/4282#sthash.P8A9pPoC.dpuf>).

## CÁPITULO II

### 2. METODOLOGÍA

La investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Ambiental LABIMA, Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, localizados en el Km 1 ½ de la Panamericana Sur.

El trabajo de campo se lo realizó en la Estación Experimental Tunshi, Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo, ubicada en el kilómetro 12 vía Riobamba - Licto, Cantón Riobamba, Provincia de Chimborazo. Las condiciones meteorológicas se muestran en la tabla 1-2.

**Tabla 1-2:** Condiciones meteorológicas en la ESPOCH.

PARÁMETRO	PROMEDIO
Altitud	2754 msnm
Temperatura	18,35°C
Humedad Relativa	61,40%
Precipitación	428 mm

**Fuente:** Estación Meteorológica F.R.N. ESPOCH. (2015).

**Realizado por:** Geoconda Chacha. 2016

#### 2.1. *Hipótesis y especificación de variables*

##### **Hipótesis Alternativa**

- ✓ Mediante el uso de microorganismos presentes en preparados microbianos nativos a base de suero de leche (probiótico) es posible transformar residuales de cultivo de zanahoria en bioensilaje como alimento para rumiantes.

##### **Hipótesis específicas**

- ✓ Las pruebas microbiológicas y bromatológicas son capaces de caracterizar los residuales utilizados en el proceso.
- ✓ Es posible desarrollar una técnica de ensilaje mediante fermentación sólida que puede ser usada para aprovechar los residuos de zanahoria y suero de leche.

- ✓ El producto del bioensilaje presenta las características y bondades necesarias para ser usado como alimento para rumiantes.
- ✓ El costo beneficio observado mediante el uso en alimentación de rumiantes de esta técnica de bioensilaje hace factible su implantación a nivel agroindustrial.

## **Variables**

### **Dependientes**

- ✓ Porcentaje de humedad, materia seca, fibra y proteína bruta.
- ✓ Porcentaje nutritivo de los residuos utilizados.
- ✓ Tamaño del silo montado.
- ✓ Porcentaje de humedad, materia seca, fibra y proteína bruta. UFC de bacterias ácido lácticas, hongos, *salmonella*, *clostridium*, y *E. coli*
- ✓ Valor de pH, temperatura
- ✓ Costo/Kg de producto

### **Independientes**

- ✓ Cantidad de zanahoria y probiótico a utilizar en la producción de bioensilaje.
- ✓ Cantidad de cada uno de los residuales a ser utilizado.
- ✓ Cantidad de residuos agroindustriales.
- ✓ Tecnología utilizada y residuos agroindustriales.
- ✓ Cantidad del producto terminado.

## **2.2. Tipo y Diseño de Investigación**

En la presente investigación se evaluó el comportamiento, la aceptación y su incidencia en la producción lechera de vacas Holstein mestizas, ante el efecto de ensilaje de zanahoria con cuatro niveles de un preparado microbiano nativo a base de suero de leche (probiótico) al 2% 4%, 6%, 8% respectivamente, frente a un testigo (balanceado. alimento que consumen comúnmente las vacas), en la alimentación de 10 vacas, el mismo que fue suministrado en el momento del ordeño como parte suplementaria de la alimentación diaria, sobre una base de dieta de ensilaje, el mismo que para sus cuatro tratamientos contenía zanahoria en un 60%, follaje y afrecho en un 20%, variando en su concentración de probiótico, estos tratamientos fueron comparados con un tratamiento testigo (T0), dando un total de cinco tratamientos experimentales.

Los tratamientos fueron distribuidos bajo un diseño Completamente al Azar, y para su respectivo

análisis se ajustó al siguiente modelo Lineal Aditivo.

$$Y_{ij} = \mu + \beta + T_i + \epsilon_{ij}$$

Dónde:

$Y_{ij}$ : Valor estimado de la variable.

$\mu$ : Media general.

$T_i$ : Efecto del nivel de inclusión de probiótico (0-2-4-6-8)

$\epsilon_{ij}$ : Error experimental.

Los tratamientos se componen de la siguiente forma:

**T0%** Probiótico 0% T 3 Kg./animal/día

**T2%** Probiótico 2% T 3 Kg./animal/día

**T4%** Probiótico 4% T 3 Kg./animal/día

**T6%** Probiótico 6% T 3 K./animal/día

**T8%** Probiótico 8% T 3 Kg./animal/día

**Tabla 2-2:** Esquema del experimento de campo

Tratamiento	Código	Repeticiones	TUE	T.U.E. total
0	T0	2	1	2
2	T1	2	1	2
4	T2	2	1	2
6	T3	2	1	2
8	T4	2	1	2
TOTAL				10

TUE: Tamaño de unidades experimental (Vacas)

TUE total: Tamaño de unidad experimental total

**Realizado por:** Geoconda Chacha. 2016

**Tabla 3-2:** Esquema del experimento laboratorio

Niveles de probiótico	Codificación	Repeticiones	TUE*	TUE Total
2%	P2	4	1	4
4%	P4	4	1	4
6%	P6	4	1	4
8%	P8	4	1	4
TOTAL				16

TUE: Tamaño de unidades experimental (ensilaje)

TUE total: Tamaño de unidad experimental total

**Realizado por:** Geoconda Chacha. 2016

### 2.3. *Unidad de Análisis*

Se realizaron 4 tratamientos con diferentes niveles de probiótico y con un contenido de 50 Kg cada uno de los mini silos los cuales contienen Zanahoria, follaje de la misma y afrecho de harina; con 4 repeticiones cada una, se tomó 3 muestras para análisis microbiológicos y bromatológicos de cada tratamiento debido al costo de los mismos.

Para la aplicación en campo se utilizaron 10 semovientes de la Estación Experimental Tunshi los mismos que fueron escogidos al azar; de los cuales se establecieron 2 semovientes para cada tratamiento.

### 2.4. *Población de Estudio*

Se realizó un total de cuatro ensilajes uno por cada tratamiento para ser suministrado a las vacas cada uno con 108 Kg del ensilaje de zanahoria; las vacas que se utilizaron en la evaluación del ensilaje fueron diez dos por cada tratamiento y dos para el tratamiento testigo.

### 2.5. *Tamaño de Muestra*

Se tomaron muestras de 500 gramos por cada tratamiento a analizar; los cuales se utilizaron para los análisis microbiológicos y bromatológicos. Para los análisis bromatológicos de la zanahoria y follaje de la misma se tomaron muestras de 300 g para cada una.

### 2.6. *Selección de muestra*

La selección de la muestra a utilizar fue aleatoria, para lo cual se abrió las bolsas en las que se

llevó a cabo la fermentación del ensilaje, y se procedió a sacar una muestra desde el centro de la funda; las muestras se tomaron en fundas ziploc las cuales fueron debidamente rotuladas con el tratamiento que le corresponde el día la fecha y la hora del muestreo. Para la selección de la muestra de la materia prima zanahoria y follaje de la misma se utilizó un muestreo al azar, de la misma manera las muestras fueron recolectadas en fundas ziploc. Y trasladadas al laboratorio manteniendo la cadena de frío, evitando alteraciones o cambios en las características físicas químicas.

## **2.7. Técnicas de Recolección de Datos**

### **2.7.1. Acopio de la materia prima**

#### **2.7.1.1. Preparado microbiano nativo (probiótico)**

Se utilizó un preparado microbiano nativo (probiótico) caracterizado en una investigación previa titulada CARACTERIZACIÓN FERMENTATIVA, BIOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE UN PREPARADO MICROBIANO NATIVO CON POTENCIAL USO EN ANIMALES DOMÉSTICOS.

#### **2.7.1.2. Zanahoria**

Los residuos de zanahoria utilizados en este trabajo de investigación se obtuvieron del centro de acopio Mercado Mayorista, de la ciudad de Riobamba Provincia de Chimborazo, generados por los comerciantes de dicho lugar.

#### **2.7.2. Elaboración del preparado microbiano a base de suero de leche (probiótico)**

La elaboración del probiótico se lo realizo en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal LABIMA.

##### **2.7.2.1. Materiales**

- ✓ 5 envases de plástico con capacidad para 4 litros.
- ✓ Marcadores para etiquetar muestras.
- ✓ Materiales de limpieza.
- ✓ Suero de leche.
- ✓ Sal mineral.

- ✓ Jugo de caña.
- ✓ Yogurt.
- ✓ Sulfato de amonio.
- ✓ Urea.
- ✓ Agua.

#### 2.7.2.2. *Equipos de laboratorio*

- ✓ Balanza analítica
- ✓ Brixómetro

#### 2.7.2.3. *Método*

Se elaboró el preparado microbiano a base de sueros de leche en fermentadores campestres con una producción de 20 litros del producto. Para la elaboración del preparado microbiano a base de suero de leche se colocaron los ingredientes en el recipiente plástico, mezclando favorablemente para evitar la presencia de grumos, esta preparación permaneció por 48 a 72 horas a una temperatura ambiente (18 °C promedio en la ciudad de Riobamba). Esta mezcla, después del tiempo indicado, produjo una fermentación ácida, predominantemente láctica.



**Figura 1-2:** Elaboración del probiótico  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

#### 2.7.3. *Elaboración del bioensilaje de zanahoria*

##### 2.7.3.1. *Materiales*

- ✓ Bolsas de silos
- ✓ Plásticos para recolectar el material picado

### 2.7.3.2. Equipos del laboratorio

- ✓ Picadora eléctrica

### 2.7.3.3. Reactivos

- ✓ Probiótico

**Tabla 4-2:** Composición del Bioensilaje

	Zanahoria	Follaje	Afrecho	Probiótico
Bioensilaje	60%	20%	20%	Niveles establecidos según el tratamiento (2, 4, 6, y 8 %)

**Realizado por:** Geoconda Chacha. 2016

### 2.7.3.4. Método

Se procedió a picar la zanahoria y el follaje de la misma a un grosor no mayor a 2cm, para asegurar su compactación, posterior a esto se realizó la mezcla de todos los ingredientes ya antes mencionados, se colocó en las fundas para silos se realiza la compactación requerida y se sella la funda sin dejar espacios para la entrada de aire, evitando así la proliferación de microorganismos indeseados.

Posterior a esto se tomaron las mediciones experimentales, en el análisis físico químico se realizó a los 0, 12 y 24 días; para el análisis microbiológico se realizó los análisis iniciales y finales; y para los bromatológicos se tomó una muestra a los 24 días. Produciéndose un total de 108 kilos para la alimentación de los rumiantes, en este caso vacas Holstein mestizas.



**Figura 2-2:** Picado de la zanahoria

**Fuente:** Realizado por: Geoconda Ch, 2016



**Figura 3-2:** Picado del follaje.  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

## 2.8. *Análisis físicos*

### 2.8.1. *Grados Brix: Cociente total de sacarosa (°B)*

Los grados Brix se determinaron a las 0, 24, 48, 72, 96 horas de la siguiente manera:

- ✓ Se homogenizó el preparado microbiano, se tomó una muestra del centro del recipiente con la ayuda de una pipeta Pasteur.
- ✓ Se colocó una gota en el brixómetro y se realizó la lectura en la escala.

### 2.8.2. *pH*

Se realizó la medición directa, por sumersión del electrodo de pH en una muestra homogénea, se midió a los siete, quince, diez y ocho, veinte y uno y veinte y cuatro días.

#### 2.8.2.1. *Materiales*

- ✓ Potenciómetro
- ✓ Vaso de precipitación

#### 2.8.2.2. *Reactivos*

- ✓ Solución buffer pH4
- ✓ Solución buffer pH7
- ✓ Agua destilada

### 2.8.2.3. *Método*

En la medición del pH de una solución se debe tener en cuenta que el valor es relativo, puesto que para la medición se tomó una solución Buffer de pH conocido, con la que al medir el pH de nuestra sustancia se realiza una comparación de la concentración de  $H^+$ , Al entrar en contacto la solución con el electrodo se establece un potencial a través de la membrana de vidrio.



**Figura 4-2:** Medición del pH  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

### 2.8.3. *Temperatura*

Medición directa mediante un termómetro ambiental de igual manera se midió a los 0, 12 y 24 días

#### 2.8.3.1. *Materiales*

✓ Termómetro ambiental

#### 2.8.3.2. *Método*

En la medición de la temperatura se lo realizo directamente suspendiendo el termómetro en la muestra de bioensilaje.



**Figura 5-2:** Medición de la Temperatura del ensilaje  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

## 2.9. *Análisis bromatológicos*

Para la realización de estos análisis se envió las muestras tanto de la zanahoria y su follaje como del ensilaje al Laboratorio de Bromatología y Microbiología (AGROCALIDAD), Tumbaco-Quito.

Se utilizó los análisis proximales Weende para obtener los contenidos de Fibra, Proteína, Materia Seca y Humedad (AGROCALIDAD)

El sistema Weende es un método gravimétrico, donde que una muestra es secuencialmente colocada en reflujo en base diluida, seguido por ácido diluido. El residuo resultante se conoce originalmente como la porción indigerible del forraje. Continúa siendo usado hoy día porque es un método oficial de la AOAC para el análisis de alimentos.

### 2.9.1. *Proteína*

Su análisis se realiza mediante el método de Kjeldahl, el cual evalúa la cantidad de nitrógeno total en la muestra, detrás de ser digerida con ácido sulfúrico en presencia de un catalizador de mercurio o selenio, su cálculo se lo realiza por medio de un factor (en general 6,25). (FAO, 2006, <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S01.htm>)

### 2.9.1.1. *Cálculo*

A = Ácido clorhídrico usado en la titulación (ml)

B = Normalidad del ácido estándar

C = Peso de la muestra (g)

Nitrógeno en la muestra (%) =  $100 \left[ \frac{(A \times B)}{C} \times 0.014 \right]$

Proteína cruda (%) = Nitrógeno en la muestra \* 6.25

### 2.9.1.2. *Técnica*

- ✓ **Digestión:** Pesar alrededor de 1 g de muestra fresca (MF).
- ✓ Introducir en el matraz Kjeldahl, añadir el catalizador (0,5 g) y 10 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- ✓ Preparar simultáneamente un matraz con un blanco (sin muestra, pero con el mismo 0,5 g de catalizador y 10 ml de sulfúrico).
- ✓ Colocar los matraces en la batería de digestión bajo campana de extracción de humos.
- ✓ Digerir durante un mínimo de hora y media, hasta que la muestra quede del todo transparente.
- ✓ **Destilación y valoración:** Una vez enfriados los tubos, añadir unos 60 ml de agua destilada por tubo y proceder a la destilación y valoración automática.
- ✓ Anotar el gasto de ácido clorhídrico empleado (ml).

### 2.9.2. *Fibra*

Este método permite determinar el contenido de fibra en la muestra, después de ser digerida con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio y calcinado el residuo. La diferencia de pesos después de la calcinación nos indica la cantidad de fibra presente. (FAO, 2006, <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S01.htm>)

#### 2.9.2.1. *Método*

- ✓ Se pesa alrededor de 1 g de muestra (MF) en un crisol de vidrio filtrante precalcinado, identificado, y que contenga 0,3 - 0,5 g de Zelite. Si la muestra posee un alto contenido graso (EE o GB > 8%), se desengrasará previamente con éter etílico.
- ✓ Calentar el ácido sulfúrico. Colocar los crisoles en el FiberTech y ponerlo en funcionamiento. Cuando la solución ácida comience a hervir, añadir 150 ml a cada crisol junto con dos gotas

de antiespumante. Ajustar la temperatura del aparato y mantener la ebullición durante 30 minutos.

- ✓ Calentar la solución de hidróxido sódico y agua destilada. Transcurrida la media hora de digestión ácida, parar la ebullición y lavar tres veces el residuo con agua destilada (50 ml/ lavado) y con ayuda de vacío. Una vez neutralizada la muestra, añadir 150 ml de hidróxido sódico caliente y dos gotas de antiespumante. Proceder de igual forma que con el ataque ácido y dejar hervir durante 30 minutos.
- ✓ Tras media hora, apagar la fuente de calor y lavar tres veces con agua destilada y una última con acetona. Sacar los crisoles del FiberTech y ponerlos a secar en la estufa a 100 – 105°C durante más de 8 horas.
- ✓ Poner los crisoles en el desecador. Dejar enfriar. Pesarlos (Crisol + Residuo) y colocarlos en la mufla para obtener las cenizas.
- ✓ Introducir los crisoles en la estufa para regular su temperatura, llevarlos al desecador para enfriar y pesar de nuevo (Crisol + Czs.).

#### **2.9.2.2. Cálculo**

A = Peso del crisol con el residuo seco (g)

B = Peso del crisol con la ceniza (g)

C = Peso de la muestra (g)

Contenido de fibra cruda (%) =  $100((A - B)/C)$

#### **2.9.3. Materia seca (MS)**

La cantidad de materia seca (MS), que contiene un pienso o forraje destinado a la alimentación animal es un criterio esencial de apreciación tanto de su valor nutritivo como de su aptitud para la conservación.

La humedad es la pérdida de peso experimentada por un alimento o pienso cuando se le somete a desecación en estufa de aire, a una temperatura de 100-105°C, hasta peso constante o durante 24 horas. La MS resulta de sustraer al total, el contenido en humedad. (FAO, 2006, <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S01.htm>)

##### **2.9.3.1. Técnica**

- ✓ Se toma un crisol vacío de la estufa (100-105°C), se lleva al desecador (15-25 minutos mínimo). Se pesa el crisol vacío en una balanza de precisión (Tara, T), una vez tarada, se

pone la balanza de precisión a 0 g con el crisol encima, y se colocan entre 3 y 5 g de muestra fresca (MF).

- ✓ Se coloca el crisol en la estufa a 100-105°C y se mantiene hasta que alcance un peso constante (mínimo 4 horas) o durante 24 horas.
- ✓ Se retira el crisol de la estufa y se coloca en el desecador hasta que éste se enfríe (15-25 minutos).
- ✓ Se pesa de nuevo el crisol con la muestra seca (T + MS)

#### **2.9.3.2. Cálculo**

$$\% \text{ MS} = (((T + \text{MS}) - T) / \text{MF}) \times 100$$

$$\% \text{ Humedad} = 100 - \% \text{ MS}$$

### **2.10. Análisis microbiológicos**

Los análisis microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal (LABIMA), de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicado en el Km 1 ½ de la Panamericana Sur en la ciudad de Riobamba.

#### **2.10.1. Bacterias lácticas**

##### **2.10.1.1. Materiales**

- ✓ Botella de esterilización 250 mL
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Gradilla
- ✓ Pipetas 1 mL
- ✓ Pipetas de 10 ml
- ✓ Mechero de alcohol
- ✓ Fosforo
- ✓ Pera de goma
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Agar MRS

##### **2.10.1.2. Equipos de laboratorio**

- ✓ Agitador para tubos de ensayo
- ✓ Cabina de flujo laminar

- ✓ Estufa

#### 2.10.1.3. *Reactivos*

- ✓ Muestra de bioensilaje
- ✓ Agua esterilizada
- ✓ Alcohol

#### 2.10.1.4. *Método*

Se preparó una solución de 4,5 gramos del medio *Agar MRS*, para las tres repeticiones, en 50 mL de agua destilada, la cual fue disuelta en el agitador magnético a una velocidad de 7-8 rpm durante 5 minutos.

De acuerdo a la técnica de preparación el medio fue autoclavado a una temperatura de 121°C con una presión de 103 kPa; de acuerdo al número de placas se preparó la solución, una vez esterilizada la muestra se comenzó a realizar la siembra en la cámara de flujo laminar. Se colocó el medio preparado, y a este se le agregó 1 ml de muestra,  $10^{-5}$  posterior a esto se puso en la cámara de anaerobiosis se dejó que se consuma el oxígeno existente en la misma y se colocó en la estufa a una temperatura de 37°C durante 24 horas, para luego observar los resultados obtenidos.



**Figura 6-2:** Siembra de muestras del ensilaje en Agar MRS  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

## **2.10.2. *E. coli*, hongos y levaduras y *Salmonella* sp.**

### **2.10.2.1. *Materiales***

- ✓ Botella de esterilización 250 mL
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Gradilla
- ✓ Pipetas 1 mL
- ✓ Pipetas de 10 ml
- ✓ Mechero de alcohol
- ✓ Fosforo
- ✓ Pera de goma
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Placas Petrifilm™ *E. coli* ( tiempo de incubación 24horas)
- ✓ Placas Petrifilm™ Mohos y Levaduras (tiempo de incubación 48 horas)
- ✓ Placas Petrifilm™ *Salmonella* sp. ( tiempo de incubación 24horas)

### **2.10.2.2. *Equipos de laboratorio***

- ✓ Agitador para tubos de ensayo
- ✓ Cabina de flujo laminar
- ✓ Estufa
- ✓ Estufa para hongos

### **2.10.2.3. *Reactivos***

- ✓ Muestra de bioensilaje
- ✓ Agua esterilizada
- ✓ Alcohol

### **2.10.2.4. *Método***

Se utilizó placas Petrifilm™ de *E. coli*, mohos y levaduras y *Salmonella* sp, para la determinación de los mismo, con tres repeticiones cada una. La siembra consistió en una dilución de la muestra de alimentación en tres tubos etiquetados desde la  $10^{-1}$  a la  $10^{-3}$ , añadidos a cada uno 9 mL de agua destilada y 1 mL de la muestra de bioensilaje puro en el tubo  $10^{-1}$  del mismo tubo se coge con una nueva pipeta 1mL de la disolución, así hasta la  $10^{-3}$ ; a los tubos se agitaron durante 60

segundos para que exista homogeneidad del contenido. Se suspendió al film inferior un 1mL del último tubo correspondiente de la muestra disuelta se realizó una presión leve del dispersor en el film superior para distribuir el inóculo por la zona circular. Se esperó 1 minuto para que se solidifique el gel, para luego proceder a ser incubado a 35 °C.



**Figura 7-2:** Inoculación de muestras del ensilaje en placas Petrifilm™  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

### 2.10.3. *Clostridium*

#### 2.10.3.1 *Materiales*

- ✓ Botella de esterilización
- ✓ Pipetas 1 mL
- ✓ Pera de goma
- ✓ Placas petri
- ✓ Espátula
- ✓ Papel aluminio

#### 2.10.3.2. *Equipos de laboratorio*

- ✓ Balanza analítica
- ✓ Agitador magnético
- ✓ Agitador para tubos de ensayo
- ✓ Estufa
- ✓ Cámara de flujo laminar

#### 2.10.3.3. *Reactivos y muestra*

- ✓ Agua destilada
- ✓ Bioensilaje

✓ *Clostridium perfringens* Agar base

#### **2.10.3.4. Método**

Se preparó una solución de 2,30 gramos del medio *Clostridium* Agar Base con tres repeticiones, en 50 mL de agua destilada, la cual fue disuelta en el agitador magnético a una velocidad de 7-8 rpm durante 5 minutos.

De acuerdo a la técnica de preparación el medio fue autoclavado a una temperatura de 121°C con una presión de 103 kPa; de acuerdo al número de placas se preparó la solución, una vez esterilizada la muestra se comenzó a realizar la siembra en la cámara de flujo laminar. Se colocó el medio preparado, y a este se le agregó 1 ml de muestra, posterior a esto se puso en la cámara de anaerobiosis se dejó que se consuma el oxígeno existente en la misma y se colocó en la estufa a una temperatura de 37°C durante 24 horas, para luego observar los resultados obtenidos.

### **2.11. Suministro del bioensilaje al ganado**

#### **2.11.1. Selección de ganado**

La selección del ganado para la aplicación de las dietas se lo realizó lo más homogéneo posible considerando el número de partos de uno a tres. Se seleccionó diez animales, los cuales fueron distribuidos dos por cada tratamiento, y distinguidos por colores; para esto se les colocó en el cuello una soga distintiva.

#### **2.11.2. Aplicación de las dietas**

Las dietas se les aplicaron en el momento del ordeño de la tarde 3 Kg diario por animal, con las siguientes dietas:

To: balanceado comercial

T1: bioensilaje de zanahoria con una concentración del 2% de probiótico

T2: bioensilaje de zanahoria con una concentración del 4% de probiótico

T3: bioensilaje de zanahoria con una concentración del 6% de probiótico

T4: bioensilaje de zanahoria con una concentración del 8% de probiótico



**Figura 8-2:** Alimentación a los rumiantes con el bioensilaje  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

### **2.11.3. Producción de leche**

Para la producción de leche se tomó mediante un registro diario de la mañana y la tarde; la hora de ordeño fue en la mañana a las cuatro y en la tarde a las 15 horas, el ordeño se realiza mediante ordeñadoras mecánicas.

## CÁPITULO III

### 3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

#### 3.1. *Análisis de resultados y discusión*

##### 3.1.1. *Características Bromatológicas de la materia prima*

En la tabla 1-3 observamos los resultados para el análisis bromatológico de la zanahoria y su follaje.

**Tabla 1-3:** Resultados de análisis bromatológico de la zanahoria y follaje.

ANÁLISIS BROMATOLÓGICO ZANAHORIA		
Parámetro	Resultado	Unidad
Humedad	90,20	%
Materia Seca	9,80	%
Proteína	7,16	%
Fibra	7,40	%
ANÁLISIS BROMATOLÓGICO FOLLAJE		
Humedad	83,51	%
Materia Seca	16,49	%
Proteína	10,53	%
Fibra	14,74	%

**Realizado por:** Geoconda Chacha. 2016

##### 3.1.1.1. *Zanahoria*

De acuerdo con el análisis proximal de Wendde para la zanahoria que se utilizó en la elaboración de un bioensilaje destinada para la alimentación de rumiantes, registro su mayor concentración de humedad y proteína de 90,20 y 7,16%, en su orden; como se muestra en la Tabla 1-4, por lo que se puede asumir que esta composición va de acuerdo a la época de cosecha del insumo ya que a mayor estado fenológico incrementara el contenido de materia seca y fibra decreciendo los niveles de humedad y proteína

Lo que es sustentado por Minson (2001, p. 196-198) donde menciona que la cantidad de proteína y humedad disminuye a medida que la planta se desarrolla o envejece tomando en consideración que este fenómeno es menor en leguminosas, tuberculos o en comparación con gramíneas.

Datos que son similares a los de Almeida y Zambrano (2007, <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/2725>), los cuales reportan valores de humedad y proteína de 90,69 y 6,9%, respectivamente; dichos valores pueden ser similares debido a la geografía del lugar y el tipo de suelo en el que son cultivados principalmente del región interandina del Ecuador.

### 3.1.1.2. *Follaje de zanahoria*

Según el análisis proximal realizado al follaje de la zanahoria utilizada en el proceso de bioensilaje reporta que los valores de materia seca y proteína son 16,49 y 10,53%, y de humedad y fibra 83,51 y 14,74% en el orden establecido lo cual puede responder directamente al tipo de suelo en el que son cultivados.

Minson (2001, p. 196-198), menciona que la cantidad de materia seca y proteína disminuye a medida que la planta se desarrolla y absorbe los nutrientes o nutrimentos del suelo, es decir en suelos con altos contenidos en nitrógeno elevaran su contenido proteico.

**Tabla 2-3:** Resultados análisis del suero de leche.

<b>Parámetro</b>	<b>Resultado</b>	<b>Unidad</b>
pH	6,5	
Proteína	0,7	%
Grasa	0,55	%
Ceniza	0,5	%

Realizado por: Geoconda Chacha. 2016

### 3.1.1.3. *Suero de leche*

De acuerdo a los análisis bromatológicos del suero de leche se reportan para el pH un valor de 6,5, y para la proteína, grasa y ceniza valores de 0,7, 0,45 y 5%; esto dependerá del contenido nutricional de la leche.

Según Calvache (2012, <http://revistas.lasalle.edu.co/index.php/ca/article/viewFile/1320/1206>), menciona que son diversos los factores que afectan la calidad nutricional de la leche como: la composición de la dieta, clima, etapa de lactancia, genética, etc., mismos que de forma individual o conjunta, determinan el volumen y la concentración de componentes lácteos como proteína y grasa.

En el Ecuador los niveles de proteína se encuentran entre 3,5% y de grasa el 3,7% para la leche

Lovato (2012, p. 15), misma que es utilizada en los diferentes procesos de industrialización donde se genera el suero de leche manteniendo estas características.

Vega (2012, <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2600/1/56T00377.pdf>), reporta valores de pH 5,6 de proteína 0,93%, grasa 0,80% y cenizas 0,62%.

Datos que suelen ser superiores a los de la presente investigación; mientras que al ser comparados por los registrados por Hernández, *et al.* (2014, p. 15), presenta valores para grasa del 0,5% y proteína del 0,60%, valores que inferiores a los reportados en este ensayo; posiblemente esto se ve influenciado a lo anteriormente mencionado, en el cual nos menciona que estos factores son alterados por genética y alimentación del animal.

### 3.1.2. Análisis físico- químicos del ensilaje

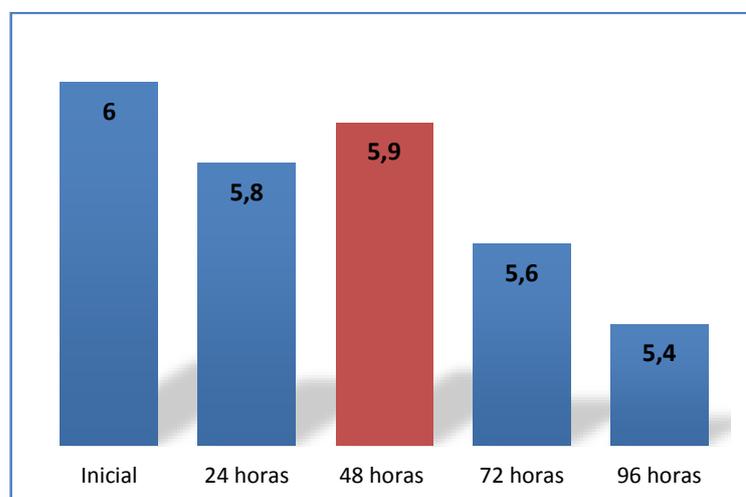
#### 3.1.2.1. Grados brix

**Tabla 3-3:** Resultados para grados brix del probiótico °B.

Inicial	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
6	5,8	5,9	5,6	5,4

Realizado por: Geoconda Chacha. 2016

Los grados Brix nos indican la cantidad de azúcar presente en el probiótico, según los datos obtenidos a nivel de laboratorio de los grados brix nos muestra que el probiótico inicia con 6 °B, a las 24 horas existe un pequeño descenso a 5,8°B, para finalmente a las 96 horas tener un de 5,4 °B, demostrándose así que el probiótico en contenido de azúcares es bajo; quizá esto se vea influenciado por el suero de leche, ilustrándose en la figura 1-4.



### **Figura 1-3:** Gráfico de evaluación de grados brix

**Realizado por:** Geoconda Ch, 2016

Acotando que los grados brix mide la cantidad de sacarosa presente en un alimento, que representa el porcentaje de sólidos solubles. Los grados brix se miden en refractómetros siendo el grado brix el índice de refracción que da una disolución del 1% de sacarosa, mencionado por, Gil (2010, p. 152).

Noboa (2015, p. 46), en su trabajo investigativo sobre la caracterización de un probiótico nativo en la variable medición de grados brix en el probiótico se observa que inicia con 6°B, pero en la evaluación final a las 96 horas su media fue de 5.1°B, señalando de esta manera que el comportamiento de un probiótico es de iniciar con una constante de 6°B, para a medida del transcurso del tiempo disminuir entre 5,4-5,1°B, quizás esto se deba a los porcentajes utilizados de urea y sulfato de amonio que pueden alterar esta medida.

#### **3.1.2.2. pH y Temperatura**

**Tabla 4-3:** Resultados de pH y Temperatura para el bioensilaje de zanahoria.

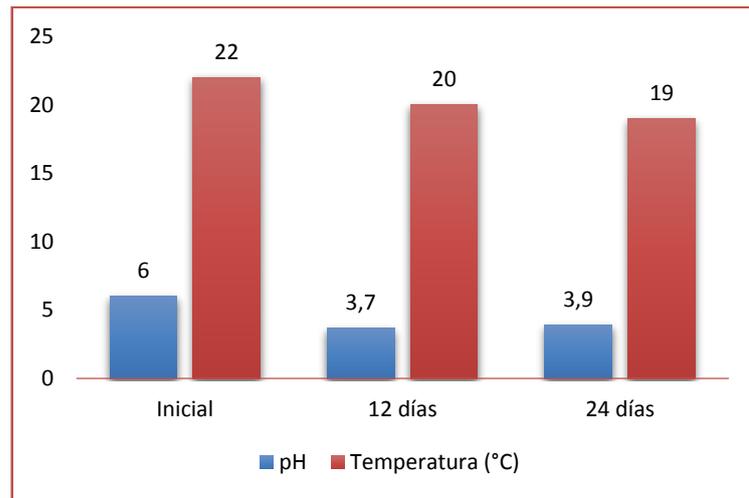
<b>Variable</b>	<b>Inicial</b>	<b>12 días</b>	<b>24 días</b>
pH	6,0	3,7	3,9
Temperatura (°C)	22	20	19

**Realizado por:** Geoconda Chacha. 2016

Los valores de pH y temperatura obtenidos en el laboratorio para el bioensilaje son para el pH a los cero días de 6,0 a los 12 días de 3,7 para finalmente estabilizar en una media de 3,9 a los 24 días.

La temperatura tuvo valores de 22°C inicial, 20°C a los 12 días y finalmente una media de 19°C, valores que pueden ser ocasionados por la presencia de bacterias ácido lácticas añadidas en el probiótico que fue utilizado, ya que estas bacterias deben crecer en temperaturas y pH bajos; a lo que afirma Jiménez y Moreno (2002, [https://books.google.com.ec/books?id=XHdYkzcTCMsC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=XHdYkzcTCMsC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)), que el bioensilaje puede mantener sus características y cualidades a un pH menor a 4,2; sin embargo valores de 5,0 son aceptables, siempre que exista una proporción elevada de materia seca. Si la acidez no es adecuada se desarrollan fermentos que además de acentuar la proteólisis agreden y convierten el ácido láctico, producen ácido butírico y muestran putrefacción. Si el silo fue mal tapado y su compactación fue mala y entra oxígeno, se genera pérdidas de materia seca y por ende un aumento en la temperatura, la temperatura óptima para un ensilaje esta entre 20 y 39°C para el crecimiento de las bacterias ácido lácticas y su crecimiento

cesa a los 50°C, ilustrados en la figura 2-3.



**Figura 2-3:** Grafico de evaluación de pH y temperatura  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

Loor (2013, <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/282/1/T-UTEQ-0008.pdf>) en su trabajo de investigación “Efecto de la aplicación de inoculantes bacterianos en la composición química y fermentativas de ensilados de maíz forrajero” (zea mays l.)” obtiene valores de pH 4,45, 4,55 y 4,6; con lo que se puede decir que nuestro ensilaje tiene valores inferiores a los de esta investigación lo cual puede deberse al contenido del inoculante aplicado en estas investigaciones. En cuanto a temperatura obtiene valores de 21, 22 y 23 °C las mismas que son superiores a las nuestras mismo que puede ser por el sellado o su compactación y condiciones en la sala de fermentación; inclusive por el contenido en el inoculante.

### 3.1.3. Características bromatológicas del ensilaje

#### 3.1.3.1. Humedad, %

Para la variable humedad detallado en la tabla 5-3, según la separación de medias Tukey en la elaboración de un bioensilaje con el empleo de diferentes niveles de probiótico y residuos de zanahoria para la alimentación de los rumiantes, reportaron diferencias estadísticas altamente significativas ( $P < 0,01$ ), siendo el mayor porcentaje de humedad al usar el 6% de probiótico nativo con 74,78%, para finalmente descender a una humedad de 73,27; 73,04 y 72,97% para los niveles de 8, 4 y 2% , detallándose en la figura 3-4 quizás esto se vea influenciado por la actividad microbiana, tomando en consideración que a mayor porcentaje de humedad y pH alto se desarrollan bacterias indeseables como *Clostridium*. Lo que es sustentado por (Jiménez y Moreno, 2002), que afirman que cuando la humedad del ensilaje y el pH son altos, se desarrollan bacterias indeseables del genero *Clostridium*, las cuales producen ácido butírico,

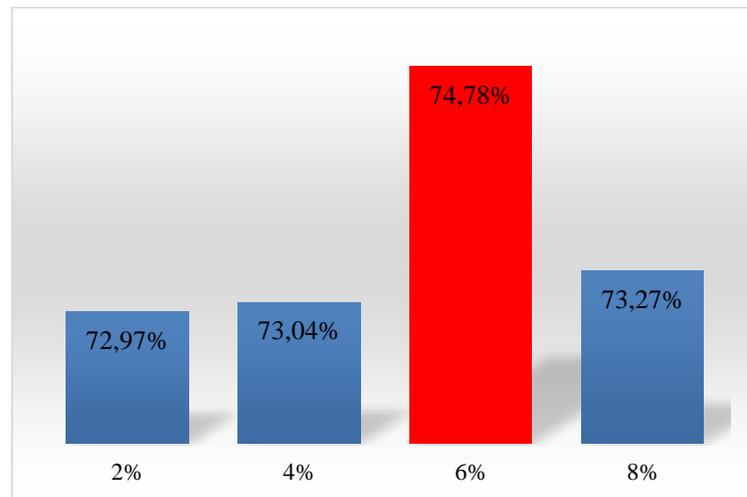
**Tabla 5-3:** Análisis bromatológicos del ensilaje a ser administrado a los rumiantes

Variable	Niveles de probiótico, %				E.E	Prob.
	2	4	6	8		
Humedad, %	72,97 b	73,04 b	74,78 a	73,27 b	0,10	0,0006
Materia seca, %	27,03 a	26,97 a	25,22 b	26,74 a	0,10	0,0006
Proteína, %	14,01 c	14,79 b	15,39 a	14,53 bc	0,10	0,0002
Fibra, %	13,66 a	12,29 b	14,04 a	12,42 b	0,12	0,0011

Las letras (a, b y c), muestran diferencias altamente significativas entre las medias de acuerdo a la separación de medias según Tukey a un nivel de significancia menor a 0,05

**Realizado por:** Geoconda Chacha. 2016.

amoniacos y aminas, mismas que son particularidades de la materia orgánica en descomposición, lo cual genera un ensilaje de mala calidad. El crecimiento de estos microorganismos se inhibe disminuyendo la humedad a menos del 70% o subiendo la acidez.

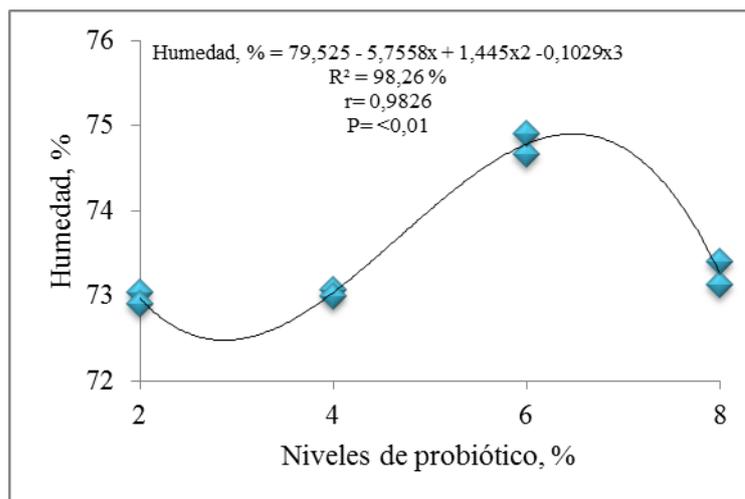


**Figura 3-3:** Gráfico de evaluación de humedad  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

Ruiz (2006, <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6663/00780780.pdf?sequence=1>), en su trabajo investigativo “Evaluación de la producción y calidad de la leche en vacas Holstein de primer parto suplementadas con ensilaje de papa”, obtiene un contenido de humedad en su bioensilaje del 71,67%, valor que suele ser inferior a los de la presente investigación, quizá esto se deba que la zanahoria tiene alto contenido de humedad mientras que la papa contiene azúcares y almidón disminuyendo de esta manera altos niveles de humedad en su composición.

Mientras que en la investigación realizada por Balza y Barrios (2014, <http://es.slideshare.net/francelina123/tesis-final-13124320>), alcanzo su mayor contenido de humedad del 73,9%, al emplear diferentes niveles de residuos de lechuga con inóculos de suero de leche para la fabricación de un bioensilaje; los mismos que guardan relación con los datos reportados en la presente investigación, posiblemente esto se deba a su alto contenido de humedad de las materias primas manejadas en las dos investigaciones a lo que menciona Vallejo y Estrada (2004, p. 315), que estas hortalizas contienen del 92 al 94% de humedad.

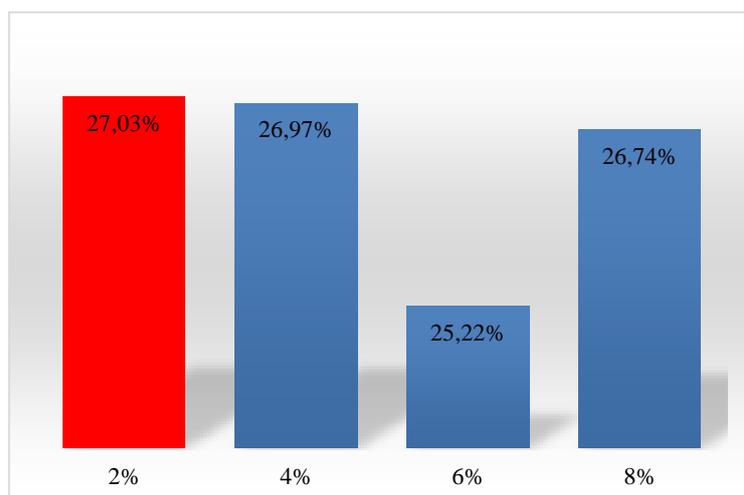
En el análisis de regresión para la variable humedad al utilizar los diferentes niveles de probiótico, representados en la figura 4-3.



**Figura 4-3:** Gráfico de regresión para la variable humedad  
 Realizado por: Geoconda Ch, 2016

### 3.1.3.2. *Materia seca %*

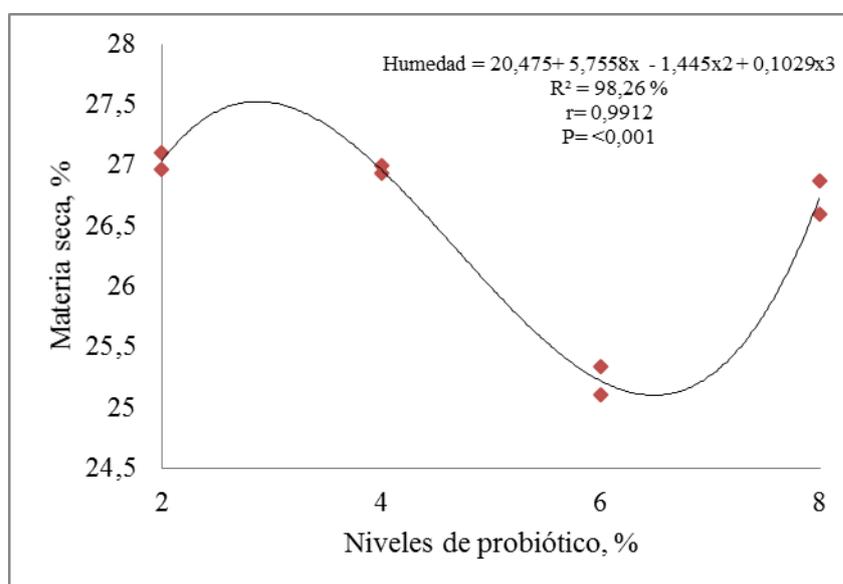
En el análisis de variable materia seca se reportaron diferencias altamente significativas ( $P < 0,01$ ), reportando un mayor contenido de materia seca en el ensilaje con el 2% de probiótico, con un valor de 27,03% de materia seca; y en menor porcentaje en el ensilaje con el 6%, con una media de 25,22%; mientras que para los ensilaje con el 4 y 8% de probiótico el porcentaje de materia seca son 26,97 y 26,74%; detallándose en la figura 5-3; lo cual podría estar afectada la cantidad de materia seca por el porcentaje de probiótico que fue utilizado como parte del contenido del bioensilaje, ya que este probiótico mantiene un contenido alto de humedad en su composición.



**Figura 5-3:** Gráfico de evaluación de Materia Seca  
 Realizado por: Geoconda Ch, 2016

Según datos de Guerra y Montenegro (2015, <http://espam.edu.ec/revista/2015/V6N1/56.pdf>), indica en su investigación realizada “Efecto de inoculantes microbianos sobre las características químicas y fermentativas de ensilajes de maíz forrajero”, obtienen un porcentaje de materia seca del 31,14%, valor que es superior al de los datos obtenidos en la presente investigación , ya que se puede decir que es por la cantidad de humedad que contienen la materia prima utilizada ya que la zanahoria contiene un alto porcentaje de humedad como se menciona anteriormente; mientras que el maíz forrajero presenta una humedad inferior de 73,58%, alterando de esta manera el contenido de los bioensilajes evaluados.

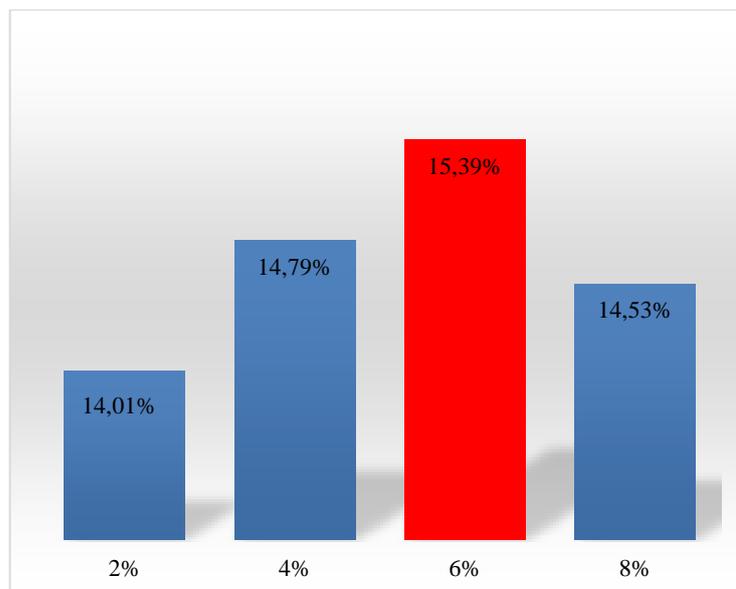
El análisis de regresión para la variable materia seca utilizando diferentes niveles de probiótico, representados en la figura 6-3.



**Figura 6-3:** Gráfico de regresión para la variable Materia Seca  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

### 3.1.3.3. Proteína %

En el análisis estadístico para la variable contenido de proteína en el bioensilaje para rumiantes presentaron diferencias estadísticas altamente significativas ( $P < 0,01$ ), teniendo así el mayor valor proteico del 15,39%, alcanzado en el tratamiento con el 6% del probiótico, descendiendo con los tratamientos del 4 y 8% de probiótico con medias de 14,79 y 14,53%, para posteriormente determinarse el tratamiento con el 2% del probiótico nativo una concentración de 14,01%, con una desviación entre medias de  $\pm$  de 0,10. Ilustrándose en la figura 7-3.



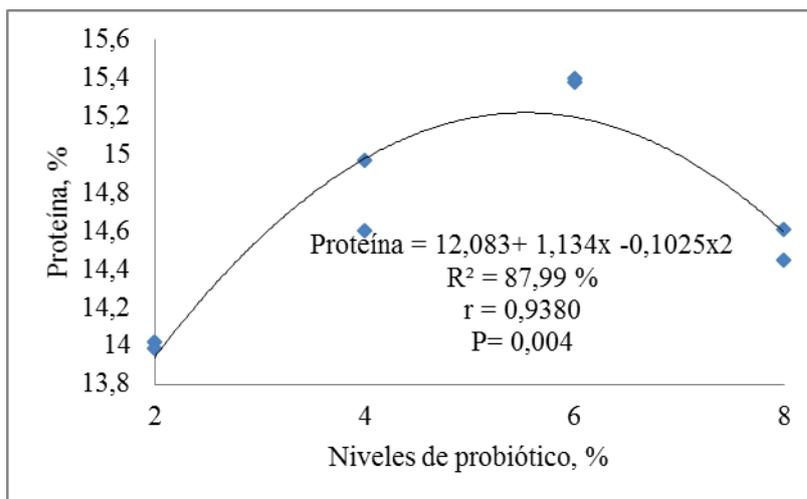
**Figura 7-3:** Gráfico de evaluación de Proteína  
 Realizado por: Geoconda Ch, 2016

Asumiendo que el tratamiento con el 6% de probiótico tiene el valor más alto de proteína con lo cual la producción de leche aumenta; lo que sustenta Mellado (2010, p. 46), que la cantidad de nitrógeno o contenido proteico en rumiantes lactantes se considera en general un aporte proteico del 16%, el mismo que se verá alterado por aspectos tales como edad y etapa fisiológica de los animales, además se puede acotar que la proteína de los alimentos no solo aumentan la masa muscular sino también es necesario para el funcionamiento metabólico de los rumiantes.

Ruiz (2006, <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6663/00780780.pdf?sequence=1>), en su investigación en ensilaje de papa reporta un valor proteico del 12%, siendo este menor al conseguido en esta investigación en sus cuatro niveles de probiótico, posiblemente esto se deba al trabajo benéfico de las bacterias lácticas en el bioensilaje que mejoran la fermentación y actividad bacteriana mejorando la incorporación de las materias primas y elevando el contenido proteico.

Mientras que Cubero *et al* (2010, [http://www.mag.go.cr/rev\\_agr/v34n02\\_237.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_agr/v34n02_237.pdf)), en su investigación en ensilaje de maíz con tres niveles de inóculos microbianos reporta valores de proteína de 14,63; 15,14 y 15,07% de proteína que son valores que guardan relación a los obtenidos en la presente investigación, debido a que en las dos establecen niveles de inóculos microbianos, que influyen positivamente en la transformación de la materia prima en un bioensilaje de calidad para la producción de rumiantes incrementando los parámetros productivos como producción lechera diaria.

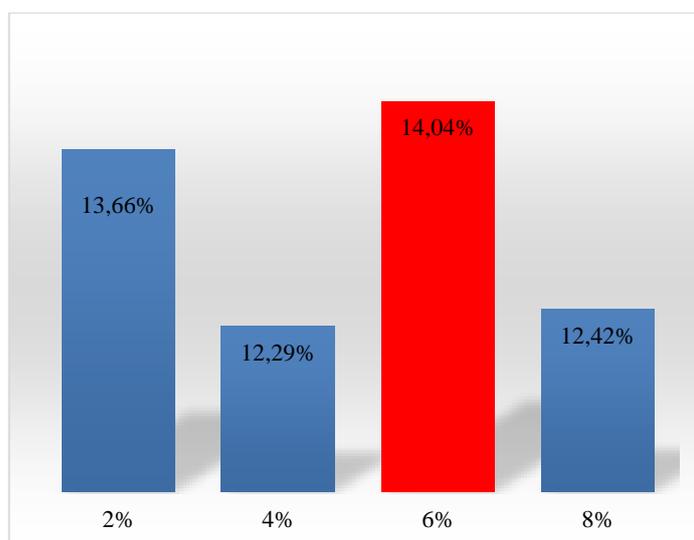
El análisis de regresión para proteína al utilizar niveles diferentes de probiótico nativo se muestra en la figura 8-3.



**Figura 8-3:** Gráfico de análisis de regresión para Proteína  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

#### 3.1.3.4. Fibra %.

En el análisis de varianza para la variable fibra encontramos que existen diferencias estadísticas altamente significativas ( $P < 0,01$ ) de esta manera obteniendo resultados del 14,04% en el tratamiento que se utiliza el 6% del probiótico, seguido por el tratamiento al 2% con un contenido en fibra de 13,66, para luego tener a los tratamientos con el 4 y 8% con porcentajes en contenido de fibra de 12,29 y 12,42%; con un error estándar de  $\pm 0,12$  lo cual se ilustra en la figura 9-3.



**Figura 9-3:** Gráfico de evaluación para fibra  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

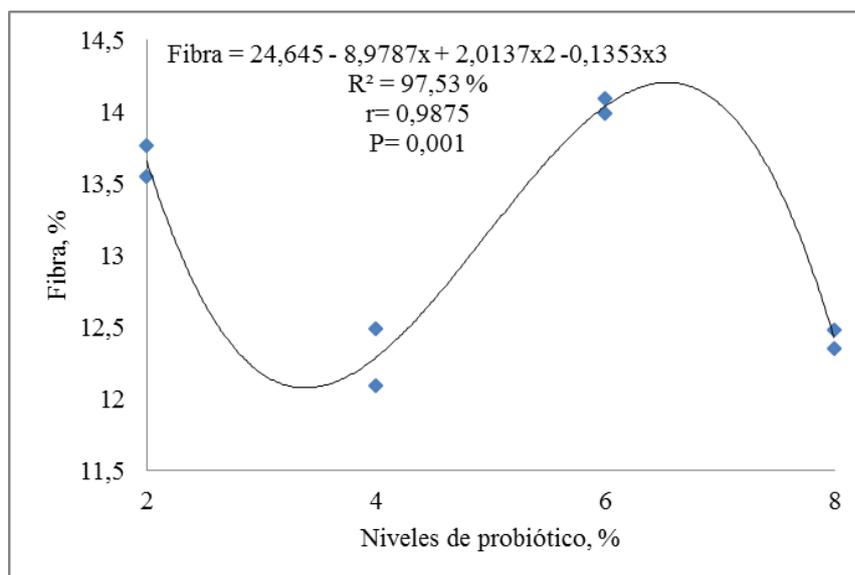
Por lo tanto se asume que el tratamiento con el 6% de probiótico tiene el mayor contenido en fibra

la cual ayuda en el metabolismo y digestibilidad del rumiante, lo cual es sustentado por (Chaverra y Bernal (2001, p. 108), los mismo que mencionan que la fibra es un indicador útil para medir el estado de crecimiento en el cual el cultivo para ensilar se ha cosechado y para predecir la digestibilidad y el valor energético del forraje, siendo útil este nutrimento en los rumiantes ya que la función de la fibra es mantener un correcto funcionamiento ruminal que no comprometa su salud. Para ello, las vacas deben consumir una cantidad mínima de fibra que estimule la rumia y la salivación.

Según la investigación realizada por Tene (2015, <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/10095/1/TESIS%20DENNY%20ALEXANDER%20TENE%20CHAMBA.pdf>), en la obtención de ensilaje de maíz con lactosuero obtiene valores para fibra de 7,85% siendo este bajo en comparación a los obtenidos en la presente investigación, considerando además que el contenido de fibra en las materias primas estará dependiendo del estado fenológico de la cosecha es decir a mayor edad mayor contenido de fibra.

Mientras que el contenido de fibra obtenido en la investigación con el ensilaje de papa por Ruiz (2006, <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6663/00780780.pdf?sequence=1>), es superior obteniendo el 27,4% de fibra; quizá esto se deba a su alto contenido en almidón que es su mayor nutrimento bajando el contenido de hemicelulosa y lignina.

El análisis de regresión para la variable fibra utilizando diferentes niveles de probiótico, representados en la figura 10-3.



**Figura 10-3:** Gráfico de análisis de regresión para Fibra.  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016.

### 3.1.4. Características microbiológicas del ensilaje

**Tabla 6-3:** Análisis microbiológicos del ensilaje

Variable	Niveles de probiótico, %				E.E	Prob.
	2	4	6	8		
Bacterias Lácticas –inicio del proceso UFC.ml <sup>-1</sup>	9,50E+06 a	1,48E+07 c	1,63E+07 b	1,83E+07 b	3,31E+05	0,0002
Levaduras –inicio del proceso (UPC. ml <sup>-1</sup> )	2,93E+05 a	7,00E+04 b	2,90E+04 c	1,00E+04 c	3,94E+03	<0,0001
Bacterias Lácticas- final del proceso UFC.ml <sup>-1</sup>	1,75E+08 d	1,86E+08 c	2,34E+08 b	2,53E+08 a	1,19E+06	<0,0001
Levaduras- final del proceso (UPC. ml <sup>-1</sup> )	1,55E+04 d	2,35E+04 a	2,40E+04 a	2,10E+04 a	7,91E+02	0,0647

UFC: Unidades Formadoras de Colonia.

UPC: Unidades Propagadoras de Colonia.

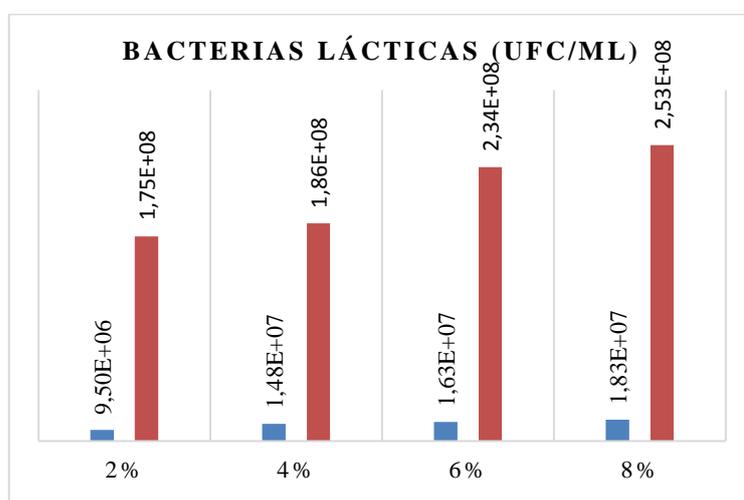
Las letras (a, b y c), muestran diferencias altamente significativas entre las medias de acuerdo a la separación de medias según Tukey a un nivel de significancia menor a 0,05

**Realizado por:** Geoconda Chacha. 2016

### 3.1.4.1. Bacterias Ácidas Lácticas

Para la variable bacterias lácticas por efecto de la inclusión de los diferentes niveles de probiótico en el ensilaje de zanahoria, lograron mostrar diferencias estadísticas altamente significativas, ( $P < 0,01$ ), teniendo así valores iniciales de  $1,83E+07$  UFCml<sup>-1</sup> para el tratamiento con el 8% de probiótico, a continuación el tratamiento con el 6% el cual presenta el  $1,63E+07$  UFCml<sup>-1</sup> y finalmente los tratamientos con el 4 y 2% de probiótico, los que presentan resultados de  $1,48E+07$  y  $9,50E+06$  UFCml<sup>-1</sup>, respectivamente; siendo su error estándar de  $3,31E+05$  UFCml<sup>-1</sup>.

Al finalizar la fermentación del bioensilaje la concentración de bacterias lácticas subió considerablemente, con diferencias estadísticas significativas teniendo así la mayor concentración de bacterias en el tratamiento al 8% de probiótico, con una media de UFCml<sup>-1</sup> de  $2,53E+08$ , siguiéndole a este el tratamiento con el 6% que obtiene  $2,34E+08$  UFCml<sup>-1</sup>, y los tratamientos con el 2 y 4% presentan resultados menores en comparación con los tratamientos ya mencionados mostrando  $1,75E+08$  y  $1,86E+08$  UFCml<sup>-1</sup>; con un error estándar de  $\pm 1,19E+06$  UFC. UFCml<sup>-1</sup>. Por lo que podemos decir el crecimiento alto de bacterias lácticas se debe a que crecen en valores de pH bajos, ya que estos valores ayudan a inhibir el crecimiento de microorganismos indeseados, y en contraparte al crecimiento de microorganismos benéficos; lo que se muestra en la figura 11-3.



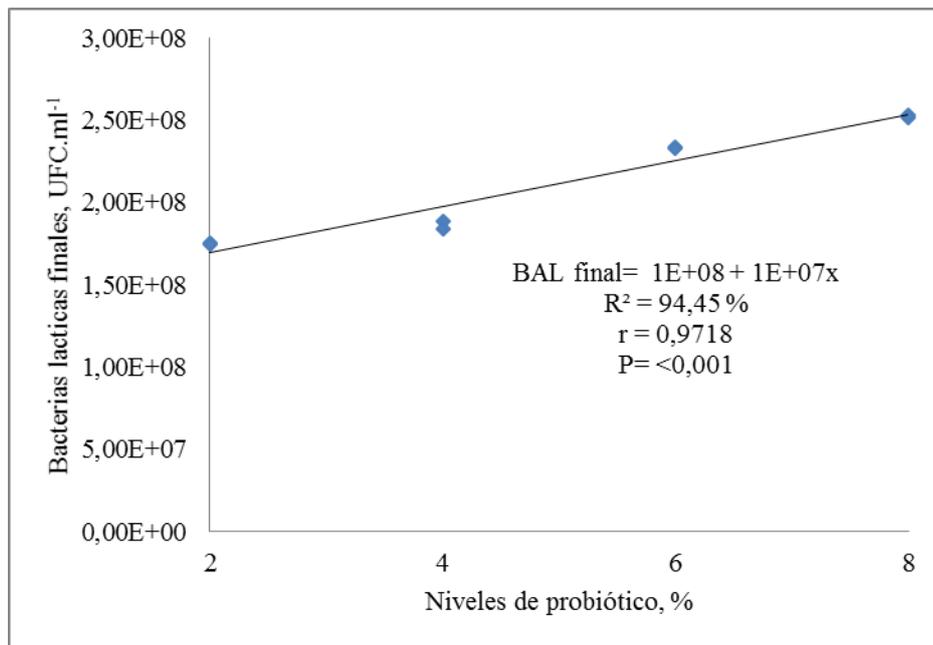
**Figura 11-3:** Gráfico de evaluación de Bacterias Ácido Lácticas.  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

A lo que menciona Tobía *et al.* (2003, [http://www.mag.go.cr/rev\\_agr/v27n02\\_021.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_agr/v27n02_021.pdf)), que el éxito del proceso fermentativo al que son sometidos los ensilajes depende, principalmente, de una cantidad suficiente de bacterias ácido lácticas y de una concentración apropiada de carbohidratos solubles en el forraje que genera el ácido láctico. Y así, el pH se mantiene bajo y el ensilaje se conserva

en buenas condiciones.

Según Villa (2008, <http://www.bdigital.unal.edu.co/2612/1/780151.2008.pdf>), en su investigación acerca de ensilaje de maíz en clima frío obtiene resultados de  $2,0E+06$  UFC $ml^{-1}$  al inicio de la fermentación mismo que es cercano a los obtenidos en esta investigación, al final obtiene  $3,1E+09$  UFC $ml^{-1}$ , resultado que es superior al de nuestra investigación. En tanto que Narváez (2013, p. 42), en su investigación de ensilaje de maíz forrajero con inoculantes bacterianos obtiene resultados al final de la investigación de  $9,43+04$  UFC $ml^{-1}$ ; por lo que podemos decir que nuestro bioensilaje tiene una elevada concentración de bacterias lácticas mismas que ayudan a inhibir el crecimiento de patógenos.

El análisis de regresión para la Bacterias ácido lácticas utilizando diferentes niveles de probiótico, representados en la figura 12-3.



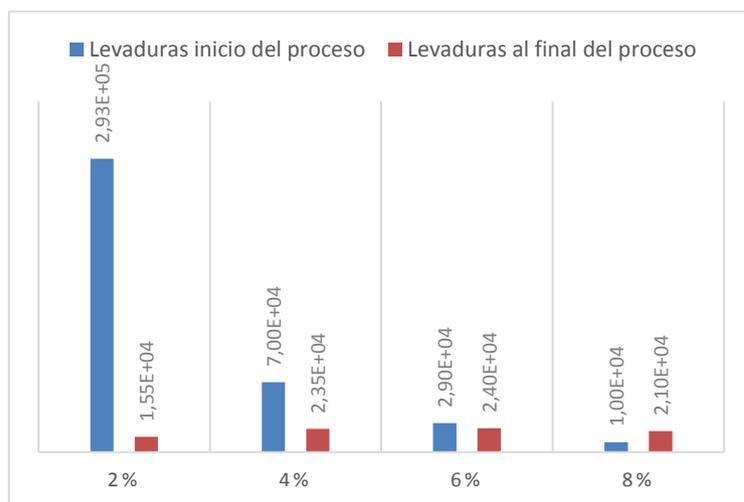
**Figura 12-3:** Gráfico de análisis de regresión para Bacterias Ácido Lácticas.  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

### 3.1.4.2. Levaduras

La variable levadura según el análisis de varianza muestra una diferencia estadística alta ( $P < 0,05$ ), teniendo así al inicio una concentración de  $2,93E+05$  UPC $ml^{-1}$  en el tratamiento del 2% de probiótico, mientras que para los tratamientos 4, 6 y 8% concentraciones de  $7,00E+04$ ,  $2,90E+04$  y  $1,00E+04$  UPC $ml^{-1}$  en su orden; con un error estándar de  $3,94E+03$  UPC $ml^{-1}$ .

Al final de de la investigación no presentan diferencias altamente significativas ( $P>0.05$ ), es así que las concentraciones de levaduras son  $1,55E+04$  UPCml<sup>-1</sup> en el tratamiento 2% mientras que para los tratamientos 4, 6 y 8% existen concentraciones de  $2,356E+04$ ,  $2,40E+04$  y  $2,10E+04$  UPCml<sup>-1</sup>, en su orden con un error estándar de  $7,91E+02$  UPCml<sup>-1</sup>; el crecimiento de levadura descende en cuanto aumenta el porcentaje de probiótico, ilustrándose en la figura 13-3.

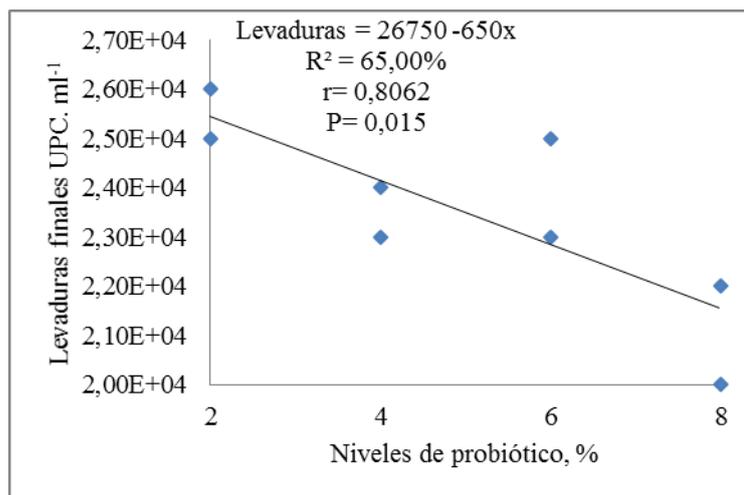
El crecimiento de estos microorganismos se debe principalmente a que estos microorganismos viven en los alimentos y forrajes, y por su capacidad de desarrollarse más fácilmente en temperaturas bajas Carrillo (2003, p. 55) menciona que las levaduras viven principalmente en los alimentos y forrajes que tienen un rango de temperatura entre los 0 y 30°C con valores ideales cercanos a los 20°C (con algunas excepciones) y con humedad del ambiente mayores de 80% es, por lo tanto, posible que las condiciones ambientales en que se cultivó el forraje para el crecimiento de estos microorganismos.



**Figura 13-3:** Gráfica de evaluación de crecimiento de levaduras.  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

Etchevers (2011, <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/13257/tesisUPV3555.pdf?sequence=1>) en su investigación en ensilaje de maíz obtiene resultados del crecimiento de levaduras de  $9,0E+06$  UPCml<sup>-1</sup>; mientras que Villa (2008, <http://www.bdigital.unal.edu.co/2612/1/780151.2008.pdf>), en su estudio microbiológico y calidad nutricional de ensilaje de maíz cosechado en dos ecorregiones de Colombia obtiene valores iniciales de  $2,4E+07$  UPCml<sup>-1</sup> y  $2,0E+04$  UPCml<sup>-1</sup> a los 28 días de fermentación los cuales son similares a los de nuestra investigación.

Los análisis de regresión para el contenido de levaduras por efecto de los diferentes niveles de probiótico aplicados en el bioensilaje, son representados en la figura 14-3.



**Figura 14-3:** Gráfico de análisis de regresión para Levaduras.  
Realizado por: Geoconda Ch, 2016

En la tabla 7-3 Se observa los resultados obtenidos del ensilaje para patógenos tanto al inicio como al finalizar el proceso de fermentación del bioensilaje.

**Tabla 7-3:** Resultados microbiológicos para patógenos iniciales y finales del bioensilaje

Parámetro	Resultado
<b>Microbiológicos UFC.ml<sup>-1</sup></b>	
<i>E. Coli</i>	Ausencia
<i>Salmonella, sp</i>	Ausencia
<i>Clostridium</i>	Ausencia
<b>Microbiológicos UPC.ml<sup>-1</sup></b>	
Mohos	Ausencia

Realizado por: Geoconda Chacha, 2016

Según la norma INEN 1829, para alimentos zootécnicos establece que para *Salmonella* debe existir ausencia, para *E. Coli* establece un máximo de  $1 \cdot 10^4$  UFC/ml y para hongos un máximo de  $1 \cdot 10^4$ . Por lo que podemos decir que nuestro alimento para rumiantes bioensilaje si es apto para el consumo de los mismos, ya que al no existir ningún patógeno los animales no corren riesgo de enfermarse por este motivo. Cabe destacar que no existe presencia de *Clostridium* ya que al existir en el alimento este se pudriría y si el animal consume podría hasta causarle un tipo de envenenamiento, a lo que Chaverra y Bernal (2001, p. 109), menciona que la existencia de este en la fermentación del ensilaje causa especialmente las pudriciones y una forma de envenenamiento al animal que consume y hasta al hombre al ingerir carne con la presencia de este patógeno.

### 3.1.5. *Análisis de producción de leche*

**Tabla 8-3:** Análisis de producción de leche con el bioensilaje

Variable	Niveles de probiótico, %					E.E	Prob.
	0	2	4	6	8		
Producción inicial, L	12,94 a	13,34 a	13,27 a	14,08 a	13,78 a	1,78	0,9666
Producción 7 días, L	12,82 a	13,13 a	13,51 a	15,93 a	13,58 a	1,98	0,6834
Producción 15 días, L	12,06 a	12,70 a	14,38 a	16,39 a	13,52 a	1,93	0,4387
Producción 22 días, L	11,80 a	14,14 a	15,64 a	17,40 a	14,01 a	2,32	0,4183

Las letras (a, b y c), muestran diferencias altamente significativas entre las medias de acuerdo a la separación de medias según Tukey a un nivel de significancia menor a 0,05

**Realizado por:** Geoconda Chacha. 2016

### 3.1.5.1. Producción de leche

Según el análisis de varianza para la variable producción de leche en las vacas Holstein no presentaron diferencias estadísticas significativas ( $p > 0.05$ ), por efecto del bioensilaje de zanahoria con niveles diferentes de probiótico, aun así mostrando diferencias numéricas por efecto de la suplementación a base de bioensilaje con diferentes niveles de preparado microbiano nativo y resaltándose el tratamiento con el 6, 4% con una producción inicial de 11,20 L, a los siete días 11,51 L, a los 15 días disminuyendo su producción a una media de 14,08 L para finalmente a los 22 días de aplicado el tratamiento tener una producción de 17,40 L notándose un aumento numérico en la producción de 3,32 L de leche, es decir el 23,5%. A este le sigue el tratamiento con el 4% el cual inicia con 13,27 L y finaliza con 15,64 con lo que se tiene un aumento en la producción de 2,37 L lo cual representa un 17,85%; en tanto que el ensilaje con el 8% de probiótico sería el que menos efecto tiene en el ganado apenas con un aumento en los 22 días de tratamiento de 0,23 L lo cual representa el 1,66%; entonces podemos decir que el bioensilaje de zanahoria si influye en la producción de leche.

Por lo anteriormente se puede acotar que los preparados microbianos mejoran notablemente la asimilación de nutrientes, estimulando el apetito y por ende creando un bienestar en el animal, siendo menos propenso a enfermedades entéricas, todo este conjunto mejora los parámetros productivos principalmente en vacas lecheras mantienen la condición corporal pero incrementado la producción lechera Milan (2005, p. 16).

Salazar (2007, p. 55), con la utilización de bioensilajes agroindustriales en la alimentación de vacas lechera inicia con una producción de 25 L mientras que al utilizar ensilaje de maíz disminuye su producción en 74,08 %, es decir a 18,52 L lo cual a lo mejor se deba a que el bioensilaje se halla enriquecido con suero de leche y estiércol mixto, dándonos cuenta que el ensilaje de zanahoria es mejor ya que este presenta un aumento en la producción del 23,5% en su mejor tratamiento con el 6% de probiótico.

A lo que manifiesta y asegura Avalos (2015, <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3920/1/17T1255%20AVALOS%20ZAMBRANO%20JUAN%20CARLOS.pdf>), que las vacas lecheras al iniciar la lactancia están enfrentadas a un transporte masivo de lípidos, proteínas y lactosa a la glándula mamaria, lo cual en términos de energía representa de dos a tres veces sus requerimientos de mantenimiento para vacas con producciones de 20 a 25 lts/día. Considerando que en este período fisiológico, todo el organismo es un complemento de la glándula mamaria, guiando la actividad de otros tejidos y órganos para sostener la producción láctea, por lo cual el

uso de ensilaje de zanahoria no cubre las necesidades de un rumiante para la producción.

### 3.1.6. Análisis económico

#### 3.1.6.1. Relación Beneficio/Costo

**Tabla 9-3:** Análisis económico de la obtención del bioensilaje de zanahoria

Rubro	Unidad	Costo, \$	Bioensilaje con diferentes niveles de probiótico, %				
			T0 (0%)	T1 (2%)	T2 (4%)	T3 (6 % )	T4 (8 % )
<b>Insumos</b>							
Numero de vacas	Unidad		2	2	2	2	2
Vacas	Unidad	400	800	800	800	800	800
Balanceado	kg	0,45	28,35				
Follaje de zanahoria	kg	0,01		0,22	0,22	0,22	0,22
Zanahoria	kg	0,06		3,96	3,96	3,96	3,96
Afrecho de trigo	kg	0,31		6,82	6,82	6,82	6,82
Probiótico	l	0,69		1,52	3,04	4,55	6,07
Bolsas de ensilaje	unidad	0,25		1,50	1,50	1,50	1,50
<b>Manejo</b>							
Análisis de laboratorio	unidad	39,49		39,49	39,49	39,49	39,49
Recipientes	unidad	0,1		0,20	0,20	0,20	0,20
Transporte	unidad	12,5	12,50	12,50	12,50	12,50	12,50
Mano de Obra	jornal	350	70,00	70,00	70,00	70,00	70,00
<b>EGRESOS</b>			<b>910,85</b>	<b>936,21</b>	<b>937,73</b>	<b>939,24</b>	<b>940,76</b>
Venta de las vacas	Unidad	400	800	800	800	800	800
Producción de leche	lt/21 días		260,48	279,87	298,21	334,952625	288,17625
Precio	lt	0,35	91,17	97,95	104,37	117,23	100,86
<b>Ingresos</b>			<b>1151,64</b>	<b>1177,83</b>	<b>1202,59</b>	<b>1252,19</b>	<b>1189,04</b>
<b>B/C</b>			<b>1,26</b>	<b>1,26</b>	<b>1,28</b>	<b>1,33</b>	<b>1,27</b>

Realizado por: Geoconda Chacha. 2016

Dentro del estudio económico de la producción de leche a los rumiantes alimentadas con pastoreo y bioensilaje con la inclusión de diferentes niveles de probiótico, en la tabla 10-4, se determinaron los costos en cada uno de los tratamientos y durante el proceso productivo de vacas lecheras, representados por los rubros consumo de ensilaje, consumo de balanceado, análisis de laboratorio, transporte, mano de obra, en tanto que los ingresos estuvieron representados por, precio de la leche, y venta de la vaca.

Obteniendo así la mayor rentabilidad para la producción de leche mediante la suplementación

alimenticia de vacas lecheras con el 6 % de probiótico en el ensilaje de zanahoria, con un beneficio/costo de 1,33 USD, lo que se traduce en una rentabilidad de 0,33 USD, por cada dólar invertido en el proceso de producción.

## CONCLUSIONES

- ✓ De acuerdo con el análisis proximal realizado a los residuales de zanahoria amarilla, presenta un porcentaje de 90,20% de humedad, el 7,16% de proteína y el 7,40 de fibra, en tanto que el follaje presenta un valor proteico mayor al de la zanahoria siendo este de 10,53% y su contenido en fibra también es superior presentando un valor de 14,74% y finalmente el contenido de materia seca es mayor al de la zanahoria teniendo así un porcentaje de 16,49%. El suero de leche en su análisis bromatológico para proteína presenta un 0,7%, en tanto que su porcentaje de grasa es del 0,55%.
- ✓ La fermentación solida de los residuales de zanahoria y suero de leche se llevó a cabo en un silo tipo bolsa, utilizando fundas industriales por duplicado para así evitar que pueda contaminarse con algún tipo de patógeno, o haya fugas de líquidos desde el ensilaje con un tiempo de fermentación de 24 días.
- ✓ Las características físicas del bioensilaje obtenido a partir de residuales de zanahoria y suero de leche se presentan de la siguiente manera el pH al final de la fermentación fue de 3,9; la temperatura de 19°C y para la valoración del probiótico en la variable grados brix fue de 5,4°, siendo estos valores aceptables para este tipo de fermentación.
- ✓ En su análisis bromatológicos presentaron diferencias estadísticas significativas ( $P < 0,001$ ), siendo el mayor contenido de proteína, fibra y humedad del 15,39; 14,04 y 74,78 %, en su orden, con el empleo del 6% de preparado microbiano nativo; así también en cuanto al análisis microbiológico se destaca el nivel del 8 % de preparado con contenidos altos de  $92,53E+08$  UFC/ml para bacterias lácticas y ausencia total de patógenos como *Salmonella* sp. *Clostridium*, *E. coli* y mohos en todos los tratamientos. Las características organolépticas en los cuatro tratamientos fueron aceptables por el ganado lechero considerando el color, olor y sabor siendo palatables por los rumiantes.
- ✓ Determinando la producción de leche en vacas Holstein mestizas se logró aumentar la producción de leche con el empleo del 6% de preparado microbiano nativo ya que se observó un aumento de 14,08 litros a 17,40 litros al finalizar el experimento, mostrando diferencias numéricas entre los niveles evaluados.
- ✓ De acuerdo con el análisis económico se determinó que el bioensilaje de zanahoria con el 6% de probiótico obtiene la mayor rentabilidad, estableciéndose un índice de Beneficio - Costo de 1,33 USD, lo que quiere decir que por cada dólar invertido existe una rentabilidad del 33 %.

## ***RECOMENDACIONES***

- ✓ La aplicación del ensilaje de zanahoria debe considerarse no como alimento principal si no como un suplemento alimenticio, para lo cual se sugiere utilizar el ensilaje con la adición del 6% de probiótico ya que presenta los mejores resultados en contenido de fibra, proteína y producción lechera.
  
- ✓ Realizar análisis bromatológicos de la leche ya que este alimento podría modificar su composición nutricional, en cuanto a características físico químicas y organolépticas del producto, según la dieta suministrada.
  
- ✓ Que se realice otras investigaciones con la utilización del bioensilaje en otros rumiantes en diferentes estadios de producción o periodos más largos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- 1. ALANIZ VILLANUEVA, O. G.** *Adición de residuo de la industria cervecera al ensilaje de maíz como alternativa de forraje para ganado.* (Tesis) (Pregrado) [En línea] Instituto Politécnico Nacional, Durango, Mexico, 2008, pp 6-10. [Consulta: 12 agosto 2016]. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/3620/ADICIONDERESIDUO.pdf?sequence=1>
  
- 2. ALMEIDA BORJA, P. & ZAMBRANO VIDAL, M.** *Elaboración de jugo, pasta y polvo de zanahoria.* (Tesis) (Pregrado) [En línea]. Escuela Politécnica Nacional, Escuela de Ciencias. Quito, Ecuador, 2007, pp. 2-107. [Consulta: 17 agosto 2016]. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/2725>
  
- 3. AVALOS ZAMBRANO J** *Inclusión de afrecho de maíz duro en la alimentación de vacas Holstein mestizas de la estación experimental TUNSH.* (Tesis) (Pregrado) [En línea]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2015, pp. 47-48. [Consulta: 17 agosto 2016]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3920/1/17T1255%20AVALOS%20ZAMBRANO%20JUAN%20CARLOS.pdf>
  
- 4. BALZA, K. & BARRIOS, K.** *Utilización de los residuos de lechuga para ensilaje como alternativa en la alimentación de bovinos.* [En línea] (Tesis) (Maestría) Universidad de Santa María, Caracas, Venezuela, 2014, p.14-15. [Consulta: 25 agosto 2016]. Disponible en: <http://es.slideshare.net/francelina123/tesis-final-13124320>.
  
- 5. BETANCOURT, M., GONZÁLEZ, I. & MARTÍNEZ DE ACURERO, M.** Evaluación de la calidad de los ensilajes. *Revista Digital del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Venezuela*, [En línea] 2005, Venezuela 2(6), pp. 20-45.[Consulta: 18 agosto 2016]. ISSN 1690-4117. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-agricultura/cultivos-tropicales/articulos/evaluacion-calidad-forrajes-t1110/078-p0.htm>
  
- 6. BOURGEOIS, C. M. & LARPENT, J. P.** *Microbiología Alimentaria.* 3ª ed. Zaragoza, España, Acibia, S. A. 1995, pp. 117-133
  
- 7. CALVACHE GARCÍA, I.** Factores que influye en la composición nutricional de la leche.

*Rev. Cienc. Anim* [En línea], 2012, Colombia, 20(5), pp. 73-85. [Consulta: 224 agosto 2016] ISSN 2 011- 513 X Disponible en: <http://revistas.lasalle.edu.co/index.php/ca/article/viewFile/1320/1206>

8. **CÁRDENAS MEDINA, J. V., SOLORIO SÁNCHEZ, F. J. & A., S. C. C.** *Ensilaje de Forrajes: Alternativa Para la Alimentación de Rumiantes en El Trópico.2<sup>a</sup>*. Yucatan, México: Ediciones de la Universidad Autonoma de Yucatan, 2004, pp. 20-30
9. **CORDOVEZ BARAHONA, M. A.** *Caracterización y efecto de bioensilaje en la producción y calidad de la leche bovina.* (Tesis) (Maestría) [En línea] Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2014, pp. 30-32 [Consulta: 17 agosto 2016]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4282#sthash.P8A9pPoC.dpuf>
10. **CUBERO J., ROJAS A. y WINGCHING W.** “Uso del inóculo microbial elaborado en finca en ensilaje de maíz (zea mays). Valor nutricional y fermentativo”. *Agronomía Costarricense* [en línea], 2010, Costa Rica 34 (2), pp. 237-250. [Consulta: 12 de agosto 2016]. ISSN. 0377-9424. Disponible en: [http://www.mag.go.cr/rev\\_agr/v34n02\\_237.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_agr/v34n02_237.pdf)
11. **CUARAN ROSERO, N. J.,** *Identificación d elas propiedades físico-químicas de la zanahoria amarilla (Daucus carota L.) variedad chantenay, en dos estados de madurez.* (Tesis) (Pregrado) [En línea] Universidad Tecnica del Norte, Facultad de Ingenieria en Ciencias Agropecuarias y Ambientales. Ibarra, Ecuador, 2009, pp. 6-7 [Consulta: 12 agosto 2016]. Disponible en: <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/332>
12. **CHALACAN, A. & VALENCIA, A.,** *Ensilaje de residuos de cosecha de la zona de cultivos del canton Espejo mediante procesos biotecnológicos.* (Tesis) (Pregrado) [En línea] Instituto Tecnico Superior Agropecuario Alfonso Herrera, El Angel, Ecuador, 2004, pp. 6-20 [Consulta: 12 agosto 2016]. Disponible en: <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/386/1/T-SENESCYT-0157.pdf>.
13. **CHAVERRA GIL & BERNAL E.** *El ensilaje en la alimentación del ganado vacuno.* Venezuela: IICA, 2001, p. 108-109
14. **EVANGELISTA LÓPEZ, M. & ORTEGA MENESES, J.** *Mejora del proceso de ensilaje de maíz por adición de lactosuero.* (Tesis) (Pregrado) [En línea]. Universidad Autónoma

del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, México, 2006, pp 13-17 [Consulta: 12 agosto 2016]. Disponible en: <http://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/10675/Mejora%20de%20Proceso%20de%20ensilaje.pdf?sequence=1>.

**15. FAO.** *Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación.* [En línea]. Colombia, 2000 [Consulta: 16 agosto 2016]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/content/5645cc42-5f28-579c-a4fc-4fb17e92014c/x8486s04.htm>

**16. FAO.** *Uso del ensilaje en el trópico privilegiando opciones para pequeños campesinos* [en línea]. Colombia: Food & Agriculture Org, 2001. [Consulta: 10 agosto 2016]. Disponible en: [https://books.google.com.ec/books?id=IUU1ihKYVgkC&dq=ensilaje&hl=es&source=gb\\_s\\_navlinks\\_s](https://books.google.com.ec/books?id=IUU1ihKYVgkC&dq=ensilaje&hl=es&source=gb_s_navlinks_s).

**17. FAO.** *Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos,* [en línea]. Colombia, 2010 [Consulta: 10 febrero 2016]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S01.htm>.

**18. FERNÁNDEZ FALCONÍ, C. F.** *Evaluación Química y Digestibilidad in vivo de los Ensilajes de Forraje de Maíz, Avena más Melaza y Alfalfa más Banana de Rechazo.* (Tesis) (Pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias. Riobamba, Ecuador, 2000, pp. 32-36

**19. FLORES CALVETE, G.** *Factores que afectan a la calidad de ensilaje de hierba y a la planta de maíz forrajero.* (Tesis) (Doctoral) [En línea] Universidad técnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Madrid, España, 2004, pp. 30-36. [Consulta: 12 agosto 2016]. Disponible en: <http://oa.upm.es/161/1/02200425.pdf>.

**20. FRANKEL, A. M.** *Conservación de forrajes.* Buenos Aires, Argentina: Albatros.1984, pp. 109-110.

**21. GALIETTA, G. et al.** Aumento de la vida útil poscosecha de tomate usando una película de proteína de suero de leche. *Revista Iberoamericana de Tecnología,* [En línea] 2005, México 6(2), pp. 117-123. [Consulta: 20 agosto 2016]. ISSN 1665-0204. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/813/81360209.pdf>.

- 22. GUERRA ESPINOZA, F. & MONTENEGRO B.** *Efecto de inoculantes microbianos sobre las características químicas y fermentativas de ensilajes de maíz forrajero.* [En línea] (Tesis) (Pregrado) Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Pecuarias, 2015, p. 18-20. [Consulta: 25 agosto 2016]. Disponible en: <http://espam.edu.ec/revista/2015/V6N1/56.pdf>
- 23. GUEVARA DÍAZ, E.** *Manejo de pazos y forrajes tropicales.* [En línea]. Maracaibo: Ali David Perozo Bravo, 2013. [Consulta: 11 agosto 2016]. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=gCAGCgAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
- 24. GIL HERNANDEZ A.** *Tratado de nutrición / Nutrition Treatise: Composición Y Calidad Nutritiva De Los Alimentos / Composition and Nutritional Quality of Foods.* 2ª ed. Buenos Aires, Argentina, Medica Panamericana, 2010, p. 152-155
- 25. GUAMÁN TAPIA, D.** *Elaboración de ensilado a partir de torta de palmiste como suplemento nutricional para la alimentación animal.* (Tesis) (Pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, 2013, p.36-45)
- 26. HIRIART LE-BERT, M.** *Ensilados.* 2ª. Mexico D.F-Mexico: Trillas, S. A. de C. V., 2008, pp. 9-21.
- 27. HUARACA, M. E.** *Efecto de la utilización de ensilaje de pasto avena con diferentes niveles de contenido ruminal en alimentación de cuyes.*(Tesis) (Pregrado) [En línea]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, 2007, pp. 8,9 [Consulta: 14 agosto 2016]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1806/1/17T0735.pdf>
- 28. NTE INEN 1829.** *Alimentos zootécnicos.*
- 29. INEC.** *Encuesta de superficie y producción agropecuaria continúa ESPAC.* [en línea] Ecuador 2011 [Consulta: 10 febrero 2016]. Disponible en: [http://www.inec.gob.ec/espac\\_publicaciones/espac2011/INFORME\\_EJECUTIVO%202011.pdf](http://www.inec.gob.ec/espac_publicaciones/espac2011/INFORME_EJECUTIVO%202011.pdf)
- 30. IZA YUGCHA, A. E.** *Aprovechamiento de la zanoheria amarilla tratada enzimáticamente*

*en la obtención de una bebida tipo vino.* (Tesis) (Pregrado)[En línea]. Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ambato, Ecuador, 2011, pp. 11-17 [Consulta: 16 agosto 2016]. Disponible en: <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3089/1/AL472.pdf>

**31. JIMÉNEZ F. & MORENO J.** *El ensilaje*,[En línea]. Colombia, Corpoica, 2002 [Consulta: 25 agosto 2016]. Disponible en: [https://books.google.com.ec/books?id=XHdYkzcTCMsC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=XHdYkzcTCMsC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false).

**32. LIBARDO MAZA A. et al.** “Evaluación química y organoléptica del ensilaje de maralfalfa (*Pennisetum sp.*) más yuca fresca (*Manihot esculenta*)”. *Rev.MVZ Córdoba*, [En línea], 2011, Colombia, 16(2), pp. 250-255 [Consulta: 19 agosto 2016]. ISSN 2528-2537. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/mvz/v16n2/v16n2a11.pdf>.

**33. LOVATO, J.** “*Determinación de residuos de antibiótico, sulfonamidas y control de calidad en leche cruda provenientes de tres cantones de la provincia de Chimborazo*” (Tesis) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Riobamba, Ecuador, 2012 p: 15-18.

**34. LOGROÑO, C.** *Estudio bioagronómico de 12 cultivares de zanahoria (Daucus carota L.) tipo nantes* (Tesis) (Pregrado) [En línea] Escuela Superior Politecnica de Chimborazo, Facultad de Recursos Naturales. Riobamba, Ecuador 2010, pp 6-8. [Consulta: 16 agosto 2016]. Disponible en: <http://dspace.esoch.edu.ec/bitstream/123456789/651/1/13T0674BARRIONUEVO%20MYRIAM.pdf>

**35. LOOR URDANIGO, J.** *Efecto de la aplicación de inoculantes bacterianos en la composición química y fermentativas de ensilados de maíz forrajero” (zea mays l.)* [En línea] (Tesis) (Pregrado) Universidad Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Quevedo, Ecuador, 2013, pp. 53-55 [Consulta: 25 agosto 2016].disponible en: <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/282/1/T-UTEQ-0008.pdf>

**36. MINISTERIO DE LA COORDINACIÓN DE PRODUCCIÓN EMPLEO Y COMPETITIVIDAD.** *Agendas para la transformación productiva territorial* [en línea]

Ecuador 2011 [Consulta: 10 febrero 2016]. Disponible en:  
<http://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/02/AGENDA-TERRITORIAL-TUNGURAHUA.pdf>

37. **MELLADO, M.** *Producción de leche en zonas templadas y tropicales*. Mexico DF, México, Trillas, 1ª ed.2010. pp: 46-52
38. **MILIAN, G.** *Empleo de probióticos a base de Bacillus sp y sus endosporas en la producción avícola*. San José de las Lajas, La Habana, Instituto de Ciencia Animal. Apartado Postal 24, 2005 pp. 16-18.
39. **MINSON, D.** *Effects of chemical and physical composition of herbage esten upon intake in Nutritional Limits to Animal Production.Hacker., Queensland, Australia; Proc. Int Symp. St. Lucia, 2001, pp. 196-198.*
40. **NARVAEZ ARANDA, D.** “Efecto de la aplicación de inoculantes sobre las características microbianas a los 60 días de ensilaje de maíz forrajero *Zea mayz*” [En línea] (Tesis) (Pregrado). Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Pecuarias. Quevedo, Ecuador, 2013, pp. 42-45. [Consulta: 26 agosto 2016]. Disponible en: <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/279/1/T-UTEQ-005.pdf>
41. **NOBOA T.** *Caracterización fermentativa, bioquímica y microbiológica de un preparado microbiano nativo con potencial uso en animales domésticos* (Tesis) (Pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Riobamba, Ecuador. 2015, pp. 46-50
42. **PASTRANA, L.** “Fundamentos de la fermentación en estado sólido y aplicaciones a la industria alimentaria”. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* [en línea], 1996, Mexico 1(3), pp. 4-12. [Consulta: 11 agosto 2016]. ISSN 1135-8532. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/724/72410301.pdf>.
43. **POVEDA, E.,** 2013. Suero lácteo, generalidades y potencial uso como fuente de calcio de alta biodisponibilidad. *Rev Chilena de Nutrición*, [En línea] 2013, Colombia, 40(4), p. 397. . [Consulta: 20 agosto 2016]. ISSN 0717-7518Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182013000400011&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182013000400011&script=sci_arttext)
44. **RAMÍREZ ZERMEÑO, R. M. & PÉREZ BEJARANO, J. A.** *Alimentos Funcionales:*

*Principios y nuevos productos*. México D. F, México: Trillas, 2010, pp. 131-135

- 45. RAMOS CORMENZANA, A., MONTEOLIVA SÁNCHEZ, M. & NADER MACÍAS, F.**, *Probiótica y Salud*. Madrid, España: Díaz de Santos, 2012, pp. 3-11
- 46. RAMOS SEVILLA, I.** *Producción de Pleurotus ostreatus var florida sobre residuales de cacao*(Tesis) (Maestría) Escuela Superior Politecnica de Chimborra, Facultad de Ciencias. Ribamba, Ecuador, 2000. pp 7-10
- 47. ROBINSON, T., SINGH, D. & NIGAM, P.** “Fermentación en estado sólido: una tecnología microbiana promisoría para la fermentación en estado sólido”. *Vitae* [en línea], 2002, Colombia 9(2), pp. 27-36. [Consulta: 11 agosto 2016]. ISSN 0121-4004. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1698/169818107003.pdf>
- 48. RUIZ ORTIZ, J.** *Evaluación de la producción y calidad de la leche en vacas Holstein de primer parto suplementadas con ensilaje de papa* [En línea] (Tesis) (Maestría) Universidad de Lasalle, Facultad de Zootecnia, Colombia, 2006, pp. 76-80. [Consulta: 25 agosto 2016]. Disponible en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6663/00780780.pdf?sequence=1>
- 49. SALAZAR ALVAREZ, L. R.** *Evaluación “in vivo” de ensilaje de residuos agroindustriales y biológicamente acelerados en vacas lecheras*. (Tesis) (Pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias. Riobamba, Ecuador, 2007, pp. 41-46
- 50. SUÁRES NEGRETE, P. J.** *Ensilaje de banano (rechazo) como suplemento alimenticio para ganado bovino en el segundo tercio de lactancia*. (Tesis) (Pregrado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias. Riobamba, Ecuador. 2011. pp 16-18
- 51. TENE CHAMBA, D.** “*Ensilado de maíz con adición de lactosuero y microorganismos eficientes, en el cantón paltas*”, [En línea] (Tesis) (Pregrado). Universidad Nacional de Loja, Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables. Loja Ecuador, 2015, p. 63-65. [Consulta: 26 agosto 2016]. Disponible en: <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/10095/1/TESIS%20DENNYS%20ALEXANDER%20TENE%20CHAMBA.pdf>.

- 52. TOBÍA et al.** Aislamiento, selección y caracterización de bacterias ácido lácticas en ensilajes de soya, *Agronomía Costarricense* [En línea], 2003, Costa Rica, 27(2), pp.21-27[Consulta: 20 agosto 2016]. ISSN 1180-7108. Disponible en: [http://www.mag.go.cr/rev\\_agr/v27n02\\_021.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_agr/v27n02_021.pdf)
- 53. VALDIVIESO PERALTA, M. L.,** 2001. *Utilización de Silaje de Forraje y Banano como Suplemento de Vaconas en Terneras Hostein.* (Tesis) (Pregrado) Escuela Superior Politecnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias. Riobamba, Ecuador. 2001, pp. 23-30
- 54. VALLEJO, F. & ESTRADA, E.** *Producción de hortalizas de clima cálido.* Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia, 2004, p. 315-320.
- 55. VEGA MONTERO, G.** “*Elaboración y control de calidad de una bebida a base de suero de leche y avena para Productos el Salinerito*”. [En línea] (Tesis) (Pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Riobamba, Ecuador, 2012, pp. 91-93, [Consulta: 26 agosto 2016]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2600/1/56T00377.pdf>
- 56. VELOZ VARGAS, J. V.** *Evaluación de la eficiencia alimentaria y económica del bioensilaje de residuos agroindustriales en bovinos de carne (PROYECTO ESPOCH-FUNDACYT PFN-057).* [En línea] (Tesis) (Pregrado) Escuela Superior Politecnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, 2005, pp 46-60 [Consulta: 16 agosto 2016]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1870/1/17T0698.pdf>
- 57. VILLA LENIS, A.** “*Estudio microbiológico y calidad nutricional de ensilaje de maíz cosechado en dos ecorregiones de Colombia*” [En línea] (Tesis) (Maestría) Universidad Nacional De Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia .Bogotá, Colombia, 2008, pp. 75-76. [Consulta: 26 agosto 2016]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/2612/1/780151.2008.pdf>.
- 58. WATSON, S. J. & SMITH, A. M.** *El ensilaje.* 9ª ed. Lima: Continental, S. A. 1984, pp. 135-137

## ANEXOS

### ANEXO A: Estadística para los análisis bromatológicos y microbiológicos

Análisis bromatológico del contenido de humedad (%), en el ensilaje a base de zanahoria, follaje y suero de leche, destinado para la alimentación de rumiantes.

#### Resultados experimentales

Niveles de probiótico	Repeticiones	
	I	II
2	73,04	72,90
4	73,07	73,00
6	74,66	74,90
8	73,13	73,40

#### Análisis del ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Miedo	Fisher			Prob
				Cal	0,05	0,01	
Total	7	4,46					
Niveles de probiótico	3	4,38	1,46	75,36	6,59	16,69	6,00E-04
Error	4	0,08	0,02				
CV %			0,19				
Media			73,51				

#### Separación de medias según Tukey P<0,05

Niveles de probiótico	Media	Tukey
2	72,97	b
4	73,04	b
6	74,78	a
8	73,27	b

Análisis bromatológico del contenido de materia seca (%), en el ensilaje a base de zanahoria, follaje y suero de leche, destinado para la alimentación de rumiantes.

#### Resultados experimentales

Niveles de probiótico	Repeticiones	
	I	II
2	26,96	27,10
4	26,93	27,00
6	25,34	25,10
8	26,87	26,60

### Análisis del ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Miedo	Fisher			Prob
				Cal	0,05	0,01	
Total	7	4,46					
Niveles de probiótico	3	4,38	1,46	75,36	6,59	16,69	6,00E-04
Error	4	0,08	0,02				
CV %			0,53				
Media			26,49				

### Separación de medias según Tukey P<0,05

Niveles de probiótico	Media	Tukey
2	27,03	a
4	26,97	a
6	25,22	b
8	26,74	a

Análisis bromatológico del contenido de proteína (%), en el ensilaje a base de zanahoria, follaje y suero de leche, destinado para la alimentación de rumiantes.

### Resultados experimentales

Niveles de probiótico	Repeticiones	
	I	II
2	14,02	13,99
4	14,97	14,60
6	15,38	15,40
8	14,61	14,45

### Análisis del ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Miedo	Fisher			Prob
				Cal	0,05	0,01	
Total	7	2,07					
Niveles de probiótico	3	1,99	0,66	32,34	6,59	16,69	0,0002
Error	4	0,08	0,02				
CV %			0,97				
Media			14,68				

### Separación de medias según Tukey P<0,05

Niveles de probiótico	Media	Tukey
2	14,01	c
4	14,79	b
6	15,39	a
8	14,53	bc

Análisis bromatológico del contenido de fibra (%), en el ensilaje a base de zanahoria, follaje y suero de leche, destinado para la alimentación de rumiantes.

### Resultados experimentales

Niveles de probiótico	Repeticiones	
	I	II
2	13,77	13,55
4	12,49	12,09
6	14,09	13,99
8	12,48	12,35

### Análisis del ADEVA

F. Var	Gl	S. Cuad	C. Miedo	Fisher			Prob
				Cal	0,05	0,01	
Total	7	4,76					
Niveles de probiótico	3	4,65	1,55	52,64	6,59	16,69	0,0011
Error	4	0,12	0,03				
CV %			1,31				
Media			13,10				

### Separación de medias según Tukey P<0,05

Niveles de probiótico	Media	Tukey
2	13,66	a
4	12,29	b
6	14,04	a
8	12,42	b

Análisis microbiológico del contenido de bacterias lácticas inicial (UFC/ml), en el ensilaje a base de zanahoria, follaje y suero de leche, destinado para la alimentación de rumiantes.

### Resultados experimentales

Niveles de probiótico	Repeticiones	
	I	II
2	9,00E+06	1,00E+07
4	1,50E+07	1,45E+07
6	1,60E+07	1,65E+07
8	1,85E+07	1,80E+07

### Análisis del ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Miedo	Fisher			Prob
				Cal	0,05	0,01	
Total	7	8,50E+13					
Niveles de probiótico	3	8,41E+13	2,80E+13	128,14	6,59	16,69	0,0002

Error	4	8,75E+11	2,19E+11
CV %			3,18
Media			14687500,00

#### Separación de medias según Tukey P<0,05

Niveles de probiótico	Media	Tukey
2	9,50E+06	a
4	1,48E+07	c
6	1,63E+07	b
8	1,83E+07	b

Análisis microbiológico del contenido de levaduras inicial (UPC/ml), en el ensilaje a base de zanahoria, follaje y suero de leche, destinado para la alimentación de rumiantes.

#### Resultados experimentales

Niveles de probiótico	Repeticiones	
	I	II
2	3,00E+05	2,85E+05
4	6,90E+04	7,10E+04
6	2,80E+04	3,00E+04
8	8,00E+03	1,20E+04

#### Análisis del ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Miedo	Fisher			Prob
				Cal	0,05	0,01	
Total	7	1,02E+11					
Niveles de probiótico	3	1,02E+11	3,41E+10	1094,44	6,59	16,69	0,0000
Error	4	1,25E+08	3,11E+07				
CV %			5,56				
Media			100375,00				

#### Separación de medias según Tukey P<0,05

Niveles de probiótico	Media	Tukey
2	2,93E+05	a
4	7,00E+04	b
6	2,90E+04	c
8	1,00E+04	c

Análisis microbiológico del contenido de bacterias lácticas final (UFC/ml), en el ensilaje a base de zanahoria, follaje y suero de leche, destinado para la alimentación de rumiantes.

### Resultados experimentales

Niveles de probiótico	Repeticiones	
	I	II
2	1,76E+08	1,75E+08
4	1,89E+08	1,84E+08
6	2,34E+08	2,33E+08
8	2,53E+08	2,52E+08

### Análisis del ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Miedo	Fisher			Prob
				Cal	0,05	0,01	
Total	7	8,29E+15					
Niveles de probiótico	3	8,28E+15	2,76E+15	967,97	6,59	16,69	0,0000
Error	4	1,14E+13	2,85E+12				
CV %			0,80				
Media			2,12E+08				

### Separación de medias según Tukey P<0,05

Niveles de probiótico	Media	Tukey
2	1,75E+08	d
4	1,86E+08	c
6	2,34E+08	b
8	2,53E+08	a

Análisis microbiológico del contenido de levaduras finales (UPC/ml), en el ensilaje a base de zanahoria, follaje y suero de leche, destinado para la alimentación de rumiantes.

### Resultados experimentales

Niveles de probiótico	Repeticiones	
	I	II
2	2,60E+04	2,50E+04
4	2,30E+04	2,40E+04
6	2,50E+04	2,30E+04
8	2,20E+04	2,00E+04

### Análisis del ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Miedo	Fisher			Prob
				Cal	0,05	0,01	
Total	7	2,60E+07					
Niveles de probiótico	3	2,10E+07	7,00E+06	5,60	6,59	16,69	0,0647
Error	4	5,00E+06	1,25E+06				
CV %			4,76				
Media			2,35E+04				

### Separación de medias según Tukey P<0,05

Niveles de probiótico	Media	Tukey
2	2,55E+04	a
4	2,35E+04	a
6	2,40E+04	a
8	2,10E+04	a

## ANEXO B: Producción de leche

Producción de leche inicial (L), por efecto de la alimentación en vacas con ensilaje a base de zanahoria, follaje y suero de leche.

### Resultados experimentales

Niveles de probiótico	Repeticiones	
	I	II
0	12,28	13,60
2	16,09	10,60
4	12,04	14,50
6	13,64	14,51
8	15,53	12,04

### Análisis del ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Miedo	Fisher			Prob
				Cal	0,05	0,01	
Total	7	27,02					
Niveles de probiótico	3	1,60	0,53	0,08	6,59	16,69	0,9666
Error	4	25,42	6,35				
CV %			18,51				
Media			13,62				

### Separación de medias según Tukey P<0,05

Niveles de probiótico	Media	Tukey
0	12,94	a
2	13,34	a
4	13,27	a
6	14,08	a
8	13,78	a

Producción de leche a los 7 días (L), por efecto de la alimentación en vacas con ensilaje a base de zanahoria, follaje y suero de leche.

### Resultados experimentales

Niveles de probiótico	Repeticiones	
	I	II
0	12,34	13,30
2	15,76	10,50
4	11,99	15,04
6	14,27	17,59
8	15,43	11,73

### Análisis del ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Miedo	Fisher			Prob
				Cal	0,05	0,01	
Total	7	43,46					
Niveles de probiótico	3	12,15	4,05	0,52	6,59	16,69	0,6834
Error	4	31,31	7,83				
CV %			19,93				
Media			14,04				

### Separación de medias según Tukey P<0,05

Niveles de probiótico	Media	Tukey
0	12,82	a
2	13,13	a
4	13,51	a
6	15,93	a
8	13,58	a

Producción de leche a los 15 días (L), por efecto de la alimentación en vacas con ensilaje a base de zanahoria, follaje y suero de leche.

### Resultados experimentales

Niveles de probiótico	Repeticiones	
	I	II
0	11,65	12,46
2	14,85	10,55
4	12,50	16,26
6	14,91	17,87
8	15,60	11,44

### Análisis del ADEVA

F. Var	gl	S. Cuad	C. Miedo	Fisher			Prob
				Cal	0,05	0,01	
Total	7	52,45					
Niveles de probiótico	3	22,76	7,59	1,02	6,59	16,69	0,4387
Error	4	29,69	7,42				
CV %			19,12				
Media			14,25				

**Separación de medias según Tukey P<0,05**

Niveles de probiótico	Media	Tukey
0	12,06	a
2	12,70	a
4	14,38	a
6	16,39	a
8	13,52	a

Producción de leche a los 22 días (L), por efecto de la alimentación en vacas con ensilaje a base de zanahoria, follaje y suero de leche.

**Resultados experimentales**

Niveles de probiótico	Repeticiones	
	I	II
0	11,57	12,03
2	17,44	10,83
4	13,64	17,63
6	16,31	18,50
8	16,31	11,71

**Análisis del ADEVA**

F. Var	gl	S. Cuad	C. Miedo	Fisher			Prob
				Cal	0,05	0,01	
Total	7	77,60					
Niveles de probiótico	3	34,69	11,56	1,08	6,59	16,69	0,4183
Error	4	42,91	10,73				
CV %			21,41				
Media			15,30				

**Separación de medias según Tukey P<0,05**

Niveles de probiótico	Media	Tukey
0	11,80	a
2	14,14	a
4	15,64	a
6	17,40	a
8	14,01	a

**ANEXO C:** Composición del preparado microbiano nativo utilizado en la investigación

SIMBIOTICO	Suero De Leche	Yogurt	Jugo De Caña	Urea	Sal Mineral	Sulfato de Amonio	Agua
S3	16%	1%	16%	1%	1%	0,2%	64,8%

**ANEXO D: Resultados de análisis bromatológicos de zanahoria y del bioensilaje**

**RESULTADOS DEL ANÁLISIS BROMATOLÓGICO**

CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA	PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN/ REFERENCIA
B160182	ZANAHORIA	Humedad	%	Gravimétrico	90,20	---
		Materia Seca	%	PEE/B/01	9,80	---
		Proteína (Nx6,25)	%	Kjeldahl PEE/B/02	7,16	---
		Grasa	%	Soxhlet PEE/B/03	1,13	---
		Cenizas	%	Gravimétrico PEE/B/04	6,83	---
		Fibra	%	Gravimétrico PEE/B/05	7,40	---
		ENN*	%	Cálculo	77,48	---

ENN\* = Elementos No Nitrogenados  
 Analizado por: Patricia Obando, Jorge Irazábal y Nuvia Pérez  
 Observaciones: Los resultados de proteína, grasa, cenizas y fibra se expresan en base seca.  
 Anexo Gráficos: NA  
 Anexo Documentos: NA



**AGROCALIDAD**  
 AGENCIA ECUATORIANA  
 REGULADORA DEL SECTOR  
 AGROPECUARIO  
 LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA  
 TUMBAZO - ECUADOR

**RESULTADOS DEL ANÁLISIS BROMATOLÓGICO**

CÓDIGO DE MUESTRA LABORATORIO	IDENTIFICACIÓN DE CAMPO DE LA MUESTRA	PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	RESULTADO	ESPECIFICACIÓN/ REFERENCIA
B160208	T1- Tratamiento 1	Humedad	%	Gravimétrico	73,04	---
		Materia Seca	%	PEE/B/01	26,96	---
		Proteína (Nx6,25)	%	Kjeldahl PEE/B/02	14,02	---
		Fibra	%	Gravimétrico PEE/B/05	13,77	---

Analizado por: Patricia Obando, Jorge Irazábal y Nuvia Pérez  
 Observaciones: Los resultados de proteína y fibra se expresan en base seca.  
 Anexo Gráficos: NA  
 Anexo Documentos: NA



**AGROCALIDAD**  
 AGENCIA ECUATORIANA  
 REGULADORA DEL SECTOR  
 AGROPECUARIO  
 LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA Y MICROBIOLOGÍA  
 TUMBAZO - ECUADOR

Lic. Jorge Irazábal  
 Responsable Técnico

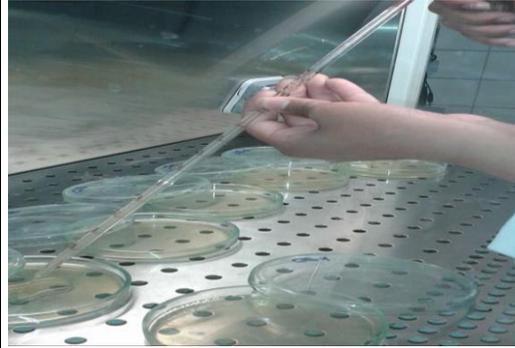
## ANEXO E: Realización del ensilaje

  <p>Picado de la zanahoria y follaje</p>	 <p>Pesado del afrecho de harina</p>
 <p>Probiótico microbiano nativo</p>	 <p>Homogenización de los insumos con el probiótico</p>
 <p>Compactado y almacenado</p>	

## ANEXO F: Análisis microbiológicos



Preparación de diluciones con muestras de bioensilaje



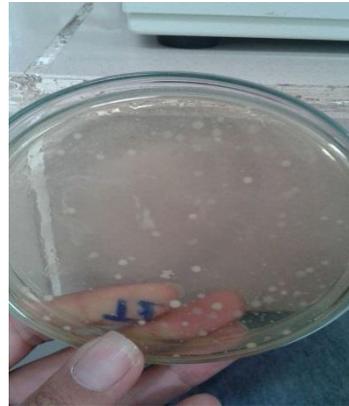
Siembra de bacterias ácido lácticas



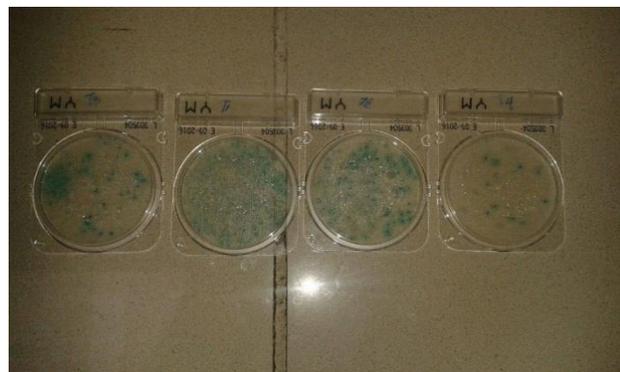
Inoculación de la muestra en placas Petri film



Conteo de microorganismos



Identificación de bacterias ácido lácticas



Identificación de levaduras

**ANEXO G: Aplicación en los rumiantes**



Dosificación de tres kilos diarios a los rumiantes



Colocación del ensilaje en el comedero



Consumo del bioensilaje por los rumiantes