



Universidad Autónoma de Chihuahua
Facultad de Zootecnia y Ecología
Secretaría de Investigación y Posgrado

PRODUCCIÓN DE PROTEÍNA MICROBIANA CON GABAZO DE MANZANA

POR:

M.C. JESÚS FERNANDO BUSTAMANTE CORONA

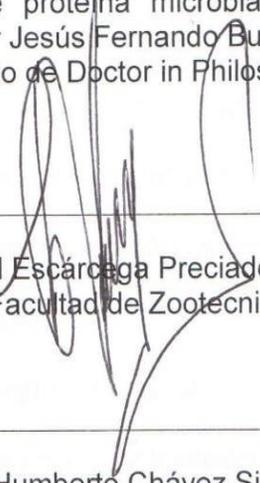
Tesis presentada como requisito parcial para obtener el grado de
Doctor in Philosophia

Área Mayor: Nutrición Animal

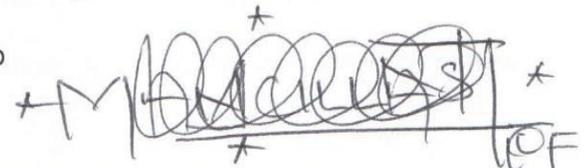
Chihuahua, Chih., México

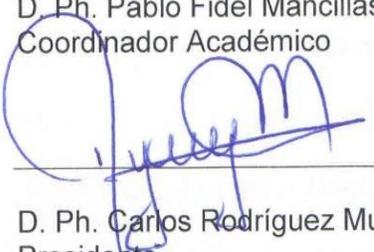
Diciembre de 2015

Producción de proteína microbiana con bagazo de manzana. Disertación presentada por Jesús Fernando Bustamante Corona como requisito parcial para obtener el grado de Doctor in Philosophia, ha sido aprobada y aceptada por:


M. A. Luis Raúl Escártega Preciado
Director de la Facultad de Zootecnia y Ecología


M. C. Antonio Humberto Chávez Silva
Secretario de Investigación y Posgrado


D. Ph. Pablo Fidel Mancillas Flores
Coordinador Académico


D. Ph. Carlos Rodríguez Muela
Presidente

10 de Diciembre de 2015

Fecha

Comité:

D. Ph. Carlos Rodríguez Muela
D. Ph. Daniel Díaz Plascencia
Ph. D. Claudio Arzola Álvarez
Ph. D. Juan Alberto Grado Ahuir
Ph. D. Everardo González Rodríguez

© Derechos Reservados

JESÚS FERNANDO BUSTAMANTE CORONA

DIRECCIÓN: PERIFÉRICO FRANCISCO R.
ALMADA KM. 1, CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO
C.P. 31453

DICIEMBRE 2015

AGRADECIMIENTOS

A Dios.

A mis hijos Mayra Angélica, Jesús Fernando, Ana Paula.

A mis padres y abuelos (†).

A mi alma mater, la Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Zootecnia y Ecología.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por todo el apoyo otorgado para la realización de mis estudios de doctorado.

A la Fundación Produce Chihuahua, A. C. por su incondicional apoyo y financiamiento para la investigación.

A Semillas Agrícolas Balanceadas de México S.A. de C.V. (SABAMEX), y M. A. José Roberto Espinoza Prieto, por el apoyo desinteresado brindado en el desarrollo de la investigación.

Al Laboratorio Degussa Feed Additives, y sus representantes en México por el apoyo brindado en el desarrollo de la investigación.

A mi amigo y asesor D. Ph. Carlos Rodríguez Muela por su guía, consejos, su tiempo y su tan valiosa amistad.

A cada uno de los miembros del Comité de Tesis, D. Ph. Carlos Rodríguez Muela, D. Ph. Daniel Díaz Plascencia, Ph. D. Juan Alberto Grado Ahuir, Ph. D. Claudio Arzola Álvarez y Ph. D. Everardo González Rodríguez por toda la dedicación y por sus tan acertadas sugerencias.

A todos los catedráticos y técnicos, amigos entrañables de la Facultad de Zootecnia y Ecología, que en las aulas, oficinas y pasillos me brindaron su

amistad, conocimientos y experiencias en forma desinteresada y por honrarme especialmente con su amistad.

A todo el personal administrativo de la Facultad de Zootecnia y Ecología, por su amistad y apoyo brindado eficaz, oportuna y desinteresadamente durante mi formación académica y hoy día.

A todos mis amigos, compañeros y hermanos de la Facultad de Zootecnia y Ecología, por todos los momentos compartidos.

A mis estimados amigos, M.V.Z. Carlo Alejandro Egoavil (†), M. A. Raúl Escárcega Preciado, Ph. D. Mario Alberto Levario Quezada, Ph. D. Carlos Ochoa Ortega, Ph. D. Federico Salvador Torres, M.C. Alfredo Anchondo, M.C. Salvador Delgado, Ing. Víctor Minjarez (†), M.C. Octavio Núñez, D. Ph. Daniel Díaz Plascencia, Ph. D. Juan Alberto Grado Ahuir, quienes con su ejemplo y amor a la Facultad de Zootecnia y Ecología, me impulsan a continuar superándome.

A todos mis compañeros cursando o egresados del Sistema Semi-escolarizado, que con gran esfuerzo y responsabilidad y deseos de superación, han seguido los pasos de aquellos primeros alumnos que iniciamos el Sistema Semi-escolarizado en el año de 1995.

A mis compañeros de posgrado, especialmente a Lourdes Torres Medina, Jesús Jurado, José Carmelo Cerros, Mirta Loya Martínez, Amos Palacios, Agustín Becerra (†).

DEDICATORIA

A Dios.

Por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante toda mi vida. Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis queridos hijos: Jesús Fernando, Mayra Angélica y Ana Paula.

Por su comprensión y paciencia, por su apoyo, por compartir muchos de los momentos en las aulas y laboratorios durante mis estudios superiores, por ser parte de mí vida.

A mis padres:

Por haberme apoyado en todo momento, en toda mi educación, tanto académica, como de vida, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, por su incondicional apoyo.

A mis abuelos (Q.E.P.D.):

Por los ejemplos de perseverancia y tenacidad que los caracterizaron y por su ejemplo que me infundaron siempre, por el valor mostrado para salir siempre adelante y por su amor.

A mis maestros:

Por su gran apoyo y motivación que me ayudaron en asesorías y consejos y que marcaron cada etapa de nuestro camino universitario, para la culminación de nuestros estudios profesionales y para la elaboración de esta disertación; por su apoyo incondicional en este trabajo; por su tiempo compartido y por impulsar el desarrollo de nuestra formación profesional.

A mi Alma Mater, la Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Zootecnia y Ecología

Sin su apoyo todo este resultado no habría sido posible, ¡**Gracias!**

CURRÍCULUM VITAE

El autor nació el 29 de octubre de 1961 en la ciudad de Chihuahua, Chihuahua, México.

- 1994 -1999 Estudios de Licenciatura en la Universidad Autónoma de Chihuahua, Titulado Ingeniero Zootecnista en Sistemas Producción.
- 2000 – 2002 Estudios de Posgrado en la Universidad Autónoma de Chihuahua, Titulado Maestro en Ciencias, Área Nutrición Animal.
- 2002 – 2005 Graduado de Estudios de Doctorado Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Zootecnia y Ecología.
- 2007 Coordinador de Extensión y Difusión Secretaría de Posgrado y maestro, Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Enfermería y Nutriología.
- 2008 Maestro del Centro de Estudios del área de la Salud Florence Nightingale, incorporado a la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.
- 2008 - 2009 Maestro del Centro de Bachillerato Tecnológico Chihuahua.
- 2010 -2014 SAGARPA, Coordinador de Programación, Información y Estadística, Distrito Desarrollo Rural “El Carmen”, Flores Magón, Buenaventura Chihuahua.
- 2014-2015 SAGARPA, Jefe Oficina del Centro de Atención de Desarrollo Rural del Municipio de Riva Palacio, Chihuahua.

RESUMEN

PRODUCCIÓN DE PROTEÍNA MICROBIANA CON BAGAZO DE MANZANA

POR:

M. C. JESÚS FERNANDO BUSTAMANTE CORONA

Doctor in Philosophia en Producción Animal

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: D. Ph. Carlos Rodríguez Muela

El objetivo de esta investigación fue desarrollar una metodología para producir proteína microbiana a partir de bagazo de manzana (BM) mediante la técnica de fermentación en estado sólido en condiciones aerobias (FAES). El primer estudio consistió en la producción de proteína microbiana utilizando como sustrato BM que fue fermentado en condiciones aerobias, el BM fue adicionado con 0.5 % sulfato de amonio, 1.0 % Microfos 12 %, en cinco tratamientos: T1 1.5 % urea, T2 1.5 % melaza, T3 1.5 % maíz, T4 1.5 % canola y T5 2.0 % urea; evaluando la humedad (H), materia seca (MS), proteína cruda (PC) y proteína verdadera (PV); los resultados, mostraron diferencia entre tratamientos ($P < 0.05$) encontrando el mejor tratamiento T5 con 33.08 % de PC y 27.21 % de PV; se obtuvo un producto 100 % elaborado con BM nombrándosele manzarina (MZ). En el segundo estudio, se elaboró MZ con bagazo de manzana de desecho fresca (tratamientos T1 y T2), y bagazo de manzana refrigerada (tratamientos T3 y T4); encontrando que T1 32.24 % y T2 31.92 % de PC fueron similares y diferentes a T3 27.40 % y T4 24.94 % de PC ($P < 0.05$), sin embargo en la PV no hubo

diferencia. Durante la FAES hubo cambio en la alcalinidad, de 3.20-3.35 a 6.20-6.59, finalmente se caracterizó a la MZ para conocer su valor nutricional y se realizó análisis de aflatoxinas en la MZ. En el último estudio se elaboraron bloques multinutricionales (BMN) con 30 % PC por el método de fraguado, sustituyendo ingredientes tradicionales con MZ; evaluándose indicadores económicos como: pérdida de peso, dureza, resistencia al agua, así como la calidad nutricional del bloque mediante comparación de producción de gas, no encontrado diferencia entre la producción de gas de BMN tradicionales comparado con BMN elaborados con MZ ($P>0.05$).

ABSTRACT

MICROBIAL PROTEIN PRODUCTION WITH APPLE POMACE

BY:

JESUS FERNANDO BUSTAMANTE CORONA

The objective of this research was to develop a methodology to produce microbial protein from apple pomace (BM) by the technique of solid state fermentation under aerobic conditions (FAES). The first study involved the production of microbial protein using as substrate BM that was fermented under aerobic conditions, the BM was added with 0.5 % ammonium sulfate, 1.0 % Microfos 12 % in five treatments: T1 1.5 % urea, T2 1.5 % molasses, T3 1.5 % corn, T4 1.5 % canola and T5 2.0 % urea; evaluating humidity (H), dry matter (DM), crude protein (CP) and true protein (PV); the results showed no difference between treatments ($P < 0.05$) finding the best treatment T5 with 33.08 % CP and 27.21 % of PV; a product was obtained 100 % made with BM naming him manzarina (MZ). In the second study, MZ was prepared with fresh apple pomace (treatments T1 and T2) and chilled apple pomace (T3 and T4 treatments); finding that T1 and T2 32.24 % 31.92 % CP were similar and different from T3 and T4 27.40 % 24.94 % CP ($P < 0.05$), but in the PV no difference was detected ($P > 0.05$). During the FAES there was a change in the alkalinity from 3.20-3.35 to 6.20-6.59. Finally MZ was characterized to know its nutritional value and an aflatoxin analysis was performed. In the last study multinutrient blocks (BMN) were prepared with 30 % PC by setting method, replacing traditional ingredients with MZ; evaluating economic indicators such as weight loss, hardness, water resistance, as well as the nutritional quality of the block regarding gas production.

No difference in gas production was found between BMN traditional compared to BMN made with MZ ($P>0.05$).



CONTENIDO	Página
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	ix
LISTA DE CUADROS.....	xv
LISTA DE CUADROS DEL APÉNDICE.....	xvi
LISTA DE GRÁFICAS.....	xviii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Antecedentes.....	3
Definición de la Fermentación en Estado Sólido (FES).....	4
Clasificación de las Reacciones de Fermentación Según el Agente.....	5
Fermentación microbiana.....	5
Fermentación por reacciones enzimáticas.....	5
Clasificación de las Reacciones de Fermentación Según el Consumo de Oxígeno.....	5
Aeróbicas.....	6
Anaeróbicas.....	6
Variables a Considerar en la Fermentación del Estado Sólido y su Efectos Sobre el Proceso.....	6
Clase de microorganismo.....	6



Concentración de sustrato.....	6
Concentración de etanol.....	7
Temperatura.....	7
pH.....	7
Concentración de nutrientes.....	8
Aireación.....	8
Consideraciones Generales.....	9
Fermentación en Estado Sólido (SSF).....	10
Fermentación Aerobia en Estado Sólido (FAES).....	15
Ecuación General de Fermentación del Estado Sólido.	16
Sustratos.....	16
Factores Ambientales.....	18
La Temperatura y la Transferencia de Calor.....	19
La Manzana.....	20
Aportación nutricional de la manzana.....	21
Micro-organismos de la Manzana.....	21
Los hongos.....	21
Principales Hongos de la Manzana.....	24
Botrytis cinérea.....	24



Botrytis calicinal.....	24
Botritis lateral.....	24
<i>Alternaria alternata</i>	24
<i>Penicillium expansum</i>	24
Las Levaduras.....	25
Principales Levaduras de la Manzana.....	29
<i>Candida oleophila</i>	29
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	29
<i>Rhodotorula glutinis</i>	29
<i>Kluyveromyces</i>	29
Bloque Multinutricional (BMN).....	30
Los aglutinantes.....	32
Elaboración de los BMN.....	33
Dureza.....	35
Producción de Gas.....	35
LITERATURA CITADA.....	37
ESTUDIO I. PRODUCCIÓN DE PROTEÍNA MICROBIANA MEDIANTE FERMENTACIÓN AERÓBICA EN ESTADO SÓLIDO DE BAGAZO DE MANZANA.....	43
RESUMEN.....	44



ABSTRACT.....	46
INTRODUCCIÓN.....	47
MATERIALES Y MÉTODOS.....	50
Geografía y Clima del Estado de Chihuahua.....	50
Área de Estudio.....	50
Infraestructura.....	51
Equipo.....	51
Descripción de los Tratamientos.....	51
Procedimiento.....	52
Variables Evaluadas.....	54
Análisis Estadístico.....	54
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	55
Humedad.....	55
Materia Seca.....	57
Proteína Cruda.....	59
Proteína Verdadera.....	62
Relación Proteína Cruda –Proteína Verdadera.....	64
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	67
LITERATURA CITADA.....	68



ESTUDIO II. CARACTERIZACIÓN DE MANZARINA ELABORADA DE BAGAZO DE MANZANA DE DESECHO FRESCA Y REFRIGERADA	71
RESUMEN.....	72
ABSTRACT.....	74
INTRODUCCIÓN.....	75
MATERIALES Y MÉTODOS.....	77
Área de Estudio.....	77
Áreas Complementarias.....	77
Infraestructura.....	77
Equipo.....	78
Descripción de los Tratamientos.....	78
Procedimiento.....	78
Variables Evaluadas.....	82
Análisis Estadístico.....	82
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	84
Humedad de la Manzarina.....	84
Materia Seca en la Manzarina.....	86
Proteína Cruda de la Manzarina.....	87
Proteína Verdadera de la Manzarina.....	89
Relación Proteína Cruda / Proteína Verdadera en la Manzarina.....	90



Fibra Cruda de la Manzarina.....	92
El pH Durante el Proceso de Fermentación Aerobia en Estado Sólido del Bagazo de Manzana.....	93
La Temperatura en el Proceso de Elaboración de la Manzarina.....	95
Especificaciones Fitosanitarias de Observancia Obligatorio (Contenido de Aflatoxinas).....	97
Caracterización de Nutrimientos de la Manzarina.....	101
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	105
LITERATURA CITADA.....	106
ESTUDIO III. ELABORACIÓN DE BLOQUE MULTINUTRICIONAL CON MANZARINA.....	109
RESUMEN.....	110
ABSTRACT.....	112
INTRODUCCIÓN.....	113
MATERIALES Y MÉTODOS.....	115
Área de Estudio.....	115
Infraestructura y Equipo.....	115
Descripción de los Tratamientos.....	115
Procedimiento.....	116
Variables Evaluadas.....	116
Análisis Estadístico.....	119



RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	121
Pérdida de Peso de los BMN.....	121
Dureza de los BMN.....	125
Resistencia al Agua de los BMN.....	127
Proteína Cruda de los BMN.....	130
Proteína Verdadera de los BMN.....	132
Producción de Gas de los BMN.....	132
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	137
LITERATURA CITADA.....	138
APÉNDICE.....	142

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Aplicaciones de la fermentación de sustratos sólidos en la obtención de enzimas.....	13
2	Otras aplicaciones de la fermentación de sustratos sólidos.....	14
3	Aportación nutricional de la manzana por cada 100 g.....	22
4	Clasificación científica de las levaduras.....	26
5	Tratamientos experimentales para producción de proteína microbiana.....	53



6	Tratamientos experimentales para producción de proteína microbiana.....	79
7	Efecto de FAES ¹ en el promedio de algunos indicadores bromatológicos en la producción de manzarina con dos fuentes de bagazo de manzana (% Base Seca).....	85
8	Apéndice Normativo A De los límites permitidos en alimentos para consumo animal	99
9	Resultados del análisis de aflatoxinas en manzarina del laboratorio químico de alimentos de SABAMEX.....	100
10	Resultado del análisis químico de la composición de ingredientes de la manzarina	102
11	Resultados del análisis de aminoácidos, contenidos totales después de la hidrólisis de proteínas de la manzarina.....	103
12	Tratamientos utilizados en la elaboración de bloques multinutricionales por el método de fraguado.....	117
13	Medias de la pérdida de peso, dureza y resistencia al agua de los bloques multinutricionales fraguados elaborados con y sin bagazo de manzana.....	122
14	Medias de proteína cruda, proteína verdadera y producción de gas de los bloques multinutricionales fraguados elaborados con y sin bagazo de manzana.....	123
15	Medias del tiempo (minutos) de absorbanza de 20 ml de agua de los bloques multinutricionales (BMN).....	129

LISTA DE CUADROS DEL APÉNDICE

Anexo		Página
1	Resultado del análisis bromatológico de los tratamientos del estudio.....	143
2	Medias \pm error estándar humedad de tratamientos a través del tiempo de elaboración de la manzarina.....	144



3	Medias de materia seca en la producción de manzarina de dos fuentes de bagazo de manzana a través del tiempo.....	145
4	Medias de proteína cruda en la producción de manzarina de dos fuentes de bagazo de manzana a través del tiempo.....	146
5	Análisis de PC y aminoácidos de manzarina (T1).....	147
6	Análisis de PC y aminoácidos de manzarina (T2).....	148
7	Análisis de PC y aminoácidos de manzarina (T3).....	149
8	Análisis de PC y aminoácidos de manzarina (T4).....	150
9	Análisis de PC y aminoácidos de bagazo de manzana de desecho proveniente del huerto.....	151
10	Media de proteína verdadera en la producción de manzarina de dos fuentes de bagazo de manzana a través del tiempo.....	152
11	Media de la fibra cruda en la producción de manzarina de dos fuentes de bagazo de manzana a través del tiempo.....	153
12	Media del pH en la producción de manzarina de dos fuentes de bagazo de manzana a través del tiempo.....	154
13	Promedio diario de temperatura ambiental del 1° al 18 de diciembre del 2004 y del 3 al 20 de enero del 2005 en la elaboración de manzarina.....	155
14	Curva de calibración de aflatoxinas de la manzarina del laboratorio químico de alimentos de SABAMEX	156
15	Mezcla de ingredientes para la elaboración de BMN por el método de fraguado sin manzarina con 30 % PC y 4 % de urea	157
16	Mezcla de ingredientes para la elaboración de BMN por el método de fraguado sin manzarina con 30 % PC y 6 % de urea.....	158
17	Mezcla de ingredientes para la elaboración de BMN por el método de fraguado con manzarina con 30 % PC y 4 % de urea.....	159
18	Mezcla de ingredientes para la elaboración de BMN por el método de fraguado con manzarina con 30 % PC y 6 % de urea.....	160



19	Media de la pérdida de peso (kg) de los BMN a través del tiempo.....	161
20	Media de la dureza (kgf) de los BMN a través del tiempo.....	162
21	Tiempo en minutos de la absorbancia de 20 ml de agua de los bloques multinutricionales.....	163
22	Medias de la producción de gas del BMN durante la digestión <i>in- vitro</i>	164



LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica		Página
1	Media de la humedad de los tratamientos de bagazo de manzana adicionado con fuentes energéticas y proteicas.....	56
2	Media de la materia seca de los tratamientos de bagazo de manzana adicionado con fuentes energéticas y proteicas.....	58
3	Media de la proteína cruda de los tratamientos de bagazo de manzana adicionado con fuentes energéticas y proteicas.....	60
4	Media de la proteína verdadera de los tratamientos de BM adicionado con fuentes energéticas y proteicas.....	63
5	Relación proteína verdadera-proteína cruda de los tratamientos de bagazo de manzana adicionado con fuentes energéticas y proteicas.....	65
6	Relación PV/PC de la producción de manzarina de dos fuentes de bagazo de manzana (BM) a través del tiempo.....	91
7	Promedio de temperatura ambiental diaria del 1° al 18 de diciembre del 2004 y del 3 al 20 de enero del 2005 en la elaboración de manzarina	96
8	Media de la pérdida de peso (kg) de los BMN a través del tiempo.....	124
9	Media de la dureza en kilogramos fuerz (kgf) de los BMN a través del tiempo.....	126
10	Medias de la proteína cruda de los bloques multinutricionales fraguados.....	131
11	Medias de proteína verdadera de los bloques multinutricionales fraguados con diferentes combinaciones de urea, manzarina y aglutinante (bentonita o polvo cálcico y cemento).....	133
12	Medias de la producción de gas del bloque multinutricional durante la digestión <i>in-vitro</i>	135
13	Producción acumulada promedio de gas de la digestión <i>in-vitro</i> del bloque multinutricional a las 24 h de observación.....	136



INTRODUCCIÓN GENERAL

Debido a la incesante demanda de productos alimenticios como resultado del crecimiento de la población humano (Dhillon *et al.*, 2013), a principios del siglo XXI, se intensificó la investigación científica, para incrementar, hacer más eficiente y sustentable la producción de alimentos de origen animal y vegetal; mediante el avance biotecnológico se espera incrementar más la producción agropecuaria.

Actualmente existe un desbalance entre la oferta y la demanda de producción agroalimentaria, que fomenta que granos tradicionalmente empleados en la alimentación animal, ahora sean destinados para la alimentación humana.

Esto realza la importancia del uso de residuos agroindustriales para la industria pecuaria; muchos de estos residuos, literalmente desechos, son vertidos directamente en el medio ambiente, contribuyendo a su deterioro y contaminación (Joshi y Sandhu, 1996). Hoy día, algunos de estos desechos son objeto de estudio, utilizando o desarrollando diversos métodos biotecnológicos para aprovechar su potencial nutrimental en la alimentación animal.

En el Estado de Chihuahua, México, muchos de estos subproductos agroindustriales (melaza, pericarpio, cascarilla de avena, residuos de la industria de panificación, etc.) son utilizados en la alimentación animal.

Una de las frutas y productos derivados de esta que más se consumen en el mundo es la manzana (*Malus sylvestris* var. *domestica*), de esta agroindustria manzanera, se generan varios esquilmos con gran potencial para la alimentación de ganado, estos son: la manzana de desecho (MD) y de la industria juguera, el



bagazo de la manzana (BM), que tan solo de un 20 a 30 % se utiliza en fresco para la alimentación de ganado, arrojando el resto al medio ambiente para su descomposición, lo que libera gases de invernadero y acidifica suelos ya que es un esquilmo ácido con pH de 3.5 o menor, (Aguilar, 2005; Andrade *et al.*, 2008; Dávila, 2009; Dhillon *et al.*, 2013).

El BM y MD, se considera una buena fuente energética dado su alto contenido de azúcares y pectinas (Alibes *et al.*, 1984; Anrique, 1992; Becerra *et al.*, 2008; Zhong-Tao *et al.*, 2009) y se le atribuye un cierto efecto lactogénico derivado del mayor aporte de carbohidratos solubles que pueden aumentar la síntesis de lactosa a nivel de glándula mamaria (Rook y Thomas, 1983).

Sin embargo, suministrada a niveles altos puede ser limitante para asegurar un adecuado funcionamiento ruminal por poseer un bajo nivel de fibra efectiva, siendo fundamental asegurar la provisión de suficiente fibra larga, a fin de estimular la rumia y salivación (Anrique, 1992; Manterola y Cerda, 1993). Adicionalmente, un suministro excesivo podría provocar una menor producción de ácido acético en el rumen.

El objetivo de esta investigación fue desarrollar una metodología para producir proteína microbiana a partir del BM, desarrollando la técnica de fermentación en estado sólido (SSF) en condiciones aerobias para el BM, además realizar la caracterización del producto resultante para conocer su valor nutricional esperando que pueda ser utilizado en la alimentación animal y en la elaboración de bloques multinutricionales como un ingrediente proteico.



REVISIÓN DE LITERATURA

Antecedentes

Los conocimientos sobre la fermentación han sido atesorado desde la antigüedad por importantes civilizaciones como la egipcia y asiria, que la emplearon para la producción de bebidas alcohólicas; o como la azteca y la china que la utilizaron en la obtención de productos alimenticios tales como salsas fermentadas (Brock y Madigan, 1993; Pandey *et. al.*, 2001).

Las técnicas de fermentación se modernizaron a partir de la aparición de técnicas de cultivos puros de células animales y vegetales, al igual que con otro tipo de cultivos microbianos. Así, se industrializa la fermentación y da origen a la microbiología industrial, en la alimenticia se destacan la panificadora y la de bebidas alcohólicas; en la farmacéutica las vacunas, medicamentos, etc., y en la química se producen ácidos, aldehídos, etc. (Banwart, 1979; Godoy y Herrera, 1985; Cañón y Aldana, 1988).

La primera explicación bioquímica del proceso por el cual el azúcar en solución acuosa es descompuesto en alcohol y gas carbónico, en virtud de la acción de células vivas de levadura, la dio el químico francés Louis Pasteur, el cual vio que mientras descomponen el azúcar en ausencia de aire, las células de levadura viven y se propagan en el líquido en fermentación y llamó al proceso de la fermentación alcohólica “vida sin oxígeno” (Banwart, 1979; Brock y Madigan, 1993; Pandey *et al.*, 2001).

De acuerdo con la interpretación bioquímica hecha por Pasteur, la fermentación se conoce como la desasimilación anaeróbica de compuestos orgánicos por la acción de microorganismos u otras células o de extractos



celulares; además, es un conjunto de reacciones bioquímicas a través de las cuales una sustancia orgánica se transforma en otras por acción de ciertos microorganismos (bacilos, bacterias, células de levadura), que en general van acompañadas de un desprendimiento gaseoso y de un efecto calorífico (Brock y Madigan, 1993).

Definición de la Fermentación en Estado Sólido (FES)

La fermentación en estado sólido (FES) es un caso particular entre las técnicas de cultivos en sustratos sólidos que abarca desde el compostaje hasta la fermentación de lodos (Mitchell y Lonsane, 1992).

Moo-Young *et al.*, (1983) definieron la FES como el crecimiento de microorganismos sobre partículas sólidas en ausencia de agua libre en el sistema. El agua presente se encuentra ligada en una forma compleja dentro de la matriz sólida (Cannel y Moo-Young, 1980), como una capa fina absorbida en la superficie de las partículas o atrapada dentro de la región capilar del sólido (Mudgett, 1986).

La fermentación es un proceso que consiste en la transformación de ciertas materias orgánicas bajo la influencia de sustancias específicas llamadas fermentos, enzimas o diastasas. La fermentación transforma las sustancias orgánicas en productos de estructura molecular menos complicadas.

El proceso de FES no sólo incluye la desasimilación anaeróbica como la formación de alcohol, butanol-acetona, ácido láctico, etc., sino también la producción de vinagre, ácido cítrico, enzimas, penicilina, levaduras, etc. Todos estos productos son el resultado de procesos microbianos y se llaman productos de fermentación.



Es común confundir la putrefacción con la fermentación ya que en ambos procesos intervienen microorganismos. La diferencia de la fermentación con la putrefacción radica en que mientras la putrefacción descompone la materia de origen animal y/o vegetal que contiene compuestos nitrogenados, la fermentación realiza descomposición únicamente de material vegetal que no contiene compuestos nitrogenados (Brock y Madigan, 1993; Pandey *et al.*, 2001).

Clasificación de las Reacciones de Fermentación Según el Agente

Brock y Madigan (1993) publicaron una clasificación de las reacciones de fermentación según el agente.

Fermentación microbiana. Promovidas o catalizadas por microorganismos. La reproducción de los microorganismos conlleva a que la reacción tenga un comportamiento autocatalítico siendo la concentración de los microorganismos variable. Dentro de este tipo de reacción hay 2 clases bien definidas:

Cultivos de tejidos o macroorganismos (células vegetales y animales).

Reactores microbianos en sí (cultivo de microorganismos).

Fermentación por reacciones enzimáticas. Catalizadas por enzimas, el agente catalítico no se reproduce y cuando se opera discontinuamente este permanece constante.

Clasificación de las Reacciones de Fermentación Según el Consumo de Oxígeno

Brock y Madigan, (1993) publicaron una clasificación de las reacciones de fermentación según el consumo de oxígeno.

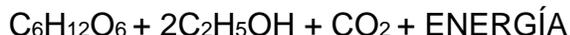
Aeróbicas. Aquí los microorganismos necesitan de oxígeno para poder



sobrevivir. Por ejemplo la reacción de transformación de la glucosa:



Anaeróbicas. Aquí los microorganismos no necesitan de oxígeno para su supervivencia. Por ejemplo la reacción de transformación de la glucosa en la vía glucolítica:



Variables a Considerar en la Fermentación del Estado Sólido y sus Efectos Sobre el Proceso

Con el fin de obtener altos rendimientos en la fermentación es necesario considerar ciertos parámetros y realizar un estudio sobre los efectos que en mayor o menor grado alteren la buena marcha del proceso (Brock y Madigan, 1993; Pandey *et al.*, 2001).

Clase de microorganismo. Los microorganismos más apropiados para la producción de etanol a partir de azúcares son las levaduras de los géneros *Saccharomyces* y *Kluyveromyces* y las bacterias *Zymomonas mobilis*.

Concentración del sustrato. El carbono es suministrado por los azúcares contenidos en la materia prima, siendo la concentración de azúcar un valor que se debe considerar ya que afecta la velocidad de la fermentación, el comportamiento y el desarrollo de las células de la levadura. Suele ser satisfactoria una concentración de azúcar del 10 al 18 %, el valor más corriente es del 12 %. Cuando se trabaja con concentraciones de azúcar muy altas, del orden de 22 %, se observa una deficiencia respiratoria en la levadura y un descenso de la velocidad de fermentación; por el contrario, al trabajar con concentraciones muy bajas, el proceso resulta antieconómico ya que requiere un



mayor volumen para la fermentación (Brock y Madigan, 1993; Pandey *et al.*, 2001).

Concentración de etanol. La levadura es afectada en alto grado por la concentración de alcohol, una concentración alcohólica del 3 % ya influye sobre el crecimiento; una concentración de un 5 % influye tanto sobre el crecimiento como en la fermentación. Cuando la concentración es del 10 %, el crecimiento sufre la paralización total.

Temperatura. La selección de esta variable es influenciada tanto por factores fisiológicos como por problemas físicos (pérdidas debidas a la evaporación de etanol al trabajar con temperatura elevada). Se debe tener en cuenta que para cada levadura existe una temperatura óptima de desarrollo, en la cual se muestra activa. Además, se tiene una zona independiente de la temperatura óptima en la cual la levadura aún presenta actividad; a medida que se aleja de la temperatura óptima su actividad disminuye notablemente. Por debajo de la temperatura señalada como mínima y por encima de la máxima, las levaduras continúan viviendo en estado latente, sin embargo, al exponer cualquier levadura a una temperatura de 55 ° C por un tiempo de 5 min se produce su muerte. En el caso de la *Saccharomyces cerevisiae* se tiene un desarrollo óptimo entre 28-35 ° C, recomendable 30 °C (Brock y Madigan, 1993; Pandey *et al.*, 2001).

pH. Este es un factor importante en la fermentación, debido a su importancia en el control de la contaminación bacteria como también al efecto en el crecimiento de las levaduras, en la velocidad de fermentación y en la formación de alcohol. Durante la fermentación la levadura toma el nitrógeno de los



aminoácidos orgánicos, perdiendo su carácter anfótero y pasando a ácidos, lo cual origina una disminución del pH del medio. Cuanto más bajo el pH del medio, tanto menor el peligro de infección, pero si se trabaja con pH muy bajos la fermentación es muy lenta, ya que la levadura no se desarrolla de la forma conveniente. Según estudios se halló que el pH más favorable para el crecimiento de la *Saccharomyces cerevisiae* se encuentra entre 4.4 - 5.0, con un pH de 4.5 para su crecimiento óptimo (Brock y Madigan, 1993; Pandey *et al.*, 2001).

Concentración de nutrientes. Como ya se dijo, la presencia de sustancias nutritivas adecuadas es una condición necesaria para el crecimiento y desarrollo de la levadura, siendo su concentración un factor primordial en la actividad vital de la levadura. Las principales sustancias nutritivas y las más influyentes son el nitrógeno, fósforo, azufre, vitaminas y trazas de algunos elementos (Pandey *et al.*, 2001).

Aireación. El aire es un factor decisivo en toda fermentación, ya que su presencia hace más vigoroso el crecimiento de la levadura. Hay tres puntos de vista de gran importancia que favorecen el rendimiento debido a una buena aireación:

El libre y constante abastecimiento de oxígeno de cada célula en el sustrato.

La eliminación rápida del CO₂, porque en concentraciones relativamente pequeñas inhibe el crecimiento.

El mantener en suspensión las células de levadura, a fin de que en la tumultuosidad de la mezcla se renueve constantemente el contacto entre la membrana celular y el sustrato nutritivo.



Las cantidades de aire que se precisan para la producción de levadura, varía entre 275 y 530 pies³/lb de levadura con un contenido de 30 % de materia seca. Al comenzar la fermentación se debe procurar que la aireación no sea muy intensa, porque el contenido alcohólico del medio es escaso y pueden proliferar fácilmente los mohos que atacan a las levaduras del cultivo. Los efectos de la aireación son más críticos en la fermentación en continuo con respecto a la fermentación batch, debido a la necesidad de mantener en crecimiento continuo la levadura, como también una velocidad de fermentación satisfactoria (Brock y Madigan, 1993; Pandey *et al.*, 2001).

Consideraciones Generales

Raimbault (1998) definió la transformación microbiana aeróbica de los materiales sólidos o de "fermentación en sustrato sólido" (SSF) en términos de las siguientes propiedades:

Una matriz sólida y porosa que puede ser biodegradable o no, pero con una gran área de superficie por unidad de volumen, en el rango de 10^3 a 10^6 m² / cm³, para un crecimiento microbiano en la interfaz sólido / gas.

La matriz debe absorber el agua que asciende una o varias veces su peso en seco con una actividad relativamente alto de agua en la interface sólido / gas.

Mezcla de aire de oxígeno con otros gases y aerosoles que fluyen bajo una presión relativamente baja y la mezcla de la masa en fermentación.

La interfaz sólido / gas debe ser un buen hábitat para el rápido desarrollo de las culturas específicas de los mohos, levaduras o bacterias, ya sea en cultivos puros o mixtos.

Las propiedades mecánicas de la matriz sólida deben estar con



compresión o agitación suave, como se requiere para un proceso de fermentación dado. Esto requiere de pequeñas partículas granulares o fibrosos, que no tienden a romperse o se pegan unas a otras.

La matriz sólida no debe ser contaminada por los inhibidores de las actividades microbianas y debe ser capaz de absorber o contener alimentos disponibles, tales como hidratos de carbono (celulosa, almidón, azúcares), las fuentes de nitrógeno (amoníaco, urea, péptidos) y sales minerales.

Fermentación en Estado Sólido (SSF)

Ejemplos típicos de SSF son fermentaciones tradicionales como:

Japonés "koji", que utiliza arroz cocido al vapor como sustrato sólido inoculados con cepas sólida del hongo *Aspergillus oryzae*.

Indonesia "tempeh" o indios "ragi" que utilizan vapor y agrietan semillas de leguminosas como sustrato sólido y una variedad de hongos no tóxicos como semilla microbiana.

Francia "queso azul", que utiliza queso fresco perforado como sustrato y hongos seleccionados, tales como *Penicillium roquefortii* como inculo.

El compostaje de fibras lignocelulósicas, naturalmente contaminados por una gran variedad de organismos, incluyendo bacterias celulolíticas, hongos y *Streptomyces sp.*

Además, las nuevas aplicaciones de SSF se han sugerido para la producción de antibióticos, los metabolitos secundarios (Raimbault, 1998), alimentos enriquecidos o enzimas (Fatma *et al.*, 2013).

En la actualidad SSF se ha aplicado a gran escala de procesos industriales, principalmente en Japón. Koji tradicionales, fabricados en pequeñas



bandejas de madera y bambú, ha cambiado poco a poco a procesos más sofisticados: fija las fermentaciones, sitio de la cama, la rotación del tambor y los procesos automatizados cámaras de acero inoxidable o en bandejas con microprocesadores, sensores electrónicos y agitación carga y descarga mecánica.

SSF es un proceso por lotes con materiales naturales heterogéneos que contiene polímeros complejos como la lignina, pectina, lignocelulosa (Banwart, 1979; Raimbault, 1998). SSF se ha enfocado principalmente a la producción de alimentos, enzimas hidrolíticas, ácidos orgánicos, giberélico, sabores y bioplaguicidas.

La mayor parte de la actividad de investigación en los últimos SSF se está haciendo en las naciones en desarrollo como una posible alternativa para la fermentación sumergida convencionales, que son el proceso principal en la industria farmacéutica y de alimentos en los países industrializados.

Las siguientes consideraciones resumen el estado actual de la SSF (Raimbault, 1998): Potencialmente muchos productos de alto valor, como enzimas, metabolitos primarios y secundarios, que podría producir en la SSF. Pero las mejoras en la ingeniería y los aspectos socio-económicos son necesarios porque los procesos deben utilizar sustratos baratos disponibles localmente, de baja tecnología aplicable en las zonas rurales, y por lo tanto, los procesos deben ser simplificados.

El potencial existe en los países desarrollados, pero cerca de la cooperación y el intercambio entre países en desarrollo y los países industrializados son necesarios para una mayor aplicación de la SSF.



El mayor potencial socio-económico del SSF es mediante la producción de alimentos ricos en proteínas para el consumo humano. La deficiencia de proteínas es una de las principales causas de la desnutrición mundial y el problema empeora con el aumento de la población mundial. Ante este panorama se presentan dos alternativas que se pueden explorar para hacer frente a este problema.

La producción de proteína enriquecida en alimentos fermentados para el consumo humano directo. Esta alternativa consiste en sustratos de almidón con un valor inicial nutricional calórico. El éxito en la producción de estos alimentos se requiere la demostración de la viabilidad económica, la seguridad, la mejora significativa de nutrición y la aceptabilidad cultural.

O mediante la producción de sustancias fermentadas para la alimentación animal. Los sustratos proteicos de almidón enriquecidos mediante técnicas de SSF podrían alimentar animales monogástricos o aves de corral. Fermentado sustratos lignocelulósicos, que aumenten la digestibilidad de la fibra, podrían alimentar rumiantes. En este caso, la viabilidad económica debe ser favorable en comparación con el modelo común el uso de proteínas de la pasta de soya, un subproducto de la extracción del aceite de soya (Raimbault, 1998).

En los Cuadros 1 y 2 se muestran diferentes aplicaciones de la SSF en la obtención de microorganismos.



Cuadro 1. Aplicaciones de la fermentación de sustratos sólidos en la obtención de enzimas

Enzima	Microorganismo	Sustrato
Celulaza	<i>Trichoderma reesei</i> + <i>A. Phoenics</i>	Bagazo de caña
Celulaza, β glucosidaza	<i>Aspergillus niger</i>	Residuos de la agroindustria
Celulaza, ligninaza	Cepas de <i>Basidiomicetos</i>	Bagazo de caña
Xilanaza	<i>Sporotrichum pulvurulentum</i>	Salvado de trigo
Lacaza	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Paja de trigo
Proteaza alcalina	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Frijol de soya
Proteaza ácida	<i>Aspergillus niger</i>	Salvado de trigo
Proteaza neutral	<i>Bacillus licheniformis</i>	Salvado de trigo
α amilaza	<i>Bacillus licheniformis</i>	Salvado de trigo
Lipasa	<i>Candida rugosa</i>	Pulpa y aceite de coco
β galactosidasa	<i>Aspergillus oryzae</i>	Salvado de trigo
α amilaza	<i>Bacillus subtilis</i>	Residuos de plátano
Glucoamilaza	<i>Rhizopus spp.</i>	Yuca
Tanaza	<i>Rhizopus oryzae</i>	Salvado de trigo + ácido tánico

Mitchell y Lonsane, 1992.



Cuadro 2. Otras aplicaciones de la fermentación de sustratos

Aplicación	Producto	Sustrato	Microorganismo	Tipo de bioreactor
Incremento de digestibilidad	Alimento Animal	Cáscara de yuca	<i>Manihot esculenta</i>	
		Cáscara de naranja	<i>Pleurotus ostreatus</i> <i>Agrocybe aegerita</i> <i>Armillariella mellea</i>	Bolsas de nylon
Incremento del valor nutricional	Alimento Animal	Paja de trigo	<i>Chaetomium cellulolyticum</i> <i>Candida lipolytica</i>	Sistema mixto
		Pulpa de café	<i>Aspergillus niger</i>	Cama empacada
		Almidón	<i>Rhizopus oligosporus</i>	Cama empacada
	Proteína unicelular	Pulpa de remolacha	<i>Trichoderma reesei</i>	
		Pulpa de remolacha	<i>Trichoderma viride</i>	Horno de caja de escala piloto
		Estiércol	<i>Chaetomium cellulolyticum</i>	
	Tempeh	Frijol de soya	<i>Rhizopus oligosporus</i>	Bandeja Tambor rotatorio Bandeja
	Proteína unicelular	Aserrín	<i>Chaetomium cellulolyticum</i>	
		Sustrato lignocelulósico	<i>Chaetomium cellulolyticum</i>	Frascos
		Almidón de yuca	<i>Rhizopus oligosporus</i>	Portador inerte
	Despojos de plátano	<i>Aspergillus niger</i>	Tanque agitado a escala piloto	
	Cáscara de cítrico	<i>Aspergillus niger</i>	Cama empacada	
Proteína y etanol	Forraje de remolacha	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Continuo a escala piloto	
	Maíz	<i>Aspergillus niger</i>	Frascos	
	Bagazo de caña	<i>Schwaniomyces Castelli</i>	Columnas empacadas	

Mitchell y Lonsane, 1992



Fermentación Aerobia en Estado Sólido (FAES)

Desde la década de los 90's en Cuba se ha puesto especial atención en la utilización de los esquilmos agrícolas como fertilizantes y en procesos de fermentación para elevar el bajo contenido nutricional mediante el crecimiento de microorganismos benéficos (principalmente levaduras) para la nutrición animal (Elías, 2004).

El proceso de FAES, se realiza en presencia de oxígeno lo que permite el desarrollo de una gran cantidad de microorganismos capaces de utilizar casi cualquier sustrato orgánico para desarrollarse (Elías, 2004).

Para el crecimiento de levaduras (Phaff *et al.*, 1966), al igual que de otros organismos (Hobbson, 1988) deben estar presentes ciertos elementos químicos esenciales como nitrógeno y minerales que deben estar disponibles en condiciones ambientales favorables para su asimilación.

Veamos como ejemplo, que el salvado de trigo, cascarilla de semilla de algodón y algunos otros subproductos agrícolas son usados como sustratos para la producción de ácido láctico por *Lactobacillus amylophilus* GV6 mediante SSF, que se utilizan en alimentos, productos farmacéuticos, pieles, industria textil y en la síntesis de plásticos biodegradables. En este proceso se ha estudiado el efecto de fuentes de bajo costo de proteína y nitrógeno utilizando residuos de lenteja fermentados con levadura de pan, encontrando que la producción de ácido láctico es significativamente afectada por la iteración: levadura, el periodo de incubación y CaCO_3 , observándose un efecto lineal sobre la producción de ácido láctico (Phaff *et al.*, 1966; Altaf *et al.*, 2005; Zhong-Tao *et al.*, 2009).

Ecuación General de Fermentación del Estado Sólido

Una ecuación general para el proceso de fermentación se puede sintetizar



como:

“Microorganismo + sustrato más microorganismo + productos metabólicos”

Estos productos metabólicos, también llamados metabolitos, son subproductos del crecimiento de los microorganismos y constituyen los materiales de la fermentación útiles al hombre (Cannel y Moo-Young, 1980).

Durante el proceso de fermentación se desarrolla un medio ambiente propicio para el crecimiento de microorganismos, incluyendo patógenos como mohos y hongos; mediante el proceso de fermentación aerobia se desarrollan estándares y técnicas para controlar el crecimiento de estos microorganismos oportunistas y permitir el desarrollo óptimo de organismos como las levaduras factibles de ser utilizables para la alimentación animal desarrollándolas a partir de esquilmos agrícolas, frutícolas y hortícolas (Elías y Lezcano, 1993).

Sustratos

El problema más importante de la FAES es la gran heterogeneidad de los sustratos, lo que hace difícil enfocar una categoría de los procesos de hidrólisis y lleva a pobres ensayos de modelado, debido a que esta heterogeneidad es de distinta naturaleza (Rahmat *et al.*, 1995; Elías, 2004; Guerrero *et. al.*, 2004). Todos los sustratos sólidos tienen una característica común: su estructura macromolecular básica. En general, los sustratos para la FAES son productos compuestos y heterogéneos de la agricultura o subproductos de la agroindustria. Esta estructura macromolecular básica (por ejemplo, celulosa, almidón, pectina, lignocelulosa, fibras, etc.) confiere las propiedades de un sólido al sustrato (Elías y Lezcano, 1992; Elías y Lezcano, 1993; Elías y Lezcano, 1994.)



La macromolécula estructural simplemente puede proporcionar una matriz inerte (bagazo de manzana, bagazo de caña, fibras inertes, resinas) dentro de los cuales son absorbidos por la fuente de carbono y energía (azúcares, lípidos, ácidos orgánicos). Pero, en general, la matriz macromolecular representa el sustrato y ofrece también la fuente de carbono y energía (Elías, 2004).

La preparación y pre-tratamiento representan los pasos necesarios para convertir el sustrato bruto a una forma adecuada para su uso, que incluyen:

La reducción de tamaño mediante trituración, raspado o picado.

Física, química o hidrólisis enzimática de los polímeros para aumentar la disponibilidad de sustrato por el hongo.

Suplementación de nutrientes (fósforo, nitrógeno, sales) y el establecimiento de pH y contenido de humedad, a través de una solución mineral.

Cocción o tratamiento de vapor para la estructura macromolecular pre-degradación y eliminación de los contaminantes más importantes.

La variabilidad del sustrato entre lotes, lo que limita la reproducibilidad.

Dificultad para mezclar, masa sólida en la fermentación, con el fin de evitar la compactación, lo que provoca el crecimiento no uniforme.

Los gradientes de temperatura, pH y humedad.

La estructura no uniforme del sustrato (mezcla de almidón, lignocelulosa, pectina).

Factores Ambientales

Los factores ambientales tales como la temperatura, el pH, la actividad del agua, los niveles de oxígeno y las concentraciones de nutrientes y productos afectan de manera significativa el crecimiento microbiano y la formación del



producto.

En los cultivos sumergidos agitados, el control ambiental es relativamente sencillo debido a la homogeneidad de la suspensión de las células microbianas y de la solución de nutrientes y productos en la fase líquida (Guerrero *et al.*, 2004; Becerra *et al.*, 2008).

El bajo contenido de humedad de la FAES permite un volumen de reactor más pequeño por masa de sustrato y simplifica la recuperación de productos (Moo-Young *et al.*, 1983). Sin embargo, surgen serios problemas con respecto a la mezcla, el intercambio de calor, la transferencia de oxígeno, el control de la humedad y los gradientes de pH, los nutrientes y de los productos resultantes como consecuencia de la heterogeneidad del cultivo (Zhong-Tao *et al.*, 2009; Dhillon, 2011).

La última característica de la FAES, para hacer la medición y control de los parámetros antes mencionados, es difícil, mucho muy laboriosa y con mucha frecuencia imprecisa, limitando así su posible potencial industrial de esta tecnología (Kim *et al.*, 1985). Debido a todos estos factores, los microorganismos (hongos y levaduras) que han sido seleccionados para la FAES son los más tolerantes a una amplia gama de condiciones medio ambientales de cultivo (Mudgett, 1986).

La Temperatura y la Transferencia de Calor

La ecuación estequiométrica global de la respiración es altamente exotérmica y la generación de calor por los altos niveles de actividad de hongos dentro de los sólidos eleva los gradientes térmicos debido a la capacidad de transferencia de calor limitado de los sustratos sólidos. En los procesos



aeróbicos, la generación de calor se puede aproximar a partir de la tasa de CO_2 o la evolución del consumo de O_2 . Cada mol de CO_2 producido durante la oxidación de hidratos de carbono libera 673 Kcal (Raimbault, 1998; Dhillon *et al.*, 2012).

Por lo tanto, es importante medir la evolución de CO_2 durante la FAES, ya que está directamente relacionada con el riesgo de aumento de la temperatura. Cálculos detallados de la relación entre la respiración, el calor metabólico y la temperatura fueron discutidos en las primeras obras de FAES con *Aspergillus niger* en sustrato de yuca o almidón de patata (Raimbault, 1998; Becerra *et al.*, 2008; Dhillon *et al.*, 2012).

La tasa global o de transferencia de calor puede estar limitada por la transferencia de calor entre las partículas y por la cantidad de calor que se transfiere desde la superficie de la partícula de la fase gaseosa. Las características térmicas de la materia orgánica y el bajo contenido de humedad de los sustratos en la FAES son condiciones especialmente difíciles para la transferencia de calor.

En condiciones naturales, la radiación solar es el estimulador principal de cambios en la fotosíntesis, en estudios con cultivos mixtos de organismos celulolíticos como el hongo *Trichoderma viride* y la levadura *Candida utilis*, utilizado con tratamiento alcalino y la radiación gamma obtuvieron una mayor producción de biomasa a partir del bagazo (Duru *et al.*, 2003).

La Manzana

En el Estado de Chihuahua en 2014 la producción de manzana fue de 360,000 toneladas anuales (SIAP, 2014; Asociación de Manzaneros de



Cuauhtémoc, 2014), el 70 % está clasificada como manzana de mesa y 30 % de MD; esta última, se aprovecha para la extracción de jugo y en la producción de confitería o bien se pierde en la huerta debido a que en la mayoría de las ocasiones no cuenta con precio suficiente ni para la cosecha misma (Becerra y Rodríguez, 1998; Díaz, 2006; Becerra *et al.*, 2008).

Becerra y Rodríguez (1998) indicaron que en estas industrias, el 40 % se desecha en forma de subproducto de manzana, por lo que esto alcanza en promedio las 144,000 toneladas anuales, lo que pudiera representar una fuente potencial para la suplementación del ganado (SIAP, 2014).

El BM generado en el proceso de extracción de jugo de manzana representa entre 25 al 30 % de la fruta procesada (Joshi y Sandhu, 1996); Manterola *et al.*, (1999) indicaron que el BM es del 15 al 20 %; Anrique y Paz (2002) mencionaron que el BM resultado del procesamiento del fruto para la extracción de néctar incluye cáscaras, semillas, restos fibrosos de pulpa y que mediante el proceso de extracción por rodillo se generan de entre 15 a 19 kg de bagazo por cada 100 kg de manzana.

El BM se caracteriza por su elevado contenido de azúcares solubles, bajo porcentaje de proteína y presencia de diversos compuestos como ácidos orgánicos, pectinas, ceras y taninos (Zhong-Tao *et al.*, 2009). Los componentes más variables de la pulpa fresca son la materia seca (MS, 14-26 %), la fibra cruda (FC, 14-23 %) y la proteína cruda (PC, 4-8 % base MS), variación influida por el tipo de manzana, su estado de madurez y diferencias en el procesamiento (Manterola y Cerda, 1993; Anrique y Paz, 2002; Díaz, 2006; Francia *et al.*, 2006; Dávila, 2009). Su baja fracción proteica está principalmente asociada a la cáscara



y semilla, por lo que el proceso industrial y la variedad son factores determinantes. Dado el bajo nivel de proteína del recurso, la digestibilidad aparente de la proteína (23-35 %) es baja (Oltjen *et al.*, 1977; Givens y Barber, 1987).

El BM en la mayoría de los casos para su disposición final es arrojado en el medio ambiente y es en la actualidad un serio problema en perjuicio del ecosistema (Joshi y Sandhu, 1996; Dhillon *et al.*, 2013) esto debido a la contaminación que generan las sustancias químicas que libera durante su proceso de putrefacción.

Aportación nutricional de la manzana. La manzana es considerada como un fruto muy nutritivo y es recomendado ampliamente en la dieta humana, en el Cuadro 3 se muestra la aportación nutricional en 100 g de manzana.

Micro-organismos de la Manzana

Los hongos. Como cualquier otro cultivo, la manzana es atacada por micro-organismos en pre y pos-cosecha, siendo los principales patógenos los hongos que son organismos heterotróficos que carecen de las raíces, tallo y hojas característicos de las plantas superiores.

Los hongos que poseen un talo y se denominan talofitos. Se diferencian de las algas y de las plantas superiores por la ausencia de clorofila, de aquí que sean



Cuadro 3. Aportación nutricional de la manzana por cada 100 g

Elemento	Cantidad	Unidad
Calorías	59.00	Kcal
Carbohidratos	15.00	g
Proteínas	0.19	g
Fibras	2.70	g
Lípidos	0.40	g
Potasio	115.00	mg
Calcio	7.00	mg
Fosforo	7.00	mg
Magnesio	5.00	mg
Azufre	5.00	mg
Hierro	0.18	mg
Vitamina B3 (Niacina)	0.17	mg
Vitamina A	53.00	UI
Vitamina E	0.40	mg

www.alimentacion-sana.com.ar/informaciones/novedades/manzana.htm, 2008

saprófitos o parásitos. Difieren de las bacterias por su estructura más compleja y mayor tamaño. Los hongos pueden ser unicelulares o multicelulares, su unidad estructural fundamental son unos filamentos o tubos denominados hifas, cuando las hifas se alargan, se entrelazan, a la masa de hifas ramificadas entrelazadas



se denomina micelio, parte del cual crece en el sustrato y absorbe alimento, el micelio que permanece en el aire por encima del sustrato y posee esporas se denomina micelio aéreo o reproductivo (Banwart, 1979).

Son muchos los hongos aislados de los alimentos y la infestación depende de su prevalencia ambiental. Aunque son importantes en todo tipo de alimentos, los hongos son más susceptibles de producir daño y de amenazar la salud en alimentos como cereales, harina o frutos secos con escasa concentración de agua o en frutos con pH bajo (Banwart, 1979).

Los hongos son principalmente controlados mediante el uso de fungicidas sintéticos. Otra alternativa para el control de hongos, es usar un método de control biológico, que incluye, entre otras ventajas, la disminución de los riesgos de salud que implica el uso de productos químicos sintéticos, con esta práctica en forma recurrente es posible que se presente el desarrollo de resistencia de los microorganismos a los fungicidas (Guerrero *et al.*, 2004)..

Aunque los mohos asociados con los alimentos no se consideran patógenos, algunos como la *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* producen aflatoxinas relacionadas sobradamente con enfermedades humanas representan un potencial peligro para la salud del hombre (Banwart, 1979).

Algunos hongos son utilizados para convertir desechos agrícolas o agroindustriales en proteína utilizable para la alimentación animal o el uso humano, por ejemplo el *A. niger*, crece en los desechos de las cerveceras, contiene un 29 % de proteína cruda y puede ser usado como forraje suplementario (Banwart, 1979).



Principales Hongos de la Manzana

Botrytis cinérea. Este hongo permanece latente en restos florales adheridos a los frutos.

Botrytis calicinal. Los síntomas se manifiestan a los dos meses de almacenaje en frío. La pudrición del fruto se inicia en el extremo calicinal (del lado contrario del pedúnculo), desde donde avanza hacia el interior del fruto. La pulpa presenta una mancha marrón típica, con descomposición de los tejidos. En el almacenaje, la fruta afectada es el foco inicial de infección para las frutas adyacentes, provocando el llamado “efecto nido”.

Botritis lateral. La infección se produce después de la cosecha y el hongo penetra por heridas presentes en la epidermis (piel de los frutos o por el simple contacto del micelo, que se extiende desde una fruta con pudrición calicinal a las vecinas sanas.

Alternaria alternata. El hongo inicia su colonización en el huerto y se aloja en las flores, luego de la cuaja, infecta la cavidad calicinal del fruto, el hongo no puede ser controlado en pos-cosecha; Corazón mohoso, se caracteriza por la presencia de hongos de coloración negra en la cavidad carpelar y en las semillas, afecta la pulpa con una coloración marrón que puede abarcar una extensa zona alrededor del corazón de la manzana, afecta a variedades de manzanas rojas del grupo de la Delicious y Fuji.

Penicillium expansum. Abunda en los huertos y en los elementos de transporte, palets y cámaras de almacenaje, es el patógeno más común en todas la variedades de manzana, penetra la fruta sólo por heridas; Moho azul, la pudrición blanca se distingue por la presencia visible del hongo, de coloración verde, que aparece al poco tiempo de que la fruta ha sido almacenada, lo mismo



que la pudrición calcinal, la fruta con lesiones esporuladas contamina a sus vecinas.

Las Levaduras

Se denomina levadura a cualquiera de los hongos microscópicos unicelulares importantes por su capacidad para realizar la descomposición mediante fermentación de diversos cuerpos orgánicos, principalmente azúcares o hidratos de carbono, en el Cuadro 4 se presenta la clasificación de las levaduras (Bonnet y De Jonge, 1969; Sina *et al.*, 2005; Dhillon *et al.*, 2011).

Las levaduras han sido definidas como hongos en los que la forma usual más dominante o más conspicua es unicelular, lo cual constituye cierta ventaja sobre la forma micelial de los mohos. Hay una mayor relación superficie/volumen, que permite una mayor actividad metabólica. Además la forma unicelular se disemina más fácilmente que la micelial (Banwart, 1979).

Las levaduras intervienen en el deterioro de varios productos alimentarios, particularmente los que contienen azúcares, alimentos en salmuera y frutas, algunas variedades son muy importantes en la fermentación de bebidas alcohólicas, en la industria pastelera, química, en la producción de proteína, en las aguas residuales, etc. (Phaff, 1966; Banwart, 1979).

Las levaduras epifitas son agentes naturales de control biológico y han sido evaluadas extensamente a nivel internacional con tal propósito en



Cuadro 4. Clasificación científica de las levaduras

Dominio	<i>Eucariota</i>	Reino	<i>Fungi</i>		
Filo	Subfilo	Clase	Genero	Especie	
<i>Ascomycota</i>	<i>Taphrinomycotina</i>	<i>Schizosaccharomycetes</i>			
		<i>Hemiascomycetes</i>			
		<i>Euascomycetes</i>			
	<i>Pezizomycotina</i>	<i>Laboulbeniomycetes</i>			
		<i>Eurotiomycetes</i>			
		<i>Lecanoromycetes</i>			
		<i>Saccharomycotina</i>	<i>Saccharomycetes</i>	<i>Candida</i>	<i>Oleophila</i>
			<i>Taphrinomycotina</i>		
	<i>Basidiomycota</i>	<i>Teliomycotina</i>			
			<i>Urediniomycetes</i>	<i>Sporidiales</i>	<i>Rhodotorula</i> <i>Glutinis</i>
				<i>Diobovatum</i>	
				<i>Mucilaginoso</i>	
		<i>Ustilaginomycotina</i>	<i>Ustilaginomycetes</i>		
		<i>Hymenomycotina</i>	<i>Homobasidiomycetes</i>		
		<i>Heterobasidiomycetes</i>			

Sina *et al.*, 2005.

manzana y otros frutos (Pinilla y Álvarez, 2003; Guerrero *et al.*, 2004).

Algunos textos de botánica consideran que las levaduras "verdaderas" pertenecen sólo a la clase *Ascomycota*, desde una perspectiva microbiológica se ha denominado levadura a todos los hongos con predominio de una fase



unicelular en su ciclo de vida, incluyendo a los hongos *basidiomicetes* (Bonnet y De Jonge, 1969). La levadura es la primera célula eucariota en la que se ha intentado expresar proteínas recombinantes debido a que es de fácil uso industrial: es barata, cultivarla es sencillo y se duplica cada 90 min en condiciones nutritivas favorables.

Los organismos eucariontes forman el dominio *Eukarya* que incluye a los organismos más conocidos, repartidos en cuatro reinos: *Animalia* (animales), *Plantae* (plantas), *Fungi* (Hongos) y *Protista* (Sampedro, 2002; Lynn y Sagan, 2003).

Las células eucariotas contienen en principio mitocondrias, organelos que habrían adquirido por endosimbiosis de ciertas bacterias primitivas, lo que les dota de la capacidad de desarrollar un metabolismo aerobio. Algunos eucariontes realizan la fotosíntesis, gracias a la presencia en su citoplasma de orgánulos llamados plastos, los cuales derivan por endosimbiosis de bacterias del grupo denominado cianobacterias (algas azules), esta clase de células requieren de la presencia de una fuente nitrogenada (Lynn y Sagan, 2003).

Las levaduras carecen de plastos por lo que no pueden realizar la fotosíntesis ni utilizar el nitrógeno como fuente energética, sin embargo, parasitan el crecimiento de otros organismos celulares eucariontes. Las levaduras se reproducen asexualmente por gemación o brotación y sexualmente mediante ascosporas o basidioesporas (Lynn y Sagan, 2003).

Las células en crecimiento se dividen con más rapidez mientras más pequeñas sean; eso se ha comprobado en bacterias, levaduras y células de los meristemos. La reproducción se realiza por división directa o amitosis y división



indirecta mitosis o cariocinesis. Sin embargo entre un método y otro, existe una modalidad intermedia llamada haplomitosis (Sampedro, 2002; Lynn, 2003 y Lynn y Sagan, 2003).

Durante la reproducción asexual, una nueva yema surge de la levadura madre esto se ve con frecuencia cuando se dan las condiciones medio ambientales adecuadas, tras lo cual la yema se separa de la madre al alcanzar un tamaño adulto. En condiciones de escasez de nutrientes las levaduras que son capaces de reproducirse sexualmente formarán ascosporas. Las levaduras que no son capaces de recorrer el ciclo sexual completo se clasifican dentro del género *Candida* (Sampedro, 2002; Lynn, 2003).

Guerrero *et al.*, (2004) llevaron a cabo la identificaron de levaduras epifitas en frutos de manzana recolectados en el estado de Chihuahua, México, en los municipios de Cuauhtémoc, Bachíniva y Namiquípa, en huertas que presentaban un manejo agronómico deficiente, los frutos fueron recolectados en madurez fisiológica durante los meses de agosto a octubre del 2000, en estos frutos fueron identificadas a nivel de especie las cepas de levaduras presentes, esta identificación se realizó en el instituto Central Bureau Voor Schimmel cultures (Institute of the Royal Academy of Arts. and Sciences) de Utrecht, Holanda, fueron identificadas seis tipos de levaduras: dos cepas de *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula diobovatum*, *Rhodotorula mucilaginosa* y las tres restantes de la variedad de *Candida oleophila*, esta última presentó características en su comportamiento que la situaron con gran ventaja sobre *R. glutinis* y *R. mucilaginosa*.



Principales Levaduras de la Manzana

Guerrero *et al.*, (2004) determinaron la capacidad de crecimiento de las levaduras en temperaturas desde los 4 °C hasta los 37 °C, a menor temperatura es más rápido el crecimiento de levaduras del género *Candida* con una mayor adaptación al ambiente y un dominio más rápido de las poblaciones microbianas naturales de la fruta.

Las levaduras epifitas se pueden desarrollar de acuerdo con las condiciones de oxígeno del medio ambiente en el que se encuentran y pueden soportar amplias variaciones de pH que están comprendidas en el rango de 2.8 a 8.5.

Las levaduras de mayor presencia en el fruto de la manzana son:

Candida oleophila. Se reproduce por gemación, es fagocita del *Penicillium expansum pp.*

Rhodotorula mucilaginosa. Su reproducción es por gemación polar, indica reproducción vegetativa.

Rhodotorula glutinis. Se reproduce por gemación bipolar.

Kluyveromyces. Se reproduce por gemación multilateral, algunas especies producen un pigmento rojo, pero las colonias son blanco grisáceas, o de color crema parduzco. Muestran una fuerte fermentación y crecen a una temperatura comprendida entre 5 °C y 46 °C.

Los diferentes usos de las levaduras son: Como fuente de vitaminas del complejo B y de tiamina. En algunas fases de la producción de antibióticos y hormonas esteroides. Como alimento para animales y seres humanos.

Las cepas puras de levaduras se cultivan en un medio con azúcares, compuestos nitrogenados, sales minerales y agua, el producto final puede



aparecer en forma de células secas de levadura.

Bloque Multinutricional (BMN)

La producción de ganado de carne y/o leche, supone sistemas de producción particulares, donde el ambiente juega un papel primordial.

En estos sistemas de producción, normalmente la suplementación tiene un rol preponderante, esta se da en forma de harinas o granulados, esto implica grandes áreas de almacenamiento, la utilización de comederos y sobre todo mucho manejo, además de pérdidas al momento de servir y durante el almacenamiento, con el uso de estos suplementos se requiere mucho trabajo para su distribución en los potreros, caminos de acceso y cambio de comederos que limitan su distribución en los potreros, la suplementación sin estas acciones realmente reduce la utilización de todo el pastizal.

Otra alternativa de suplementación son los BMN, estos suministran los elementos nutritivos requeridos por el ganado y mejoran la eficiencia del uso del pastizal, menos espacio y trabajo para su almacenamiento y manejo; con su uso se obtienen como resultando una mejor ganancia de peso vivo, o en casos extremos una reducción en la pérdida de peso (Pirela *et al.*, 1996; Araujo-Febres, 1996; Mancilla, 1999).

El BMN es un suplemento balanceado que facilita el suministro de nutrimentos al ganado en cualquier época, que además de incorporar nitrógeno no proteico de la urea, excretas o amoniaco puede incorporar otros elementos como carbohidratos solubles, minerales y proteína verdadera (Gill y Lusby, 2000).

Cuando el animal consume el bloque de proteína, dispone de los nutrientes aportados por los ingredientes del bloque, para los microorganismos



del rumen de una forma casi continua (Preston y Leng, 1990; Araujo-Febres, 1996; Araujo-Febres, 1997).

La calidad del bloque proteico, dependerá de los ingredientes utilizados, de los aglutinantes, métodos de elaboración y nivel de nutrientes como proteína, energía, minerales, vitaminas y aditivos, así como del saborizante que sea utilizado.

El BMN es un suplemento para ganado en agostadero o estabulado que suministra nitrógeno de manera segura y uniforme; su consumo aumentan la concentración de amoníaco ruminal, y por medio de su ingesta se pueden aportar otros nutrientes limitantes como energía y minerales, promoviendo un ecosistema eficiente para la digestión de la fibra y salida de proteína microbiana del rumen (Preston y Leng, 1990; Bustamante y Rodríguez, 2002).

La regulación del consumo del BMN es determinado por la dureza del mismo, por los ingredientes con los que está elaborado, el aglutinante utilizado y su método de elaboración (Bustamante y Rodríguez, 2002).

Araujo-Febres *et al.*, (1997) mencionaron que la dureza del BMN se correlaciona positivamente con el tiempo de almacenamiento y el contenido de cal que son los principales factores que afectan la dureza de los bloques y que conjuntamente con el nivel de sal utilizado determinan en forma negativa el consumo del BMN.

El suministro de BMN estimula la fermentación ruminal. Los BMN son un buen vehículo para proporcionar urea y azufre de una manera lenta y continua para la fermentación ruminal, garantizando además un suministro constante de amonio para las bacterias celulolíticas. Los BMN mejoran la digestibilidad



aparente de la materia seca hasta en un 20 % en henos de mala calidad, al permitir mayor eficiencia en la fermentación de la pared celular, aumenta la tasa de pasaje de la ingesta del rumen, facilitando su desocupación e incrementado el consumo (Araujo-Febres, 2001).

En estudios sobre el consumo de BMN con vaquillas de 182 kg de peso inicial, con bloques que contenían 2, 5 y 8 % de urea; el consumo de bloque se redujo de 1.124 g a 0.599 g/d (-87 %) en los tratamientos que poseían 5 y 8 % de urea, respectivamente, mientras que el consumo de heno aumentaba un 10 %; otros autores han señalado una reducción en el consumo de bloques al aumentar la concentración de urea de 5 al 10 %. El animal tiende a regular el consumo cuando los niveles de urea sobrepasan el óptimo para la fermentación ruminal (Araujo-Febres, 2001).

Los aglutinantes. Los aglutinantes son ingredientes utilizados para solidificar y endurecer los BMN, los aglutinantes de mayor uso son: la cal finamente molida o pulverizada, el yeso y el cemento de construcción, con los que se obtienen resultados satisfactorios de solidificación y dureza. Estos aglutinantes y sus combinaciones alcalinizan el pH del BMN, evitando la fermentación de los azúcares y el desarrollo de hongos contaminantes (Bustamante y Rodríguez, 2002).

Los aglutinantes también forman jabones cálcicos al unirse con la cachaza, con el aceite crudo de palma africana o con el aceite vegetal de cocina reciclado y utilizado en los BMN que contienen alguna de las mencionadas fuentes de grasa (Preston y Leng, 1990; Manterola *et al.*, 1999).

La formación de un jabón cálcico evita el cubrimiento del aceite sobre la



fibra del forraje consumido, lo cual reduciría o aún impediría su fermentación y la utilización de los nutrimentos contenidos en ella, por parte de la flora ruminal.

Además, la formación de jabones cálcicos cubren los aceites del BMN evitando que las grasas sean fermentadas por la flora ruminal, lo cual le permite pasar intacta al intestino (sobrepasante), donde puede ser metabolizada para su uso directo como fuente de energía en las funciones vitales del animal (Preston y Leng, 1990).

Es importante que los BMN al humedecerse adquieran una consistencia elástica (como de chicle) para favorecer un consumo restringido ante el lamido constante de los animales y que este no se desmorone y conserve la forma durante el consumo; es decir que un BMN de buena calidad no se desintegra ni se desbarata o desmorona (Bustamante y Rodríguez, 2002).

Elaboración de los BMN. Para la preparación de los BMN, se colocan el o los líquidos energéticos dentro de un recipiente de boca amplia, en una mezcladora de concreto o en una mezcladora horizontal de concentrados; luego se agrega la urea, que puede molerse para facilitar su dilución o se debe mezclar hasta disolver por completo los gránulos; seguidamente se agregan la sal mineralizada y la torta o la semolina, revolviendo vigorosamente hasta homogenizar la mezcla; se continúa agregando el aglutinante y se disuelve en la humedad de la mezcla; por último, sin detener el mezclado, se adicionan de manera fraccionada las fibras cortas y largas, hasta lograr la contextura deseada (Becerra y Rodríguez, 1998).

Para moldear los BMN se puede utilizar un balde, cubo o recipiente metálico de boca más ancha que el fondo, o una prensa manual o hidráulica con



molde.

La mezcla se vierte y apisona por capas delgadas dentro del recipiente. Para apisonar manualmente los BMN se puede utilizar un pisón de madera o se puede introducir la mezcla dentro de una formaleta o prensa para elaborar bloques de cemento. El apisonado o prensado deben ser fuertes pero no excesivos, puesto que la consistencia es de suma importancia para autorregular el consumo y no para estimularlo o impedirlo (Ortiz y Baumeister, 1994; Becerra y Rodríguez, 1998).

Al alcanzar el tamaño según la capacidad del recipiente o el peso deseado (10 a 25 kg), se retira cuidadosamente el BMN húmedo, que debe ser colocado en el sitio de secado. El proceso de secado dura entre 2 a 15 d, dependiendo de la humedad ambiental (Becerra y Rodríguez, 1998; Bustamante y Rodríguez, 2002).

El sitio de secado deberá ser bien ventilado, preferentemente techado y sin radiación ni calor solar directo sobre los BMN. Los BMN una vez secos deberán almacenarse fuera del alcance de los niños, insectos, roedores, aves y animales domésticos y silvestres. Deberá evitarse su contaminación con agroquímicos y combustibles (Ortiz y Baumeister, 1994; Bustamante y Rodríguez, 2002).

Dureza. El factor que más afecta el consumo del BMN es la dureza, que va a depender de varios factores: el nivel de cal, la cantidad de melaza, grado de compactación, tiempo de almacenamiento y capacidad higroscópica de la fibra dietética, estos factores están estrechamente relacionados con el nivel de dureza y consumo del BMN (Bustamante y Rodríguez, 2002).



A mayor proporción de cal, mayor será la consistencia alcanzada. Las experiencias en el laboratorio indican que un nivel adecuado de cal está entre 8 y 10 % con un nivel de entre el 4 a 7 % de urea para la mezcla. En ese mismo encontramos que el endurecimiento podía ser retardado aproximadamente un 25 % al empacar los bloques en bolsas plásticas que los aislaran del medio ambiente. A medida que aumenta el nivel de compactación se incrementa la dureza de los BMN y disminuye la humedad (Bustamante y Rodríguez, 2002).

La proporción de melaza también influye sobre la dureza de los bloques. Al utilizar un nivel del 30 % los BMN presentan una apariencia seca, pero se desmoronan al manejarlos, indicando probablemente un deficiente fraguado por falta de humedad, mientras que a niveles de 50 % de melaza, la apariencia es amelcochado y no presentando una consistencia firme; se recomienda como nivel óptimo un 30-35 % de melaza (Araujo-Febres, 2001; Bustamante y Rodríguez, 2002).

Producción de Gas

La digestión en el rumen depende de la actividad de los microorganismos, que requieren energía (ATP), N (como amoníaco, péptidos y / o aminoácidos), minerales y un medio con un pH apropiado (De y Singh, 2003).

La mala calidad del forraje, como la paja de cereales y los pastizales en la época de seca no contiene suficiente N, azúcar, almidón y minerales para satisfacer los requerimientos de los microorganismos ruminales por lo que se requiere suplementar a los rumiantes para cubrir sus necesidades de mantenimiento, crecimiento y/o reproducción.

Una de las maneras más eficientes de incrementar la digestión de los



forrajes de mala calidad es la suplementación de N y minerales en forma de bloques de urea-melaza con minerales (UMMB; De y Singh, 2003). La alimentación frecuente con una ración alta de forraje induce un aumento en la producción de ácido acético y metano (De y Singh, 2003). La energía perdida como metano se puede reducir y desviarse para usos productivos por lo que se puede mejorar el rendimiento de los animales en general. El uso de la monensina, un antibiótico carboxílico poliéter, aumenta la producción de ácido propiónico y reduce la producción de metano (De y Singh, 2003; Andrade *et al.*, 2008). El trabajo pionero de Menke *et al.*, (1979) menciona la alta correlación entre la cantidad de substrato y la cantidad de gas producido en el tiempo; como guía sugiere que no más de 200 mg de materia seca debía ser utilizado, pero si esta es poco digestible se pueden utilizar 300 mg (Menke y Steingass, 1988).



LITERATURA CITADA

- Aguilar, A. 2005. Las frutas, abanico de nutrientes, colores y sabores. Tablas sobre composición de alimentos, Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. Sistema mexicano de alimentos equivalentes. www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos_05/frutas_mayo05.pdf Consultado 01 Mayo 2005.
- Alibes, X., F. Muñoz y J. Rodríguez. 1984. Feeding value of apple pomace silage for sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 11:189-197
- Alimentación Sana. 2008. La manzana: propiedades y características. www.alimentacion-sana.com.ar/informaciones/novedades/manzana.htm
- Altaf, Md., B. J. Naveena, M. Venkateshwar, E. Vigía Kumar y G. Reddy. 2005. Single sep fermentation of starch to L(+) lactic acid by *Lactobacillus amylophilus* GV6 in SSF using inexpensive nitrogen sources to replace peptone and yeast extract—optimization by RSM., Elsevier, www.sciencedirect.com.proxy/librarynine.edu/science/doi:10.1016*j.procbio.2005.07.011.
- Andrade, P. E., M. Teixeira, B. S. Villela, M. Antun e I. M. Augusta. 2008. Influencia del agente osmótico en la composición físico-química y en la cinética de secado de la manzana gala. *Rev. Ciencias Agr. Univ. Fed. do Ceará, Fortaleza.* 39:173-176.
- Anrique, G. R. 1992. Caracterización nutricional y uso de algunos subproductos para alimentación de rumiantes. Editorial L. Latrille y O. Balochi. Chile.
- Anrique, G. R. y V. M. Paz. 2002. Efecto del ensilado sobre la composición química y degradabilidad ruminal de la pomasa de manzana. Valdivia, Chile. *Universidad Austral de Chile, archivos de medicina veterinaria SIN 0301-732X V. 34 no. 2.*
- Araujo-Febres, O., M. Graterol, E. Zabala, M. Romero, G. Pírela y C. Castro de Rincón. 1996. Influencia del tiempo, las condiciones de almacenamiento y la concentración de cal sobre la dureza de los bloques multinutricionales. X Seminario Científico de Pastos y Forrajes. Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba
- Araujo-Febres, O. 1997. Conferencia dictada en el I taller sobre investigación en bloques multinutricionales. Sociedad venezolana de pastizales, Universidad Simón Rodríguez. Valle de la Pascua. Departamento de zootecnia, Facultad de agronomía, Universidad de Zulia, Maracaibo, Venezuela *Rev. Fac. Agron.* 14: 377-384.
- Araujo-Febres, O., M. Graterol, E. Zabala, M. Romero, G. Pírela y S. Pietrosemoli.



1997. Influencia del tiempo, las condiciones de almacenamiento y la concentración de cal sobre la resistencia de los bloques multinutricionales. *Rev. Fac. Agron.* 214-217.
- Araujo-Febres, O. 2001. Los bloques multinutricionales: una estrategia para la época seca. *Rev. Fac. Agron.* 17:421.
- Banwart, G. J. 1979. *Microbiología básica de los alimentos*. Ed. Bellaterra. España.
- Becerra, A. y C. Rodríguez. 1998. Elaboración de bloques proteicos para suplementación de ganado en agostadero utilizando un subproducto de manzana con cuatro tipos de secantes. Tesis de Maestría. Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih., México.
- Becerra, A., C. Rodríguez, J. Jiménez, O. Ruiz, A. Elías y A. Ramírez. 2008. Urea y maíz en la fermentación aeróbica de bagazo de manzana para la producción de proteína microbial. *Tecnociencia Chihuahua.* 11: 7-13.
- Bonnet, J. A. y P. H. De Jonge. 1969. *Saccharomyces*. *Antonie Van Leeuwenhoek.* (suppl.) 35:27-28.
- Bustamante, J. F. y C. Rodríguez. 2002. Efecto de la composición química y la presión de compactación en la elaboración de bloques de proteína para suplementación de ganado en pastoreo. Tesis de Maestría Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih., México.
- Brock, T. y M. Madigan. 1993., *Microbiología*. 6a ed. Prentice Hall, México.
- Cannel, E. y M. Moo-Young. 1980. Solid state fermentation system, process biochemist. 15:2-28.
- Cañón, G. y O. Aldana. 1988. Estudio de la fermentación alcohólica por cochada empleando reactores de lecho fijo. Proyecto de grado título de Ingeniero Químico, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Dávila, G., N. 2009. *Empresas Manzanas Dulces*. www.MANZANADULCES.COM Consultado Junio 14, 2001.
- De, D. y Singh G. P. 2003. Effect of cold process monensin enriched urea molasses mineral blocks on performance of crossbred calves fed wheat Straw based diet. *Anim. Feed Sci and Tech.* 10:51-61.
- Díaz, D. 2006. Producción de proteína microbial a partir de manzana de desecho adicionada con urea y pasta de soya Tesis de Maestría. Facultad de



Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih., México.

- Dhillon, G. S., S. K. Brar, M. Verma y R. D. Tyagi. 2011. Enhanced solid-state citric acid bio-production using apple pomace waste through surface response methodology. *J. Appl. Microb.* . ISSN 1364 1045-1055.
- Dhillon, G. S., K. Surinder, B. Satinder y V. Mausam. 2012. Potential of apple pomace as a solid substrate for fungal cellulase and hemicellulase bioproduction through solid-state fermentation. *Ind. Crops & Prod.* 38:6-13.
- Dhillon, G. S., K. Surinder y S. K. Brar. 2013. Renewable & sustainable energy reviews. 27:789-805.
- Duru, C., Chidi y Uma y U. Ngwanma. 2003. Enriquecimiento proteico de residuos sólidos de la malanga (*xanthosoma sagittifolium* (L.) Schoott) como procesamiento utilizando *Aspergillus oryzae* obtenido a partir de harina de corno. *Africa J. of Biotech.* 2:228-232.
- Elías, A. y O. Lezcano. 1992. Efecto de la temperatura y la urea en la fermentación de la caña de azúcar para producir sacarina., *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 26:291.
- Elías, A. y O. Lezcano. 1993. Efecto de la fuente de nitrógeno y algunos factores de crecimiento en la población de levaduras que se establece en la producción de sacarina., *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 35:286.
- Elías, A. y O. Lezcano. 1994., Efecto de la inclusión de niveles de harina de maíz en la fermentación de la caña de azúcar., *Revista Cubana Cienc. Agríc.* 28:319.
- Elías, I. 2004. Taller producción práctica biotecnológica de alimentos para consumo animal 29 – 30 marzo 2004. Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua.
- Fatma, G., C. Ajila, S. Brar, R. Tyagi, M. Verma y J. Valero. 2013. Influence of aeration and agitation modes on solid-state fermentation of apple pomace waste by *Phanerochaete chrysosporium* to produce ligninolytic enzymes and co-extract polyphenols. *Int. J. of food Sci. & Tech.* 48:2119-2126.
- Francia, E., G. Valencia y M. O. Román. 2006. Caracterización fisicoquímica y funcional de tres concentrados comerciales de fibra dietaria. *Univ. de Antioquia, Medellín – Colombia. Rev. de la Fac. de Quím. Farmac.* 13:54-60.
- Gill, D. R. y Lusby K. S. 2000. Feeding high protein cubes. Oklahoma State University, cooperative extension service division of agriculture sciences



and natural resources. 3017.

Givens, D. y W. Barber. 1987. Nutritive value of apple pomace for ruminants. Anim. Feed Sci. Technology. 16:311-315.

Godoy, L. y P. Herrera. 1985. Diseño de un fermentador modular piloto. Proyecto de grado por el título de Ingeniero Químico, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Guerrero, P. V. M., M. G. Trevizo, A. A. Gardea, V. C. Figueroa, A. Romo, A. C. Blanco y E. A. Curry. 2004, Identificación de levaduras epifitas obtenidas de manzana [*Malus silvestris* (L.) mill. Var. doméstica (Borhk.) mansf.] para control biológico pos cosecha. Rev. Mex. de Fitopat. A.C. UAEM. 1:223-230.

Hardy, G. 1992. Fermentación anaeróbica y resistencia a la descomposición aeróbica de pomasa de manzana, bagazo de tomate y colillas de remolacha. Tesis, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile.

Hobbson, P. N. 1988. The rumen microbial ecosystem. Biosource technol. 36:125-155.

Joshi, V. K. y D. K. Sandhu. 1996. Preparation and evaluation of an animal feed byproduct produced by solid-state fermentation of apple pomace. Biosource technol. 56:251-255.

Kim, J. H., M. Hosobuchi y D. D. Ryu. 1985. Cellulase production by a solid state culture system. Biotech. Bioeng. 27:1445-1450.

Lynn, M. 2003. Una revolución en la evolución. 1ª ed. Universidad de Valencia.

Lynn, M. y D. Sagan. 2003. Captando genomas. Una teoría sobre el origen de las especies. 1ª ed. Editorial Kairos, Barcelona.

Mancilla, L. E. 1999. Suplementación estratégica de los bovinos a pastoreo. Universidad Experimental de los Llanos Ezequiel Zamora – Guanare. Venezuela Bovina.

Manterola, H. B. y A. D. Cerda. 1993. Valoración nutritiva, conservación y aprovechamiento de residuos derivados de la producción e industria hortofrutícola en alimentación animal. Informe Final Universidad de Chile, Ministerio de Agricultura y Fundación Fondo de Investigaciones Agrarias. Santiago, Chile.

Manterola, H. B., A. D. Cerda y J. J. Mira. 1999. Los residuos agrícolas y su uso en la alimentación de rumiantes. Ministerio de Agricultura y Fundación



para la Innovación Agraria. Santiago, Chile.

- Manterola, H. B., A. D. Cerda, J. J. Mira., F. E. Porte, A. L. Sirhan y G. Casanova. 1999. Efecto de incluir altos niveles de pomasa de manzana ensilada sobre la degradabilidad de la materia seca y proteína cruda sobre parámetros ruminales y sanguíneos. *Avan. en prod. Anim.* 24:31-39.
- Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz, y W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *J. Agric. Sci.* 93:217-222.
- Menke, K. H., y H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim. Research and Dev.* 28:7-55.
- Mitchell, D. A. y B. K. Lonsane. 1992. Solid substrate cultivation. *Appl. science*, London, N. York.
- Moo-Young, M., A. R. Moreira y R. P. Tengerdy. 1983. Principles of solid substrate fermentation. In the filamentous fungi 4. Ed. London. 117-144.
- Mudgett, R. E. 1986. Solid state fermentation. In manual of Industrial microbiology and biotechnology. Editorial Mc Graw Hill, N. York.
- Oltjen, R., T. Rumsey, J. Fontenot, K. Boward y B. Priode. 1977. Supplementation of apple pomace with non-protein nitrogen for gestation beef cows. *J. Anim. Sci.* 46:532
- Ortiz, P. y A. Baumeister. 1994. Consideraciones en la preparación y uso de los bloques nutricionales. Página 85-90 I Conferencia Internacional sobre bloques multinutricionales. Unellez, Guanare, Chile.
- Pandey, A., C. R. Soccol, J. A. Rodríguez-León y P. Nigam. 2001. Solid-state fermentation in biotechnology. Fundamentals and applications. Asiatech Publishers Inc.
- Phaff, N. J., M. W. Mille y E. M. Morak. 1966. The life of yeast. Harvard University Press.
- Pinilla, B. y M. Álvarez. 2003. Peras y manzanas, pudrición en cámaras frigoríficas., Editorial INIA. Rev. Frutales y Viñas La Platina, Santiago de Chile.
- Pirela, G., M. Romero y O. Araujo-Febres. 1996. Alimentación estratégica con bloques multinutricionales. Suplementación de vaquillas a pastoreo. *Rev. Cientf. Fac. Cienc.Vet. LUZ.* 6:95-98.



- Preston, T. R. y R. A. Leng. 1990. Ajustando los sistemas de producción pecuaria a los recursos disponibles: Aspectos básicos y aplicados del nuevo enfoque sobre la nutrición de rumiantes en el trópico. 2a Edición. CONDRIT. Cali, Colombia.
- Rahmat, H., R. A. Hodge, G. J. Manderson y P. L. Yu. 1995. Solid-substrate fermentation of *Kloeckera apiculata* and *Candida utilis* on apple pomace to produce an improved stock-feed. World J. of Microb. & biotech. 11:168-170.
- Raimbault, M. 1998. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. Universidad Católica de Valparaíso, Chile. Electr. J. of Biotech. 1:0717-3458 No. 3.
- Rook, J. y P. Thomas. 1983. Nutritional physiology of farms animals. Longman Group Limited. U. K.
- SIAP. 2014. Sistema de Información Agrícola y Pecuaria. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Gobierno Federal Mexicano.
- Sampedro, J. 2002. Deconstruyendo a Darwin. Los enigmas de la evolución a la luz de la nueva genética, Editorial Crítica 1ª ed., Colección Drakontos, Barcelona.
- Sina, M. Adl., A. G. B. Simpson, M. A. Farmer, R. A. Andersen, O. R. Anderson, J. R. Barta, S. S. Bowser, G. Brugerole, R. A. Fensome, S. Frederico, T. Y. James, S. Karpov, P. Kigmes, J. Krug, C. E. Lane, L. A. Lewia, J. Lodge, D. H. Lynn, D. G. Mann, R. M. Mccourt, L. Mendoza, O. Moestrup, S. E. Mozley-Standridge, T. A. Nerad, C. A. Shearer, A. V. Smirnov, F. W. Spiegel y M. F. J. R. Taylor. 2005. The new higher level classification of *Eukaryotes* with emphasis on the taxonomy of protists. International society of protistologists. J. of Eukaryotic Microb. 52:399.
- Zhong-Tao, S., T. Lin-Mao, L. Cheng y D. Jin-Hua. 2009. Bioconversion of apple pomace into a multienzyme bio-feed by two mixed strains of *Aspergillus niger* in solid state fermentation. Electr. J. of Biotech. 12:3458.



**ESTUDIO I. PRODUCCIÓN DE PROTEÍNA MICROBIANA MEDIANTE
FERMENTACIÓN AERÓBICA EN ESTADO SÓLIDO DE BAGAZO DE
MANZANA**



PRODUCCIÓN DE PROTEÍNA MICROBIANA MEDIANTE FERMENTACIÓN
AERÓBICA EN ESTADO SÓLIDO DE BAGAZO DE MANZANA

POR:

M. C. JESÚS FERNANDO BUSTAMANTE CORONA

Doctor in Philosophia en Producción Animal

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: D. Ph. Carlos Rodríguez Muela

El objetivo de este estudio fue desarrollar estándares biotecnológicos para producir, la Manzarina (MZ) adaptando de técnicas para el crecimiento de levaduras para producir proteína microbiana. Se usó como sustrato bagazo de manzana (BM) adicionado con 0.5 % de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (sulfato de amonio), 1.0 % de suplemento mineral con 12 % de fósforo - 10 % de calcio y microelementos (Microfos 12 %); el testigo fue solo BM adicionado con la mezcla mencionada, se usaron cinco tratamientos con cinco repeticiones: T1 1.5 % urea, T2 1.5 % melaza, T3 1.5 % maíz, T4 1.5 % canola y T5 2.0 % urea; evaluando humedad (H), materia seca (MS), proteína cruda (PC) y proteína verdadera (PV); se encontró diferencia entre tratamientos ($P < 0.05$) encontrando en el mejor tratamiento T5 33.08 % de PC y 27.21 % de PV. Añadir aditivos proteicos y energéticos al BM mejoró el contenido nutricional del producto. Con la aplicación de técnicas de FAES al BM se obtuvo un producto muy superior en su valor proteico 16.07 a 27.21 % PV, al valor observado en BM fresco 3.03 % PV y que se utiliza en la alimentación de bovinos lecheros. La adición al BM de 0.5 % de



$(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ (sulfato de amonio) y 2 % de $\text{CO}_2 (\text{NH}_2)_2$ (urea) y procesarlo mediante FAES, mejora notablemente la calidad proteica del BM.



ABSTRACT

PRODUCTION MICROBIAL PROTEIN IN SOLID STATE AEROBIC FERMENTATION OF APPLE POMACE

BY:

JESUS FERNANDO BUSTAMANTE CORONA

The objective of this study was to develop biotech standards for producing Manzarina (MZ) through FAES adapting techniques for the growth of yeast to produce microbial protein. The apple pomace (BM) was used as substrate adding 0.5 % $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (ammonium sulfate), 1.0 % mineral supplement with 12 % phosphorus – 10 % calcium and microelements (Microfos 12 %); the control group only contained the BM mixture. Five treatments with five replicates were used: T1 1.5 % urea, T2 1.5% molasses, T3 1.5 % corn, T4 1.5 % canola and T5 2.0 % urea; evaluating humidity (H), dry matter (DM), crude protein (CP) and true protein (PV). Difference between treatments ($P < 0.05$) was found, being the best treatment T5 33.08 % PC and 27.21 % PV. Added protein and energy additives to BM improved the nutritional content of the product. By applying FAES techniques to the BM allows to obtain a very superior product in its protein value 16.07 to 27.21 % PV, the value observed in fresh BM 3.03 % PV and used in feeding dairy cattle. BM adding 0.5 % $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (ammonium sulfate) and 2.0 % $\text{CO}_2(\text{NH}_2)_2$ (urea) and process by FAES, significantly improves the protein quality of BM.



INTRODUCCIÓN

Durand (1993) definió la FES, como el método de cultivo de microorganismos sobre y/o dentro de partículas sólidas. El líquido ligado a las partículas debe ser en una cantidad que asegure la actividad de agua adecuada para el crecimiento y el metabolismo de los microorganismos; pero sin exceder el máximo poder de retención de agua de la matriz sólida.

Esta última definición se complementa con los siguientes aspectos: El sólido es soporte y sustrato al mismo tiempo. Este es el caso de materiales orgánicos agroindustriales.

El sólido es sólo el soporte y tiene que ser embebido con soluciones nutritivas para los microorganismos, este es el caso de materiales sintéticos y minerales.

El uso de materiales orgánicos agroindustriales como sustratos en la FAES ha tenido diferentes aplicaciones. Para aumentar el contenido de proteína del sólido con el objetivo de utilizarlo para la alimentación animal (Smith *et al.*, 1986). Para la producción de enzimas (Kim *et al.*, 1985) y para la producción de etanol (Saucedo-Castañeda *et al.*, 1992) podemos citar algunos ejemplos, de los sustratos más utilizados como son salvado y paja de trigo, pulpa de remolacha, bagazo de caña y harina de yuca.

Los soportes inertes (a partir de sólidos sintéticos) se aprovechan fundamentalmente como modelos de sólidos ideales para el campo de la investigación básica y en la elaboración de modelos matemáticos que describan los fenómenos que ocurren durante la fermentación. Los soportes inertes se utilizan también para la producción de metabolitos (Christen *et al.*, 1994).



La fermentación de un sustrato presenta diversas modalidades, algunas bacterias efectúan fermentaciones solamente en ausencia de oxígeno y se conoce como fermentación anaerobia (alcohólica, butírica, formica, sulfhídrica), otra forma se realiza en presencia de oxígeno, por lo que se le conoce como fermentación aerobia (acética, nitrosa y nítrica) y finalmente, existen algunos organismos que fermentan los sustratos independientemente de la presencia o ausencia del oxígeno (láctica y amoniacal; Hardy, 1992).

Se dice que todo microorganismo vegetal aerobio, colocado en condiciones anaerobias, es capaz de efectuar la fermentación alcohólica, principalmente las levaduras (aun cuando no son organismos vegetales), ciertas especies de hongos del genero *Aspergillus niger*, *Penicillium* y *Mucor* así como algunas bacterias (Elías y Lezcano, 1993; Elías y Lezcano, 1994; Dhillon *et al.*, 2011).

La fermentación alcohólica es muy conocida por los trabajos de Louis Pasteur realizados con levaduras, que son las que intervienen en la fermentación de las diversas bebidas alcohólicas (cerveza, vinos, sidra, champagne, pulque, etc.), estos trabajos de investigación los realizo principalmente con la levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) que pertenece a la clase de los Ascomicetes organismos que carecen de clorofila y no pueden transformar sustancias inorgánicas en productos orgánicos nutritivos; por lo mismo necesita para vivir un medio que contenga materias orgánicas, el cual posea por lo menos agua, sales minerales, una azúcar y alguna sustancia proteica de molécula no muy compleja, como la peptona.

Partiendo de estas premisas se realizó el primer estudio con el objetivo de



desarrollar un método de FES con condiciones aeróbicas (FAES) para evitar la producción de alcohol y producir proteína microbiana a partir de levaduras, desarrollando estándares biotecnológicos para obtener un producto a partir del bagazo de manzana, la Manzarina (MZ), bajo la hipótesis de que el bagazo de la manzana es una fuente de sustrato potencial para la alimentación de ganado y puede ser mejorado para su utilización (Elías y Lezcano, 1993; Elías y Lezcano, 1994; Duru y Uma, 2003; Elías, 2004).



MATERIALES Y MÉTODOS

Geografía y Clima del Estado de Chihuahua

El Estado de Chihuahua se localiza al norte de la República Mexicana, ubicada en una región de pastizales medianos abiertos y amacollados de la región central, que se caracteriza con pastizal amacollado (54.5 %), pastizal mediano abierto en terreno pedregoso calizo (15.5 %), pastizal halófito (15.3 %) y pastizal mediano abierto (14.7 %), con presencia de arbustivas con predominio de *Mimosa biuncifera spp*, con gramíneas dominantes de *Bouteloa*, *Aristida*, *Lycurus*, *Enneapogon*, *Hilaria*, *Eragrostis*, *Sporubolus*, *Scleropogon* y *Heteropogon* que normalmente presentan una condición de regular a pobre (Lebgue y Valerio, 1999), en el estrato arbóreo encontramos presencia de *Quercus*, *Cupressus* y *Juniperus*, las gramíneas más sobresalientes en esta región son *Bouteloua* (*B. Gracilis*, *B. Cutipendula*, *B. Hirsuta*), *Aristida*, *Muhlenbergia*, *Schizachyrium*, *Trachypogon*, *Eragrostis*, *Chloris Submutica*, *Microchloa Kunthii* y *Elimus* (Lebgue y Valerio 1991).

El clima del estado es seco estepario, con primaveras secas, veranos templados e inviernos fríos; el régimen de lluvias es en verano con una precipitación media anual de 458.3 mm y temperatura media anual promedio de 14.3 °C con máximas de 35.2 °C y mínimas de -8.4 °C y de 177 d libres de heladas.

Área de Estudio

En este ensayo se utilizó BM, proveniente de la planta extractora de jugo CONFRUTA S.A. de C.V. de la Colonia de Álvaro Obregón (Rubio), municipio de Cuauhtémoc, Chihuahua, esta colonia se ubica a 40 km. de la Cd. de



Cuauhtémoc en la región montañosa; tiene una altitud de 2,020 m.s.n.m., con una temperatura media anual de 14 °C con mínima de -14.6 °C y una precipitación pluvial media anual de 439 mm (Gobierno del Estado, 2005).

El trabajo se llevó a cabo en la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua donde se realizó la FAES del BM para la determinación del mejor método biotecnológico para la obtención de manzarina; La Facultad se ubica en el km. 1 del Periférico Francisco R. Almada de la ciudad de Chihuahua, Chihuahua, México, en la región III de la clasificación de COTECOCA (1985); con una altitud de 1,595 m.s.n.m., temperatura media anual de 18.6 °C y una precipitación media anual de 336.5 mm y su localización geográfica está en los 28° 35´ N y 106° 04´ O (INEGI, 2001).

Infraestructura

El BM fue procesado en el laboratorio de procesados para alimentación animal y laboratorio de investigación de nutrición animal de la Facultad de Zootecnia y Ecología.

Equipo

Remolque de 8 pies de largo, balanza Tor-rey con capacidad de 140 kg., charolas de lámina inoxidable de 90 x 60 cm., molino de forraje de martillos libres diseñado por la Facultad de Zootecnia y Ecología, balanza Chatillon 50 kg, espátula de teflón, tubos vidrio para digestión, horno de digestión y destilador Kjeldahl para determinar proteína cruda y verdadera.

Descripción de los Tratamientos

Se utilizaron cinco tratamientos y BM como testigo en el experimento, usando como sustrato BM adicionado con 0.5 % de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (sulfato de



amonio) y 1.0 % de suplemento mineral con 12 % de fósforo y 10 % de calcio y microelementos (Microfos 12 %); el testigo fue solo BM adicionado con la mezcla mencionada, dos tratamientos se adicionaron con nitrógeno no proteico (NNP) utilizando, 1.5 % y 2.0 % de urea respectivamente como fuente proteica (Becerra *et al.*, 2008), un tratamiento se adiciono con canola como fuente de proteína de origen vegetal y dos tratamientos con una fuente energética, 1.5 % de melaza y maíz respectivamente (Cuadro 5).

Procedimiento

La metodología se desarrolló a partir de la adaptación de técnicas de fermentación en estado sólido para el crecimiento de microorganismos benéficos, principalmente levaduras, con la finalidad de incrementar el valor proteico del BM a partir de las levaduras.

La FAES del BM, recopilación de datos y análisis químico se realizaron en el laboratorio de procesados para alimentación animal y laboratorio de investigación de nutrición animal de la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua.

Para cada tratamiento se obtuvo una mezcla de 6 kg, esta se distribuyó en cinco charolas metálicas de 90 x 90 cm a razón de 1 kg por charola las cuales fueron expuestas a las condiciones medio ambientales bajo techo; todas las mezclas fueron volteadas manualmente cada 4 h durante ocho días, en este tiempo se observó que las mezclas quedaron secas al tacto, estas fueron recogidas y depositadas en charolas de plástico de forma individual fueron molidas en un molino de forraje de martillos libres sin criba, almacenándose en bolsas de plástico para su análisis químico. Durante el periodo de secado se



Cuadro 5. Tratamientos experimentales para producción de proteína microbiana

Tratamiento	BM (kg)	(NH ₄) ₂ SO ₄ %	Minerales %	Aditivo %
T1	1.0	0.5	1.0	1.5 urea
T2	1.0	0.5	1.0	1.5 melaza
T3	1.0	0.5	1.0	1.5 maíz
T4	1.0	0.5	1.0	1.5 canola
T5	1.0	0.5	1.0	2.0 urea
BM	1.0			

T1 Bagazo de manzana y 0.5% (NH₄)₂ SO₄ más 1.5 % CO₂ (NH₂)₂

T2 Bagazo de manzana y 0.5% (NH₄)₂ SO₄ más 1.5 % melaza

T3 Bagazo de manzana y 0.5% (NH₄)₂ SO₄ más 1.5 % maíz

T4 Bagazo de manzana y 0.5% (NH₄)₂ SO₄ más 1.5 % canola,

T5 Bagazo de manzana y 0.5% (NH₄)₂ SO₄ más 2.0 % CO₂ (NH₂)₂

BM Bagazo de manzana observó una temperatura promedio de 21 °C.



Variables Evaluadas

Al producto resultante de la FAES de los tratamientos se les realizó análisis bromatológico para humedad (H), materia seca (MS), la proteína cruda (PC) se obtuvo por el método Kjeldahl y proteína verdadera (PV) por medio del método de Berstein, utilizando las técnicas descritas en AOAC (2000).

Análisis Estadístico

El análisis estadístico se basó en un diseño experimental completamente al azar con cinco tratamientos y BM como testigo, con cinco repeticiones. Se consideró el factor tratamiento como efecto fijo. Se analizaron las medias de tratamiento mediante la prueba de Tukey y contrastes ortogonales; todo esto mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico (SAS, 1998).

Los contrastes ortogonales analizados fueron:

I. Efecto que se obtiene al añadir aditivos al BM, esto puede contribuir a mejorar su valor nutricional; BM vs BM adicionado con algo.

II. Efecto de añadir el BM con una fuente proteica (urea) vs BM adicionado con una fuente energética melaza, grano de maíz y proteica pasta de canola.

III. Efecto de diferente nivel de urea adicionada al BM (1.5 % vs 2.0 %).

IV. Efecto de la fuente energética melaza vs fuente energética grano maíz y proteica pasta de canola adicionadas al BM.

V. Efecto de la fuente energética grano de maíz vs fuente proteica pasta de canola adicionadas al BM.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

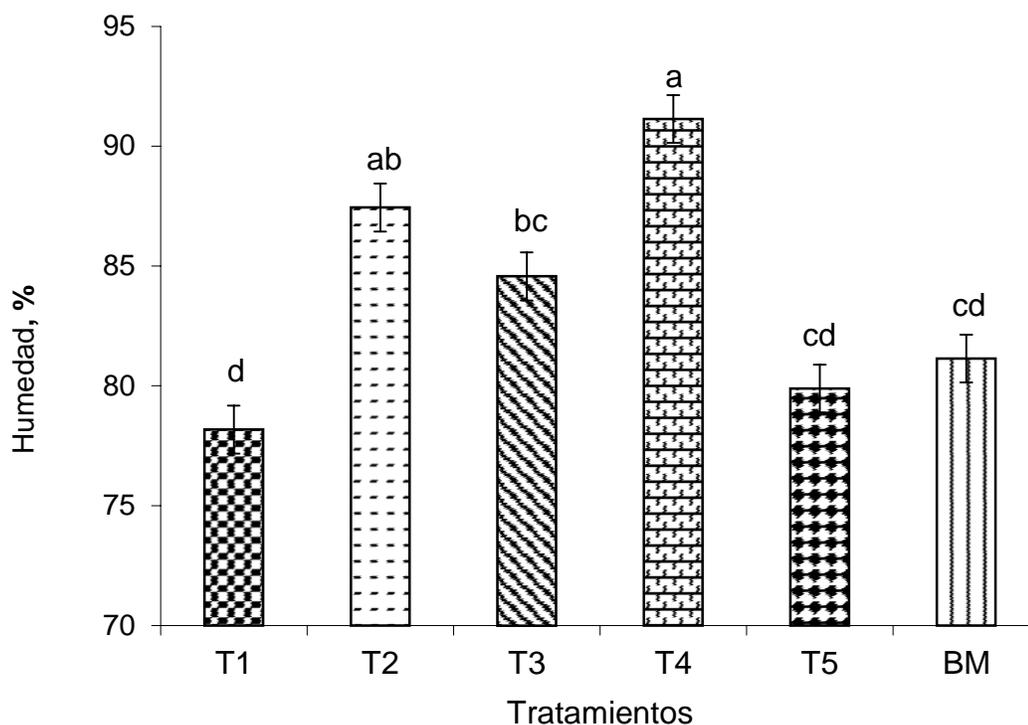
En el anexo 1 se muestran los resultados obtenidos del análisis bromatológico de los tratamientos para las variables evaluadas.

Humedad

En el análisis estadístico de la humedad (H) de los tratamientos (Gráfica 1), se encontró diferencia entre tratamientos ($P < 0.05$), observando el nivel más alto de H en T4 con $91.13 \% \pm 1.25$ y T2 con $87.43 \% \pm 1.25$ de H, que fueron estadísticamente similares, y diferentes a T3 con $84.57 \% \pm 1.25$ y del BM con $81.13 \% \pm 1.25$ de H que tuvieron una menor H y fueron estadísticamente iguales y diferentes al nivel más bajo de H observado en T5 con $79.88 \% \pm 1.25$ y T1 con $78.17 \pm 1.25 \%$ de H, este último tratamiento fue el que presento menor % de humedad en los tratamientos.

La humedad de los tratamientos y del BM es similar a la obtenida por Anrique y Dossow (2003) en su análisis químico del ensilado de pulpa de manzana con $84.5 \% \pm 1.25$ de humedad, y por Lastras (2004), en su descripción de las cualidades y beneficios de las manzanas en la salud humana, en su caracterización físico química de diferentes variedades de manzana, donde observo que la manzana tiene un contenido del 80-85 % agua dependiendo está de su variedad y estado fenológico (Rahmat *et al.*, 1995).

En el análisis por contrastes para H, se encontró diferencia en el contraste I. Efecto de añadir aditivos al BM, esto puede contribuir a mejorar su valor nutricional; se encontró diferencia estadística ($P < 0.05$) lo que indica que añadir alguna clase de aditivo al BM, esto contribuye a mejorar su valor nutricional y se encontró diferencia significativa ($P < 0.05$) en el contraste II.



Gráfica 1. Media de la humedad de los tratamientos de bagazo de manzana adicionado con fuentes energéticas y proteicas.

T1 = Bagazo de manzana y 0.5% $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % $\text{CO}_2 (\text{NH}_2)_2$; T2 = Bagazo de manzana y 0.5% $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % melaza; T3 = Bagazo de manzana y 0.5% $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % grano maíz; T4 = Bagazo de manzana y 0.5% $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % pasta canola; T5 = Bagazo de manzana y 0.5% $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 2.0 % $\text{CO}_2 (\text{NH}_2)_2$; BM = Bagazo de manzana; ^{a,b,c,d} Medias con literales diferentes en superíndices difieren significativamente $P < 0.05$ (Tukey 1952)

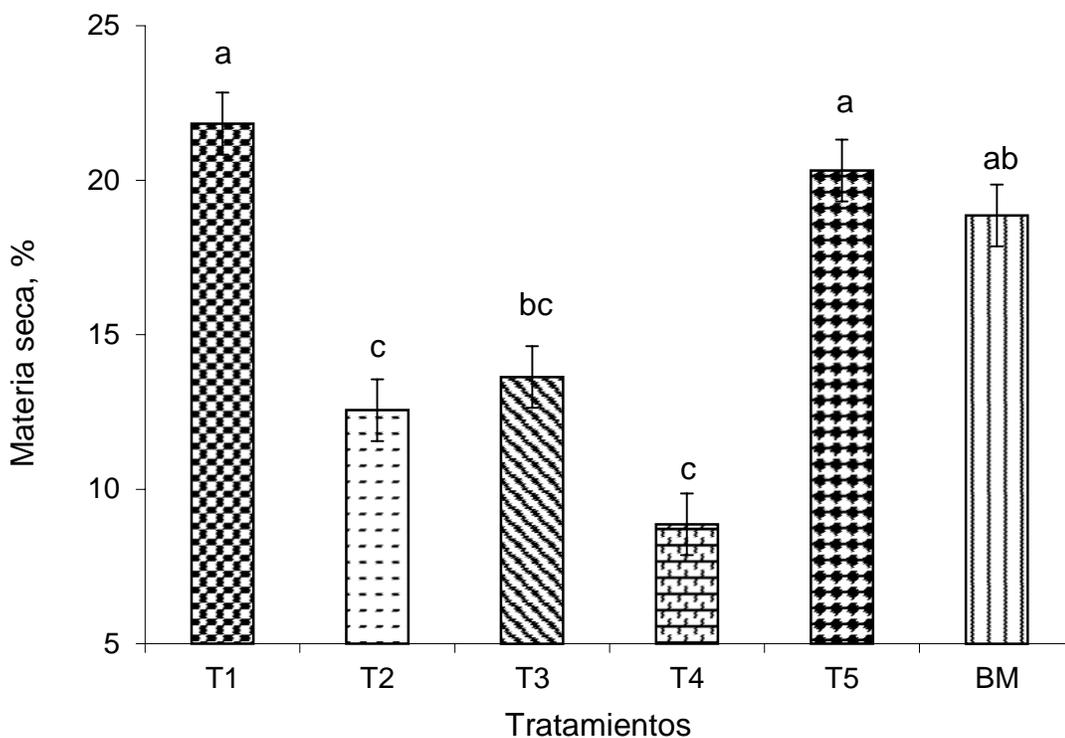


efecto de añadir al BM con una fuente proteica (urea) vs BM adicionado con azúcares provenientes de la melaza, del grano de maíz y proteína de la pasta de canola, se encontró que la urea es mejor aditivo para mejorar la calidad nutritiva del BM, debido a que NNP de la urea es más disponible para la microbiota epifita del BM y que es utilizada para su crecimiento; en el contraste III. Efecto de adicionar diferente nivel de urea 1.5 % vs 2.0 % al BM, se encontró diferencia significativa ($P < 0.05$) que indicó que 2.0 % de urea mejora más la calidad nutricional del BM que 1.5 % de urea, en el contraste IV. Efecto de la fuente energética melaza contra energía grano de maíz o proteína de la pasta de canola se encontró diferencia ($P < 0.05$) que indicó que la melaza es mejor aditivo para mejorar la calidad del BM que el grano de maíz o la pasta de canola, y en el contraste V. Efecto de la fuente energética grano maíz vs proteína pasta de canola adicionada al BM no se encontró diferencia ($P > 0.05$).

Materia Seca

En el resultado del análisis estadístico de MS por el método de Tukey (Gráfica 2); se encontró diferencia entre tratamientos ($P < 0.05$) observando que el nivel más alto fue para T1 con $21.83 \% \pm 1.26$ seguido del T5 con $20.32 \% \pm 1.26$ y del BM con $18.87 \pm 1.26 \%$ que fueron similares estadísticamente; un nivel intermedio se encontró en el T3 con $13.63 \pm 1.26 \%$ aun cuando estadísticamente fue similar al nivel de MS del BM; el menor contenido de MS se encontró en el T2 con $12.57 \pm 1.26 \%$ y T4 con $8.87 \% \pm 1.26$.

Los resultados obtenidos de MS del BM, del T3 y del T2 son similares a lo reportado por Anrique y Dossow (2003) que encontraron en su análisis de la composición química del ensilado de manzana un 15.5 % de MS y por



Gráfica 2. Media de la materia seca de los tratamientos de bagazo de manzana adicionado con fuentes energéticas y proteicas.

T1 = Bagazo de manzana y 0.5% $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % $\text{CO}_2 (\text{NH}_2)_2$; T2 = Bagazo de manzana y 0.5% $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % melaza; T3 = Bagazo de manzana y 0.5% $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % maíz; T4 = Bagazo de manzana y 0.5% $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % canola; T5 = Bagazo de manzana y 0.5% $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 2.0 % $\text{CO}_2 (\text{NH}_2)_2$; BM = Bagazo de manzana; ^{a,b,c,d} Medias con literales diferentes en superíndices difieren significativamente $P < 0.05$ (Tukey 1952)

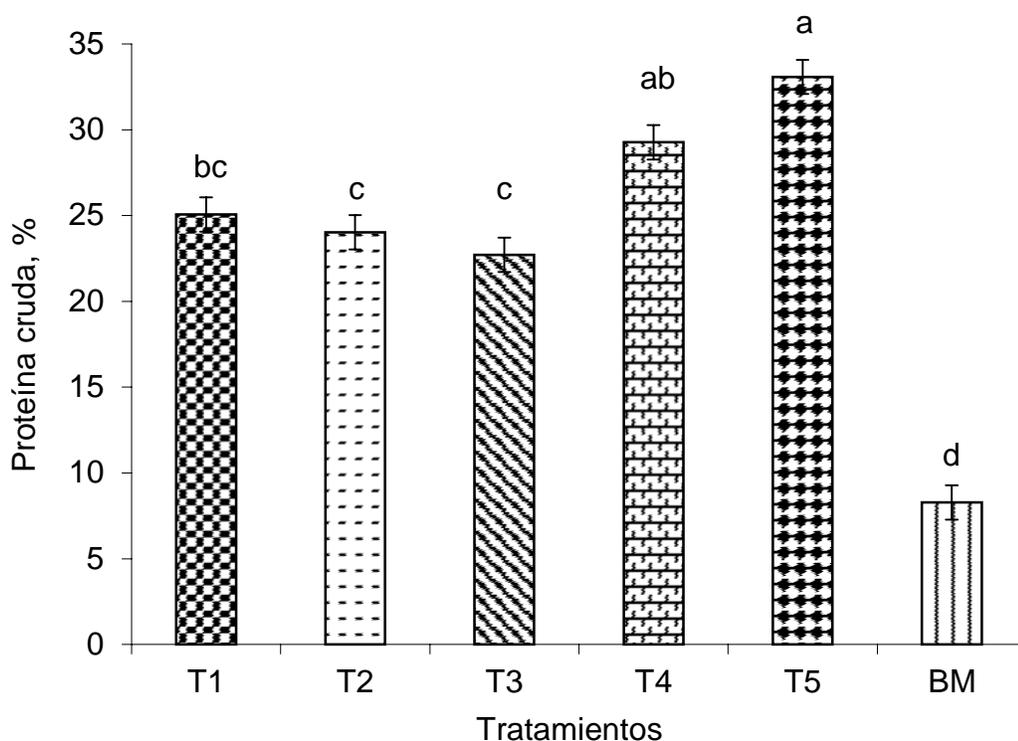


Sepúlveda *et al.*, (2005) indicaron que el bagazo de manzana tiene un contenido de 14 a 26 % de MS, cuya variación es influida por el tipo de manzana, su estado de madurez y diferencias en el procesamiento.

En el resultado del análisis estadístico por contrastes no se encontró diferencia ($P > 0.05$) en los contrastes: II. Efecto de añadir el BM una fuente proteica (urea) vs BM adicionado con azúcares provenientes de la melaza, del grano de maíz y proteína de la pasta de canola y V. Efecto de la fuente energética y fibra dietética adicionada al BM del Maíz o de la Canola. Se encontró diferencia ($P < 0.05$) en los contrastes I, III y IV. En el I. Efecto si al añadir aditivos al BM, esto puede contribuir a mejorar su valor nutricional; se encontró que adicionar el BM con algún tipo de aditivo mejora su contenido de MS, en el III. Efecto de adicionar diferente nivel de urea 1.5 % y 2.0 % al BM se encontró más MS en el BM con 2 % de urea comparado con 1.5 % de urea y en el IV. Efecto de la fuente energética Melaza contra azucares del grano de maíz y proteína de la pasta de canola sobre la MS del BM se encontró que estadísticamente hay más MS con la adición de melaza.

Proteína Cruda

Para los resultados del análisis estadístico de PC hechos por el método de Tukey (Gráfica 3), se encontró diferencia significativa entre tratamientos ($P < 0.05$) encontrado que el nivel más alto fue para el T5 con $33.08 \% \pm 1.09$ el cual fue diferente al resto de los tratamientos, seguido del T4 con $29.26 \% \pm 1.09$ y el T1 con 25.06 ± 1.09 % estadísticamente similares y con un nivel intermedio de PC se encontró al T2 con $24.02 \% \pm 1.09$ y T3 con $22.70 \% \pm 1.09$; el análisis de la PC de todos los tratamiento fue diferente a la PC del BM en la que



Gráfica 3. Media de la proteína cruda de los tratamientos de bagazo de manzana adicionado con fuentes energéticas y proteicas.

T1 = Bagazo de manzana y 0.5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % $\text{CO}_2 (\text{NH}_2)_2$; T2 = Bagazo de manzana y 0.5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % melaza; T3 = Bagazo de manzana y 0.5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % maíz; T4 = Bagazo de manzana y 0.5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % canola; T5 = Bagazo de manzana y 0.5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 2.0 % $\text{CO}_2 (\text{NH}_2)_2$; BM = Bagazo de manzana; ^{a,b,c,d} Medias con literales diferentes en superíndices difieren significativamente $P < 0.05$ (Tukey 1952) se observó un contenido de $8.28 \% \pm 1.09$ ($P < 0.05$).



El resultado observado PC del BM es similar a lo reportado por Anrique y Dossow (2003) que indicaron que el ensilado de pulpa de manzana tiene 7.7 % de PC, y por Becerra *et al.*, (2008) 15 % a 20.5 % de PC, mientras que Sepúlveda *et al.* (2005) indicaron que el bagazo de manzana tiene un contenido de PC entre 4 a 8 % de PC variación influida por la variedad de manzana.

La PC obtenida de los tratamientos es comparable a la observada en otros sistemas similares por el crecimiento de levaduras relativamente alto que explica las cifras de alto valor proteico obtenido (Dhillon *et al.*, 2012).

Saucedo-Castañeda *et al.*, (1992) determinaron el efecto del nitrógeno en algunas especies de hongos obteniendo resultados similares e indicaron que la adición de fuentes de nitrógeno exógeno aumenta considerablemente la producción de biomasa y proteína, mencionando que la urea, es la mejor fuente de nitrógeno y que también contribuye a controlar el pH.

En el análisis de PC por el método de contrastes, se encontró diferencia ($P < 0.05$) en los contrastes I. Efecto si al añadir aditivos al BM, esto puede contribuir a mejorar su valor nutricional, mostró que añadirle algún aditivo energético y/o proteico al BM aumento la PC, y en el contraste II. Efecto de añadir el BM una fuente de proteica (urea) vs BM adicionado con una fuente energética melaza, grano de maíz y proteica pasta de canola, se encontró que la urea mejoró más el valor de PC del BM que la melaza, grano de maíz o pasta de canola, y en el contraste III. Efecto de adicionar diferente nivel de urea 1.5 % y 2.0 % al BM se encontró que adicionar 2 % de urea al BM resulta en una producción mayor de PC que adicionado 1.5 % de urea al BM y no se encontró diferencia ($P > 0.05$)

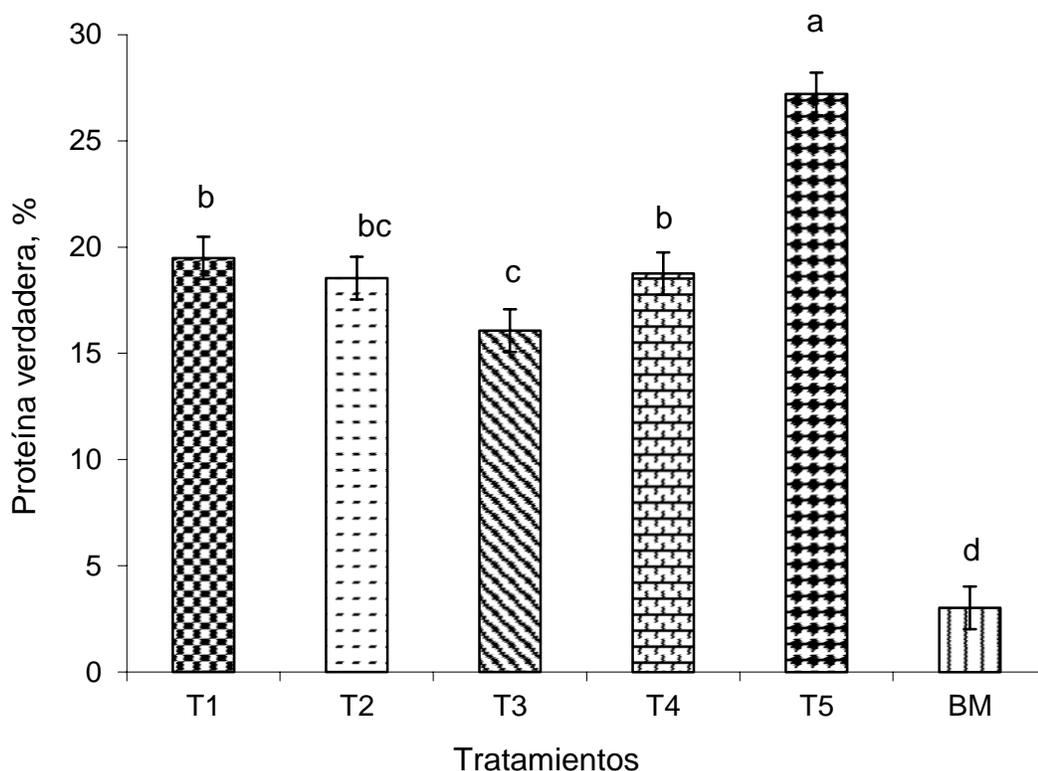


en los contrastes IV. Efecto de la fuente energética melaza vs fuente energética del grano de maíz y proteica de la pasta de canola y contraste V. Efecto de la fuente energética grano de maíz vs fuente proteica pasta de canola.

Proteína Verdadera

El análisis estadístico de la PV (Gráfica 4), se encontró que el nivel más alto fue el T5 con $27.21 \% \pm 0.60$ de PV que fue diferente del resto de tratamientos ($P < 0.05$); un nivel medio se encontró para el T1 con $19.49 \% \pm 0.60$, T4 con $18.77 \pm 0.60 \%$ y T2 con $18.54 \% \pm 0.60$ de PV que fueron similares estadísticamente y el nivel más bajo fue para T3 con $16.07 \% \pm 0.60$ de PV que estadísticamente fue similar al T2; la PV de todos los tratamientos fue significativamente diferente al promedio obtenido en el BM con $3.03 \% \pm 0.60$ de PV ($P < 0.05$).

La PV de los tratamientos fue similar a la reportada Becerra *et al.*, (2008) y superior a la obtenida en los ensayos de FAES de Elías y Lezcano (1992) en la fermentación de la caña de azúcar la cual en su estado natural contiene en promedio 3.5 % de PV y que fermentada con la adición de urea para obtener saccharina la PV se incrementa hasta un 12 %, y en sus ensayos de FAES de 1994 en donde fermentaron caña de azúcar adicionando maíz obteniendo 7 % de PV, en resultados similares Duru *et al.*, (2003) encontraron que el enriquecimiento protéico de residuos sólidos adicionando urea y sulfato de amonio (Díaz, 2006 y Zhong-Tao *et al.*, 2009) en la fermentación de hojas de la planta oreja de elefante (*Xanthosoma sagittifolium (L) Schott*) utilizando *Aspergillus oryzae* incrementaba el valor proteico de 1.07 % de PV en plantas



Gráfica 4. Media de la proteína verdadera de los tratamientos de bagazo de manzana adicionado con fuentes energéticas y proteicas.

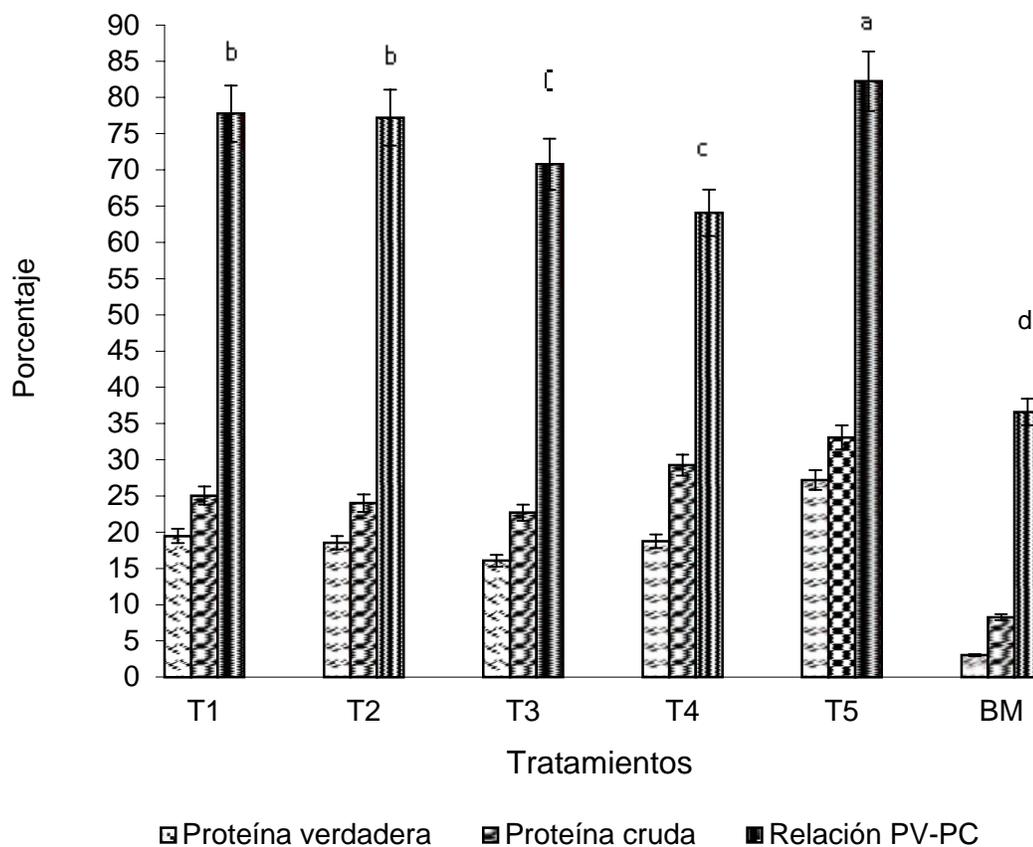
T1 = Bagazo de manzana y 0.5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % $\text{CO}_2 (\text{NH}_2)_2$; T2 = Bagazo de manzana y 0.5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % melaza; T3 = Bagazo de manzana y 0.5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % maíz; T4 = Bagazo de manzana y 0.5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % canola; T5 = Bagazo de manzana y 0.5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 2.0 % $\text{CO}_2 (\text{NH}_2)_2$; BM = Bagazo de manzana; a,b,c,d Medias con literales diferentes en superíndices difieren significativamente $P < 0.05$ (Tukey, 1952) sin fermentar hasta un 20.67 % en plantas con tratamiento.



En el análisis de la PV por el método de contrastes, se encontró diferencia entre tratamientos ($P < 0.05$). En el contraste I. Efecto si al añadir aditivos al BM, esto puede contribuir a mejorar su valor nutricional el resultado observado indicó un aumento significativo en la PV al adicionarle algún aditivo al BM; en el contraste II. Efecto de añadir el BM una fuente proteica (urea) vs BM adicionado con una fuente energética melaza, grano de maíz y proteica pasta de canola se encontró que la urea es mejor aditivo para aumentar el valor de PV del BM comparada con la PV obtenida con la adición de azúcares o proteína provenientes de la melaza o de cereales; en el contraste III. Efecto de adicionar diferente nivel de urea 1.5 % y 2.0 % al BM, se encontró que adicionar un 2 % de urea incremento más la PV que adicionar 1.5 % de urea al BM; en el contraste IV. Efecto de la fuente energética melaza vs fuente energética grano de Maíz o fuente proteica pasta de Canola se encontró que la melaza es mejor al maíz y pasta de canola en el incremento de PV del BM y en el contraste V. efecto de la fuente energética y fibra dietética grano de maíz vs fuente proteica pasta de canola adicionada al BM, se encontró más PV en el BM al adicionar la pasta de canola que adicionando grano de maíz.

Relación Proteína Cruda – Proteína Verdadera

La relación de PC-PV de tratamientos (Gráfica 5), se encontró la mejor relación de rendimiento en T5 con 82.24 % que fue diferente a los demás tratamientos ($P < 0.05$); seguido de T1 con 77.76 % y T2 con 77.19 % que fueron iguales y tuvieron valores intermedios para la relación de PC-PV, y el nivel más bajo en la relación PC-PV fue para T3 con 70.78 % y T4 con 61.10 %



Gráfica 5. Relación proteína verdadera-proteína cruda de los tratamientos de bagazo de manzana adicionado con fuentes energéticas y proteicas.

T1 = Bagazo de manzana y 0.5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % $\text{CO}_2 (\text{NH}_2)_2$; T2 = Bagazo de manzana y 0.5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % melaza; T3 = Bagazo de manzana y 0.5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % maíz; T4 = Bagazo de manzana y 0.5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 1.5 % canola; T5 = Bagazo de manzana y 0.5 % $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ más 2.0 % $\text{CO}_2 (\text{NH}_2)_2$; BM = Bagazo de manzana; a,b,c,d Letras diferentes en superíndices difieren significativamente $P < 0.05$ (Tukey 1952)

que fueron similares estadísticamente; en el resultado de la relación PC-PV en el BM fue de 36.61 % que fue muy diferente a los tratamientos ($P < 0.05$).



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados encontrados muestran que añadir aditivos proteicos y energéticos al bagazo de manzana (BM) y procesarlo mediante FAES mejora significativamente el contenido nutricional del BM.

Con la adición de 0.5 % de $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ (sulfato de amonio) y 2 % de CO_2 $(\text{NH}_2)_2$ (urea) se obtiene un producto con una notable calidad proteica, a este se le hemos llamado manzarina (MZ).

Con la aplicación de técnicas de FAES en BM se logró obtener un producto muy superior en su valor de proteína cruda y proteína verdadera comparado con los niveles de proteína cruda y proteína verdadera del BM en fresco y que se utiliza en la alimentación de ganado bovino, principalmente en ganado lechero.

Recomendamos realizar mayores estudios de investigación, a fin de conocer más sobre el verdadero potencial nutricional y características de la fermentación del BM por los microorganismos presentes en el BM, y de ser posible realizar la caracterización físico-química de la MZ para conocer su real potencial en el uso como suplemento o ingrediente en las dietas nutricionales de los animales, y además seguir estableciendo los estándares biotecnológicos para su producción mediante FAES.



LITERATURA CITADA

- Anrique, R. y C. Dossow. 2003. Efectos de la pulpa de manzana ración de vacas lecheras sobre el consumo, la tasa de sustitución y la producción de leche. Inst. de Prod. Anim. Fac. de Cienc. Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 17th Ed., Ass Off Anal. Chem..
- Becerra, A. y C. Rodríguez. 1998. Elaboración de bloques proteicos para suplementación de ganado en agostadero utilizando un subproducto de manzana con cuatro tipos de secantes. Tesis de Maestría. Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih., México.
- Becerra, A., C. Rodríguez, J. Jiménez, O. Ruiz, A. Elías y A. Ramírez. 2008. Urea y maíz en la fermentación aeróbica de bagazo de manzana para la producción de proteína microbial. *Tecnociencia Chihuahua*. 11:7-13.
- Christen, P., R. Auria, R. Marcos, E. Villegas y S. Revah. 1994. Growth of *Candida utilis* on amberlite with glucose and ethanol as sole carbon source. *Adv. in Bioprocess Engin.* 13:87-93.
- COTECOCA. 1985. Coeficientes de agostadero de la República Mexicana. Estado de Chihuahua. Comisión técnico consultiva para la determinación regional de los coeficientes de agostadero. SARH Delegación Chihuahua Boletín informativo No. 1. Chihuahua.
- Díaz, D. 2006. Producción de proteína microbial a partir de manzana de desecho adicionada con urea y pasta de soya Tesis de Maestría. Facultad de Zootecnia, Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih., México.
- Dhillon, G. S., S. K. Brar, M. Verma y R. D. Tyagi. 2011. Enhanced solid-state citric acid bio-production using apple pomace waste through surface response methodology. *J. of App. Microb.* 110:1045-1055.
- Dhillon, G. S., K. Surinder, B. Satinder y V. Mausam. 2012. Potential of apple pomace as a solid substrate for fungal cellulase and hemicellulase bioproduction through solid-state fermentation. *Ind. crops & product.* 38:6-13.
- Durand, A. 1993. Solid state fermentation reactors: From Lab Scale to Pilot Plant. *Biotech. Adv.* 11: 591-597



- Duru, C. C. y N. U. Uma. 2003. Protein enrichment of solid waste from cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) cormel processing using *Aspergillus oryzae* obtained from cormel flour. African J. of Biotech. 2:228-232. <http://www.academicjournals.org/AJB> ISSN
- Elías, A. y O. Lezcano. 1992. Efecto de la temperatura y la urea en la fermentación de la caña de azúcar para producir saccharina., Rev. Cubana Cienc. Agríc. 26:291.
- Elías, A. y O. Lezcano. 1993., Efecto de la fuente de nitrógeno y algunos factores de crecimiento en la población de levaduras que se establece en la producción de saccharina., Rev. Cubana Cienc. Agríc. 35:286.
- Elías, A. y O. Lezcano. 1994., Efecto de la inclusión de niveles de harina de maíz en la fermentación de la caña de azúcar., Rev. Cubana Cienc. Agríc. 28:319.
- Elías, I. A. 2004. Taller producción practica biotecnológica de alimentos para consumo animal. Facultad de Zootecnia. 29 – 30 marzo, Universidad Autónoma de Chihuahua.
- Gobierno del Estado de Chihuahua. 2005. Enciclopedia de los Municipios de México Estado de Chihuahua. www.e-ocal.gob.mx/work/templates/enciclo/chihuahua/Mpios/08017a.htm
- INEGI, 2001. Indicadores socio demográficos. Información por entidad. Estado de Chihuahua. Territorio. <http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/chih/territorio/default.aspx?tema=me&e=08>
- Kim, J. H., M. Hosobuchi y D. D. Ryu. 1985. Cellulase production by a solid state culture System. J. Biotech. Bioeng. 27:1445-1450.
- Lastras, P. 2004. Manzanas: seguro de salud. <http://saludbio.com/articulo/manzanas-seguro-de-salud>. Consultado el 25 Octubre, 2004.
- Lebgue, T. y A. Valerio. 1991. Gramíneas de Chihuahua. Manual de identificación. Colección textos universitarios. Universidad Autónoma de Chihuahua.
- Rahmat, H., R. A. Hodge, G. J. Manderson y P. L. Yu. 1995. Solid-substrate fermentation of *Kloeckera apiculata* and *Candida utilis* on apple pomace to produce an improved stock-feed. World J. of Microb. & Biotech. 11:168-170.



Saucedo-Castañeda, G., B. K. Lonsane, J. M. Navarro, S. Roussos y M.

Raimbault. 1992. Potential of using a single fermenter for biomass build- up, starch hydrolysis and ethanol production. *Appl. Biochem. Biotech.*, 36:47-61

SAS. 1998. System of analysis statistical for linear models V 8. A guide to the anova and GLM procedures. Cary, N.C.

Sepúlveda, E., I. Chiffelle, A. M. Estévez, B. Escobar, C. Fuentes, C. Sáenz, H. Núñez y A. González. 2005. Proyecto ingredientes funcionales, ¿Qué es la pomasa de manzana?, INTA, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile
http://146.83.42.209/joomla_funcional/index.php?option=com_content&task=view&id=15&Itemid=31

SIAP. 2014. Sistema de información agrícola y pecuaria. Red SAGARPA

Smith, R. E., Ch. Osothsilp, P. Bicho y K. F. Gregory. 1986. Improvement in the protein content of cassava by *Sporotrichum pulvulentum* in solid state Culture. *Biotech.* 1:31-36.

Zhong-Tao, S., T. Lin-Mao, L. Cheng y D. Jin-Hua. 2009. Bioconversion of apple pomace into a multienzyme bio-feed by two mixed strains of *Aspergillus niger* in solid state fermentation. *Elect. J.I of Biotech.* 12:3458.



ESTUDIO II. CARACTERIZACIÓN DE MANZARINA ELABORADA DE BAGAZO DE MANZANA DE DESECHO FRESCA Y REFRIGERADA



**CARACTERIZACIÓN DE MANZARINA ELABORADA DE BAGAZO DE
MANZANA DE DESECHO FRESCA Y REFRIGERADA**

POR:

M. C. JESÚS FERNANDO BUSTAMANTE CORONA

Doctor in Philosophia en Producción Animal

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: D. Ph. Carlos Rodríguez Muela

En la caracterización de la manzarina (MZ) para conocer su valor nutrimental, se elaboró MZ con bagazo de manzana (BM) de desecho proveniente del huerto (tratamientos T1 y T2), y BM proveniente de frigorífico (tratamientos T3 y T4) que se adicionaron con 0.5 % de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (sulfato de amonio) y 1.0 % de una fórmula mineral rica en fósforo y microelementos (Microfos 12 %) y 2.0 % $\text{CO}_2(\text{NH}_2)_2$ (urea), los resultados encontrados para PC indicaron que T1 con 32.24 % y T2 con 31.92 % son similares y diferentes ($P < 0.05$) a T3 con 27.40 % y T4 con 24.94 % de PC, sin embargo en PV no hubo diferencia ($P > 0.05$). Durante la fermentación aerobia en estado sólido (FAES) hubo cambio en la alcalinidad, de 3.20-3.35 a 6.20-6.59 debido a la modificación del medio ambiente por las levaduras; se analizó la MZ para aflatoxinas con tres concentraciones encontrando 0.655, 0.394 y 0.259 ppb. La adición de nitrógeno exógeno (urea y sulfato de amonio) más las condiciones de temperatura, aireación y disponibilidad de nutrientes del sustrato permitieron el aumento de biomasa y proteína de las levaduras y estas a su vez producen y secretaran



diversas sustancias que modifican su entorno, estas sustancias crean mejores condiciones para su desarrollo, un factor que modifican la acidez (pH) de la matriz utilizada tendiendo hacia la neutralidad.



ABSTRACT

**MANZARINA CHARACTERIZATION MADE APPLE POMACE WASTE FRESH
AND CHILLED**

BY:

JESUS FERNANDO BUSTAMANTE CORONA

In order to characterizing the manzarina (MZ) to know its nutritional value, MZ was developed with apple pomace (BM) waste from the orchard (treatments T1 and T2), and BM from chilled storage (T3 and T4 treatments) that were added with 0.5 % $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (ammonium sulfate) and 1.0 % of a mineral rich in phosphorus and trace Formula (Microfos 12 %) and 2.0 % $\text{CO}_2(\text{NH}_2)_2$ (urea). Results indicated that T1 with 32.24 % and T2 with 31.92 % PC are similar and different ($P < 0.05$) to T3 with 27.40 % and T4 with 24.94 % CP, however PV was not different ($P > 0.05$). During the aerobic fermentation solid state (FAES) there was a change in the alkalinity from 3.20-3.35 to 6.20-6.59 due to the modification of the environment by yeast; MZ analyzed for aflatoxin concentrations showed 0.655, 0.394 and 0.259 ppb. The addition of exogenous nitrogen (urea and ammonium sulfate) over temperature conditions, aeration and nutrient availability of substrate permitted the increased biomass and yeast protein and these in turn produce and secrete various substances that modify their environment, These substances create better conditions for their development, a factor that modify the acidity (pH) of the matrix used tending towards neutrality.



INTRODUCCIÓN

La manzarina (MZ) como todo producto nuevo que va a ser alimentación de ganado, presenta limitaciones, con el fin de que pueda ser utilizado más amplia y eficientemente se requiere de conocer más sobre la complejidad de sus características físico-químicas a fin de conocer el valor de su aportación nutricional (Anrique y Dossow, 2003 y Elías, 2004) al momento de ser incluido en la dieta del ganado.

La MZ se produce a partir del bagazo de manzana (BM) este es un agro-residuo proveniente de la industria de extracción del jugo de manzana y dependiendo, de la época del año, el BM se obtiene de dos fuentes; la primera es de la manzana de desecho directamente del huerto y la segunda fuente es de manzana proveniente de los frigoríficos; actualmente se considera que cerca de un 50 % de la producción se refrigera, y como cualquier otro cultivo, es atacado por hongos y levaduras en la pos-cosecha, por lo que comúnmente se utilizan como método de control fungicidas sintéticos (Guerrero *et al.*, 2004 y Becerra *et al.*, 2008).

Otro método de control alternativo, es con levaduras epifitas que son agentes naturales de control biológico, estas han sido evaluadas extensamente con tal propósito en manzana y otros frutos (Guerrero *et al.*, 2004).

Anrique y Dossow (2003) indicaron que la composición química en base seca de la pulpa de manzana ensilada es: PC de 5.8 - 8.0 %, FC de 17 – 28 % y FDA de 40 – 44 %.

La pulpa de manzana tiene una mayor EM comparada con el ensilaje de



ballico, a pesar de que éste tiene menos fibra (FDA), que se atribuye a una alta digestibilidad de la fibra de la pulpa de manzana (Becerra *et al.*, 2008), que supera el 65 % citándose valores de digestibilidad superiores a 80 %; la digestibilidad ruminal de la MS puede alcanzar 89 % (Anrique y Dossow, 2003).

Es importante tener presente que la pulpa de manzana ensilada difiere de la pulpa fresca; comparativamente posee menos EM (5 %), diferencia que es pequeña si se considera su mayor contenido de FDA (18 %), lo cual es también indicativo de un efecto favorable del ensilado en la digestibilidad de la fibra (Díaz, 2006).

El bajo pH se explica por el contenido normal de ácidos orgánicos del producto, y además por la formación de ácido láctico, que se produce por fermentación anaeróbica de la pulpa de manzana. Esta característica protege de la proliferación de bacterias indeseables, principalmente del género *clostridium*, e inhibe la respiración.

Si a esto se suma la riqueza de sustrato fermentable y una consistencia pastosa que limita el ingreso de aire, entonces se tienen condiciones óptimas para una fermentación anaeróbica (Anrique y Dossow, 2003), características que limitan y dificultan realizar la fermentación aerobia.

Por tal motivo, y con la finalidad de conocer más sobre el potencial nutricional de la manzarina, se realizó a macro escala la producción de manzarina utilizando el método de FAES, para posteriormente analizar su composición química y conocer más sobre su valor nutricional (Elías y Lazcano, 1992; Elías y Lazcano, 1993; Rahmat, 1995; Elías, 2004; Díaz, 2006; Díaz, 2011).



MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio

En la ciudad de Chihuahua, Chih., en la Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Zootecnia y Ecología domicilio en el km. 1 del Periférico Francisco R. Almada se ubica en la región III de la clasificación de COTECOCA (1985); con una altitud de 1,595 msnm, temperatura media anual de 18.6 ° C y una precipitación media anual de 336.5 mm y su localización geográfica está a los 28° 35´ Latitud N y 106° 04´ Longitud O (INEGI, 2001).

Áreas Complementarias

El BM se obtuvo en la planta extractora de jugo CONFRUTA S.A. de C.V., ubicada en Colonia Álvaro Obregón (Rubio), municipio de Cuauhtémoc, Chih.

Se realizó análisis de aflatoxinas en el laboratorio químico de la Planta de Semillas Agrícolas Balanceadas de México S.A. de C.V. (SABAMEX), con domicilio en la calle Privada Juan Pablo II número 5901, colonia Aeropuerto, Chihuahua, Chih.

Se realizó un análisis de aminoácidos en la República Federal Alemana, Laboratorio Degussa Feed Additives, con domicilio en calle Bennigsenplatz 140474 Düsseldorf, Germany, por mediación de Degussa México, S.A. de C.V. domicilio en calle México 5149, Xochimilco, Distrito Federal, México.

Infraestructura

En la planta de extracción de concentrado de manzana CONFRUTA, se obtuvo el BM que fue depositado en invernadero tipo domo para su fermentación y posterior molienda en el laboratorio de procesados para alimentación animal y



el análisis químico se realizó en el laboratorio de investigación de nutrición animal de la Facultad de Zootecnia y Ecología.

Equipo

Se utilizó un remolque de 8 pies de largo para transportar el BM, un báscula Tor-rey con capacidad de 50,000 kg donde se pesó el BM junto con el remolque, pala carbonera para voltear la mezcla de BM durante el proceso de fermentación, tubos vidrio de digestión, estufa digestión, destilador Kjeldahl (Tecator) para determinar proteína cruda y verdadera, cromatógrafo de gases de absorción atómica y densitómetro digital Micotox Ltda. Para análisis de minerales.

Descripción de los Tratamientos

Para este ensayo, se elaboró la manzarina utilizando el método de FAES desarrollado, los tratamientos (Cuadro 6) se formularon basados en el tratamiento con mayor contenido de PV del primer ensayo; utilizando BM proveniente de manzana de desecho del huerto (T1 y T2), y BM de manzana refrigerada (T3 y T4), adicionados con 0.5 % de $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ (sulfato de amonio) y 1.0 % de una formula mineral rica en fósforo y microelementos (Microfos 12 %) y 2.0 % $\text{CO}_2 (\text{NH}_2)_2$ urea.

Procedimiento

La FAES del BM para producir la manzarina se realizó en dos etapas: la primera en diciembre del 2004 y correspondió la elaboración de manzarina con BM de manzana de desecho proveniente del huerto, utilizando 1,301.515 kg divididos en los tratamientos (T1 y T2) en camas de 15 y 20 cm de espesor respectivamente, la segunda etapa fue en enero del 2005 con la elaboración de



Cuadro 6. Tratamientos experimentales para producción de proteína microbiana

Tratamiento	Bagazo de Manzana	% (NH ₄) ₂ SO ₄	Minerales %	Aditivo %	
T1	MD	0.5	1.0	2.0	CO ₂ (NH ₂) ₂
T2	MD	0.5	1.0	2.0	CO ₂ (NH ₂) ₂
T3	MR	0.5	1.0	2.0	CO ₂ (NH ₂) ₂
T4	MR	0.5	1.0	2.0	CO ₂ (NH ₂) ₂

T1 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana proveniente del huerto, T2 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana proveniente del huerto, T3 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana proveniente de frigorífico, T4 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana proveniente de frigorífico, MD = Manzana de desecho proveniente del huerto, MR = Manzana proveniente de frigorífico, (NH₄)₂ SO₄ = sulfato de amonio y CO₂ (NH₂)₂ = urea

MZ con BM proveniente de frigorífico, utilizando 1,599.740 kg divididos en los tratamientos (T3 y T4) en camas de 15 y 20 cm de espesor.

La FAES de ambas etapas se realizó en el invernadero del laboratorio de procesados para alimentación animal, las camas se airearon cada cuatro horas mediante volteo manual del sustrato, utilizando una pala carbonera secándose



en forma natural hasta los 18 d cuando se sentía seca al tacto. La MZ producida fue molida con una criba de 1 pulgada en un molino de martillos fijos del laboratorio de procesados para alimentación animal, las muestras de la MZ se obtuvieron diariamente por cada tratamiento, recolectándose en tres diferentes puntos de la cama cada día procurando no repetir el punto de muestreo, las muestras diarias fueron mezcladas para su posterior análisis químico y al finalizar el muestreo para cada tratamiento para su caracterización físico-química; el análisis químico y de minerales que se realizó en el laboratorio de investigación de nutrición animal.

Se determinó la energía digestible a partir de las formulas citadas en las tablas de composición de ingredientes utilizados en la alimentación animal de la Facultad de Zootecnia y Ecología para el Estado de Chihuahua (FZE, 1992):

$$ED \text{ (kcal/kg)} = \text{TND \%} \times 4.409 \text{ (ovejas y bovinos)}$$

$$ED \text{ (kcal/kg)} = \text{TND \%} \times 0.0365 + 0.172 \text{ (equinos)}$$

La energía metabolizable se obtuvo a partir de la energía digestible utilizando las citadas en las tablas de composición de ingredientes utilizados en la alimentación animal de la Facultad de Zootecnia y Ecología para el Estado de Chihuahua (FZE, 1992):

$$EM \text{ (kcal/kg) rumiantes} = ED \text{ (kcal/kg)} \times 0.82$$

$$EM \text{ (kcal/kg) cerdos} = ED \text{ (kcal/kg)} \times 96 - \underline{(0.202 \times \% \text{ PC})}$$

100

Se estimó la energía neta de mantenimiento y energía neta de ganancia en ganado de carne a partir de las ecuaciones propuestas en el sistema california citado en las tablas de composición de ingredientes utilizados en la alimentación



animal de la Facultad de Zootecnia y Ecología para el Estado de Chihuahua (FZE, 1992):

$$\text{Log F} = 2.2577 - 0.2213 \text{ EM}$$

$$\text{EN mantenimiento} = 77 / F$$

$$\text{EN de ganancia} = 2.54 - 0.0314 F$$

F son los gramos de materia seca por unidad de peso ($W^{0.75}$) requeridas para el equilibrio de la energía de mantenimiento.

Se estimó la energía neta de lactancia:

$$\text{EN (Mcal/kg MS) vacas en lactancia} = 0.84 \text{ ED (kcal/kg)} - 0.77$$

Con la finalidad de conocer si la MZ cumple con las especificaciones para las NOM fitosanitarias, fue realizado su análisis químico en el laboratorio químico de alimentos de SABAMEX contando para ello con el apoyo del personal especialista de esa empresa para el análisis de la presencia de aflatoxinas utilizando el método de ELISA.

Finalmente para obtener una mejor caracterización de nutrientes de la MZ se realizó el análisis de aminoácidos en el Laboratorio Degussa Feed Additives Animal Nutrition Services en Düsseldorf, Alemania apoyados por personal especializado de ese laboratorio mediante la técnica de determinación de aminogramas por cromatografía de intercambio iónico, que se realiza hidrolizando totalmente la proteína de la muestra, preparando un hidrolizado con HCL 6N a una temperatura de 100 ± 2 °C durante 24 h con pH de 5.2 utilizando dos columnas en el analizador Beckman 120 °C.



Variables Evaluadas

Al producto resultante de la FAES de los tratamientos se les realizó análisis químico para humedad (H), materia seca (MS), fibra cruda (FC) proteína cruda (PC) por el método Kjeldah y proteína verdadera (PV) por medio del método de Berstein, mediante las técnicas descritas en AOAC (2000), también se analizó el cambio en pH y monitoreo la temperatura ambiental, finalmente se realizó una caracterización química de la manzarina en donde se incluyen valores mínimos y máximos obtenidos de proteína, minerales y aminoácidos.

Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó bajo un diseño experimental completamente al azar con cuatro tratamientos. Los resultados fueron analizados estadísticamente por medio de la comparación de medias de tratamiento de Tukey y la prueba por contrastes ortogonales mediante el procedimiento GLM del SAS (1998); además se utilizó la estadística descriptiva en la caracterización de nutrientes de la MZ.

Los contrastes ortogonales analizados fueron:

I. Efecto de la fuente de bagazo de manzana utilizado, si el tipo de BM contribuye en la calidad de la producción de manzarina: BM de manzana de desecho proveniente del huerto vs BM de manzana proveniente del frigorífico.

II. Efecto en la fermentación debido a la ubicación del sustrato en el invernadero y altura de la cama (15 o 20 cm) si esto influye en la calidad: norte del invernadero vs sur del invernadero.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Humedad de la Manzarina

Para la humedad (H) de la MZ se recolectaron diariamente muestras de los tratamientos en tres puntos de la cama mezclándose para obtener la media del cambio de H hasta que las camas quedaron secas al tacto (18 d), los resultados se muestran en el Anexo 2; en el análisis estadístico (Cuadro 7) se encontró diferencia estadística entre tratamientos ($P < 0.05$); el tratamiento T2 con 73.87 ± 1.77 % y tratamiento T1 con 72.94 ± 1.77 % fueron similares presentando la mayor humedad, seguidos del tratamiento T3 con 70.15 ± 1.77 % que estadísticamente es similar a los dos tratamientos anteriores y similar al tratamiento T4 con 67.64 ± 1.77 % que fue donde se observó el nivel más bajo de humedad.

En el análisis estadístico de la humedad mediante contrastes ortogonales, en el primer contraste efecto de la fuente de BM utilizado, la MZ elaborada en el mes de diciembre con BM proveniente de huerto comparada con la MZ elaborada en el mes de enero con BM proveniente de frigorífico, se encontró diferencia estadística ($P < 0.05$) según la época de elaboración, observándose que el mes de diciembre la MZ presentó más humedad que la manzarina elaborada en el mes de enero y que corresponde a la MZ elaborada con BM proveniente de frigorífico, por lo que se piensa que la menor humedad en la MZ elaborada en el mes de enero, puede ser influida por efecto del tiempo de almacenamiento.

El resultado observado de la H en ambos tratamientos fue ligeramente menor a los valores indicados por Anrique y Dossow (2003) y Guerrero *et al.*,



Cuadro 7. Efecto de FAES¹ en el promedio de algunos indicadores bromatológicos en la producción de manzarina con dos fuentes de bagazo de manzana (% Base Seca)

	T1	T2	T3	T4	(BM)	E.E.
Humedad (H)	72.94 ^a	73.87 ^a	70.15 ^{ab}	67.65 ^b	--	± 1.77
Materia Seca (MS)	27.06 ^b	26.14 ^b	29.85 ^a	32.37 ^a	--	± 1.77
Proteína Cruda (PC)	32.37 ^a	31.94 ^a	27.40 ^b	24.94 ^b	8.28 ^d	± 0.99
Proteína Verdadera (PV)	16.93 ^a	16.04 ^a	16.55 ^a	16.15 ^a	3.03 ^d	± 0.45
Relación PV/PB	52.51 ^b	50.25 ^b	60.40 ^a	64.75 ^a	36.61 ^d	--
Fibra Cruda (FC)	91.93 ^{bc}	92.64 ^{ab}	91.45 ^c	93.05 ^a		± 0.27
pH	3.75 ^b	3.93 ^b	5.78 ^a	5.50 ^a	3.05 ^d	± 0.19

¹ FAES = Fermentación aerobia del estado sólido, T1 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana proveniente del huerto, T2 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana proveniente del huerto, T3 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana proveniente de frigorífico, T4 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana proveniente de frigorífico, BM = Mezcla de bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto y bagazo de manzana de manzana proveniente de frigorífico ^{a,b,c,d} Letras diferentes en superíndices difieren significativamente P < 0.05 (Tukey 1952) E.E. = error estándar pH = acidez de la manzarina

(2004) en su análisis de la composición química del ensilado de pulpa de manzana donde menciona que esta, tiene un contenido de 84.5 % de humedad,



en tanto que Lastras (2004), en su caracterización físico química de diferentes variedades de manzana estableció que el contenido de humedad de la manzana es del 80 a 85 % dependiendo de su variedad y estado fenológico (Guerrero *et al.*, 2004).

En el segundo contraste se comparó la posición y altura de la cama en la elaboración de MZ dentro del invernadero, el lado sur, más próximo al zenit del sol comparado con la posición del lado norte dentro del invernadero, no encontrando diferencia estadística entre tratamientos ($P > 0.05$).

Materia Seca en la Manzarina

La concentración de MS de la MZ al igual que la H se muestreo durante 18 d (Anexo 3). Los resultados del análisis estadístico (Cuadro 7) de la MS se encontró que los tratamientos T4 con 32.37 ± 1.77 % y T3 con 29.85 ± 1.77 % fueron iguales estadísticamente, y diferentes ($P < 0.05$) a los tratamientos T1 con 27.06 ± 1.77 % y T2 con 26.14 ± 1.77 % que fueron similares estadísticamente, los resultados mostraron que fue mayor la MS encontrada en la MZ elaborada con BM proveniente de frigorífico.

Anrique y Dossow (2003) indicaron en su análisis de la composición química del ensilado de pulpa de manzana que la MS en la manzana es de 15.5 % de humedad, y Lastras (2004), en la caracterización físico química de la manzana hecha en su descripción de las cualidades y beneficios de la manzana en la salud humana, indicó que la MS es de entre el 15.1 a 20.0 % dependiendo esta de su variedad y estado fenológico.

El resultado observado de MS de la MZ fue mayor que el obtenido en el análisis de la manzana, esta diferencia se debe a que la producción de MZ se



realiza con BM y no con manzana fresca y además se tiene un incremento de microorganismos debido a la fermentación del sustrato.

En el análisis estadístico de la MS mediante contrastes, en el primer contraste efecto de la fuente de BM utilizado, la MZ elaborada en el mes de diciembre con BM proveniente del huerto comparada con la MZ elaborada en el mes de enero con BM proveniente de frigorífico, se encontró diferencia estadística ($P < 0.05$), observando un efecto inverso al de la variable humedad, donde en el mes de diciembre la MZ presenta menos MS que la MZ elaborada en el mes de enero y corresponde a la elaborada con BM proveniente de frigorífico.

La menor o mayor concentración de MS en la MZ, se debe a la época de elaboración; es decir se ve afectada por el estado fenológico de la manzana y principalmente por el origen de la manzana para la producción del BM.

En el segundo contraste efecto de la ubicación del sustrato en el invernadero lado más próximo al zenit del sol comparado lado norte y altura de la cama (15 o 20 cm) en la elaboración de MZ dentro del invernadero, no se encontró diferencia estadística en la MS ($P > 0.05$) entre la posición y altura de las camas en la elaboración de la MZ.

Proteína Cruda de la Manzarina

Los resultados del muestreo de la PC durante los 18 d de tiempo de elaboración se observan en el Anexo 4.

En el análisis estadístico de PC (Cuadro 7), se encontró diferencia estadística por el origen del sustrato ($P < 0.05$); los tratamientos T1 con $32.24 \pm$



0.99 % y T2 con 31.94 ± 0.99 % de PC de la MZ elaborada en diciembre del 2004 con BM proveniente de huerto fueron similares entre sí y diferentes a los tratamientos T3 con 27.40 ± 0.99 % y T4 con 24.94 ± 0.99 % de PC de la MZ elaborada en enero 2005 con BM proveniente de frigorífico. La PC de la MZ de los tratamientos fue significativamente diferente ($P < 0.05$) a la PC del BM 8.28 ± 0.99 %, lo que nos indica que usar el método de FAES en el BM tiene un efecto positivo al incrementar la PC en la elaboración de MZ.

Este proceso, además de enriquecer el sustrato con proteínas y aminoácidos también libera oligosacáridos y azúcares simples en el medio como resultado de la degradación microbiana de polisacáridos no disponibles, debido a la producción de enzimas amilolíticas, celulolíticas y pectinolíticas de los cultivos de hongos y levaduras, que les permite metabolizar los complejos polímeros de los hidratos de carbono durante la FAES (Duru *et al.*, 2003).

Estudios similares sobre el enriquecimiento proteico en residuos sólidos han sido llevados a cabo en la cebada, el trigo y pulpa de remolacha deshidratada (Hardy, 1992), así como en la yuca (Raimbault, 1998).

Las grandes cantidades de PC producida por la fermentación de los residuos sólidos indican la conversión de los residuos sólidos de hidratos de carbono por la biomasa de micro-organismos. Esta PC obtenida es comparable a otros modelos de FES publicados que indican que por el crecimiento de las colonias de hongos y levaduras explica las cifras de alto valor proteico obtenido durante la fermentación (Duru *et al.*, 2003).

Muestras de los tratamientos y BM, fueron enviadas para análisis de PC y



aminoácidos al laboratorio DEGUSSA de Alemania (Anexos 5 a 9) con los siguientes resultados de PC: T1 30.36 %, T2 29.30 %, T3 21.52 % y T4 21.20 % estos valores son similares a los encontrados en los análisis realizados a la MZ en la Facultad de Zootecnia y Ecología; el resultado del análisis de PC del BM se reporta 5.94 % de PC, valor similar al indicado por Anrique y Dossow (2003) en su análisis de la composición química en base seca de la pulpa de manzana ensilada con rango de PC de 5.8 - 8.0 %, FC de 17 – 28 % y FDA de 40 – 44 %.

En el análisis estadístico de la PC por el método de contrastes ortogonales no se encontró diferencia estadística ($P > 0.05$) relacionada con la época del año, por la ubicación geográfica dentro del invernadero y por la altura de la cama.

Proteína Verdadera de la Manzarina

Los resultados de la PV durante los días de elaboración de la MZ se muestran en el Anexo 10. El resultado del análisis estadístico de medias (Cuadro 7) y contrastes de PV de la manzarina no se encontró diferencia entre tratamientos ($P > 0.05$) los resultados observados fueron: T1 16.93 ± 0.45 %, T2 16.04 ± 0.45 %, T3 16.55 ± 0.45 % y T4 16.15 ± 0.45 % de PV estadísticamente similares todos los tratamientos. Estos niveles de PV resultan del crecimiento de las colonias de mohos y levaduras durante la FAES, ya que al incrementarse el número de microorganismos, aumentó el valor nutricional del sustrato es decir el valor de la PV, siendo muy superior al encontrado en el BM con 3.03 ± 0.45 % de PV al que estadísticamente fueron diferentes ($P < 0.05$).

La PV encontrada en los tratamientos fue superior a la obtenida en los ensayos de FAES realizados por Elías y Lezcano (1992, 1994) en la fermentación anaerobia de la caña de azúcar la cual en su estado natural en resultados

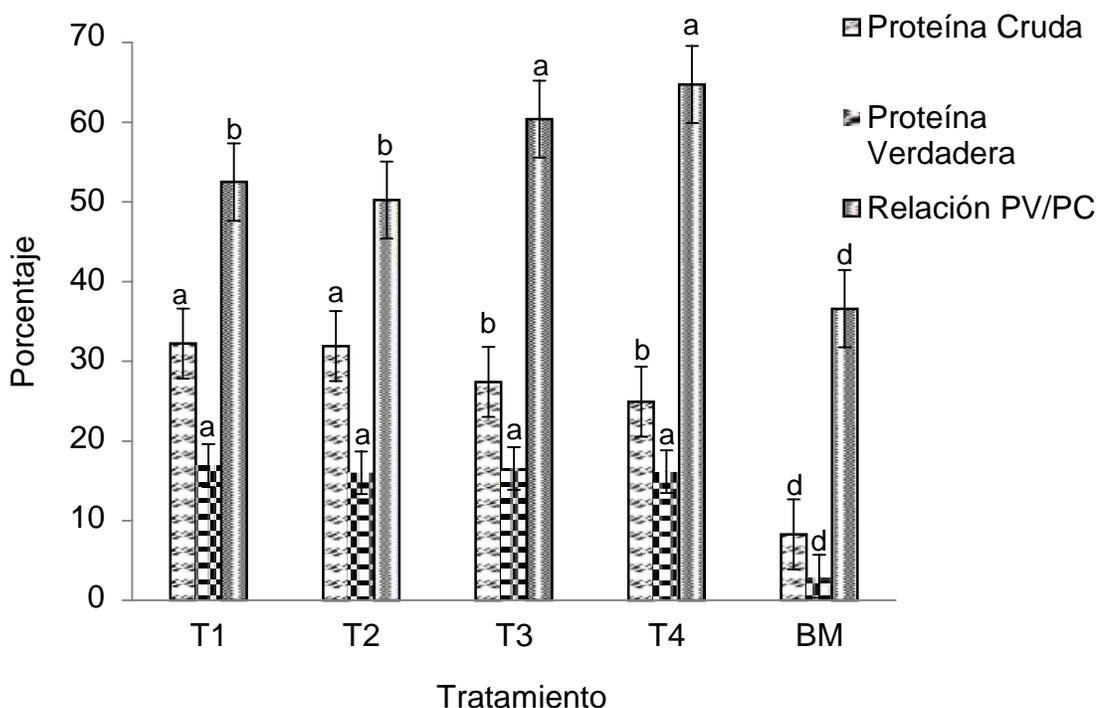


similares Duru *et al.*, (2003) encontraron que el enriquecimiento proteico de residuos sólidos adicionando urea y sulfato de amonio en la fermentación de hojas de la planta oreja de elefante (*Xanthosoma sagittifolium* (L) Schott) utilizando *Aspergillus oryzae* se incrementaba el valor proteico de 1.07 % de PV en plantas sin fermentar hasta un 20.67 % en plantas con tratamiento.

Relación Proteína Cruda / Proteína Verdadera en la Manzarina

En la relación de PV/PC de los tratamientos (Cuadro 7, Gráfica 10), estadísticamente se encontró diferencia ($P < 0.05$) entre los tratamientos por el tipo de la fuente de origen del BM, encontrando que la mejor conversión fue en los tratamientos elaborados con BM proveniente de frigorífico, T3 60.40 % y T4 64.75 % en la relación de PV/PC que fueron iguales, y diferentes a los que tuvieron una menor conversión, los tratamientos elaborados con BM proveniente del huerto, T1 52.51 % y T2 50.25 % en la relación de PV/PC que fueron iguales, estos resultados indican una mejor conversión para T3 y T4 debido a que para preservar a las manzana en frigorífico se utilizan métodos de control biológico mediante el uso de levaduras epifitas y fungicidas sintéticos para el control de hongos (Guerrero *et al.*, 2004).

Los resultado obtenidos indican que el sustrato de BM utilizado adicionado con 0.5 % de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (sulfato de amonio), 1.0 % de una formula



Gráfica 6. Relación PV/PC de la producción de manzarina de dos fuentes de bagazo de manzana (BM) a través del tiempo.

PV = Proteína verdadera, PC = Proteína cruda, T1 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana proveniente del huerto, T2 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana proveniente del huerto, T3 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana proveniente de frigorífico, T4 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana proveniente de frigorífico, BM = Bagazo de manzana mezclado de bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto y bagazo de manzana de manzana proveniente del frigorífico



mineral rica en fósforo y microelementos (Microfos 12 %) y 2.0 % CO_2 $(\text{NH}_2)_2$ urea, y procesado con el método de FAES, independientemente del origen del sustrato mejoro notablemente la relación de PV/PC comparada con la relación observada en BM solo, procesado por el método de FAES (36.61 % relación de PV/PC).

Fibra Cruda de la Manzarina

En el análisis estadístico de FC de la MZ (Cuadro 7, Anexo 11), se encontró diferencia entre tratamientos ($P < 0.05$), observando que los tratamientos T4 93.05 ± 0.27 % y T2 92.63 ± 0.27 % de FC fueron iguales y a su vez T2 fue similar al T1 con 91.93 ± 0.27 % y T3 con 91.45 ± 0.27 % de FC que fueron iguales y diferentes a T4.

En la prueba por contrastes ortogonales de la FC de la MZ, en el contraste de efecto de la época del año en la elaboración de MZ no se encontró diferencia estadística ($P > 0.05$).

En el segundo contraste posición dentro del invernadero y altura de la cama se encontró diferencia estadística ($P < 0.05$), la cama con la pared del invernadero que daba al sol con altura de 15 cm de alto de los tratamientos T1 91.93 ± 0.27 % y T3 91.45 ± 0.27 % tuvieron menos FC en promedio que los tratamientos T4 93.05 ± 0.27 % y T2 92.63 ± 0.27 % que tuvieron una cama con altura de 20 cm y que estaban alejada de la pared del invernadero que estaba expuesto al sol, como ya fue mencionado no hubo efecto por la época de elaboración (diciembre o enero); la diferencia de FC fue debida a que la cama de 20 cm por su altura presento menor aireación, ligeramente más apelmazamiento y al estar más alejada de la pared con exposición directa al sol tuvo menos calor,



mientras que en los tratamientos cercanos a la pared más expuesta la degradación de la fibra fue mayor debido a tener una condición medio ambiental mejor.

El pH Durante el Proceso de Fermentación Aerobia en Estado Sólido del Bagazo de Manzana

En los resultados del cambio del pH (Anexo 12) en el proceso de FAES, durante el tiempo de elaboración de la MZ, se observó que a los 18 días el pH fue modificado de ácido a alcalino, esto se encontró que es debido a que las levaduras y hongos modifican el medio ambiente secretando sustancias que permiten acondicionar su entorno tendiendo a neutralizar la acidez para crear un medio más óptimo para su desarrollo (Anrique y Dossow, 2003; Guerrero *et al.*, 2004).

El análisis estadístico del pH (Cuadro 7), se encontró diferencia ($P < 0.05$) entre los tratamientos elaborados con BM proveniente de frigorífico (T3 y T4) y los elaborados con BM proveniente del huerto (T1 y T2). El mayor cambio en pH fue para T3 con lectura inicial de 3.35 ± 0.19 y final de 6.59 ± 0.19 , promediando 5.79 ± 0.19 y T4 con lectura inicial de 3.20 ± 0.19 y final de 6.20 ± 0.19 , promediando 5.5 ± 0.19 , estos tratamientos fueron similares estadísticamente.

Los tratamientos elaborados con BM provenientes del huerto, T2 con lectura inicial de 2.81 ± 0.19 y final de 5.02 ± 0.19 , promediando 3.93 ± 0.19 fue estadísticamente similar a T1 con lectura inicial de 2.78 ± 0.19 y final de 4.45 ± 0.19 , promediando 3.75 ± 0.19 , T1 y T2 estadísticamente fueron diferentes a T3 y T4 ($P < 0.05$) y al BM que mantuvo en promedio un pH de 3.05 ± 0.19 .

Con el análisis de contrastes ortogonales se encontró diferencia por la



época de elaboración ($P < 0.05$), encontrando una mayor reducción de la acidez en el mes de enero, este efecto fue mayor debido a que la matriz sólida utilizada se humedeció por efecto de las nevadas que cayeron en ese periodo que ayudo a neutralizar la acidez del medio y al tratamiento con mohos que recibe la manzana al momento de ser refrigerada, lo que favoreció al cambio de pH haciendo el medio ambiente más propicio para el crecimiento de las levaduras.

Guerrero *et al.*, (2004) mencionaron que las levaduras epifitas del BM se desarrollan de acuerdo con las condiciones de oxígeno del medio en el que se encuentran y pueden soportar amplias variaciones de pH que están comprendidas entre 2.8 a 8.5 y que se desarrollan mejor con un pH de 4.8 a 6.0.

Anrique y Dossow (2003) indicaron que la disminución de la acidez en los tratamientos se debe a que los microorganismos como *Botrytis cinérea*, *Alternaria alternata*, *Penicillium expansum* y levaduras epifitas de la manzana (*Candida oleophila*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula glutinis*) se caracterizan por la producción de residuos que las protegen y modifican el medio ambiente que las rodea para su reproducción y crecimiento, como se observa en el resultado del proceso de FAES del BM en donde el crecimiento de los microorganismos y sus secreciones modificaron la acidez de la matriz solida cambiando el pH.

Se sabe que de las más de 100,000 especies de hongos existentes en el mundo, solamente 200 son patógenas para los seres humanos y animales. Y que en la actualidad además de en la alimentación y producción de pan y levaduras, algunos de estos hongos se emplean para el control biológico de diversas plagas en las frutas en los frigoríficos, como la *Candida oleophila* puede ser utilizada para evitar el crecimiento indeseable de hongos en cosechas y frutos

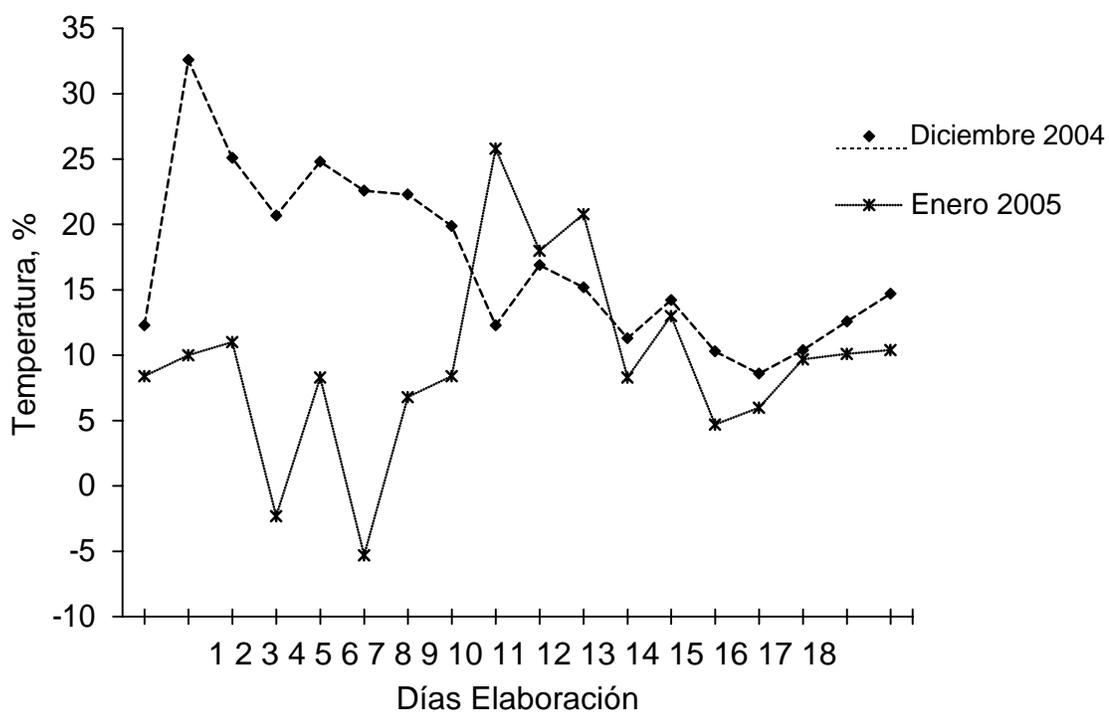


principalmente si estas son conservadas en frigoríficos. Este proceso de control biológico actúa porque la *C. oleophila* crece en la superficie de los frutos consumiendo hongos minimizando el crecimiento de hongos que producen deterioro en los frutos.

La Temperatura en el Proceso de Elaboración de la Manzarina

Durante el proceso de elaboración de la MZ, se registró diariamente la temperatura (Gráfica 7, Anexo 13) del mes de diciembre del 2004 y enero del 2005, encontrando significancia estadística ($P < 0.05$); en el mes de diciembre la temperatura promedio fue de 17.04 °C con una máxima de 32.6 °C y una mínima de 8.6 °C, en el mes de enero la temperatura promedio fue de 9.56 °C con una máxima de 25.8 °C y una mínima de -5.3 °C (Anexo 12).

Guerrero *et al.*, (2004) mencionaron que la capacidad de crecimiento de las levaduras es en temperaturas que van desde los 4 °C hasta los 37 °C y que a temperaturas bajas, es más rápido el crecimiento de levaduras del género *Candida* con una mayor adaptación al ambiente y un dominio más rápido de las poblaciones microbianas naturales de la fruta, Zhong-Tao *et al.*, (2009) publicaron que la temperatura óptima de crecimiento para las levaduras es de 30 °C, partiendo de estas premisa, encontramos que la mejor condición medio ambiental para la FAES fue en el mes de diciembre y parcialmente en el mes de enero considerando lo indicado por Guerrero *et al.*, (2004) y Zhong-Tao *et al.*,



Gráfica 7. Promedio de temperatura ambiental diaria del 1° al 18 de diciembre del año 2004 y del 3 al 20 de enero del año 2005 en la elaboración de manjarina. (2009).



Durante la elaboración de MZ, casi todo el mes de enero se tuvieron temperaturas adversas para el desarrollo de los microorganismos y solamente por cortos periodos de tiempo se tuvieron condiciones adecuadas para el desarrollo y crecimiento de los hongos y levaduras.

Las condiciones de temperatura del mes de diciembre fueron mejores para el desarrollo de los microorganismos.

En estudios previos sobre el rango de temperatura más adecuada para el crecimiento de levaduras, se encontró que el rango de temperatura óptima es de 32 °C a 34.5 °C para las cepas de *A. niger* (Duru *et al.*, 2003).

Duru *et al.*, (2003) afirman que una combinación de alta temperatura y bajo pH produce una condición de crecimiento muy selectivo por lo que la asepsia durante la fermentación puede ser innecesaria.

Especificaciones Fitosanitarias de Observancia Obligatoria (Contenido de Aflatoxinas)

Para que la MZ pueda ser utilizada para la alimentación animal, esta deberá cumplir con los requisitos legales establecidos en las regulaciones internacional y nacional de observancia obligatoria (Norma Oficial Mexicana, NOM por sus siglas) de alimentos para humanos y animales más específicamente por la posible presencia de aflatoxinas.

Las aflatoxinas son metabolitos secundarios producidos por varios mohos, cuya estructura química es heterocíclica, y son pertenecientes al grupo de las *bisfurano cumarinas*, poseen toxicidad aguda y crónica, así como efectos mutagénicos y carcinogénicos en animales y humanos (Davis, 1980; Ortiz, 1992), la Agencia Internacional para la investigación sobre el cáncer (IARC) ha



clasificado la aflatoxina B1 como un enlace definitivo para el cáncer en animales, y se vincula con probable cáncer en seres humanos (USDA, 1999).

La Norma Oficial Mexicana “NOM-188-SSA1-2002, productos y servicios control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal y las especificaciones sanitarias” (USDA, 1999, Normas Oficiales Mexicanas) que son de observancia obligatoria en todo el territorio nacional y para productos de importación.

Estas regulaciones indican que la concentración máxima de aflatoxinas en cereales para consumo humano no debe exceder de 20 µg/kg de aflatoxinas totales. En el caso de observarse concentraciones desde 21 µg/kg y hasta 300 µg/kg, los cereales únicamente podrán ser utilizados para consumo animal y en concentraciones superiores a las 300 µg/kg son tóxicos para su consumo, de acuerdo con el Apéndice Normativo “A” (USFD, 1988; USDA, 1999; NOM-188-SSA1-2002; Cuadro 8).

Para el análisis químico de aflatoxinas de la MZ se realizó la calibración del equipo con concentraciones de 0.0, 5.0, 15.0 y 45.0 ppb, obteniendo las siguientes absorbancias 1.134, 0.665, 0.394 y 0.259 ppb (Cuadro 9, Anexo 14), mediante la calibración obtenida se realiza el análisis de aflatoxinas en la MZ, en el Cuadro 9 observamos la sección de los resultados de la muestra de MZ, en donde la serie 1 corresponde al blanco muestra con 98 % de contenido de aflatoxinas y las series 2 a 5 a las muestras de MZ encontrando una concentración de 0.0 % de aflatoxinas, este resultado nos indica la ausencia de aflatoxinas en la MZ, siendo altamente satisfactorio ya que la NOM-188 indica



Cuadro 8. Apéndice normativo A de los límites permitidos en alimentos para consumo animal

Especie/etapa de producción	Límite máximo $\mu\text{g}/\text{kg}$
Aves (excepto pollos de engorda)	100
Cerdos en engorda:	
Entre 25 y 45 kg	100
Mayores de 45 kg	200
Maduros destinados a reproducción	100
Rumiantes:	
Maduros destinados a reproducción	100
De engorda en etapa de finalización	300

Diario Oficial de la Federación del 1 de agosto del 2002

“Los cereales con una concentración mayor de $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ de aflatoxinas y que se destinen para consumo directo o como parte de alimentos procesados, deberán ajustarse a lo dispuesto en la siguiente tabla.”



Cuadro 9. Resultados del análisis de aflatoxinas en manzarina del laboratorio químico de alimentos de SABAMEX

Calibración de Estándares de Aflatoxinas						
Ser No.	Concentración ppb	Absorbancia		B/B0 (%)	Calculado ppb	Desviación (%)
		(Medias)	(CV)			
1	0.0	1.134	0.0	100		
2	5.0	0.665	0.0	58.6	4.7	6.5
3	15.0	0.394	0.0	34.7	18.0	19.7
4	45.0	0.259	0.0	22.8	40.2	10.6

Resultados de la Muestra de MZ						
Ser No.	ID	Absorbancia		Calculado ppb	* = ppb	= (%)
		(Medias)	(CV)			
1		1.111	0.0	98.0	muestra < std2	1.0
2		0.000	0.0	0.0	no calculado!	1.0
3		0.000	0.0	0.0	no calculado!	1.0
4		0.000	0.0	0.0	no calculado!	1.0
5		0.000	0.0	0.0	no calculado!	1.0

03. Dec. 2004, 13:55:03, Logit/Log, Ser. No: 10016,107

Ser. No. = número de concentraciones; Concentración = estandarización por concentración conocida de aflatoxinas; Absorbancia = resultado del ensayo; B = concentración de la muestras; B0 = concentración estándar; Calculado = resultado del análisis de las concentraciones; MZ = manzarina

que para el consumo humano la concentración de aflatoxinas no debe ser mayor de 20 ppb, y este análisis en la MZ nos muestra que está muy por debajo de la concentración que contienen algunos cereales de 16 ppb utilizados en la alimentación humana.



Caracterización de Nutrimentos de la Manzarina

Finalizamos este ensayo con la caracterización química de la MZ (Cuadro 10), este análisis permitió determinar que la MZ es un suplemento con gran calidad proteica que puede ser utilizado en la alimentación del ganado.

La caracterización de la MZ se complementó, mediante el patrocinio del laboratorio Degussa Feed Additives que realizó el análisis del contenido de aminoácidos (Anexos 5 a 9) presentes en la MZ y BM, los resultados obtenidos de estos análisis se muestran en el cuadro 11, estos resultados son similares a los reportados por Rahmat *et al.*, (1995).

Por los resultados del análisis conforme a lo indicado por el consejo nacional de investigación en su clasificación de alimentos, la MZ se clasifica en la clase de suplementos proteicos (24.94 % PC min. y 32.24 % PC máx.).

El desarrollo de la MZ, inicialmente fue concebido como un suplemento para la alimentación de rumiantes, sin embargo, por los resultados del análisis de aminoácidos, se encontró que la MZ también puede utilizarse en monogástricos, al revisar las tablas de requerimientos nutricionales de NRC del cerdo de 1978, estas indican que los requerimientos en dietas para porcinos de cría son 0.15 % histidina, 0.37 % isoleucina, 0.42 % leucina, 0.43 % lisina 0.23 % de metionina, 0.52 % de fenilalanina, 0.34 % de treonina, 0.46 % de valina, comparado con el análisis de estos aminoácidos hechos en la MZ realizado por



Cuadro 10. Resultado del análisis químico de la composición de ingredientes de la manzanarina

	<u>Mínimo</u>	<u>Máximo</u>	
Materia seca	88.64	92.69	%
Ceniza	5.12	9.75	%
Fibra cruda	36.83	37.25	%
Fibra detergente ácida	42.75	43.97	%
Fibra detergente neutra	58.80	64.02	%
Extracto etéreo	3.52	3.56	%
ELN	26.70	27.95	%
Proteína cruda	24.94	32.24	%
Proteína verdadera	16.04	16.93	%
TDN	68.25	71.76	%
Energía digestible ovinos y bovinos	3.01	3.16	Mcal/kg
Energía digestible equinos	2.66	2.79	Mcal/kg
Energía metabolizable bovinos	2.47	2.59	Mcal/kg
Energía metabolizable cerdos	2.50	2.61	Mcal/kg
Energía neta de mantenimiento	1.50	1.55	Mcal/kg
Energía neta para ganancia	0.93	0.98	Mcal/kg
Energía lactancia	1.76	1.89	Mcal/kg
Calcio	0.06	0.10	%
Cobre	0.15	0.19	%
Fósforo	0.12	0.17	%
Manganeso	0.19	0.23	%
Magnesio	0.19	0.22	%
Urea	1.24	1.73	%
Zinc	0.20	0.24	%



Cuadro 11. Resultados del análisis de aminoácidos, contenidos totales después de la hidrólisis de proteínas de la manzarina

Amino Ácidos	Contenido (%)*					AA (%) en CP				
	T1	T2	T3	T4	BM	T1	T2	T3	T4	BM
Metionina	0.16	0.16	0.13	0.16	0.08	0.51	0.55	0.61	0.75	1.38
Cistina	0.12	0.12	0.10	0.11	0.07	0.40	0.42	0.49	0.53	1.13
Metionina + Cistina	0.28	0.28	0.24	0.27	0.15	0.91	0.96	1.09	1.28	2.51
Lisina	0.53	0.53	0.31	0.40	0.20	1.74	1.82	1.45	1.91	3.37
Treonina	0.51	0.52	0.36	0.41	0.22	1.68	1.77	1.68	1.93	3.66
Arginina	0.55	0.55	0.44	0.54	0.29	1.82	1.88	2.02	2.56	4.80
Isoleucina	0.49	0.49	0.38	0.43	0.23	1.62	1.67	1.77	2.01	3.78
Leucina	0.80	0.81	0.61	0.71	0.39	2.65	2.77	2.82	3.35	6.51
Valina	0.60	0.60	0.45	0.52	0.27	1.97	2.04	2.08	2.45	4.46
Histidina	0.24	0.24	0.14	0.23	0.11	0.79	0.83	0.66	1.09	1.85
Fenilalanina	0.47	0.47	0.36	0.41	0.23	1.54	1.61	1.69	1.94	3.84
Glicina	0.63	0.62	0.51	0.57	0.29	2.06	2.13	2.38	2.69	4.95
Serina	0.52	0.53	0.39	0.43	0.25	1.70	1.80	1.81	2.04	4.25
Prolina	0.42	0.43	0.29	0.37	0.20	1.40	1.47	1.36	1.75	3.39
Alanina	0.64	0.65	0.49	0.52	0.27	2.10	2.20	2.28	2.45	4.52
Ácido Aspártico	1.04	1.04	0.80	0.93	0.49	3.42	3.55	3.73	4.39	8.25
Ácido Glutámico	1.48	1.47	1.14	1.48	0.75	4.87	5.03	5.30	6.97	12.70
Total (sin NH ₃)	9.20	9.23	6.90	8.22	4.34	30.27	31.54	32.13	38.81	72.84
Amoniaco	2.80	2.54	2.52	2.09	0.14	9.24	8.67	11.70	9.85	2.40
Total	12.00	11.77	9.42	10.31	4.48	39.51	40.21	43.83	48.66	75.24

* Figuras estandarizados a un contenido de materia seca de 100%

AA = Amino ácidos, CP = Proteína Cruda, T1 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana proveniente del huerto, T2 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana proveniente del huerto, T3 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana proveniente de frigorífico, T4 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana proveniente de frigorífico, BM = Bagazo de manzana mezclado de bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto y bagazo de manzana de manzana proveniente del frigorífico el laboratorio Degussa Feed Additives en Alemania, se encontró que la MZ aporta valores similares o mejores a lo requerido mencionado en las tablas de NRC para la nutrición de cerdos; 0.23 % histidina, 0.38 % isoleucina, 0.71 % leucina, 0.53

% lisina 0.51 % de treonina, 0.60 % de valina, y niveles ligeramente menores para 0.47 % de fenilalanina y 0.16 % de metionina.



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

.Las condiciones de temperatura, aireación, disponibilidad de nutrientes adicionados y el sustrato bagazo de manzana (BM), permitieron el crecimiento de microorganismos (mohos y levaduras) los cuales para una mejor reproducción y crecimiento modificaron el pH del medio ambiente haciéndolo más óptimo para su desarrollo.

La adición de fuentes de nitrógeno exógeno (urea y sulfato de amonio) aumentó la producción de biomasa y proteína

Encontramos que mediante la utilización de las técnicas desarrolladas de FAES para el sustrato de BM, se realizó la conversión de los residuos sólidos de hidratos de carbono del BM en proteína de alta calidad la cual proviene del crecimiento de las colonias de hongos y levaduras.

Mediante la FAES del BM para producir la manzarina (MZ), se comprobó que esta biotécnica se enriqueció notablemente el valor nutrimental del sustrato con proteínas, minerales y aminoácidos de alta calidad, mismo que pueden ser aprovechados para la suplementación proteica del ganado.

La cantidad de PC producida durante la FAES del BM, indican que la conversión de los residuos sólidos de hidratos de carbono del BM en proteína de alta calidad proviene de la reproducción y crecimiento de hongos y levaduras.

Se recomienda seguir investigando a fin de estandarizar los procedimientos descritos y cuantificar y definir las biomásas de microorganismos.



LITERATURA CITADA

- Anrique, R. y C. Dossow. 2003. Efectos de la pulpa de manzana ensilada en la ración de vacas lecheras sobre el consumo, la tasa de sustitución y la producción de leche. *Inst. de Prod. Anim. Fac. de Cienc. Agrarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.*
- Anrique, R. y M. P. Viveros. 2002. Efecto del ensilado sobre la composición química y degradabilidad ruminal de la pulpa de manzana. *Arch. Med. Vet.* 2:189-197.
- AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*. 17th Ed. Ass. Off. Anal. Chem. Washington, D.C.
- Becerra, A. y C. Rodríguez. 1998. Elaboración de bloques proteicos para suplementación de ganado en agostadero utilizando un subproducto de manzana con cuatro tipos de secantes. Tesis de Maestría. Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih., México.
- Becerra A., C. Rodríguez, J. Jiménez, O. Ruiz, A. Elías y A. Ramírez. 2008. Urea y maíz en la fermentación aeróbica de bagazo de manzana para la producción de proteína microbial. *Tecnociencia Chihuahua*. 11:7-13.
- COTECOCA. 1985. Coeficientes de agostadero de la República Mexicana. Estado de Chihuahua. Comisión técnico consultiva para la determinación regional de los coeficientes de agostadero. SARH Delegación Chihuahua Boletín informativo No. 1. Chihuahua.
- Díaz, D. 2006. Producción de proteína microbial a partir de manzana de desecho adicionada con urea y pasta de soya. Tesis de Maestría. Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua Chihuahua, Chih., México.
- Díaz, D. 2011. Desarrollo de un inóculo a base de levaduras y su efecto en la cinética de fermentación *in vitro* en raciones para vacas Holstein altas productoras. Disertación Doctoral. Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih., México.
- Davis, L. 1980. Protocols for surveys, sampling, post collection handling, and analysis of grain samples involved in mycotoxin problems. *J. Assoc. off Anal. Chem.* 63:95-102.



- Duru, C., Chidi y Uma y U. Ngwanma. 2003. Enriquecimiento proteico de residuos sólidos de la malanga (*xanthosoma sagittifolium* (L.) Schoott) como procesamiento utilizando *Aspergillus oryzae* obtenido a partir de harina de cormo. Africa J. of Biotech.2:1684-5315.
- Elías, A. y O. Lezcano. 1992., Efecto de la temperatura y la urea en la fermentación de la caña de azúcar para producir saccharina. Rev. Cubana Cienc. Agríc. 26:291.
- Elías, A. y O. Lezcano. 1993. Efecto de la fuente de nitrógeno y algunos factores de crecimiento en la población de levaduras que se establece en la producción de saccharina. Rev. Cubana Cienc. Agríc. 35:286.
- Elías, A. y O. Lezcano. 1994., Efecto de la inclusión de niveles de harina de maíz en la fermentación de la caña de azúcar., Rev. Cubana Cienc. Agríc. 28:319.
- Elías, A. 2004. Taller producción practica biotecnológica de alimentos para consumo animal. Facultad de Zootecnia y Ecología 29 – 30 Marzo. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih., México.
- FZE. 1992. Tablas de composición de ingredientes utilizados en la alimentación animal para el Estado de Chihuahua. Facultad de Zootecnia y Ecología Universidad Autónoma de Chihuahua.
- Guerrero, P. V. M., M. G. Trevizo, B. A. Gardea, V. C. Figueroa, Ch. A. Romo, P. A. Blanco y E. A. Curry. 2004. Identificación de levaduras epifitas obtenidas de manzana [*Malus sylvestris* (L.) mill. var. doméstica (Borhk.) mansf.] Para control biológico poscosecha. Rev. Mex. de Fitopatología A.C. UAEM. 22:223-230.
- Hardy, G. 1992. Fermentación anaeróbica y resistencia a la descomposición aeróbica de pulpa de manzana, bagazo de tomate y colillas de remolacha. Tesis licenciatura. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- INEGI, 2001. Indicadores socio demográficos. Información por entidad. Estado de Chihuahua. Territorio. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática.<http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/chih/territorio/default.aspx?tema=me&e=08>
- Lastras, P. 2004. Manzanas: seguro de salud. saludbio.com/articulo/manzanas-seguro-de-salud. Consultado el 25 Octubre, 2004.
- NOM-188, 2002, Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002, productos y



- servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias. Dirección General de Calidad Sanitaria de Bienes y Servicios, Ley Federal sobre Metrología y Normalización, Estados Unidos Mexicanos Diario oficial de la federación del 1 de agosto del 2002.
- NRC. 1978. Nutrient requirements of beef cattle (7th Ed.), National Academy of Science.
- Ortiz, C. A. 1992. "Manual de procedimientos para el análisis de aflatoxinas". Almacenes nacionales de depósito, México, D.F. 34-79.
- Rahmat, H., R. A. Hodge, G. J. Manderson y P. L. Yu. 1995. Solid-substrate fermentation of *Kloeckera apiculata* and *Candida utilis* on apple pomace to produce an improved stock-feed. World J. of Microb.; 11:168-170.
- Raimbault, M. 1998. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. Univ. Católica de Valparaíso, Chile. Electr. J. of Biotech. 1:1-15.
- SAS. 1998. System of Analysis Statistical for linear models. A guide to the anova and GLM procedures.
- DOF. 1999. Reglamento de control sanitario de productos y servicios. Secretaría de Salud. Diario oficial de la federación, México, D.F.
- USDA. 1999. "Grain fungal diseases & mycotoxin reference". US Department of Agric. GIPSA, Kansas City, USA.
- USDA. 1999. Grain fungal diseases and mycotoxin reference. Federal grain inspection service. US Department of Agric. Packers and stockyards administration.
- USFDA. 1988. Action levels for added poisonous or deleterious substances in food. Food and drug Administration. Federal Register, 53:5043-5044.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson y B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.
- Zhong-Tao, S., T. Lin-Mao, L. Cheng y D. Jin-Hua. 2009. Bioconversion of apple pomace into a multienzyme bio-feed by two mixed strains of *Aspergillus niger* in solid state fermentation. Electr. J. of Biotech. 12:3458.



**ESTUDIO III. ELABORACIÓN DE BLOQUE MULTINUTRICIONAL CON
MANZARINA**



RESUMEN

ELABORACIÓN DE BLOQUE MULTINUTRICIONAL CON MANZARINA

POR:

M. C. JESÚS FERNANDO BUSTAMANTE CORONA

Doctor in Philosophia en Producción Animal

Secretaría de Investigación y Posgrado

Facultad de Zootecnia y Ecología

Universidad Autónoma de Chihuahua

Presidente: D. Ph. Carlos Rodríguez Muela

Los bloques multinutricionales (BMN) se elaboraron con una mezcla base de melaza de caña, sebo animal, sal, suplemento mineral con 12 % fosforo, harinolina y/o pasta de soya, maíz molido y/o sorgo molido, ingredientes tradicionales en la nutrición animal, adicionado con y sin MZ y con dos aglutinantes polvo cálcico-cemento y bentonita-cemento, la formulación de la mezcla se realizó considerando un 30 % de proteína en la mezcla, la MZ sustituyo en parte ingredientes tradicionales, a los BMN se les evaluó indicadores económicos como: pérdida de peso, dureza, resistencia al agua y específicamente la calidad del bloque mediante la PC y PV, además de la producción de gas mediante digestibilidad *in vitro*, en la que no se encontró diferencia entre la producción de gas de BMN tradicionales y BMN elaborados con MZ ($P > 0.05$). La cantidad de gas producido por la incubación *in vitro* de un sustrato se relaciona directamente con su digestibilidad y por tanto con su valor energético. Los BMN elaborados por el método de fraguado utilizando MZ, presentaron una calidad similar de PC y PV a los BMN tradicionales, la utilización



de polvo cálcico como aglutinante y el uso de MZ como ingrediente proteico, disminuyo el costo del BMN muy por debajo del costo de BMN tradicional. Se recomienda evaluar el efecto nutricional en el ganado y el efecto sobre el consumo voluntario durante el pastoreo en la época seca y su efecto en los parámetros productivos.



ABSTRACT

BUILDING MANZARINA MULTINUTRITIONAL BLOCK

BY:

JESUS FERNANDO BUSTAMANTE CORONA

The multinutritional block (BMN9) was developed with a base mixture of molasses, animal fat, salt, mineral supplement with phosphorus 12 %, cottonseed meal and / or soybean meal, ground corn and / or sorgo, traditional ingredients in animal nutrition, added with without MZ and two agglutinative calcium-cement and bentonite-cement, formulation of the mixture was made considering 30 % protein in the mix, the MZ replace part traditional ingredients to BMN were assessed economic indicators such as : weight loss, harshness, and water resistance and specifically block quality via PC and PV plus gas production by in vitro digestibility, which found no difference between the traditional gas production BMN and BMN made with MZ ($P > 0.05$). The amount of gas produced by in vitro incubation of a substrate is directly related to its digestibility and therefore the energy value. The BMN produced by the method of setting using MZ, presented a similar quality of PC and PV traditional BMN, the use of calcium powder as a binder and the use of MZ as a protein ingredient, BMN costs fell far below the cost of traditional BMN. It is recommended to assess the nutritional impact on livestock and the effect on voluntary intake during grazing in the dry season and their effect on the production parameters.



INTRODUCCIÓN

En los años 1996 al 2000, en la Facultad de Zootecnia y Ecología de la Universidad Autónoma de Chihuahua, se desarrollaron diversos métodos de elaboración de bloques multinutricionales (BMN) fraguados y prensados (Becerra y Rodríguez, 1998; Bustamante y Rodríguez, 2002).

Como es ya conocido el BMN es una alternativa en el uso sustentable del agostadero. La distribución del ganado en el pastizal y las fuentes de agua crea un problema de subutilización para muchos productores (Preston y Leng, 1990), los BMN permiten una mejor rotación del ganado manteniendo pastizales sanos que son la fuente fundamental para una ganadería rentable y sustentable.

El uso irregular de pastizal, conjuntamente con el exceso de carga animal, incrementa los costos de alimentación e incrementa el deterioro del pasto nativo, aumentando el castigo en las áreas de pastoreo.

En la época invernal (seca en el Estado de Chihuahua), los altos niveles de fibra, bajo contenido proteico del pastizal, así como la temperatura son factores que limitan el consumo y la digestibilidad del pastizal (Escobar, 1989; Gadea *et al.*, 1996).

Un factor importantísimo a considerar, son los animales. El consumo voluntario en los rumiantes, depende de varios factores: el metabolismo basal, el medio ambiente, la composición de la dieta y la interacción entre los productos absorbidos procedentes de la digestión, (Preston y Leng, 1990; Bustamante y Rodríguez, 2002).

En la época seca el rumiante al consumir los forrajes con baja calidad proteica entra en un desequilibrio de nutrientes, lo que provoca una baja de peso,



para auxiliar al rumiante a evitar esta pérdida, se debe considerar el suministrar una fuente de nitrógeno biofermentable, este apoyo se logra mediante una suplementación proteínica que incremente el consumo voluntario en el rumiante de alimentos fibrosos bajos en contenido proteico, y que coadyuva a mejorar la digestibilidad de los componentes (Lindsay *et al.*, 1982).

Esto se debe a que el suministro de nitrógeno aumenta la eficiencia de fermentación ruminal, lo cual genera un incremento en el consumo voluntario del forraje disponible (Garmendia, 1994; Araujo-Febres *et al.*, 1996). Las fuentes de nitrógeno fermentable más apropiadas para este propósito son la pollinaza, el amoníaco y la urea (Preston y Leng, 1990; Bustamante y Rodríguez, 2002).

La urea es un fertilizante de fácil transporte, almacenamiento; su uso limitado como fuente de nitrógeno fermentable en rumiantes es por su manejo inadecuado en la preparación de mezclas principalmente melaza-urea, lo que llega a causar numerosos casos de intoxicación y muertes en los rumiantes.

Otra desventaja en el uso de la urea, es en suplementos líquidos porque los niveles de amoníaco en rumen aumentan significativamente por un periodo corto después de la ingestión y luego cae a niveles por debajo de los óptimos para mantener una buena actividad microbiana (Garmendia, 1994). Una forma de suministrar urea a una tasa dosificada y continua es con la fabricación de BMN (Preston y Leng, 1990; Bustamante y Rodríguez, 2002).

En este ensayo, el objetivo fue caracterizar los BMN elaborados por el método de fraguado y prensado sustituyendo ingredientes tradicionales con manzarina (MZ).



MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio

El presente estudio se realizó en la Ciudad de Chihuahua, Chih., en la Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Zootecnia y Ecología con domicilio en el km. 1 del Periférico Francisco R. Almada.

Infraestructura y Equipo

Se utilizó la infraestructura de los laboratorios de la Facultad de Zootecnia y Ecología, del taller de balanceo de raciones se utilizó la fundidora de sebo, del laboratorio de procesados para alimentación animal, se utilizó el siguiente equipo, mezcladora horizontal paletas opuestas capacidad de 500 kg. Donde se mezclaron los ingredientes durante 30 min para la elaboración del BMN, prensa hidráulica capacidad 1,500 PSI, báscula Tor-Rey de plataforma capacidad 40 kg donde se pesó a los BMN.

Del laboratorio de microbiología y control de calidad de alimentos, el equipo Testing Chatillon modelo LR5k con punta de 0.045 cm con velocidad de 10" x min para medir la dureza de los BMN y probeta de vidrio graduada de 100 ml y cronometro cronos marca timex para medir la resistencia al agua del BMN (tiempo de absorbanca del agua por el BMN) y báscula Ohaus de plataforma con medidor de gramos con capacidad de 20 kg para medir la pérdida de peso a través del tiempo, del laboratorio de investigación de nutrición animal, se utilizó el siguiente equipo destilador Kjeldahl que se utilizó para la determinación de PC y PV y la incubadora (Shaker I2400) y transductor de presión (FESTO®) para medir la producción de gas durante la digestión.



Descripción de los Tratamientos

Los BMN fueron elaborados con una mezcla base de melaza de caña, sebo animal, sal, suplemento mineral (12 % P, 11.50 % Ca, 0.60 % Mg, 13 mg/kg Co, 1100 mg/kg Cu, 580 mg/kg de Fe, 102 mg/kg I, 2160 mg/kg Mn, 9 mg/kg Se y 2850 mg/kg Zn), harinolina, maíz molido, ingredientes tradicionales en la nutrición animal, adicionado con y sin MZ y con dos aglutinantes polvo cálcico-cemento y bentonita-cemento (Cuadro 12), la formulación de las mezcla se realizó considerando un 30 % de proteína en la mezcla (Anexo 15 al 18).

Procedimiento

Se elaboraron 4 mezclas con y sin MZ que fueron mezcladas con un 5 % de diferente aglutinante (polvo cálcico-cemento o bentonita-cemento), 4 % o 6 % de urea, mezclando todos los ingredientes en una revolvedora horizontal de paletas opuestas con capacidad de 500 kg hasta obtener un producto homogéneo.

Los BMN se hicieron fraguados, utilizando cajas de cartón corrugado de 20x20x20 con un peso promedio de 217.5 g, estos fueron compactados manualmente siguiendo la metodología de Becerra y Rodríguez (1998) y se les realizaron pruebas físicas y químicas para determinar su calidad.

Variables Evaluadas

A los BMN se les evaluó la pérdida de peso (PP) y la dureza (D), en estas variables las lecturas se registraron cada tercer día hasta el día 52 y 54 respectivamente. La PP se registró restando el peso inicial al peso obtenido durante las lecturas realizadas en la báscula Oahus; para la variable D se usó el equipo de precisión Testing Chatillon modelo LR5k con una punta de 0.045 cm



con velocidad de 10 " x min para medir los kilogramos fuerza (kgf) necesarios

Cuadro 12. Tratamientos utilizados en la elaboración de bloques multinutricionales por el método de fraguado

Bloque Multinutricional*	% de urea	Aglutinante	Manjarina
T1	4	A	---
T2	4	B	---
T3	4	A	20 %
T4	4	B	20 %
T5	6	A	---
T6	6	B	---
T7	6	A	20 %
T8	6	B	20 %

* T1=BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T2=BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T3=BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T4=BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, T5=BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T6=BMN elaborado con 6% urea, bentonita-cemento y sin MZ, T7=BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ y T8=BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y con 20% MZ, A 5 % Polvo Cálcico - Cemento Portland II, B 5 % Bentonita - Cemento Portland II

para penetrar 1 cm en el BM; la resistencia al agua (R) se realizó con lectura y



registro del tiempo de absorbancia de 20 ml de agua en cada bloque; los registros de proteína cruda (PC) y proteína verdadera (PV) se obtuvieron por medio del método Berstein, mediante las técnicas descritas en AOAC (2000) y la producción de gas (PG) fue medida mediante la técnica de degradabilidad *in vitro* de Menke y Steingass (1988) utilizando como inóculo líquido ruminal, siguiendo el procedimiento propuesto por Ørskov-McDonalds (1979).

$$PG = a + b (1 - e^{ct})$$

a = la producción de gas de la fracción soluble inmediatamente (ml)

b = la producción de gas a partir de la fracción insoluble (ml)

c = la constante de velocidad de producción de gas de la fracción insoluble (b)

a + b = producción potencial de gas

t = tiempo de incubación (h)

y = gas producido en el momento (t)

$$GP \text{ (ml/200 mg DM)} = \frac{[XV1 - 30X + V_{\text{final}} - V_0 - GP_0] * 200}{((FH + FHS)/2)}$$

Peso en mg de materia seca

En el procedimiento de PG, se utilizó un torete fistulado de la raza Brangus con un peso de 467 kg que fue alimentado con silo de sorgo y un suplemento con el 12 % de PC de este animal se obtuvo el líquido ruminal para la digestibilidad *in vitro* y medir la PG (Schofield *et al.*, 1994 y Schofield, 2000) el líquido fue tomado antes de alimentar al animal debido a que es más constante la actividad de la biomasa del rumen, obteniéndose en forma proporcional de la parte media alta, media baja y fondo del rumen. Después de la colecta, el líquido se mezcló durante 3 - 5 min para favorecer el desprendimiento de los microorganismos



adherentes y filtrado para separar la fase sólida con cuatro capas de gasa, la parte sólida retirada de las gazas se llevó a una licuadora con cierta porción de líquido ruminal y licuada por 20 s.

Después de este procedimiento el material licuado fue nuevamente filtrado y mezclado con el que previamente fue filtrado, este procedimiento fue realizado para garantizar que el inóculo resultante estuviese compuesto por microorganismos ruminales adheridos y no adheridos a la fibra (Theodorou *et al.*, 1994).

Durante el procedimiento de manipulación del inóculo se aseguraron las condiciones de anaerobiosis y temperatura de 39 °C; la muestra de BMN fue molió con una criba de 2 mm para garantizar homogeneidad.

La incubación de las muestras (0.2 g de muestra, 20 ml de líquido ruminal y 10 ml de saliva artificial) por triplicado más un blanco (sin muestra), se utilizaron frascos de vidrio de 50 ml, sellados con tapón de goma; colocándose en la incubadora (Shaker I2400) a 39 ± 0.5 °C con agitación constante (67 rpm), simulando las condiciones ruminales se protegió de la luz durante la incubación. La presión interna de los frascos producto de la degradación del alimento, se midieron con un transductor de presión (FESTO®) a las 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 18 y 24 h, mediante la punción se registró la presión acumulada (Theodorou *et al.*, 1994). Los resultados se expresaron en ml de producción de gas (PG) por cada 0.2 g de MS (ml PG/0.2 g MS; Menke *et al.*, 1979; Menke y Steingass, 1988; Blümmel y Becker, 1997, Schofield, 2000).



Análisis Estadístico

Para las variables pérdida de peso y dureza el análisis estadístico fue bajo un modelo que incluyó el efecto fijo de mezcla, día como una variable de regresión (tendencia lineal y cuadrática) y el BMN como efecto aleatorio. Los datos se analizaron mediante el procedimiento MIXED (SAS, 1998). Las medias de mezcla se compararon con la opción PDIFF del mismo procedimiento mencionado.

Para el resto de las variables se utilizó un modelo que incluyó la mezcla como efecto fijo. El análisis se realizó utilizando el procedimiento GLM (SAS, 1998). Las medias de mezcla se compararon con el método de Tukey.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se analizaron estadísticamente variables físicas (Cuadro 13) y variables químicas (Cuadro 14) a los BMN elaborados mediante la técnica de fraguado.

Pérdida de Peso de los BMN

La pérdida de peso (PP) en los BMN es debida a la pérdida de humedad y esta se incrementa con los días de almacenamiento por el proceso natural de secado (Gill y Lusby, 2000). La PP está relacionada con los ingredientes y secantes utilizados para la elaboración del BMN.

Los tratamientos T1, T2, T3 y T6 tuvieron un peso inicial de 11.00 kg, el bloque del tratamiento T4 tuvo un peso inicial de 10.98 kg, el bloque del tratamiento T5 tuvo un peso inicial de 10.64 kg y los bloques de los tratamientos T7 y T8 tuvieron un peso inicial de 10.50 kg.

Se analizó la PP para los tratamientos y la tendencia lineal (día) y cuadrática (día x día), los resultados muestran significancia en la PP por tratamiento para la tendencia lineal y cuadrática ($P < 0.05$).

En la Gráfica 8 se observan la tendencia lineal y cuadrática de los registros promedio de la PP de los BMN a través del tiempo de secado hasta los 54 d (Anexo 19); la tendencia es similar en todos los tratamientos, a los 51 d la PP empezó a disminuir hasta prácticamente detenerse a los 54 d.

En el análisis estadístico de la PP (Cuadro 13) se encontró diferencia ($P < 0.05$) entre tratamientos; la menor PP se encontró en los tratamientos T3, T2, T1 y T6 (3.3 % de PP), quedando con un peso promedio final de 10.66 ± 0.03 , 10.64 ± 0.03 , 10.62 ± 0.03 y 10.62 ± 0.03 kg respectivamente; seguidos del tratamientos T4 (4.4 % de PP) peso promedio final de 10.50 ± 0.03 kg, en un



Cuadro 13. Medias de la pérdida de peso, dureza y resistencia al agua de los bloques multinutricional fraguados elaborados con y sin bagazo de manzana

BMN	Pérdida de Peso (kg)	Dureza (kgf)	Resistencia al Agua (min)
T1	10.62 ^a	42.64 ^e	49.57 ^{dc}
T2	10.64 ^a	75.08 ^b	203.72 ^b
T3	10.66 ^a	83.44 ^a	0.32 ^d
T4	10.50 ^b	86.42 ^a	0.76 ^d
T5	10.26 ^c	37.51 ^e	89.77 ^c
T6	10.62 ^a	72.59 ^b	276.56 ^a
T7	10.06 ^d	66.71 ^c	3.14 ^d
T8	10.08 ^d	49.76 ^d	0.50 ^d
E.E.	± 0.03	± 0.77	± 12.34

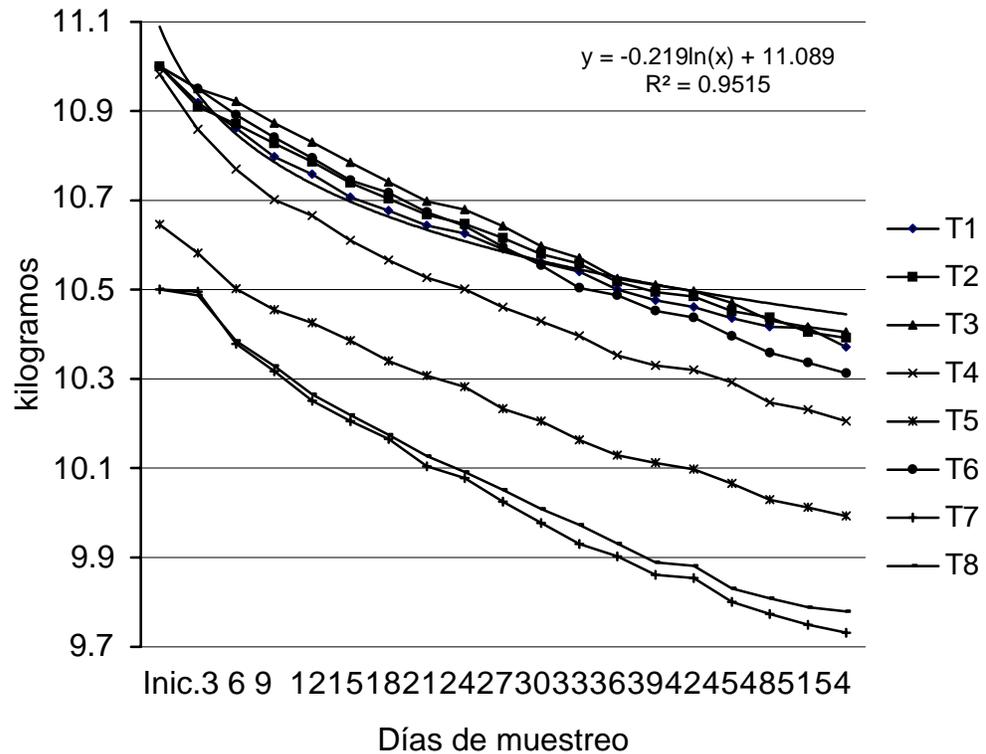
T1 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T2 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T3 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T4 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, T5 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T6 = BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T7 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T8 = BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, ^{a,b,c,d,e} Letras diferentes en superíndices difieren significativamente $P < 0.05$ (Tukey 1952), E.E. = error estándar



Cuadro 14. Medias de proteína cruda, proteína verdadera y producción de gas de los bloques multinutricionales fraguados elaborados con y sin bagazo de manzana

BMN	% Proteína Cruda	% Proteína Verdadera	Producción de Gas (ml/g)
T1	31.23 ^a	13.09 ^a	257.94 ^a
T2	31.71 ^a	12.01 ^{ba}	189.29 ^a
T3	29.58 ^a	10.79 ^{bc}	201.34 ^a
T4	28.51 ^a	10.96 ^b	118.28 ^a
T5	29.19 ^a	9.45 ^{dc}	145.07 ^a
T6	31.53 ^a	9.10 ^d	186.72 ^a
T7	31.20 ^a	8.99 ^d	249.31 ^a
T8	31.52 ^a	9.35 ^{dc}	192.38 ^a
E.E.	± 0.74	± 0.33	± 16.10

T1 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T2 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T3 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T4 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, T5 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T6 = BMN elaborado con 6% urea, bentonita-cemento y sin MZ, T7 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T8 = BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, ^{a,b,c,d,e} Letras diferentes en superíndices difieren significativamente $P < 0.05$ (Tukey 1952), E.E. = error estándar



Grafica 8. Media de la pérdida de peso (kg) de los BMN a través del tiempo.

T1 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T2 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T3 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T4 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, T5 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T6 = BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T7 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T8 = BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ



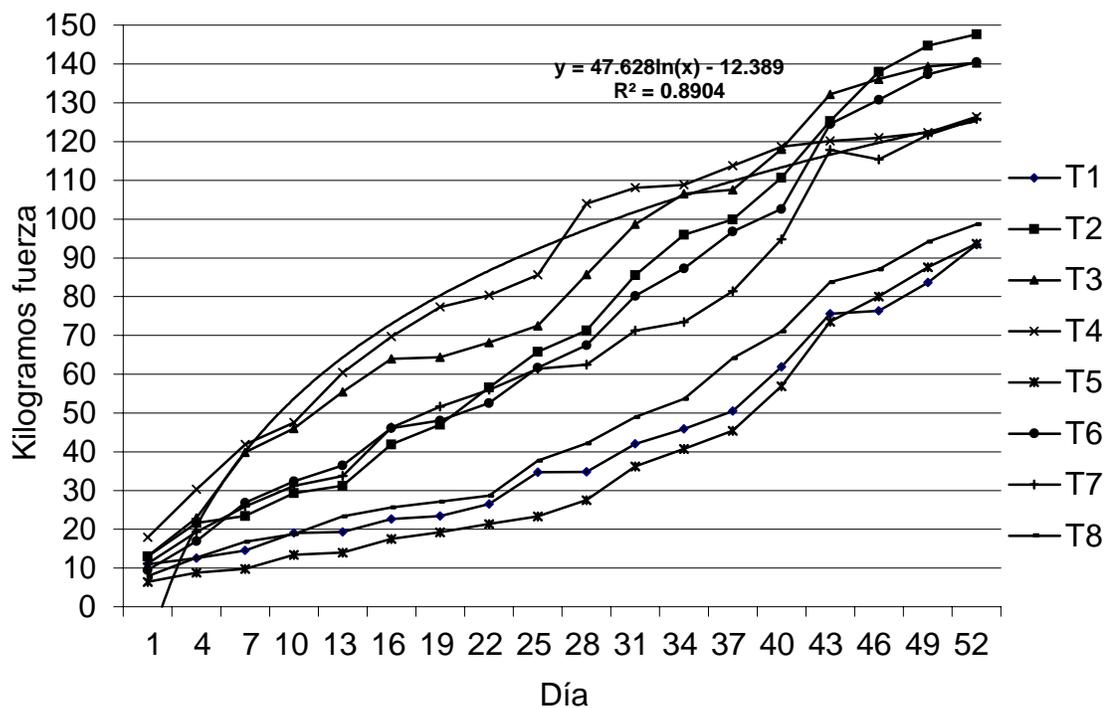
rango menor PP, se encontró el bloque del tratamiento T5 (3.5 % de PP) peso promedio final de 10.26 ± 0.03 kg, y la mayor PP se registró en los tratamientos T8 y T7 (3.9 % de PP) peso promedio final de 10.08 ± 0.03 y 10.06 ± 0.03 kg respectivamente.

Entre los tratamientos con menor PP (T3, T2, T1 y T4) y los de mayor PP (T8 y T6) no se encontró efecto del aglutinante ni por la ausencia o presencia de MZ en su elaboración. Solo se encontró significancia por el efecto del nivel del 6 % de urea en la PP en los BMN sin efecto del aglutinante, presencia o ausencia de la MZ. Bustamante y Rodríguez (2002) indicaron que el rango de urea en BMN prensados es del 5 al 6 % de urea para la elaboración de BMN por el método de presado en donde encontraron una PP de 54 g (0.36 % de PP) en bloques con un peso de 15 kg que representa menos del 1 % del peso del bloque.

Dureza de los BMN

En la dureza (D) de los BMN se encontró efecto por los ingredientes utilizados principalmente los aglutinantes, estos al entrar en contacto con el resto de los ingredientes usados en la elaboración de los BMN, presenta un endurecimiento que influirá más tarde en el consumo y aprovechamiento de los mismos. Se analizó el efecto de la dureza de los bloques elaborados con MZ comparado con bloques elaborados con ingrediente tradicionales (Bustamante y Rodríguez, 2002), utilizando en su elaboración los aglutinantes bentonita-cemento y polvo cálcico-cemento.

En la Grafica 9 se muestran las medias observadas de la D a través del tiempo de secado de los BMN (Anexo 20), estas siguen un patrón similar al de



Grafica 9. Media de la dureza medida en kilogramos fuerza (kgf) de los BMN a través del tiempo.

T1 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T2 = BMN elaborado con 4% urea, bentonita-cemento y sin MZ, T3 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T4 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, T5 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T6 = BMN elaborado con 6% urea, bentonita-cemento y sin MZ, T7 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T8 = BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ la PP, encontrando que a los 52 d el endurecimiento se estabilizó.



En los resultados del análisis estadístico (Cuadro 13), se encontró diferencia del efecto de tratamiento por día ($P < 0.05$) esto se debe a la fibra de la MZ y un menor nivel de urea (4 %) que influyeron sobre la D del bloque sin importar el tipo de secante utilizado.

La mayor D fue observada en los tratamientos T4 y T3 con 86.42 ± 0.77 y 83.44 ± 0.77 kgf respectivamente, que fueron similares estadísticamente y se elaboraron con MZ, 4 % de urea y diferente aglutinante, a estos les siguieron con un nivel menor los tratamientos T2 y T6 con 75.08 ± 0.77 y 72.59 ± 0.77 kgf que fueron similares y se elaboraron sin MZ, con 4 % y 6 % de urea y aglutinante bentonita-cemento, a estos bloques les siguió el tratamiento T7 con 66.71 ± 0.77 kgf elaborado con MZ, 6 % de urea y polvo cálcico-cemento como aglutinante, el siguiente nivel de D fue para el tratamientos T8 con 49.76 ± 0.77 kgf elaborado con MZ y 6 % de urea y bentonita-cemento como aglutinante, y los BMN con el menor nivel de D fueron los tratamiento T1 y T5 con 42.64 ± 0.77 y 37.51 ± 0.77 kgf que se elaboraron sin MZ con diferente nivel de urea y polvo cálcico-cemento como aglutinante.

En 2002 Bustamante y Rodríguez elaboraron BMN mediante el método de prensado, utilizando ingredientes tradicionales 5 % de urea y como aglutinante bentonita-cemento obteniendo una dureza de 37.57 kgf, estos BMN mostraron una buena calidad para el consumo por ganado en pastoreo en la época seca.

Resistencia al Agua de los BMN

En estudios realizados en la elaboración de BMN con diferentes ingredientes, se indicó, que el consumo de los BMN depende de la dureza y resistencia al agua (RA) y estos factores dependen de los ingredientes y



aglutinantes utilizados para su elaboración (Lobato y Pearce, 1980; Jimenez, 1985).

La importancia de la RA de los BMN radica en que al ser consumidos por el animal, el BMN se ensaliva lo que provoca su reblandecimiento y mayor facilidad para su consumo; para probar este efecto se realizo un ensayo a los 15 d de elaboracion, el cual consistió en registrar el tiempo en minutos en el que el BMN absorvio 20 ml de agua (Anexo 21).

El analisis estadistico RA (Cuadro 13) mostro diferencia entre tratamientos ($P < 0.05$) encontrando que el tratamiento con mayor resitencia a la humedad fue el T6 276.56 ± 12.34 min, seguido del tratamiento T2 203.72 ± 12.34 min que fueron elaborados sin MZ empleando bentonita-cemento como aglutinante; el siguiente nivel de resistencia al agua fue para el tratamientos T5 89.77 ± 12.34 min, estadisticamente similar al tratamiento T1 49.57 ± 12.34 min elaborados sin MZ y polvo calcico-cemento como aglutinante, encontrando una diferencia ($P < 0.05$) respecto a los primeros tratamientos (T6 y T2).

La absorción del agua mas rápida, fue encontrada en los tratamientos T7 3.14 ± 12.34 min, T4 0.76 ± 12.34 min, T8 0.50 ± 12.34 min y T3 0.32 ± 12.34 min que fueron elaborados con MZ sin importar el tipo de secante, estos tratamientos fueron estadisticamente similares y diferentes ($P < 0.05$) a los demas tratamientos.

Los resultados obtenidos divididos en absorvancia rapida o lenta se muestra en el cuadro 15 encontrando una mayor absorción de agua en los bloques elaborados con MZ es decir menor RA, el efecto del tiempo de



Cuadro 15. Medias del tiempo (minutos) de absorbancia de 20 ml de agua de los bloques multinutricionales (BMN)

BMN	Tiempo de Absorbancia							
	Rápida				Lenta			
	T3	T8	T4	T7	T1	T5	T2	T6
Minutos	0.32	0.50	0.76	3.14	49.57	89.77	203.72	276.56

T1 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T2 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T3 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T4 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, T5 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T6 = BMN con 6 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T7 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ y T8 = BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ

absorción rápida o lenta se debe a la capacidad higroscópica de la fibra de la



manzana. En este ensayo solo se encontró que los tratamientos T6 y T2 fueron simiales a los resultados obtenidos por Bustamante y Rodríguez (2002) que reportaron un tiempo de absorvancia de 20 ml de agua en BMN prensados (204 a 241 min).

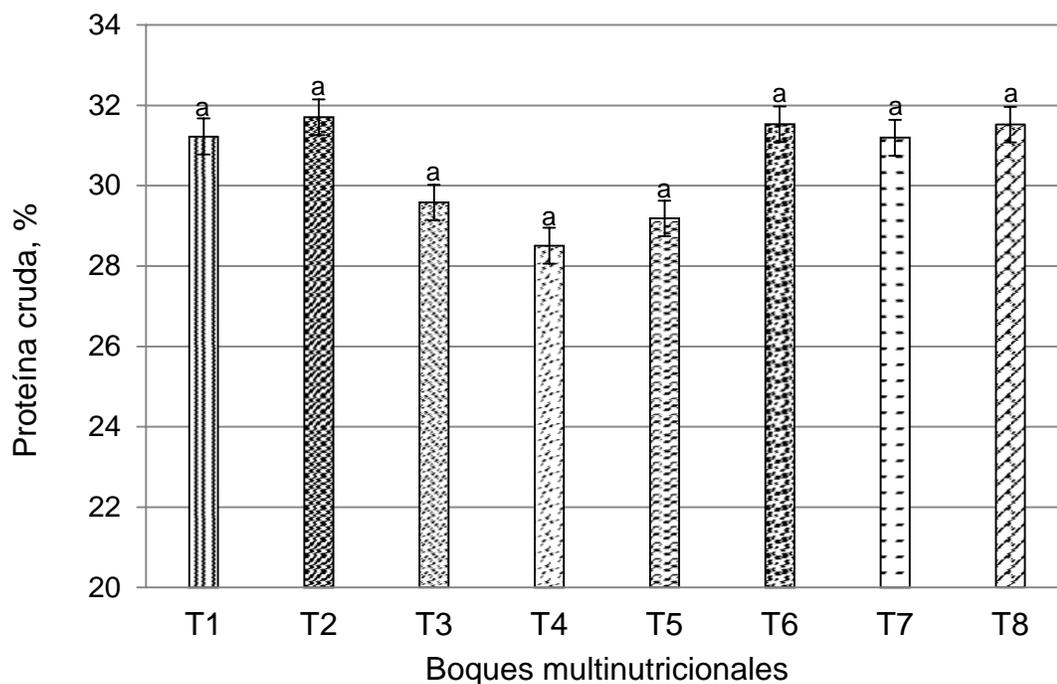
Proteína Cruda de los BMN

En el análisis estadístico de la PC de los BMN, los resultados encontrados indicaron que no hubo diferencia ($P > 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 14, Gráfica 10).

En orden de mayor a menor, los tratamientos tuvieron los siguientes porcentajes promedio de PC: T2 31.705 ± 0.74 %, T6 31.534 ± 0.74 %, T8 31.522 ± 0.74 %, T1 31.225 ± 0.74 %, T7 31.196 ± 0.74 %, T3 29.581 ± 0.74 %, T5 29.185 ± 0.74 % y T4 28.511 ± 0.74 %.

En el análisis químico de los BMN con 30 % de PC, los resultados observados indican un ligero cambio en la PC, que se atribuye al tipo de ingredientes utilizados, y a que los microorganismos presentan un crecimiento en el sustrato seco cuando las condiciones atmosféricas cambian y aumenta la humedad en el medio ambiente como lo indicaron Valiño *et al.*, (1992).

En los bloques T3, T4 y T5 se observó un nivel poco menor de PC que en los demás tratamientos, esta variación de la PC puede haberse debido a un efecto de los ingredientes comerciales utilizados, ya que aunque la mezcla se formuló con un contenido de 30 % PC los ingredientes comerciales no fueron evaluados previamente.



Gráfica 10. Medias de la proteína cruda de los bloques multinutricionales fraguados.

T1 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T2 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T3 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T4 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, T5 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T6 = BMN con 6 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T7 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ y T8 = BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ ^{a,b,c,d,e} Letras diferentes en superíndices difieren significativamente $P < 0.05$ (Tukey 1952)



Proteína Verdadera de los BMN

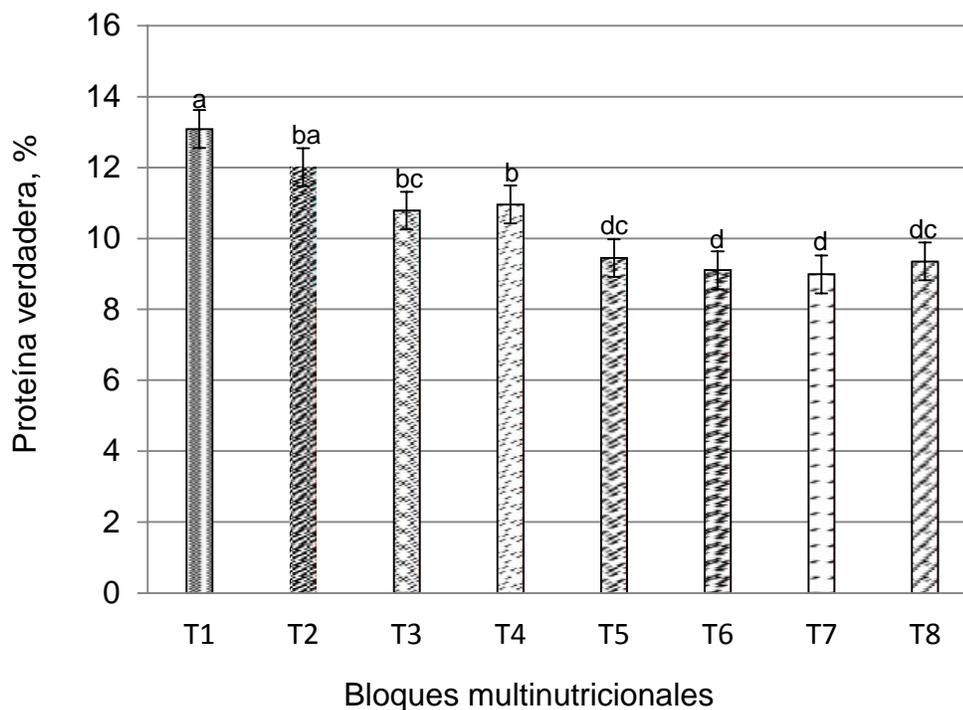
En el análisis estadístico para PV (Cuadro 14, Gráfica 11) se encontró diferencia entre tratamientos ($P < 0.05$), encontrando que el mayor contenido de PV fue para los tratamientos elaborados con 4 % de urea, correspondiendo el nivel más alto de PV al T1 con 13.09 ± 0.033 % seguido del T2 con 12.0 ± 0.0331 % que fueron similares estadísticamente al T1 y a los tratamientos T3 con 10.79 ± 0.033 % y T4 con 10.960 ± 0.033 %, a estos tratamientos les siguieron los elaborados con 6 % de urea, el tratamiento T5 con 9.45 ± 0.033 % y T8 con 9.35 ± 0.033 % de PV fueron estadísticamente iguales y al mismo tiempo similares a los tratamientos T6 con 9.10 ± 0.033 % y T7 con 8.99 ± 0.033 % de PV.

Los resultados de PV, indican que los BMN elaborados con 4 % de urea mostraron un mejor nivel de PV que los BMN elaborados con 6 % de urea sin importar el uso de la MZ o el tipo de aglutinante, esto fue debido a que adicionar 6 % de urea incremento más el nivel de NNP presente en el BMN.

Producción de Gas de los BMN

Se usó la técnica de PG descrita por Menke y Steingass (1988) para comparar la fermentación de los BMN tradicionales (T1, T2, T5 y T6), con los elaborados con manzarina (T3, T4, T7 y T8). La PG se obtuvo por medio de la ecuación propuesta por Ørskov y McDonalds (1979) modificada por Menke y Steingass (1988).

Las condiciones de digestión y tiempo de lectura fueron similares a las descritas por Menke y Steingass (1988) que lograron estimar el contenido de energía metabolizable (EM) de concentrados energéticos a partir del gas total



Gráfica 11. Medias de proteína verdadera de los bloques multinutricionales fraguados con diferentes combinaciones de urea, manjarina y aglutinante (bentonita o polvo cálcico y cemento).

T1 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T2 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T3 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T4 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, T5 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T6 = BMN con 6 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T7 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ y T8 = BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ ^{a,b,c,d,e} Letras diferentes en superíndices difieren significativamente $P < 0.05$ (Tukey 1952)

producido en 24 h de incubación e indicaron que la cantidad de gas producido por la incubación *in vitro* de un substrato está íntimamente relacionada con su digestibilidad y por tanto con su valor energético (Menke *et al.*, 1979; Menke y



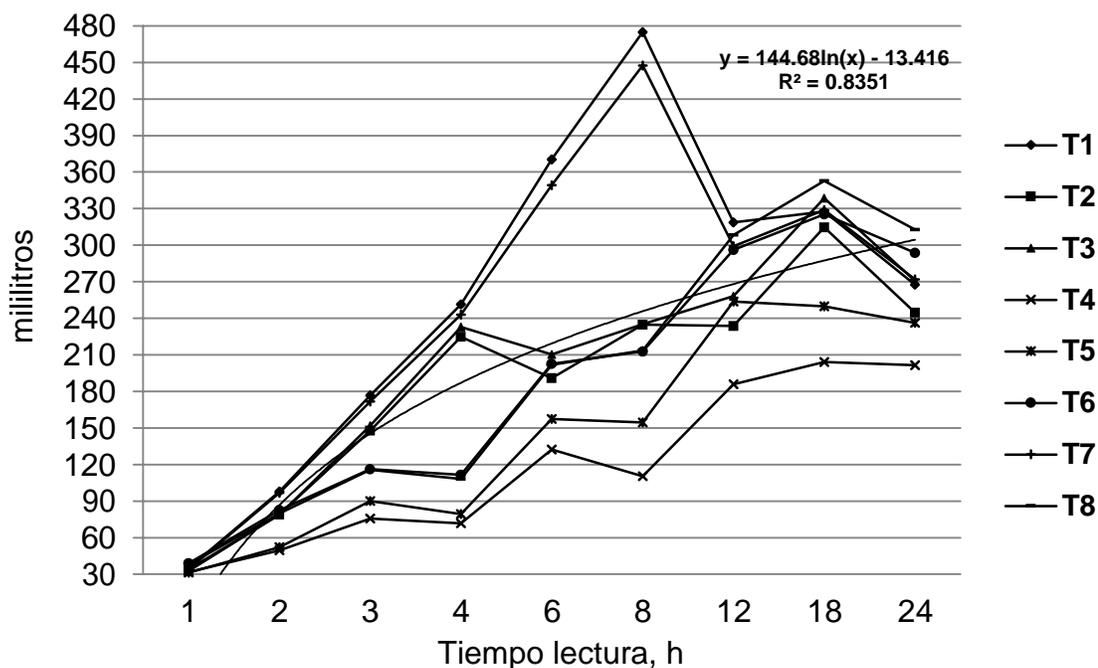
Steingass, 1988; Posada y Noguera, 2005; Posada *et al.*, 2006). France *et al.*, (2000) mencionaron que la PG es directamente proporcional a la tasa de degradación del sustrato (Deaville y Givens, 1998).

En la Gráfica 12 observamos la tendencia de la producción promedio acumulada de gas por tratamientos a través del tiempo de fermentación (24 h).

En el análisis estadístico de PG no se encontró diferencia entre tratamientos ($P > 0.05$). (Gráfica 13, Anexo 22). La PG tuvo el siguiente orden de tratamiento, T1 257.94 ± 16.20 ml, T7 249.3 ± 16.201 ml, T3 201.34 ± 16.20 ml, T8 192.38 ± 16.20 ml, T2 189.29 ± 16.20 ml, T6 186.72 ± 16.20 ml, T5 145.07 ± 16.20 ml y T4 118.28 ± 16.20 ml. Blümmel y Ørskov (1993) encontraron correspondencia entre la desaparición de sustrato *in vitro* y las determinaciones realizadas *in situ* utilizadas como referencia.

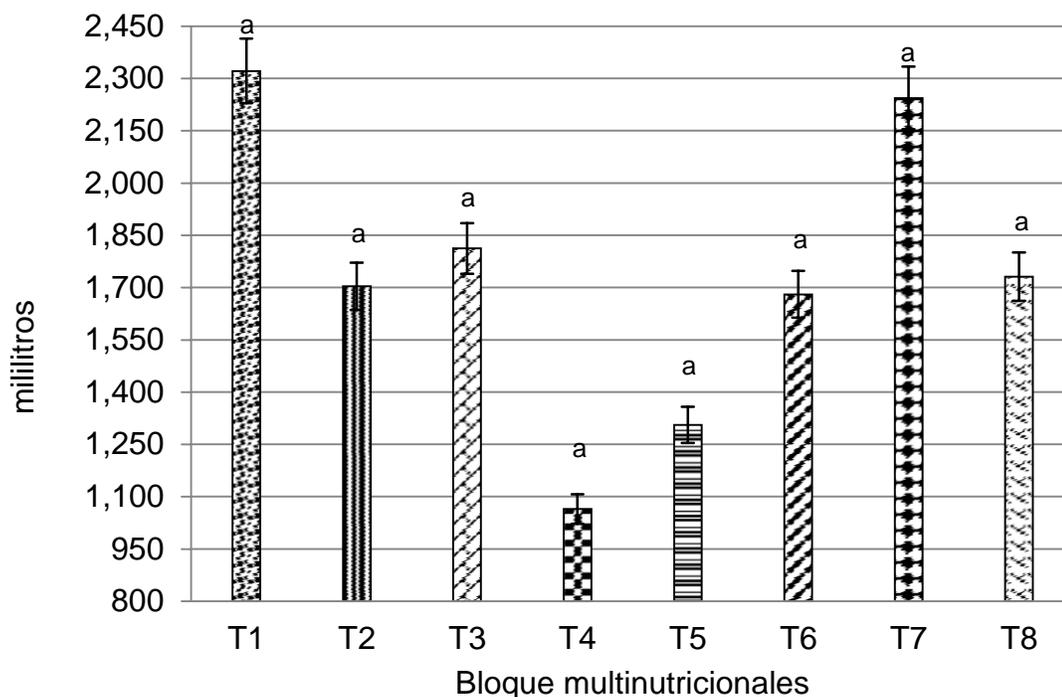
En la degradación de proteína de soya en rumen, se ha encontrado que esta desaparece en 24 h y en la alimentación *ad libitum* hay una tasa más rápida de paso y la degradabilidad final se estima en 65 a 66 % dentro de 24 h con lo que la PG muestra una aceptable capacidad predictiva de la digestibilidad y del consumo para algunos alimentos (Menke *et al.*, 1979; Blümmel y Becker, 1997).

La metodología asume que el gas liberado durante la incubación está directamente relacionado a la cantidad de sustrato degradado (Theodorou, 1993; Theodorou *et al.*, 1994; Bochi-Brum *et al.*, 1999; Mauricio *et al.*, 2001).



Gráfica 12. Medias de la producción de gas del bloque multinutricional durante la digestión *in-vitro*.

T1 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T2 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T3 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T4 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, T5 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T6 = BMN con 6 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T7 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ y T8 = BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ



Gráfica 13. Producción acumulada promedio de gas de la digestión *in-vitro* del bloque multinutricional a las 24 h de observación.

T1 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T2 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T3 = BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T4 = BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, T5 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T6 = BMN con 6 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T7 = BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ y T8 = BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ ^{a,b,c,d,e} Letras diferentes en superíndices difieren significativamente $P < 0.05$ (Tukey 1952)



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En la elaboración del BMN prensado, la utilización de manzarina no permitió la compactación del mismo esto se atribuyó al efecto que presentó la fibra de la manzarina, la cual se compactaba y al retirar la presión esta se expandía nuevamente, por lo que los bloques quedaron quebradizos.

En la elaboración de los BMN por el método de fraguado utilizando MZ, presentaron una calidad similar a los BMN tradicionales fraguados; con el nuevo aglutinante utilizado el polvo cálcico no se encontró diferencia en el aglutinamiento que con aglutinantes tradicionales como el cemento y la cal.

Se recomienda evaluar el efecto nutricional en el ganado y el efecto sobre el consumo voluntario durante el pastoreo en la época seca y su efecto en los parámetros productivos.



LITERATURA CITADA

- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis, 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.
- Araujo-Febres, O., M. Graterol, E. Zabala, M. Romero, G. Pírela y C. Castro de Rincón. 1996. Influencia del tiempo, las condiciones de almacenamiento y la concentración de cal sobre la dureza de los bloques multinutricionales. X Seminario Científico de Pastos y Forrajes. Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba
- Araujo-Febres, O. 1997. Conferencia dictada en el I Taller sobre investigación en bloques multinutricionales. Sociedad Venezolana de Pastizales, Univ. Simón Rodríguez. Valle de la Pascua. Rev. Fac. de Agron. 14:377-384.
- Araujo-Febres, O., M. Graterol, E. Zabala, M. Romero, G. Pírela y S. Pietrosemoli. 1997. Influencia del tiempo, las condiciones de almacenamiento y la concentración de cal sobre la resistencia de los bloques multinutricionales. Rev. Fac. Agron. 14:427.
- Araujo-Febres, O. 2001. Los bloques multinutricionales: una estrategia para la época seca. Departamento de Zootecnia. Rev. Fac. de Agron. La Universidad del Zulia. Maracaibo, ZU 4011. Venezuela.
- Becerra, A. y C. Rodríguez. 1998. Elaboración de bloques proteicos para suplementación de ganado en agostadero utilizando un subproducto de manzana con cuatro tipos de secantes. Tesis de Maestría. Fac. de Zootecnia y Ecología, Univ. Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih., México
- Bustamante, J. F. y C. Rodríguez. 2002. Efecto de la composición química y la presión de compactación en la elaboración de bloques de proteína para suplementación de ganado en pastoreo. Tesis de Maestría Facultad de Zootecnia y Ecología, Universidad Autónoma de Chihuahua
- Bochi-Brum, O., M. D. Carro, C. Valdés, J. S. González y S. López. 1999. Digestibilidad in vitro de forrajes y concentrados: efecto de la ración de los animales donantes de líquido ruminal. Departamento de Producción Animal. Universidad de León. España. DP1MCT@ISIDORO.UNILEON.ES . Arch. Zootec. 48:51-61
- Blümmel, M., y E. R. Ørskov. 1993. Comparison of in vitro gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. Anim. Feed Sci. Technol. 40:109-119



- Blümmel, M. y K. Becker. 1997. The degradability characteristics of fifty-four roughages and roughage neutral-detergent fibers as described by in vitro gas production and their relationship to voluntary feed intake. *Br. J. Nutr.* 77:757- 768.
- Bustamante, J. F. y C. Rodríguez. 2002. Efecto de la composición química y la presión de compactación en la elaboración de bloques de proteína para suplementación de ganado en pastoreo. Tesis de Maestría Facultad de Zootecnia Y Ecología, Univ. Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, Chih., México
- Deaville, E. R., y D. I. Givens. 1998. Investigation of direct gas production from silage fermentation acids. P.B.S.A. Science, ed. Annual Meeting, Scarborough. 64.
- Escobar, A. 1989. Fisiología de la nutrición en la vaca de doble propósito. Eds. Arango-Nieto, L., A. Charry y R. Vera. Panorama de la ganadería de doble propósito en la América tropical. 115–140.
- France, J., J. Dijkstra, M. S. Dhanoa, S. López, y A. Bannink. 2000. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed in vitro: Derivation of models and other mathematical considerations. *British J. Nut.* 83:143–150.
- Gadea, J., M. Romero, G. Pírela, O. Araujo-Febres, C. Castro de Rincón y S. Pietrosevoli. 1996. Efecto de la consistencia de los bloques nutricionales sobre el consumo voluntario en bovinos mestizos. III Congreso de ciencias veterinarias, Maracay.
- Garmendia, J. 1994. Uso de bloques multinutricionales en la ganadería a pastoreo de forrajes de pobre calidad. *Rev. Fac. Agron.* 11:224-237.
- Gill, D. R. y K. S. Lusby. 2000. Feeding high protein cubes. Cooperative extension service Division of Agriculture Sciences and Natural Resources Oklahoma State University.
- INEGI. 2001. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática
- Jimenez, A. A. 1985. Thechnology of manufacturing feed blocks advances. *Feedstuffs.* 28:12.
- Lindsay, J. A., G. W. Mason y M. A. Toleman. 1982. Supplementation of pregnant cows with protected proteins when fed tropical forage diets. *Proc. Australian Soc. of Anim. Prod.* 14:67-78.
- Lobato, J. F. P. y R. Pearce. 1980. A responses to molasses-urea blocks of grazing sheep and sheep in yards. *Australian J. of Experim. Agric. and Anim.*



Husb. 20:417-421.

Mauricio, R. M., E. Owen, F. L. Mould, I. Givens, M. K. Theodorou, J. France, Dr. Davies, M. S. Dhanoa. 2001. Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an *in vitro* gas production technique for evaluating forages. *Animal feed Sci. and Technol.* 89.

Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz y W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *J. Agric. Sci.* 93:217-222.

Menke, K. H. y H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Develop.* 28:7-55.

Ørskov, E. R. e I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. of Agric. Sci., Cambridge.* 92:499-503

Posada, S. L., J. R. Rosero y D. M. Bolívar. 2006. Relación entre presión y volumen para la implementación de la técnica *in vitro* de producción de gases en Medellín, Colombia. *Rev. Colomb. de Cienc. Pec.* 19:407–414.

Posada, S. L. y R. R. Noguera. 2005. Técnica *in vitro* de producción de gases: Una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. *Liv. Resear. for Rural Develop.*

Preston, T. R. y R. A. Leng. 1990. Ajustando los sistemas de producción pecuaria a los recursos disponibles: Aspectos básicos y aplicados del nuevo enfoque sobre la nutrición de rumiantes en el trópico. 2da Edición. CONDRIT. Cali, Colombia.

SAS. 1998. System of Analysis Statistical for linear models. A guide to the anova and GLM procedures. Cary N.C.

Schofield, P., R. E. Pitt y A. N. Pell. 1994. Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas production. *J. of Anim. Sci.* 72:2980-2991.

Schofield, P. 2000. Gas production methods. Farm animal metabolism and nutrition. Cab International, Wallingford.

Theodorou, M.K. 1993. A new laboratory procedure for determining the fermentation kinetics of ruminants feeds. *Inv. Agr.* 20:332-344.

Theodorou, M. K., B. A. Williams, M. S. Dhanoa, A. B. McAllan y J. France. 1994.



A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48:185-198.

Valiño, E., A. Elías, E. Álvarez, E. Regalado y J. Cordero. 1992. Dinámica de crecimiento de la microbiota de la caña de azúcar durante la obtención de la Saccharina. *Rev. Cubana de Cienc. Agric.* 26:297.



APÉNDICE

Anexo 1. Resultado del análisis bromatológico de los tratamientos del estudio I

Tratamiento	n	Proteína				Humedad		Materia seca	
		Cruda		Verdadera		%	Prom	%	Prom
T1	1	26.55	25.06	20.91	19.49	81.53	78.17	18.47	21.83
BM + 1.5 % de urea	2	20.41		15.23		76.66		23.34	
	3	25.79		19.62		81.29		18.71	
	4	25.70		20.04		76.97		23.03	
	5	26.87		21.65		74.38		25.62	
T2	1	23.86	24.02	18.69	18.54	89.67	87.43	10.33	12.57
BM + 1.5 % de melaza	2	24.59		18.94		89.24		10.76	
	3	22.48		16.81		85.35		14.65	
	4	24.82		19.61		86.85		13.15	
	5	24.33		18.65		86.06		13.94	
T3	1	22.37	22.70	15.73	16.07	87.77	86.37	12.23	13.63
BM + 1.5 % de maíz	2	22.96		16.32		89.70		10.30	
	3	22.96		15.88		89.45		10.55	
	4	22.29		16.13		80.70		19.30	
	5	22.93		16.29		84.22		15.78	
T4	1	31.69	29.27	18.42	16.76	90.87	91.13	9.13	8.87
BM + 1.5 % de canola	2	32.98		21.62		92.01		7.99	
	3	29.29		18.38		89.98		10.02	
	4	20.38		17.13		89.48		10.52	
	5	31.98		18.24		93.32		6.68	
T5	1	33.54	33.08	27.39	27.21	81.81	79.88	18.19	20.12
BM + 2 % de urea	2	31.16		25.94		79.36		20.64	
	3	33.38		27.69		79.89		20.11	
	4	34.23		27.60		74.35		25.65	
	5	33.08		27.41		84.01		15.99	
BM de manzana	1	7.52	8.05	2.81	3.03	81.11	81.14	18.89	18.86
	2	7.75		2.96		81.86		18.14	
	3	8.11		3.00		82.74		17.26	
	4	8.82		3.35		81.05		18.95	
	d	8.34	8.18	3.03		82.10		17.90	
	d	8.01		3.15		81.35		18.65	
	n	7.94	8.38	3.00		80.03		19.97	
	n	8.91		2.95		79.90		20.10	
n	8.30		3.03		80.08		19.92		

BM = bagazo de manzana, n = nuevo, d = muestra refrigerada 3 días, los cinco tratamientos llevan 1% de sulfato de amonio

Anexo 2. Medias \pm error estándar de humedad de tratamientos a través del tiempo de elaboración de la manzarina

días	Tratamientos				E.E.
	T1	T2	T3	T4	
N	82.33	83.44	80.07	78.83	± 1.77
1	79.17	81.17	77.85	76.39	
2	79.28	79.13	78.70	78.43	
3	72.55	71.70	79.67	79.08	
4	75.10	72.55	77.96	76.68	
5	73.93	74.27	77.14	78.24	
6	71.79	74.42	74.00	75.84	
7	68.57	72.31	76.09	75.43	
8	70.12	68.79	74.50	73.21	
9	70.00	72.70	72.41	71.82	
10	69.06	68.71	71.43	70.59	
11	73.47	76.12	69.54	68.36	
12	72.66	74.69	65.68	63.31	
13	71.01	79.06	63.27	62.85	
14	70.58	77.95	61.79	57.98	
15	73.77	67.56	62.77	52.29	
16	72.65	68.26	65.50	46.17	
17	69.43	71.14	50.49	49.24	
18	70.44	69.48	53.98	50.32	
Promedio	72.94	73.87	70.15	67.64	

T1 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto, T2 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto, T3 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana de manzana proveniente de frigorífico, T4 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana de manzana proveniente de frigorífico, MD = Manzana de desecho proveniente del huerto, MR = Manzana proveniente de frigorífico, BM = Bagazo de manzana mezclado de bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto y bagazo de manzana de manzana proveniente del frigorífico



Anexo 3. Medias de materia seca en la producción de manzarina de dos fuentes de bagazo de manzana a través del tiempo

Tratamientos				
días	T1	T2	T3	T4
N	17.67	16.56	19.93	21.17
1	20.83	18.83	22.15	23.61
2	20.72	20.87	21.30	21.57
3	27.45	28.30	20.33	20.92
4	24.90	27.45	22.04	23.32
5	26.07	25.73	22.86	21.76
6	28.21	25.58	26.00	24.16
7	31.43	27.69	23.91	24.57
8	29.88	31.21	25.50	26.79
9	30.00	27.30	27.59	28.18
10	30.94	31.29	28.57	29.41
11	26.53	23.88	30.46	31.64
12	27.34	25.31	34.32	36.69
13	28.99	20.94	36.73	37.15
14	29.42	22.05	38.21	42.02
15	26.23	32.44	37.23	47.71
16	27.35	31.74	34.50	53.83
17	30.57	28.86	49.51	50.76
18	29.56	30.52	46.02	49.68
Promedio	27.06	26.13	29.85	32.36

T1 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto, T2 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto, T3 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana de manzana proveniente de frigorífico, T4 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana de manzana proveniente de frigorífico, MD = Manzana de desecho proveniente del huerto, MR = Manzana proveniente de frigorífico, BM = Bagazo de manzana mezclado de bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto y bagazo de manzana de manzana proveniente del frigorífico



Anexo 4. Medias de proteína cruda en la producción de manzarina de dos fuentes de bagazo de manzana a través del tiempo

Días Elaboración	Tratamientos			
	T1	T2	T3	T4
BM	9.70	8.71	8.90	6.94
1	38.39	34.85	37.72	36.60
2	37.67	39.29	30.78	33.10
3	38.49	39.08	30.80	26.40
4	36.54	37.34	31.63	34.90
5	32.94	32.36	35.99	27.90
6	33.99	31.83	31.45	24.80
7	31.72	33.11	28.38	24.60
8	32.50	30.62	28.82	24.30
9	35.30	29.37	27.55	24.50
10	30.12	29.62	25.57	24.90
11	32.86	34.58	24.52	24.70
12	32.36	34.60	25.39	24.50
13	31.55	34.83	27.33	24.30
14	32.45	33.11	24.74	23.90
15	33.29	31.86	27.13	24.20
16	32.25	31.35	25.13	22.30
17	30.70	30.11	25.38	20.80
18	29.69	29.87	23.39	20.20
Promedio	32.24	31.92	27.40	24.94
Degussa*	30.36	29.30	21.52	21.20

* proteína cruda determinada en el Laboratorio DEGUSSA de Alemania, T1 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto, T2 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto, T3 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana de manzana proveniente de frigorífico, T4 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana de manzana proveniente de frigorífico, MD = Manzana de desecho proveniente del huerto, MR = Manzana proveniente de frigorífico, BM = Bagazo de manzana mezclado de bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto y bagazo de manzana de manzana proveniente del frigorífico



ANALYTICAL Report



ISO 9001 Degussa AG • Feed Additives • Animal Nutrition Services • D-63403 Hanau amino acids and more



AM 159/05, Apple meal

UACH
Chihuahua
México

Lab code: 2005/11783

date of delivery: 13 September, 2005

Crude Protein (%)*: 30.36

Dry matter (%): 92.78

Crude Protein (% as is): 28.17

Results of amino acid analysis

Total contents after hydrolysis of protein

Amino acid	Content (%)*	AA (%) in CP	Content (% as is)
Methionine	0.16	0.51	0.14
Cystine	0.12	0.40	0.11
Methionine + Cystine	0.28	0.91	0.26
Lysine	0.53	1.74	0.49
Threonine	0.51	1.68	0.47
Arginine	0.55	1.82	0.51
Isoleucine	0.49	1.62	0.16
Leucine	0.80	2.65	0.75
Valine	0.60	1.97	0.55
Histidine	0.24	0.79	0.22
Phenylalanine	0.47	1.54	0.43
Glycine	0.63	2.06	0.58
Serine	0.52	1.70	0.48
Proline	0.42	1.40	0.39
Alanine	0.64	2.10	0.59
Aspartic acid	1.04	3.42	0.96
Glutamic Acid	1.48	4.87	1.37
Total (without NH ₃)	9.20	30.27	8.5
Ammonia	2.80	9.24	2.6
Total	12.00	39.51	11.1

* Figures standardized to a dry matter content of 100%

AA = Amino acid, CP = Crude protein



AMINO Lab®



Anexo 7. Análisis de PC y aminoácidos de manzarina (T2)

degussa.

creating essentials

ANALYTICAL Report

ISO 9001

Degussa AG • Feed Additives • Animal Nutrition Services • D-63403 Hanau | amino acids and more

AM 158/05, Apple meal	UACH Chihuahua México
-----------------------	-----------------------------

Lab code: 2005/11782

date of delivery: 13 September, 2005

Crude Protein (%)*: 29:30

Dry matter (%): 92.08

Crude Protein (% as is): 26.98

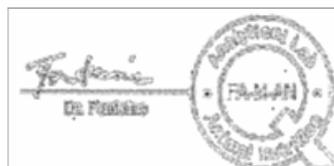
Results of amino acid analysis

Total contents after hydrolysis of protein

Amino acid	Content (%)*	AA (%) in CP	Content (% as is)
Methionine	0.16	0.55	0.15
Cystine	0.12	0.42	0.11
Methionine + Cystine	0.28	0.96	0.26
Lysine	0.53	1.82	0.49
Threonine	0.52	1.77	0.48
Arginine	0.55	1.88	0.51
Isoleucine	0.49	1.67	0.45
Leucine	0.81	2.77	0.75
Valine	0.60	2.04	0.55
Histidine	0.24	0.83	0.22
Phenylalanine	0.47	1.61	0.43
Glycine	0.62	2.13	0.57
Serine	0.53	1.80	0.49
Proline	0.43	1.47	0.4
Alanine	0.65	2.20	0.59
Aspartic acid	1.04	3.55	0.96
Glutamic Acid	1.47	5.03	1.36
Total (without NH ₃)	9.23	31.54	8.51
Ammonia	2.54	8.67	2.34
Total	11.77	40.21	10.85

* Figures standardized to a dry matter content of 100%

AA = Amino acid, CP = Crude protein



AMINO Lab®



ANALYTICAL Report

ISO 9001

Degussa AG • Feed Additives • Animal Nutrition Services • D-63403 Hanau | amino acids and more

AM 163/05, Apple meal	UACH Chihuahua México
-----------------------	-----------------------------

Lab code: 2005/11787

date of delivery: 13 September, 2005

Crude Protein (%)*: 21.52

Dry matter (%):92.93

Crude Protein (% as is): 20.00

Results of amino acid analysis

Total contents after hydrolysis of protein

Amino acid	Content (%)*	AA (%) in CP	Content (% as is)
Methionine	0.13	0.61	0.12
Cystine	0.10	0.49	0.1
Methionine + Cystine	0.24	1.09	0.22
Lysine	0.31	1.45	0.29
Threonine	0.36	1.68	0.34
Arginine	0.44	2.02	0.4
Isoleucine	0.38	1.77	0.35
Leucine	0.61	2.82	0.56
Valine	0.45	2.08	0.42
Histidine	0.14	0.66	0.13
Phenylalanine	0.36	1.69	0.34
Glycine	0.51	2.38	0.48
Serine	0.39	1.81	0.36
Proline	0.29	1.36	0.27
Alanine	0.49	2.28	0.46
Aspartic acid	0.80	3.73	0.75
Glutamic Acid	1.14	5.30	1.06
Total (without NH ₃)	6.90	32.13	6.43
Ammonia	2.52	11.70	2.35
Total	9.42	43.83	8.78

* Figures standardized to a dry matter content of 100%

AA = Amino acid, CP = Crude protein



AMINO Lab®



Anexo 9. Análisis de PC y aminoácidos de manzarina

degussa.

creating essentials

ANALYTICAL Report

ISO 9001

Degussa AG • Feed Additives • Animal Nutrition Services • D-63403 Hanau | amino acids and more

AM 161/05, Apple meal	UACH Chihuahua México
-----------------------	-----------------------------

Lab code: 2005/11785

date of delivery: 13 September, 2005

Crude Protein (%)*: 21.20

Dry matter (%): 91.29

Crude Protein (% as is): 19.36

Results of amino acid analysis

Total contents after hydrolysis of protein

Amino acid	Content (%)*	AA (%) in CP	Content (% as is)
Methionine	0.16	0.75	0.15
Cystine	0.11	0.53	0.1
Methionine + Cystine	0.27	1.28	0.25
Lysine	0.40	1.91	0.37
Threonine	0.41	1.93	0.37
Arginine	0.54	2.56	0.5
Isoleucine	0.43	2.01	0.39
Leucine	0.71	3.35	0.65
Valine	0.52	2.45	0.47
Histidine	0.23	1.09	0.21
Phenylalanine	0.41	1.94	0.38
Glycine	0.57	2.69	0.52
Serine	0.43	2.04	0.39
Proline	0.37	1.75	0.34
Alanine	0.52	2.45	0.47
Aspartic acid	0.93	4.39	0.85
Glutamic Acid	1.48	6.97	1.35
Total (without NH ₃)	8.22	38.81	7.51
Ammonia	2.09	9.85	1.91
Total	10.31	48.66	9.42

* Figures standardized to a dry matter content of 100%

AA = Amino acid, CP = Crude protein



MINO Lab®



Anexo 9. Análisis de PC y aminoácidos de bagazo de manzana de desecho provenientes del huerto

degussa.

creating essentials

ANALYTICAL Report

ISO 9001 | Degussa AG • Feed Additives • Animal Nutrition Services • D-63403 Hanau | amino acids and more

AM 162/05, Apple meal	UACH Chihuahua México
-----------------------	-----------------------------

Lab code: 2005/11786

date of delivery: 13 September, 2005

Crude Protein (%)*: 5.94

Dry matter (%):93.94

Crude Protein (% as is): 5.58

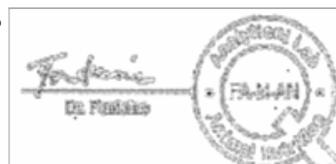
Results of amino acid analysis

Total contents after hydrolysis of protein

Amino acid	Content (%)*	AA (%) in CP	Content (% as is)
Methionine	0.08	1.38	0.08
Cystine	0.07	1.13	0.06
Methionine + Cystine	0.15	2.51	0.14
Lysine	0.20	3.37	0.19
Threonine	0.22	3.66	0.20
Arginine	0.29	4.80	0.27
Isoleucine	0.23	3.78	0.21
Leucine	0.39	6.51	0.36
Valine	0.27	4.46	0.25
Histidine	0.11	1.85	0.10
Phenylalanine	0.23	3.84	0.21
Glycine	0.29	4.95	0.28
Serine	0.25	4.25	0.24
Proline	0.20	3.39	0.19
Alanine	0.27	4.52	0.25
Aspartic acid	0.49	8.25	0.46
Glutamic Acid	0.75	12.70	0.71
Total (without NH ₃)	4.34	72.84	4.06
Ammonia	0.14	2.40	0.13
Total	4.48	75.24	4.19

* Figures standardized to a dry matter content of 100%

AA = Amino acid, CP = Crude protein



AMINO Lab®



Anexo 10. Media de proteína verdadera en la producción de manzarina de dos fuentes de bagazo de manzana a través del tiempo

Días Muestreo	Tratamientos			
	T1	T2	T3	T4
Inicial	10.95	11.95	9.96	7.47
1	11.95	12.45	10.46	9.96
2	12.94	11.45	13.44	12.45
3	15.43	15.43	14.69	14.94
4	15.93	14.44	14.44	14.44
5	17.43	14.94	15.19	16.93
6	18.42	15.43	14.69	16.93
7	18.42	15.43	16.93	17.43
8	18.42	17.92	17.67	16.93
9	15.93	15.43	18.42	16.93
10	16.43	15.68	18.92	16.43
11	17.92	15.43	18.42	17.43
12	17.92	16.43	19.17	16.93
13	18.92	18.42	18.92	18.42
14	18.42	17.67	18.92	18.42
15	18.92	18.42	18.92	18.92
16	18.67	18.67	18.67	18.42
17	19.17	19.42	18.42	18.67
18	19.42	19.67	18.17	18.92
Promedio	16.93	16.04	16.55	16.15

Inicial= media de PV de tratamientos al inicio de la producción T1 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto, T2 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto, T3 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana de manzana proveniente de frigorífico, T4 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana de manzana proveniente de frigorífico, MD = Manzana de desecho proveniente del huerto, MR = Manzana proveniente de frigorífico, BM = Bagazo de manzana mezclado de bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto y bagazo de manzana de manzana proveniente del frigorífico



Anexo 11. Media de la fibra cruda en la producción de manzarina de dos fuentes de bagazo de manzana a través del tiempo

Días	Tratamientos			
	T1	T2	T3	T4
Inicial	95.93	96.36	93.28	94.90
1	92.03	92.74	89.48	93.43
2	92.07	92.41	90.05	92.89
3	91.53	91.23	91.27	92.62
4	92.75	91.50	91.71	92.47
5	92.86	93.67	91.75	93.65
6	93.49	92.52	89.82	92.25
7	93.49	93.42	91.47	91.89
8	93.50	92.91	90.34	92.72
9	91.76	92.80	90.76	91.69
10	91.36	90.34	91.08	91.38
11	92.95	92.35	91.21	93.15
12	91.01	93.12	92.72	93.31
13	90.46	92.57	92.51	93.42
14	91.09	92.51	91.77	93.52
15	90.13	92.81	92.76	93.82
16	90.04	92.31	91.70	93.97
17	90.07	92.27	92.39	93.70
18	90.05	92.29	91.42	93.10
Promedio	91.93	92.64	91.45	93.05

T1 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto, T2 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto, T3 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana de manzana proveniente de frigorífico, T4 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana de manzana proveniente de frigorífico, MD = Manzana de desecho proveniente del huerto, MR = Manzana proveniente de frigorífico, BM = Bagazo de manzana mezclado de bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto y bagazo de manzana de manzana proveniente del frigorífico



Anexo 12. Media del pH en la producción de manzarina de dos fuentes de bagazo de manzana a través del tiempo

Días	Tratamientos			
	T1	T2	T3	T4
inicial	2.78	2.81	3.35	3.20
1	3.25	3.00	4.61	4.00
2	3.75	3.37	4.73	4.00
3	4.00	4.22	4.30	4.10
4	3.86	3.54	4.50	4.90
5	3.57	3.61	5.00	4.80
6	3.63	3.47	5.60	5.30
7	3.82	3.77	6.20	5.50
8	3.91	3.90	6.40	5.60
9	3.77	3.48	6.73	6.00
10	3.72	3.95	6.65	6.70
11	3.52	3.45	6.45	6.50
12	3.43	3.32	6.20	6.20
13	3.37	3.78	6.14	6.00
14	3.64	4.43	6.73	6.50
15	3.96	4.73	6.65	6.20
16	4.14	5.00	6.62	6.50
17	4.65	4.85	6.55	6.30
18	4.45	5.02	6.59	6.20
Promedio	3.75	3.93	5.79	5.50

T1 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto, T2 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de diciembre del 2004 con bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto, T3 = Manzarina producida en el lado sur del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana de manzana proveniente de frigorífico, T4 = Manzarina producida en el lado norte del invernadero en el mes de enero del 2005 con bagazo de manzana de manzana proveniente de frigorífico, MD = Manzana de desecho proveniente del huerto, MR = Manzana proveniente de frigorífico, BM = Bagazo de manzana mezclado de bagazo de manzana de manzana proveniente del huerto y bagazo de manzana de manzana proveniente del frigorífico

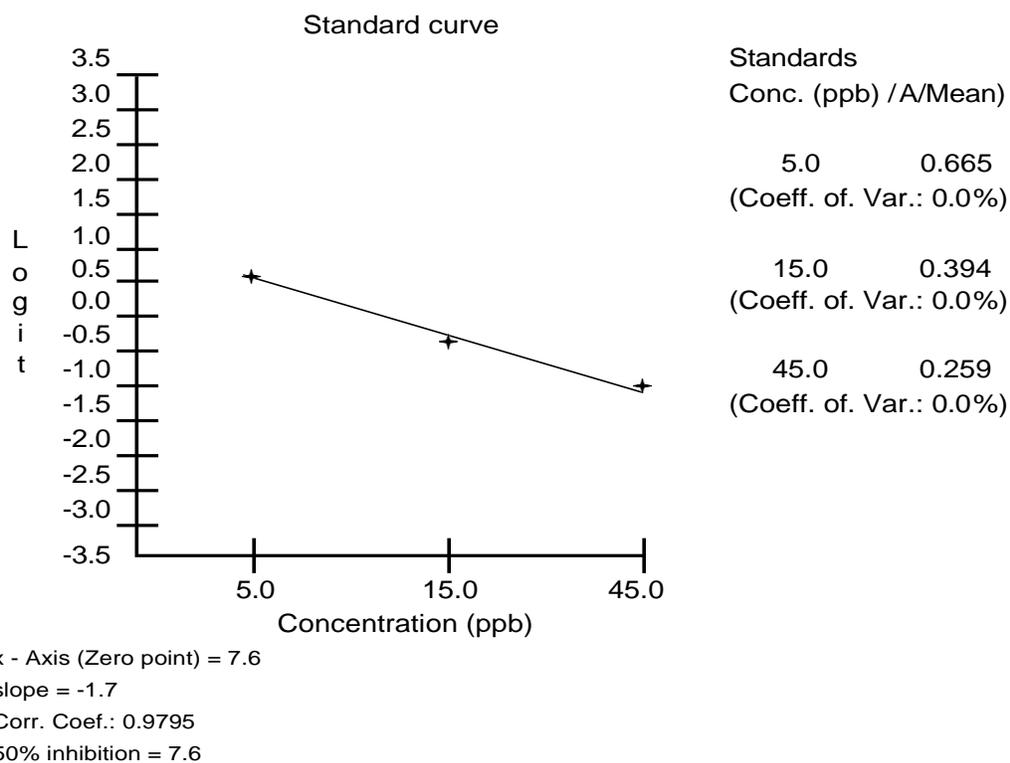


Anexo 13. Promedio diario de temperatura ambiental del 1° al 18 de diciembre del 2004 y del 3 al 20 de enero del 2005 en la elaboración de manzarina

Días	Temperatura	
	Diciembre 2004	Enero 2005
1	12.30	8.40
2	32.60	10.00
3	25.10	11.00
4	20.70	-2.30
5	24.80	8.30
6	22.60	-5.30
7	22.30	6.80
8	19.90	8.40
9	12.30	25.80
10	16.90	18.00
11	15.20	20.80
12	11.30	8.30
13	14.20	13.00
14	10.30	4.70
15	8.60	6.00
16	10.40	9.70
17	12.60	10.10
18	14.70	10.40
Promedio	17.00	9.60
Mínima	8.60	-5.30
Máxima	32.60	25.80



Anexo 14. Curva de calibración de aflatoxinas de la manzarina del laboratorio químico de alimentos de SABAMEX





Anexo 15. Mezcla de ingredientes para la elaboración de BMN por el método de fraguado sin manzarina con 30 % PC y 4 % de urea

Programa de Formulación de Dietas para Ganado de Carne de la Facultad de Zootecnia y Ecología

INGREDIENTES	No. Ingr.	%BS	% RACION \$/KG	
Harinolina 41% PC	168	30.28	28.78	2.7
Maiz molido	159	23.00	22.24	1.6
Manzarina	150	0.00		1.2
Sal Común	319	14.10	12.00	0.7
Suplemento Mineral	346	1.16	1.00	3.2
Urea	222	4.35	4.00	4.4
Aglutinante	331	5.40	5.00	2.2
Sebo Animal	275	2.31	2.00	1.2
Melaza	171	19.40	25.00	1.3

Cont. Nutric. de ración

REQ NUTRICIONALES

PC, %	30.00	PC, %	30.00	0	+
PD, % de PC	56.51	PD, % de PC	50.00	6.51	+
ENm, Mcal/kg	1.48	ENm, Mcal/kg	1.40	0.08	+
ENg, Mcal/kg	0.99	ENg, Mcal/kg	0.90	0.09	+
eNDF, % de MS	3.15	eNDF, % de M	4.00	-0.85	-
Ca, %	1.80	Ca, %	1.00	0.8	+
P, %	0.54	P, %	0.60	-0.06	-
K, %	1.38	K, %		1.38	+
Mg, %	0.39	Mg, %		0.39	+
S, %	0.26	S, %		0.26	+
Co, mg/kg	0.58	Co, mg/kg		0.58	+
Cu, mg/kg	19.19	Cu, mg/kg		19.2	+
Fe, mg/kg	118.11	Fe, mg/kg		118	+
I, mg/kg	0.42	I, mg/kg		0.42	+
Mn, mg/kg	22.15	Mn, mg/kg		22.2	+
Se, mg/kg	0.30	Se, mg/kg		0.3	+
Zn, mg/kg	27.45	Zn, mg/kg		27.5	+
Na, %	5.69	Na, %		5.69	+
Cl, %	9.21	Cl, %		9.21	+
DCAD, mEq/kg	68.97				
Precio dieta \$/kg	1.85				



Anexo 16. Mezcla de ingredientes para la elaboración de BMN por el método de fraguado sin manzarina con 30 % PC y 6 % de urea

**Programa de Formulación de Dietas para Ganado de Carne
de la Facultad de Zootecnia y Ecología**

INGREDIENTES	No. Ingr.	%BS	% RACION	\$/KG
Harinolina 41% PC	168	13.34	12.65	2.7
Maiz molido	159	37.65	36.34	1.6
Manzarina	150	0.00		1.2
Sal Común	319	14.13	12.00	0.7
Suplemento Mineral	346	1.16	1.00	3.2
Urea	222	6.54	6.00	4.4
Aglutinante	331	5.42	5.00	2.2
Sebo Animal	275	2.32	2.00	1.2
Melaza	171	19.44	25.00	1.3

Cont. Nutric. de ración

REQ NUTRICIONALES

PC, %	30.00	PC, %	30.00	0	+
PD, % de PC	57.50	PD, % de PC	50.00	7.5	+
ENm, Mcal/kg	1.50	ENm, Mcal/kg	1.40	0.1	+
ENg, Mcal/kg	1.01	ENg, Mcal/kg	0.90	0.11	+
eNDF, % de MS	1.39	eNDF, % de M	4.00	-2.61	-
Ca, %	1.78	Ca, %	1.00	0.78	+
P, %	0.39	P, %	0.60	-0.21	-
K, %	1.15	K, %		1.15	+
Mg, %	0.30	Mg, %		0.3	+
S, %	0.21	S, %		0.21	+
Co, mg/kg	0.55	Co, mg/kg		0.55	+
Cu, mg/kg	17.13	Cu, mg/kg		17.13	+
Fe, mg/kg	95.22	Fe, mg/kg		95.22	+
I, mg/kg	0.42	I, mg/kg		0.42	+
Mn, mg/kg	18.56	Mn, mg/kg		18.56	+
Se, mg/kg	0.13	Se, mg/kg		0.13	+
Zn, mg/kg	14.93	Zn, mg/kg		14.93	+
Na, %	5.69	Na, %		5.69	+
Cl, %	9.24	Cl, %		9.24	+
DCAD, mEq/kg	32.83				
Precio dieta \$/kg	1.72				



Anexo 17. Mezcla de ingredientes para la elaboración de BMN por el método de fraguado con manzarina con 30 % PC y 4 % de urea

Programa de Formulación de Dietas para Ganado de Carne de la Facultad de Zootecnia y Ecología

INGREDIENTES	No. Ingr.	%BS	% RACION	\$/KG	
Harinolina 41% PC	168	20.95	20.00	2.7	
Maiz molido	159	11.32	11.00	1.6	
Manzarina	150	21.21	20.00	1.2	
Sal Común	319	14.04	12.00	0.7	
Suplemento Mineral	346	1.16	1.00	3.2	
Urea	222	4.33	4.00	4.4	
Aglutinante	331	5.38	5.00	2.2	
Sebo Animal	275	2.30	2.00	1.2	
Melaza	171	19.31	25.00	1.3	
Cont. Nutric. de ración		REQ NUTRICIONALES			
PC, %	30.00	PC, %	30.00	0	+
PD, % de PC	56.47	PD, % de PC	50.00	6.47	+
ENm, Mcal/kg	1.39	ENm, Mcal/kg	1.35	0.04	+
ENg, Mcal/kg	0.91	ENg, Mcal/kg	0.90	0.01	+
eNDF, % de MS	15.17	eNDF, % de MS	4.00	11.17	+
Ca, %	3.07	Ca, %	1.00	0.79	+
P, %	0.42	P, %	0.50	-0.08	-
K, %	1.18	K, %		1.19	+
Mg, %	0.34	Mg, %		0.36	+
S, %	0.22	S, %		0.21	+
Co, mg/kg	0.48	Co, mg/kg		0.48	+
Cu, mg/kg	17.07	Cu, mg/kg		17.07	+
Fe, mg/kg	99.21	Fe, mg/kg		99.21	+
I, mg/kg	0.42	I, mg/kg		0.42	+
Mn, mg/kg	18.88	Mn, mg/kg		18.88	+
Se, mg/kg	0.21	Se, mg/kg		0.21	+
Zn, mg/kg	20.57	Zn, mg/kg		20.57	+
Na, %	5.59	Na, %		5.65	+
Cl, %	9.16	Cl, %		9.16	+
DCAD, mEq/kg	13.33				
Precio dieta \$/kg	1.72				



Anexo 18. Mezcla de ingredientes para la elaboración de BMN por el método de fraguado con manzarina con 30 % PC y 6 % de urea

Programa de Formulación de Dietas para Ganado de Carne de la Facultad de Zootecnia y Ecología

INGREDIENTES	No. Ingr.	%BS	% RACION	\$/KG
Harinolina 41% PC	168	4.05	3.86	2.7
Maiz molido	159	25.97	25.19	1.6
Manzarina	150	21.25	20.00	1.2
Sal Común	319	14.06	12.00	0.7
Suplemento Mineral	346	1.16	1.00	3.2
Urea	222	6.51	6.00	4.4
Aglutinante	331	5.38	5.00	2.2
Sebo Animal	275	2.31	2.00	1.2
Melaza	171	19.31	24.96	1.3

Cont. Nutric. de ración

REQ NUTRICIONALES

PC, %	30.00	PC, %	30.00	0	+
PD, % de PC	57.45	PD, % de PC	50.00	7.45	+
ENm, Mcal/kg	1.41	ENm, Mcal/kg	1.40	0.01	+
ENg, Mcal/kg	0.93	ENg, Mcal/kg	0.90	0.03	+
eNDF, % de MS	13.43	eNDF, % de MS	4.00	9.43	+
Ca, %	1.76	Ca, %	1.00	0.76	+
P, %	0.27	P, %	0.60	-0.33	-
K, %	0.96	K, %		0.96	+
Mg, %	0.27	Mg, %		0.27	+
S, %	0.16	S, %		0.16	+
Co, mg/kg	0.45	Co, mg/kg		0.45	+
Cu, mg/kg	14.98	Cu, mg/kg		14.98	+
Fe, mg/kg	76.27	Fe, mg/kg		76.27	+
I, mg/kg	0.42	I, mg/kg		0.42	+
Mn, mg/kg	15.27	Mn, mg/kg		15.27	+
Se, mg/kg	0.04	Se, mg/kg		0.04	+
Zn, mg/kg	8.07	Zn, mg/kg		8.07	+
Na, %	5.65	Na, %		5.65	+
Cl, %	9.19	Cl, %		9.19	+
DCAD, mEq/kg	12.09				



Anexo 19. Media de la pérdida de peso (kg) de los bloques multinutricionales a través del tiempo

Días	Bloque Multinutricional ¹							
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Inic.	11.00	11.00	11.00	10.98	10.65	11.00	10.50	10.50
3	10.92	10.91	10.95	10.86	10.58	10.95	10.50	10.49
6	10.86	10.87	10.92	10.77	10.50	10.89	10.38	10.38
9	10.80	10.83	10.87	10.70	10.45	10.84	10.32	10.33
12	10.76	10.79	10.83	10.67	10.43	10.79	10.25	10.27
15	10.71	10.74	10.78	10.61	10.39	10.75	10.21	10.22
18	10.68	10.70	10.74	10.57	10.34	10.72	10.17	10.17
21	10.64	10.67	10.70	10.53	10.31	10.67	10.10	10.13
24	10.63	10.65	10.68	10.50	10.28	10.64	10.08	10.09
27	10.59	10.62	10.64	10.46	10.23	10.60	10.02	10.05
30	10.56	10.58	10.60	10.43	10.21	10.55	9.98	10.01
33	10.54	10.56	10.57	10.40	10.16	10.50	9.93	9.97
36	10.50	10.52	10.52	10.35	10.13	10.49	9.90	9.93
39	10.48	10.49	10.51	10.33	10.11	10.45	9.86	9.89
42	10.46	10.48	10.50	10.32	10.10	10.44	9.85	9.88
45	10.44	10.45	10.47	10.29	10.07	10.40	9.80	9.83
48	10.42	10.44	10.43	10.25	10.03	10.36	9.77	9.81
51	10.41	10.40	10.42	10.23	10.01	10.34	9.75	9.79
54	10.37	10.39	10.40	10.21	9.99	10.31	9.73	9.78

¹ Bloque multinutricional, T1=BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T2=BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T3=BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T4=BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, T5=BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T6=BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T7=BMN elaborado con 6% urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ y T8=BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ



Anexo 20. Media de la dureza (kgf) de los BMN a través del tiempo

Bloque Multinutricional								
Días	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
1	11.01	13.01	13.07	17.93	6.40	9.46	11.14	7.91
4	12.57	21.59	22.93	30.27	8.79	16.89	19.29	12.61
7	14.54	23.44	39.84	41.84	9.76	26.86	25.90	16.73
10	19.09	29.27	46.01	47.56	13.41	32.32	31.23	18.70
13	19.31	31.22	55.41	60.42	13.98	36.46	33.76	23.34
16	22.70	41.89	63.94	69.67	17.47	46.04	46.25	25.58
19	23.37	46.95	64.36	77.28	19.23	47.99	51.65	27.08
22	26.50	56.60	68.13	80.40	21.31	52.53	56.00	28.66
25	34.72	65.77	72.46	85.63	23.30	61.64	61.38	37.67
28	34.84	71.27	85.68	104.01	27.54	67.51	62.44	42.11
31	42.02	85.51	98.68	108.07	36.19	80.21	71.25	48.96
34	45.85	95.92	106.50	108.82	40.70	87.22	73.43	53.64
37	50.48	99.85	107.54	113.80	45.41	96.79	81.40	64.11
40	61.86	110.65	118.02	118.72	56.89	102.64	94.79	71.00
43	75.57	125.23	132.15	120.18	73.53	124.49	117.86	83.75
46	76.37	137.98	136.08	120.95	80.01	130.72	115.43	87.00
49	83.63	144.67	139.34	122.31	87.56	137.28	121.75	94.11
52	93.40	147.65	140.31	126.40	93.64	140.53	125.81	98.67

¹ Bloque multinutricional, T1=BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T2=BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T3=BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T4=BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, T5=BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T6=BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T7=BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ y T8=BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ



Anexo 21. Tiempo en minutos de la absorbancia de 20 ml de agua de los bloques multinutricionales

Minutos de absorbancia de 20 ml de agua								
Bloque Multinutricional								
n	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
1	32.92	311.10	0.27	0.90	96.47	133.30	12.08	0.27
2	50.83	316.15	0.13	0.35	62.77	192.58	1.53	0.43
3	55.75	318.15	0.35	0.95	61.07	328.87	2.97	0.27
4	60.98	180.17	0.27	0.82	145.53	293.20	1.93	0.55
5	60.45	200.18	0.38	0.87	60.65	318.73	1.32	0.72
6	43.55	154.52	0.38	0.85	61.60	309.07	2.82	0.48
7	30.08	198.67	0.30	0.73	63.77	333.08	4.15	0.50
8	32.00	186.95	0.27	1.02	145.03	315.85	1.15	0.37
9	54.75	128.15	0.35	0.47	64.55	300.10	2.85	0.87
10	61.00	121.78	0.42	0.73	134.87	337.45	1.87	0.37
11	62.98	125.05	0.37	0.65	91.12	179.97	1.87	0.63
Promedio	49.57	203.72	0.32	0.76	89.77	276.56	3.14	0.50

¹ Bloque multinutricional, T1=BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T2=BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T3=BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T4=BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, T5=BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T6=BMN elaborado con 6% urea, bentonita-cemento y sin MZ, T7=BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ y T8=BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ

Anexo 22. Producción de gas de los bloques multinutricionales durante la digestión *in-vitro*

BMN ¹	Tiempo de Lectura (hr)									Volumen acumulado ml/g
	1	2	3	4	6	8	12	18	24	
T1	34.95	97.99	176.92	251.49	370.63	475.07	318.76	327.84	267.79	2321.43
T2	32.82	79.07	147.96	225.01	190.83	234.78	233.84	314.71	244.60	1703.62
T3	34.20	78.96	152.06	233.10	210.57	235.34	258.37	338.59	270.86	1812.04
T4	31.93	49.79	75.93	71.93	132.58	110.58	185.98	204.21	201.62	1064.56
T5	31.34	52.21	90.17	79.39	157.55	154.61	253.95	249.97	236.48	1305.66
T6	38.93	82.67	116.35	111.50	202.71	212.87	296.05	325.47	293.92	1680.49
T7	34.18	97.08	171.97	243.13	349.38	447.54	299.40	328.98	272.17	2243.82
T8	37.86	79.95	115.64	108.28	201.99	213.62	308.51	352.84	312.77	1731.48

¹ Bloque multinutricional, T1=BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T2=BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T3=BMN elaborado con 4 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ, T4=BMN elaborado con 4 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ, T5=BMN elaborado con 6% urea, polvo cálcico-cemento y sin MZ, T6=BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y sin MZ, T7=BMN elaborado con 6 % urea, polvo cálcico-cemento y con 20 % MZ y T8=BMN elaborado con 6 % urea, bentonita-cemento y con 20 % MZ