



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**  
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

PROGRAMA PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

**CALIDAD DE LA LECHE EN VACAS SUPLEMENTADAS CON UN  
ALIMENTO FERMENTADO A BASE DE POLLINAZA**

**LUIS HUMBERTO CITALAN CIFUENTES**

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO

2015

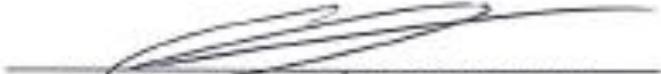
La presente tesis titulada: “**CALIDAD DE LA LECHE EN VACAS SUPLEMENTADAS CON UN ALIMENTO FERMENTADO A BASE DE POLLINAZA**”. Realizada por el alumno: **Luis Humberto Citalan Cifuentes**, bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

POSTGRADO EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO.

CONSEJO PARTICULAR:

CONSEJERO:

  
DR. MARIO MANUEL OSORIO ARCE

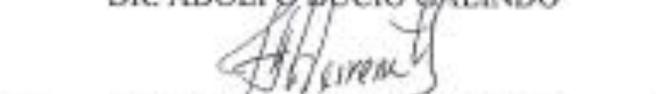
ASESOR:

  
DR. JESÚS ALBERTO RAMOS JUÁREZ

ASESOR:

  
DR. ADOLFO BUCIO GALINDO

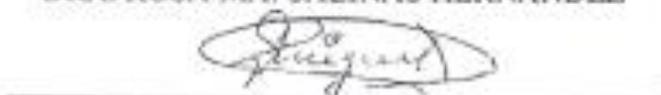
ASESOR:

  
DR. JOSÉ G. HERRERA HARO

ASESORA:

  
DRA. ROSA MA. SALINAS HERNÁNDEZ

ASESOR:

  
DR. MIGUEL A. ORANTES ZEBADUA

H. Cárdenas Tabasco, México, 09 de junio de 2015.

# **CALIDAD DE LA LECHE EN VACAS SUPLEMENTADAS CON UN ALIMENTO FERMENTADO A BASE DE POLLINAZA**

Luis Humberto Citalan Cifuentes, MC.

Colegio de Postgraduados, 2015

El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad de la leche de vacas suplementadas con un alimento fermentado a base de pollinaza en relación con un alimento control. Los tratamientos (T) evaluados fueron: T1, alimento fermentado a base de pollinaza y T2, alimento sin fermentar a base de grano. Se utilizaron 10 vacas aleatorizadas en un diseño rectángulo latino Cross over de tal forma que los tratamientos fueron probados en todas las vacas en dos periodos de tiempo distintos. Cada periodo tuvo una duración de 30 días (20 de adaptación y 10 de fase experimental). Se realizaron análisis de composición nutricional, contenido microbiológico, células somáticas y presencia de antibióticos en la leche cruda. Así mismo se realizaron análisis sensoriales a la leche pasteurizada de ambos tratamientos utilizando pruebas discriminativas (prueba triangular y la prueba dúo-trío) y descriptivas (análisis descriptivo cuantitativo). No se encontraron diferencias en la composición nutricional de la leche. La calidad sanitaria de la leche de los dos tratamientos fue buena. Se encontraron diferencias sensoriales perceptibles ( $P < 0.05$ ) en el segundo periodo en las pruebas triangulares. No se encontró diferencia ( $P > 0.05$ ) en ningún atributo entre los dos tratamientos estudiados con la prueba descriptiva. Se concluye que la calidad de la leche de las vacas suplementadas con el alimento fermentado en estado sólido a base de pollinaza es similar a la de las vacas suplementadas con el alimento sin fermentar a base de grano.

**Palabras clave:** Atributos sensoriales, calidad de leche, Fermentación, pollinaza, suplementación.

# **QUALITY OF MILK IN COWS SUPPLEMENTED WITH A FERMENTED FEED MADE FROM CHICKEN MANURE**

Luis Humberto Citalan Cifuentes, MC.

Colegio de Postgraduados, 2015

The aim of this study was to evaluate the quality of milk from cows supplemented with fermented poultry litter-based feed. Treatments (T) evaluated were: T1, feed based on fermented poultry litter and T2, unfermented feed based on grain. Experimental design consist of 10 cows in a Latin rectangle randomized cross over design; thus, T1 y T2 were tested in all cows in two periods of time. Each period lasted 30 days (20 days of adaptation and 10 days experimental phase). Parameters studied were nutritional composition, microbiological content, somatic cells counts and the presence of antibiotics in raw milk. Sensory pasteurized milk of T1 y T2 were analyzed using discriminative tests (triangular test and the duo-trio) and descriptive analysis (QDA). No differences were found in the nutritional composition of milk. The sanitary quality of the milk of the two treatments was equally good. Sensory perceptible differences ( $P < 0.05$ ) in the second period in the triangular evidence was found. No difference ( $P > 0.05$ ) in any attributes between the two treatments studied with QDA was found. It is concluded that the quality of milk from supplemented cows on fermented feed based solid poultry litter is similar to supplemented cows with unfermented food grain based.

Key words: sensory attributes, milk quality, fermentation, manure, supplementation.

## AGRADECIMIENTOS

A mi poder superior **Dios** como yo lo concibo, por todas las bendiciones que me ha brindado y por poner en mi vida las circunstancias y personas adecuadas que de una u otra forma han sido pieza fundamental para concluir este anhelo.

A mis **padres**, por su apoyo incondicional tanto en lo moral como en lo económico.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACYT**), por la beca otorgada para realizar mis estudios de maestría.

Al **Colegio de Postgraduados** Campus Tabasco, por las facilidades otorgadas para la realización de la maestría y culminación de la tesis.

A cada uno de los integrantes de mi **consejo particular** por su apoyo en la realización de este trabajo.

Al **Dr. Mario Osorio Arce**, por su apoyo y valiosos comentarios.

Al **Dr. Jesús Alberto Ramos Juárez**, pieza fundamental para la realización y culminación de esta tesis, gracias por el apoyo irrestricto y estar siempre al pendiente en toda la investigación.

Al **Dr. Adolfo Bucio Galindo**, por sus valiosas ideas y comentarios para el fortalecimiento de este trabajo de investigación y por brindarme todas las facilidades para la realización de la misma. Gracias por la amistad brindada hacia mi persona.

A la **Dra. Rosa Ma. Salinas Hernández**, por su valiosa experiencia aplicada en este trabajo y el apoyo y facilidades brindadas para la realización de gran parte de esta investigación.

Al **MC. Francisco Izquierdo Reyes** por sus valiosos comentarios en la parte estadística de este trabajo.

Al **Lic. Rodolfo Campos Montejo** por darnos la oportunidad de realizar la parte experimental de este trabajo de investigación en sus instalaciones (“Rancho alegre”) y brindarnos todas las facilidades para llevarla a cabo. Así mismo, a todos los trabajadores que en el rancho laboran por su valioso apoyo.

Al compañero **MC. Margarito Monroy Hernández** por su valioso apoyo en la parte práctica de este trabajo.

A todas las personas que de alguna manera influyeron en la culminación de esta tesis, un especial agradecimiento a mi AMIGO **Sergio Alexander** por brindarme su apoyo en momentos difíciles.

## **DEDICATORIA**

A mis padres y hermana, por nunca perder las esperanzas en mí y alentarme cotidianamente a superarme en la vida. Los amo.

A mí amada novia Brendy, motor y fuente de inspiración que me alienta a ser mejor cada día.

## CONTENIDO

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. OBJETIVOS</b> .....	2
2.1. Objetivo general. ....	2
2.2. Objetivos particulares. ....	2
2.3. Hipótesis.....	3
<b>III. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	4
3.1. Características del sistema doble propósito en el trópico. ....	4
3.2. Producción de leche con pastos tropicales. ....	6
3.3. Suplementación estratégica en vacas de doble propósito en el trópico. ....	9
3.4. Uso de la pollinaza como suplemento en el sistema de doble propósito. ....	11
3.5. Inconvenientes del uso de la pollinaza en la alimentación bovina. ....	14
3.6. Características y ventajas de los procesos de fermentación. ....	14
3.7. Inóculo microbiano. ....	17
3.8. Efectos de la SSF en la pollinaza. ....	17
3.9. Calidad de la leche. ....	18
3.10. Análisis sensorial. ....	20
3.10.1 Pruebas discriminatorias. ....	22
3.10.2 Pruebas descriptivas.....	22
<b>IV. MATERIALES Y METODOS</b> .....	24
4.1. Localización geográfica del área de estudio. ....	24
4.2. Animales, tratamientos y diseño experimental. ....	24
4.3. Manejo de los animales.....	25
4.4. Elaboración de los suplementos (tratamientos).....	26
4.4.1 Preparación del inóculo microbiano. ....	27
4.4.2 Mezclado de los suplementos.....	27
4.5. Muestreos de leche y suplementos. ....	28
4.6. Análisis químico del pasto y los alimentos. ....	29
4.7. Producción de leche y consumo de los suplementos. ....	29
4.8. Análisis microbiológicos.....	29
4.9. Análisis de composición nutricional de la leche. ....	31
4.10. Análisis de células somáticas y de presencia de antibióticos en leche. ....	32

4.11. Análisis sensorial.....	33
4.11.1 Selección de jueces para la prueba descriptiva.....	34
4.11.2 Descriptores de la leche entera de vaca. ....	34
4.11.3 Entrenamiento y calibración de jueces para la prueba descriptiva. ....	35
4.11.4 Preparación y evaluación de las muestras en la prueba descriptiva. ....	35
4.12. Análisis de ingreso neto por concepto de suplementación. ....	35
4.13. Análisis estadísticos.....	36
<b>V. RESULTADOS</b> .....	37
5.1. Composición química del pasto y de los alimentos.....	37
5.2. Resultados microbiológicos en los alimentos. ....	37
5.3. Consumo de los alimentos, producción y composición nutricional de la leche.....	38
5.4. Calidad sanitaria de la leche.....	38
5.5. Calidad sensorial de la leche. ....	38
5.6. Análisis de ingreso neto por concepto de suplementación. ....	40
<b>VI. DISCUSIÓN</b> .....	42
<b>VII. CONCLUSIÓN</b> .....	46
<b>VIII. LITERATURA CITADA</b> .....	47
<b>IX. ANEXOS</b> .....	55

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Valores medios de características productivas en el sistema de doble propósito en América Latina. ....	5
Cuadro 2. Producción diaria de leche de vacas de doble propósito con pasturas mejoradas del género <i>Brachiaria</i> en Colombia. ....	7
Cuadro 3. Carga animal y producción de leche de vacas de doble en seis fincas distintas en Honduras. ....	7
Cuadro 4. Producción de leche de vacas de doble propósito pastoreando diferentes gramíneas utilizadas en el trópico húmedo y con distintas cargas animal. ....	8
Cuadro 5. Producción y composición de la leche en los primeros 98 días de lactación de vacas de doble propósito en pastoreo con y sin suplementación de cereales en el trópico. ....	10
Cuadro 6. Consumo de materia seca, producción y composición de la leche e ingreso neto con cinco estrategias de suplementación en vacas F1 en Zimbabwe. ....	11
Cuadro 7. Cambio en el peso vivo, producción y composición de la leche en vacas frisonas alimentadas con pasto elefante y suplementadas. ....	13
Cuadro 8. Cambio en el peso vivo, composición y producción de leche de vacas frisonas suplementadas con niveles graduales de un concentrado a base de pollinaza (CBP). ..	13
Cuadro 9. Especificaciones nutricionales y sanitarias en la leche. ....	20
Cuadro 10. Representación de la aleatorización de los tratamientos en el diseño rectángulo latino cross over. ....	25
Cuadro 11. Ingredientes y porcentajes de inclusión utilizados para la elaboración de los alimentos. ....	26
Cuadro 12. Ingredientes utilizados para la elaboración del IM. ....	27
Cuadro 13. Diluciones utilizadas en las muestras. ....	31
Cuadro 14. Identificación de colonias típicas de acuerdo a las especificaciones del fabricante. ...	31
Cuadro 15. Composición química (g/kg de MS) del pasto <i>Brachiaria humidicola</i> en los potreros donde pastaban las vacas. ....	37
Cuadro 16. Composición química (g/kg de MS) de los suplementos. ....	37
Cuadro 17. Características microbiológicas de los alimentos. ....	38
Cuadro 18. Consumo de los alimentos, producción y composición nutricional de la leche de vacas suplementadas. ....	39

Cuadro 19. Calidad sanitaria de la leche de vacas suplementadas. ....	39
Cuadro 20. Número de acierto en las pruebas discriminativas para el AFBP y ASFBG en las cuatro evaluaciones realizadas en los dos periodos.....	40
Cuadro 21. Análisis de ingreso neto por concepto de suplementación. ....	41

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Instalaciones del “rancho alegre”, ubicado en el municipio de Jalpa de Méndez, Tabasco. .....	24
Figura 2. Comederos implementados para que cada animal consumiera el suplemento de manera individual. ....	25
Figura 3. Perfil sensorial de la leche proveniente de las vacas suplementadas con el AFBP y ASFBG.....	40

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Formato para la prueba dúo-trío. ....	55
Anexo 2. Formato para la prueba triangular. ....	55
Anexo 3. Planilla para la evaluación sensorial descriptiva de la leche entera de vaca. ....	56
Anexo 4. Tabla de significancia para las pruebas dúo-trío y triangular. ....	59

## I. INTRODUCCIÓN

Los pastos son la base de la alimentación más abundante y económica en los sistemas de doble propósito, éstos presentan variaciones temporales de producción y calidad (Sampaio *et al.*, 2010), las que pueden ser entre épocas o años, asociados a las condiciones edáficas y climáticas. Estas variaciones pueden influir en la disponibilidad de la materia seca, composición botánica y consumo voluntario y por consiguiente, en la producción de carne y leche.

Los pastos pueden ser utilizados más eficientemente cuando cada uno de los requerimientos bacterianos de energía, constituyentes proteínicos esenciales, amoníaco, minerales y otros, son adecuadamente suplementados en las dietas (Tinoco-Magaña *et al.*, 2012), sin embargo, el desarrollo de la suplementación está asociado, principalmente, con la utilización de concentrados comerciales y no siempre está al alcance de los pequeños productores debido a su alto costo en el mercado.

La pollinaza es un subproducto utilizado en la suplementación de los rumiantes debido a su bajo costo y alto contenido de nitrógeno no proteico (NNP) y minerales (Obeidat, 2011). Sin embargo, su uso en forma fresca o sin tratamiento (tal y como sale de las casetas de pollos), representa un factor de riesgo potencial para la salud humana por la presencia de residuos químicos, antibióticos y microorganismos patógenos procedente del tracto gastrointestinal de las aves como *Echerichia coli* y *Salmonella spp.*, (Pacheco *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2013), así mismo, pudiera causar efectos negativos en las vacas y en la calidad de la leche.

Por otra parte, la pollinaza fresca contiene una gran cantidad de compuestos orgánicos, los cuales son transformados con gran rapidez por la microfauna y se liberan una gran cantidad de gases como el sulfuro de hidrógeno (SH<sub>2</sub>), amoníaco (NH<sub>3</sub>), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y otros (Kelleher *et al.*, 2002; Sonoda, 2012), lo que se convierten en un verdadero problema para los moradores que habitan en las proximidades, además, el NH<sub>3</sub> podría afectar las características sensoriales de la leche, pues ésta absorbe olores con gran facilidad.

Por lo anterior, es necesario buscar alternativas que permitan transformar la pollinaza en un producto inocuo para la agricultura o para la alimentación animal. Los procesos de fermentaciones en estado sólido y líquido han demostrado ser una alternativa potencial en el uso económico de residuos agroindustriales, disminuyendo el flujo de contaminantes al medio ambiente (Singhania *et al.*, 2009).

Al-Rokayan *et al.* (1998), Chaundhry *et al.* (1998) y Mthiyane *et al.* (2001) han demostrado que la fermentación anaerobia de la pollinaza elimina los microorganismos patógenos, plaguicidas y residuos de medicamentos presentes en la pollinaza. Así mismo, Ramos *et al.* (2013) empleando la fermentación en estado sólido (SSF) en una mezcla con pollinaza, melaza y un producto biológico activador de la fermentación (Vitafert) logro eliminar al día 10 de la SSF la *Escherichia coli*.

Las bacterias ácido lácticas que se desarrollan durante el proceso de fermentación, son capaces de producir gran cantidad de ácidos orgánicos, como el ácido láctico, que funciona muy eficazmente contra *Salmonella spp.*, y *Escherichia coli*, debido a que no toleran grandes diferencias entre el pH interno de la célula y el externo, lo que en ocasiones puede provocar la muerte (Hyden, 2001).

Además, esta tecnología permite modificar las propiedades fisicoquímicas de las materias primas, enriquecerlas a través del desarrollo de una variedad de sabores, aromas, texturas y además de mejorar la calidad nutricional y funcional de los alimentos (Savadogo, 2012).

Poco se sabe de los efectos en la producción y calidad de la leche de las vacas que consumen estos alimentos.

## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general.

- Estudiar el efecto de un suplemento fermentado en estado sólido a base de pollinaza en la producción y calidad de la leche de vacas de doble propósito.

### 2.2. Objetivos particulares.

- Evaluar el efecto de un suplemento fermentado en estado sólido a base de pollinaza en la producción de leche de vacas de doble propósito.
- Evaluar el efecto de un suplemento fermentado en estado sólido a base de pollinaza en la calidad de la leche de vacas de doble propósito.

### **2.3. Hipótesis.**

- La producción y calidad de la leche de vacas suplementadas con el alimento fermentado en estado sólido a base de pollinaza es similar a la de vacas suplementadas con un alimento sin fermentar a base de grano.

### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1. Características del sistema doble propósito en el trópico.

El desarrollo de los sistemas de producción bovina depende de la zona agroecológica con sus diferentes tipos de suelos, fisiografías y climas; el grado de tecnificación de la explotación, el tipo de alimentación del ganado, la raza de los animales, entre otros, estas condiciones, determinan los niveles de producción y rentabilidad (SE, 2012).

El sistema de doble propósito (SDP) es ampliamente utilizado en el trópico de América Latina, sin embargo, en la región tropical de México la cual cubre el 28% del territorio nacional (INEGI, 2008) se desarrolla en zonas con una altitud menor a los 1000 msnm y con precipitación pluvial anual que oscila entre 800 a 3500 mm con una distribución estacional marcada con un periodo seco de 6 meses al año (Magaña *et al.*, 2006). Este sistema puede ser descrito o conceptualizado como aquel donde se produce leche (ordeño del día) y carne (becerros después del destete) en un ciclo productivo, en el cual parte de las vacas del hato se ordeña parcialmente y el resto de la leche se deja para que la cría mame (Rojo-Rubio *et al.*, 2009). Los SDP se clasifican como extensivos, intensivos o la combinación de ambos semi-intensivo, se caracteriza por su sencillez, estabilidad, flexibilidad y liquidez diaria lo cual le ha permitido sobrevivir aún bajo situaciones climáticas, económicas y sociales difíciles (Faria, 2006).

Las razas de animales comúnmente utilizadas en este sistema es una cruce de cebú (*Bos indicus*) como raza maternas (Brahman, Gyr y Nelore) con *Bos taurus* (Suizo, Holstein, Simmental) como razas paternas (Osorio, 2000), utilizando un esquemas de cruce no definido en un intento de obtener el vigor híbrido más alto de los dos tipos de razas (Rojo-Rubio *et al.*, 2009).

La base de la alimentación la constituyen los pastos nativos o inducidos, los cuales son manejados y aprovechados deficientemente, con estados avanzados de lignificación, cargas animales inadecuadas, sobre o subpastoreo, enmalezamiento y disminución de la persistencia del recurso pastizal (Faria, 2006). Estos varían en ciertas épocas del año, principalmente en los periodos de seca e inundaciones, en donde las plantas enfrentan severas restricciones afectando su disponibilidad y valor nutritivo, lo cual produce una inadecuada respuesta animal en términos de producción de leche y carne, así como problemas reproductivos (Razz *et al.*, 2004). La suplementación animal es mínima, siendo utilizada estratégicamente en los periodos adversos, se utiliza mayormente, productos o subproductos agroindustriales de la región.

El ordeño se realiza en instalaciones rústicas con bajo nivel higiénico. La mano de obra tiene experiencia en el manejo de animales de ordeño, sin embargo, su nivel de escolaridad, económico y perspectivas de mejoramiento normalmente no son incentivos para realizar un trabajo más productivo. Con la finalidad de asegurar la suficiente leche para que el becerro mame, las cuatro tetas son ordeñadas de manera incompleta o se ordeñan tres a fondo y se deja una para el becerro, esto es regulado por el ordeñador, tomando en cuenta el desarrollo que va teniendo el becerro, pero también la necesidad de vender leche y el valor relativo de la leche - becerro destete. El destete del becerro coincide con el final de la lactancia de la vaca, aunque esto depende de la persistencia de la vaca, ya que si la vaca reduce temprano su producción se deja de ordeñar y su cría le sigue mamando (Osorio, 2000). El número de animales por hatillo varía considerablemente de pequeños a medianos (30 a 100 vacas) y por lo general ocupan suelos de pobre calidad o que por su topografía tienen bajo valor monetario. Algunos indicadores productivos del sistema de doble propósito se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Valores medios de características productivas en el sistema de doble propósito en América Latina.

Características	Valores frecuentes	Amplitud
Vacas (cabezas)	30 – 40	30 – 100
Lactancia, días	290	231 – 311
Producción de leche, kg vaca día <sup>-1</sup>	4	3 – 9
Producción de leche por lactancia, kg	1160	749 – 1589
Edad al primer parto, meses	37	32 – 43
Natalidad, %	64	39 – 81
Intervalo entre partos, días	448	---
Días abiertos	101	---
Abortos, %	0.8	---
Mortalidad, %	8	---
Peso al destete, kg	150	120 - 160
Ganancia de peso de los becerros, kg/d	0.37	0.29 - 0.48
Productividad por hectárea:		
Carga animal UA/ha	1.4	0.72 - 1.9
Kg/leche/año	476	182 - 749
Kg/leche/año	116	45 – 192

Fuente: (Vaccaro *et al.*, 1993; Rojo-Rubio *et al.*, 2009).

### **3.2. Producción de leche con pastos tropicales.**

Los trópicos húmedos son la zona con más vegetación en el mundo (Ortiz-Rubio *et al.*, 2007), por lo tanto, la alimentación de los rumiantes que ahí habitan se base principalmente en pastos, los cuales representan la fuente de alimento de más bajo costo. Sin embargo, los niveles de producción utilizando pasturas tropicales son inferiores a los obtenidos con pasturas de clima templado (Faria, 2006). Esto se debe principalmente a la estructura de los pastos tropicales, los cuales en su mayoría son plantas gruesas con grandes diferencias de calidad entre y dentro de sus componentes morfológicos (hojas, vainas de las hojas, inflorescencias, tallos) existiendo una gran variación en su digestibilidad, así como en su concentración de nitrógeno y que, por lo tanto, afecta la eficiencia de cosecha por parte del animal, ocasionando un menor consumo de proteína y de energía digestible (Zemmelinka *et al.*, 2002). Aunado a esto, los pastos tropicales presentan variaciones en cuanto a su disponibilidad y calidad en ciertas épocas del año, principalmente en la época de seca donde estos tienen altos contenidos de pared celular y bajas cantidades de proteína cruda, por lo tanto, rara vez representan una dieta equilibrada ya que sus componentes orgánicos e inorgánicos no están presentes en concentraciones suficientes para satisfacer las necesidades de los animales (Sampaio *et al.*, 2010).

A través de los años se han venido implementando estrategias para incrementar los niveles de producción de animales en pastoreo, dentro de las cuales se encuentran la creación e introducción de pasturas y forrajes mejorados, ejecución de métodos y sistemas de pastoreo donde la manipulación de la carga animal, edad del rebrote, modificación de la duración y frecuencia de pastoreo, permiten la explotación más racional de los pastos y forrajes; así mismo, se incluyen el riego de las praderas, la fertilización ya sea con productos químicos u orgánicos, la asociación de gramíneas-leguminosas, la suplementación con concentrados o subproductos de la región y más recientemente el empleo de los sistemas silvopastoriles. En los Cuadros 2, 3 y 4, se presentan algunos resultados obtenidos en investigaciones anteriores en cuanto a producción de leche con pastos tropicales.

Cuadro 2. Producción diaria de leche de vacas de doble propósito con pasturas mejoradas del género *Brachiaria* en Colombia.

Pasturas	Producción de leche (kg/vaca)	
	Años	
	2000	2001
<i>B. decumbens</i> cv. Basilik	7.6	7.0
<i>B. brizantha</i> cv. Toledo	6.5	8.5
<i>B. brizantha</i> cv. Mulato	8.1	8.1

Fuente: (Arjel, 2006).

Cuadro 3. Carga animal y producción de leche de vacas de doble en seis fincas distintas en Honduras.

Finca	Pastos	Carga animal (vacas/ha)	Producción de leche	
			(kg /vaca /día)	(kg/ha/día)
1	<i>B. brizantha</i> cv. Mulato	5.1	7.1	35.5
	<i>Digitaria swazilandensis</i>	1.6	6.8	8.6
2	<i>B. brizantha</i> cv. Mulato	5.6	5.2	32.1
	<i>Digitaria swazilandensis</i>	2.7	4.8	13.5
3	<i>B. brizantha</i> cv. Mulato	9.4	3.8	36.0
	<i>B. brizantha</i> cv. Toledo	3.7	3.8	14.0
4	<i>B. brizantha</i> cv. Mulato	5.0	13.1	64.5
	<i>B. brizantha</i> cv. Toledo	2.7	12.7	33.3
5	<i>B. brizantha</i> cv. Mulato	6.1	10.7	65.3
	<i>Andropogon gayanus</i> (andropogon)	3.4	10.5	36.7
6	<i>B. brizantha</i> cv. Mulato	4.7	6.3	29.9
	<i>Hyparrhenia rufa</i> (jaragua)	2.1	5.7	12.3

Fuente: (Arjel ,2006).

Cuadro 4. Producción de leche de vacas de doble propósito pastoreando diferentes gramíneas utilizadas en el trópico húmedo y con distintas cargas animal.

Pastos	Carga animal (vacas/ha)	P. Leche		
		Kg/vaca/día	Kg/ha/año	Kg/lactancia
<i>Panicum maximun</i> (Guinea)	4	6.0	7,560*	---
<i>Cynodon plectostachyus</i> (Estrella de África)	3 <sup>+</sup>	---	9,352	3,116
	4 <sup>+</sup>	---	13,061	3,267
	5 <sup>+</sup>	---	18,133	3,627
	3	---	11,648	3,896
	4	---	12,898	3,224
<i>Digitaria eriantha</i> (Pangola)	5	---	13,113	2,641
	6.9 <sup>++</sup>	10.9	17,408	---
	8.9 <sup>++</sup>	6.5	22,466	---
	2.2	8.7	7,008	---
<i>Brachiaria mutica</i> (Egipto)	2.6	6.7	6,014	---
	---	6-9 <sup>**</sup>	---	---
<i>Brachiaria humidicola</i> (Chetumal)	---	2.6	---	---
<i>Brachiaria brizantha</i> (Insurgente)	---	8.0 <sup>**</sup>	6000 <sup>**</sup>	---

Fuente: Adaptado de (Meléndez, 2012).

\*305 días; \*\*Condiciones desconocidas; <sup>+</sup>Recibió fertilización nitrogenada; <sup>++</sup>Praderas fertilizadas y con riego.

Según Holmann *et al.* (2005) la producción adicional del 24% de leche en México, se debe a la adopción de pastos basados en *Brachiaria*. El país donde se estima que han impactado mayormente las especies mejoradas es Costa Rica, con un 55% de aumento en leche y que en general, el balance es positivo para toda la región del trópico, con incrementos promedios en leche de 26% para la última década.

Arjel (2006) menciona que el aumento en la carga animal, es el resultado de las estrategias empleadas y tiene mayor efecto en el aumento de la producción de leche que en los incrementos de leche por vaca. Así mismo, Boval y Dixon (2012) mencionan que es difícil en muchas situaciones proporcionar reglas y estrategias para circunstancias específicas a pesar del

conocimiento que se ha desarrollado, debido a la variedad de condiciones de los diferentes estudios y a la amplia variedad de criterios que se utilizan.

### **3.3. Suplementación estratégica en vacas de doble propósito en el trópico.**

Para disminuir los efectos negativos provocados por las deficiencias de los pastos, principalmente en la época de seca, los productores se ven en la necesidad de utilizar la suplementación de manera estratégica. Los objetivos son: complementar restricciones estacionales de biomasa y suplementar deficiencias de nutrientes en los pastos (Razz *et al.*, 2004).

La suplementación con concentrados ricos en energía aumenta la producción de leche y los parámetros reproductivos de las vacas en pastoreo a través de mejoras en el balance de energía (Tinoco-Magaña *et al.*, 2012). La suplementación con nitrógeno (N) es fundamental, debido a que es un nutriente limitante en los forrajes de mala calidad, se estima que el alrededor del 22 y 49% de los forrajes tropicales son deficientes en proteína cruda (PC), además, en época de seca, los forrajes tropicales tienen niveles inferiores de 70 g de PC por kg de materia seca (MS), el cual, es un valor limitante para la actividad fibrolítica ruminal e implica bajo crecimiento microbiano y reducción en la degradación de la fibra (Sampaio *et al.*, 2009; Lazzarini *et al.*, 2009).

La suplementación con nitrógeno proteico y nitrógeno no proteico (NNP) se ha utilizado para suministrar el amoníaco (NH<sub>3</sub>) a los microorganismos ruminales e incrementar el consumo voluntario (Mathis *et al.*, 2000; Bandyk *et al.*, 2001). El suministro adicional de compuestos nitrogenados a las vacas que pastorean pastos de mala calidad favorece al crecimiento de bacterias fibrolíticas, aumenta la tasa de digestión y la síntesis de proteína microbiana, dando como resultado un mayor consumo voluntario de pasto y la extracción de la energía de la fibra, por lo tanto se aumenta el flujo de nutrientes al intestino y la producción de ácidos grasos volátiles (Detmann *et al.*, 2004).

Aguilar-Pérez *et al.* (2009) realizaron un estudio con el fin de evaluar el efecto de la suplementación en vacas de doble propósito en el trópico, utilizaron 24 vacas distribuidas en dos tratamientos, solo pastoreo (pasto estrella) con suministro mínimo de salvado de trigo al momento de la ordeña para mantener controladas a las vacas, y pastoreo más concentrado, el cual contenía 16.8% de PC y 11.8 MJ/kg, compuesto por grano de sorgo (69%), harina de soja (14%), salvado de trigo (15%), carbonato de calcio (1.4%), sal común (0.3%) y minerales (0.3%). Encontrado que

las vacas con suplementación produjeron 30% más de leche, sin diferencias en los componentes químicos de la leche (Cuadro 5).

Cuadro 5. Producción y composición de la leche en los primeros 98 días de lactación de vacas de doble propósito en pastoreo con y sin suplementación de cereales en el trópico.

Factor	Pastoreo	Pastoreo + suplemento
Producción de leche, kg/día	7.8± 0.40	11.1± 0.39
Grasa en leche (%)	3.99± 0.11	3.73±0.11
Proteína en leche (%)	2.94±0.06	2.96±0.06
Lactosa en leche (%)	4.30±0.08	4.40±0.08

Fuente: (Aguilar-Pérez *et al.*, 2009).

Si bien la respuesta a la suplementación es de tipo biológica, el éxito de la suplementación se valora en términos financieros (Riquelme, 1987), por lo tanto, al suplementar, es útil considerar la relación beneficio-costo (Boval y Dixon, 2012). En relación a lo anterior y a consecuencia de los altos costos de los concentrados comerciales, nuevas alternativas no convencionales se han venido explorando a lo largo de los años (Campos *et al.*, 2014). Dentro de estas alternativas se pueden mencionar la suplementación de nitrógeno con urea, bloques multinutricionales, bancos de proteínas, leguminosas y arbustos tropicales, así como el uso de residuos de cultivos y subproductos agroindustriales.

Gusha *et al.* (2014) estudiaron los efectos de la suplementación con fuentes no convencionales de proteína en 25 vacas F1 (Holstein-Mashona). Los tratamientos fueron los siguientes, ración mixta (TMR), rastrojo de maíz tratado con urea, rastrojo de maíz sin tratar, leguminosa siratro (*Macroptilium atropurpureum*) y heno Veld. El consumo de materia seca y la producción de leche fueron mayores con TMR, rastrojo de maíz tratado con urea y siratro, siendo diferentemente significativas ( $P<0.05$ ) a rastrojo de maíz sin tratar y heno Veld. Los autores atribuyen los aumentos en consumo de materia seca y producción de leche con rastrojo de maíz tratado con urea, TMR y siratro en función a la inclusión de compuestos nitrogenados al rumen los cuales tienen efectos positivos. Se observó un aumento del 50 % en los ingresos generados con los suplementos de rastrojo de maíz tratados con urea y siratro en comparación con TMR. Aunque TMR aumento la producción de leche, bajó el ingreso neto debido a su alto costo (Cuadro 6).

Cuadro 6. Consumo de materia seca, producción y composición de la leche e ingreso neto con cinco estrategias de suplementación en vacas F1 en Zimbabwe.

FACTOR	TMR	RMTU	RMST	SIR	H
Consumo MS, kg	9.4	9.8	6.1	9.9	7.0
P. Leche, kg	5.8	7.2	3.8	7.0	3.6
Grasa, %	4.4	4.1	3.6	4.3	4.4
Proteína, %	3.5	3.2	3.0	3.4	3.2
Lactosa, %	4.8	4.8	4.8	4.7	4.6
Sólidos totales, %	13.9	13.2	12.5	13.5	13.3
Ingreso leche/ día, \$ US	3.48	4.32	2.28	4.20	2.16
Costo total de alimentación, \$ US	1.92	1.29	0.75	1.36	0.72
Ingreso neto/día, \$ US	1.56	3.03	1.53	2.84	1.44

Fuente: adaptado de (Gusha *et al.*, 2014).

TMR= Ración mixta; RMTU= Rastrojo de maíz tratado con urea; RMST= Rastrojo de maíz sin tratar; SIR= Siratro; H: heno.

### 3.4. Uso de la pollinaza como suplemento en el sistema de doble propósito.

La pollinaza es un residuo de la industria avícola, la cual consiste en una mezcla de estiércol, orina, piensos, plumas, residuos de alimento y materiales usados como cama en la producción de pollos de engorda (Obeidat, 2011). En general, su bajo costo comparado con otras fuentes convencionales de proteína y su elevado nivel de PC en forma de NNP hacen su uso común como suplemento de N para los rumiantes que consumen pastos de mala y mediana calidad (Negesse *et al.*, 2007), así mismo, otros estudios demuestran que puede ser una fuente importante de minerales (Van Ryssen y Mavimbela, 1999; Segura *et al.*, 2000) por lo tanto, representa un recurso alimenticio ampliamente utilizado como única fuente de suplementación o utilizándolo como base para la elaboración de un suplemento.

Ibrahim *et al.* (2001) reportaron una producción de leche de 5.9 Kg/vaca/día, con una composición de 3.0% de grasa, 2.7% de proteína cruda, 4.9% de lactosa y 8.3% de sólidos no grasos en vacas que fueron suplementadas con 70.5% de pollinaza + 29.5% de melaza. También reportaron una producción de leche de 6.0 Kg/vaca/día y una composición de 2.7% de grasa, 2.7% de proteína cruda, 5.1% de lactosa y 8.5% de sólidos no grasos cuando las vacas fueron suplementadas con 46.7% de pollinaza, 46.7% de caña de azúcar y 6.54% de salvado de trigo.

Lobo y Acuña (2001) reportaron una producción de leche de 5.3 Kg/vaca/día en vacas suplementadas con 12 kg de caña de azúcar + 3 kg de pollinaza + 0.6 de semolina y, una producción de leche de 6.3 Kg/vaca/día en vacas suplementadas con 12 kg de caña de azúcar + 3 kg de pollinaza + 0.6 kg de semolina + 0.5 kg de melaza. La composición química reportada fue 11.7% de sólidos totales y 3.0% de grasa en el primer caso y, 11.25% de sólidos totales y 2.9% de grasa en el segundo caso.

Pinto-Ruiz *et al.* (2012) compararon el efecto en la composición química de la leche de vacas que consumían pasto como única fuente de alimento (T1) y vacas que consumían pasto más pollinaza *ad libitum* (T2). Los resultados obtenidos demostraron que no existieron diferencias significativas entre tratamientos ( $P > 0.05$ ) en el porcentaje de proteína, lactosa y sólidos no grasos, reportando 3.77%, 4.42%, 9.02% y 3.26%, 4.40%, 8.82% para T1 y T2, respectivamente. Encontraron diferencias significativas en el porcentaje de grasa y sólidos totales, 3.47 y 2.24% y 12.23 y 11.09% para T1 y T2, respectivamente.

Muia *et al.* (2000) evaluaron los efectos de la alimentación en vacas frisonas que consumían pasto elefante (*Pennisetum purpureum*) en dos estados de madurez (10 semanas y 15 semanas) y suplementadas con un concentrado base de harina de girasol y otro a base de pollinaza. Encontraron diferencias significativas entre las dos edades del pasto. No encontraron diferencias significativas entre los suplementos para las variables cambio de peso en las vacas, producción de leche sin corrección de la grasa, contenido de proteína cruda y sólido no grasos. Se encontró diferencias en el porcentaje de grasa (Cuadro 7).

En un segundo experimento, Muia *et al.* (2000) evaluaron el efecto de la alimentación de vacas que consumían únicamente pasto elefante con un estado de madurez de 10 semanas (T1), suplementadas con niveles graduales de 0.91 (T2), 3.65 (T3), 6.35 (T4) kg de MS del concentrado a base de pollinaza. La producción de leche aumento linealmente con el nivel de suplementación (Cuadro 8). La producción de leche fue 28% más bajos para las vacas que consumían únicamente pasto elefante. Sin embargo, el contenido de grasa, proteína cruda y sólidos no grasos fueron inferiores en 4.5, 3.6 y 8 % respectivamente para las medias de las dietas suplementadas en relación a las vacas que consumían solo pasto elefante. Las vacas alimentadas exclusivamente con pasto perdieron peso, mientras que en los tratamientos con suplementación, la ganancia de peso vivo se incrementó linealmente con el nivel de suplementación.

Cuadro 7. Cambio en el peso vivo, producción y composición de la leche en vacas frisonas alimentadas con pasto elefante y suplementadas.

FACTOR	PE10		PE15	
	CBP	CBH	CBP	CBH
CPV, kg/vaca/día	0.05 <sup>a</sup>	0.05 <sup>a</sup>	-0.02 <sup>b</sup>	-0.03 <sup>b</sup>
PL, kg/vaca/día	11.4 <sup>a</sup>	11.7 <sup>a</sup>	5.9 <sup>b</sup>	6.0 <sup>b</sup>
Grasa, %	3.6 <sup>c</sup>	3.73 <sup>b</sup>	3.62 <sup>c</sup>	3.81 <sup>a</sup>
Proteína cruda, %	2.87 <sup>a</sup>	2.74 <sup>b</sup>	2.74 <sup>b</sup>	2.76 <sup>b</sup>
Sólido no graso, %	7.83 <sup>bc</sup>	7.72 <sup>c</sup>	80.9 <sup>a</sup>	82.4 <sup>ab</sup>

Fuente: adaptado de (Muia *et al.*, 2000).

CPV= Cambio en el peso vivo; PL= Producción de leche; PE10= Pasto elefante de 10 semanas de rebrote; PE15= Pasto elefante de 15 semanas de rebrote; CBP= Concentrado a base de pollinaza; CBH= Concentrado a base de harina de girasol.

<sup>abc</sup> letras diferentes en la misma filas indican diferencias significativas (P> 0.05).

Cuadro 8. Cambio en el peso vivo, composición y producción de leche de vacas frisonas suplementadas con niveles graduales de un concentrado a base de pollinaza (CBP).

Factor	Tratamientos			
	T1	T2	T3	T4
CPV, g/vaca/día	-0.02 <sup>d</sup>	0.04 <sup>c</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.08 <sup>a</sup>
PL, Kg/vaca/día	7.8 <sup>d</sup>	8.9 <sup>c</sup>	10.9 <sup>b</sup>	13.1 <sup>a</sup>
RLCG 4%, Kg/vaca/día	7.7 <sup>d</sup>	8.6 <sup>c</sup>	10.6 <sup>b</sup>	12.8 <sup>a</sup>
Grasa, %	3.99 <sup>a</sup>	3.79 <sup>c</sup>	3.80 <sup>c</sup>	3.85 <sup>b</sup>
Proteína cruda, %	3.07 <sup>a</sup>	2.99 <sup>b</sup>	2.97 <sup>b</sup>	2.91 <sup>c</sup>
Sólidos no grasos, %	8.65 <sup>a</sup>	7.79 <sup>c</sup>	8.12 <sup>b</sup>	7.93 <sup>bc</sup>

Fuente: adaptado de (Muia *et al.*, 2000).

CPV= Cambio en el peso vivo; PL= Producción de leche; RLCG= Rendimiento de leche corregido al 4% de grasa; T1= Alimentación solo con pasto elefante; T2= T1 + 0.91 kg MS CBP; T3= T1 + 3.65 kg MS CBP, T4= T1 + 6.35 kg MS CBP.

<sup>abc</sup> letras diferentes en la misma filas indican diferencias significativas (P> 0.05).

En cuanto a la relación beneficio-costos, Muia *et al.* (2000) mencionan que en el primer experimento, el uso del concentrado a base de pollinaza se asoció con mayores beneficios debido al costo relativamente barato de la pollinaza. En el segundo experimento, el máximo benéfico se obtuvo al suplementar con 1 kg de MS del concentrado a base de pollinaza. Ellos concluyen que, donde la pollinaza sea fácilmente disponible y barata, debe de ser empleada en los concentrados ya que permite reducir costos y mejorar la producción de leche.

### **3.5. Inconvenientes del uso de la pollinaza en la alimentación bovina.**

A pesar de ser un recurso importante para la alimentación de los rumiantes, el uso de la pollinaza en forma cruda o sin tratar (tal y como sale de las casetas de pollos una vez que estos terminaron su ciclo de engorda) tiene algunas desventajas las cuales han generado controversias por contener un gran número de microorganismos patógenos, principalmente *Salmonella* spp, y *Escherichia coli*, ooquistes de parásitos (coccidios) y hongos del genero *Aspergillus* spp. (Castellanos y Murgia, 2002), así mismo, puede contener una alta carga de metales pesados como cobre, cromo, arsénico, plomo y una gran variedad de residuos medicamentosos como antibióticos, coccidiostáticos y fungistatos, existiendo el riesgo que estos residuos puedan mantener su actividad en las excretas y causar efectos negativos en los animales que lo consumen, en la calidad de los productos que se obtienen de ellos (leche y carne) y en consecuencia afectar la seguridad humana (Castellanos y Murguía, 2002; Zhang *et al.*, 2013). Además la pollinaza libera amoníaco, el cual es un compuesto contaminante del medio ambiente (Castellanos y Murguía, 2002) y en el caso de explotaciones lecheras, este compuesto puede afectar negativamente las propiedades sensoriales de la leche de vacas que consumen pollinaza o donde se almacene cerca de la ordeña, ya que la leche absorbe olores con gran facilidad.

Con respecto a lo anterior y ante el riesgo zoonosario y de salud pública que representa la pollinaza cruda la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca, y Alimentación (SAGARPA) cabe aclarar no prohíbe, regula su uso mediante las Normas Oficiales Mexicanas (NOM-044-ZOO-1995; NOM-024-ZOO-1995; NOM-061-ZOO-1999), las cuales especifican que la pollinaza puede ser utilizada en la formulación de alimentos para rumiantes siempre y cuando hayan sido sometidas a un tratamiento térmico o químico.

### **3.6. Características y ventajas de los procesos de fermentación.**

La tecnología de la fermentación es uno de los procesos biotecnológicos que se remonta a miles de años (Kaur *et al.*, 2013). El termino fermentación se deriva de la palabra en Latín *fermentum*, que significa hervir (Mehta *et al.*, 2012) pues cuando este proceso está en marcha se forman burbujas producidas por la liberación de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Aunque los bioquímicos consideran a la fermentación como un proceso de generación de energía en el que los compuestos orgánicos actúan tanto como donantes y aceptores de electrones y un proceso anaeróbico donde la energía se produce sin la participación de oxígeno u otros aceptores de electrones inorgánicos

(Kaur *et al.*, 2013), en la actualidad este término se ha ampliado para incluir los procesos aerobios y procesos no microbianos como en el caso de enzimas aisladas. Consiguientemente, la fermentación describe todos los procesos a través del cual los alimentos orgánicos complejos se convierten en compuestos más simples con la producción de energía química en forma de trifosfato de adenosina (ATP) (Mehta *et al.*, 2012). Por lo tanto, se entiende por alimentos fermentados como aquellos alimentos o materias primas usadas como sustrato que han sido sometidos a la acción de microorganismos y/o enzimas para que los cambios bioquímicos deseables provoquen modificaciones significativas en ellos (Li, 2004).

De acuerdo a la forma en que se lleve a cabo el proceso de fermentación se pueden distinguir dos técnicas distintas, la fermentación en estado líquido o también llamada fermentación sumergida y la fermentación en estado sólido, LSF, SMF y SSF por sus siglas en inglés respectivamente. La SSF implica el cultivo de microorganismos sobre sustratos sólidos húmedos, en ausencia de una fase acuosa libre, la matriz sólida puede ser la fuente de nutrientes o simplemente un soporte impregnado por los nutrientes adecuados que permitan el desarrollo de los microorganismos. Su contenido de humedad puede ser de 12 a 80 %, pero mayormente en un 60 %. Por otra parte, LSF implica la inmersión de los microorganismos en una solución acuosa que contiene todos los nutrientes necesarios para el crecimiento, donde solo hay un 5% de sólidos y su contenido de humedad es de aproximadamente 95% (Pandey, 2003; Liu *et al.*, 2013).

Para el desarrollo adecuado de los procesos fermentativos se necesita tomar en cuenta las relaciones entre la fisiología de los microorganismos y los factores fisicoquímicos que pueden impactar en el éxito de este bioproceso, estos factores incluyen la temperatura, el pH, la aireación, la actividad del agua, la humedad, entre otros (Singhania *et al.*, 2009). Los cuales afectan a LSF y a SSF en mayor o menor medida debido a las características de cada técnica en particular.

Aunque históricamente se conoce desde hace siglos, la SSF ha tenido un nuevo interés por parte de los investigadores y las industrias de todo el mundo en los últimos años, principalmente porque ofrece algunas ventajas frente a la LSF y particularmente en las áreas donde se manejan residuos sólidos por su aplicación en las diversas áreas como la biorremediación y la biodegradación de compuestos peligrosos, la desintoxicación biológica de residuos agroindustriales tóxicos, biotransformación de los cultivos y los residuos de las cosechas para el enriquecimiento nutricional, así mismo por su empleo para la producción de productos de alto valor, como metabolitos secundarios biológicamente activos, incluyendo antibióticos y otros fármacos,

enzimas, ácidos orgánicos, biocombustibles, alimentos y piensos para ganado (Singhania *et al.*, 2009 ).

Pandey (2000) menciona que SSF no debe ser vista como una tecnología que pueda remplazar a LSF, ya que esta última tiene muchas características que la convertirían en un método preferido. La mejor transferencia de calor y la mayor homogeneidad en un sistema de LSF simplemente hace que el proceso sea menos problemático. Sin embargo, hay una serie de productos para los que SSF es la tecnología de producción superior. Por lo tanto, el mismo autor comenta que la SSF sería elegida si (1) las condiciones económicas particulares la favorecen, por ejemplo en algunas partes del mundo algunas enzimas se producen por la SSF, mientras que en otras partes las mismas enzimas son producidas por LSF, (2) si el producto solo se produce en SSF o si se produce en ambos sistemas, el producto es muy superior en SSF, algunos hongos simplemente no esporulan en LSF, (3) si el uso de las materias primas solidas se convierten en un imperativo debido a algunas regulaciones del gobierno en respuesta a las presiones de los efectos ambientales causados por el vertido de solidos orgánicos.

El uso de la tecnología de la fermentación ha demostrado no solo tener efectos conservantes y la capacidad de modificar las propiedades fisicoquímicas de diversos alimentos, sino también para mejorar la calidad nutricional y funcional de los alimentos (Savadogo, 2012). A continuación alguna de las ventajas de la fermentación:

- Puede mejorar el valor nutricional de un alimento a través de mayores niveles de vitaminas y una mejor digestibilidad.
- Muchos productos de futas y verduras contienen toxinas y compuestos antinutricionales que se les pueden quitar o desintoxicar por la acción de los microorganismos durante la fermentación.
- La fermentación también puede conducir a la desintoxicación y la destrucción de factores indeseables presentes en los alimentos crudos, tales como fitatos, taninos y polifenoles.
- La fermentación es un proceso dependiente de la actividad biológica de microorganismos para la producción de una serie de metabolitos que pueden suprimir el crecimiento y la supervivencia de microorganismos indeseable en los alimentos.
- El enriquecimiento de la dieta a través del desarrollo de una variedad de sabores, aromas y texturas en sustratos alimenticios.

### **3.7. Inóculo microbiano.**

El inóculo microbiano es un producto biológico obtenido por FLS, compuesto por bacterias lácticas, levaduras y sus metabolitos que funcionan como probiótico, capaces de producir cantidades apreciables de ácidos orgánicos de cadena corta (láctico, acético, propiónico, succínico y pirúvico), vitaminas y enzimas, elaborado a partir de yogurt, melaza, agua y otros ingredientes. Es un activador de la fermentación que estimula la producción de ácidos orgánicos, disminuye el pH, incrementa y estabiliza la proteína, aumenta la digestibilidad de la materia seca y disminuye las fracciones de la pared celular de la materia prima alimentaria sometida a su acción (Elías y Herrera, 2013 en prensa).

### **3.8. Efectos de la SSF en la pollinaza.**

Las actividades agrícolas y agroindustriales producen miles de toneladas de subproductos y desechos sólidos ricos en nutrientes (Rodríguez y Sanroman, 2006), dentro de estos sectores una de las industrias que ha tenido un mayor y rápido crecimiento a nivel mundial es la avícola, esto debido a la creciente demanda de proteína de origen animal. Sin embargo, uno de los principales desafíos de la producción avícola es la eliminación de los residuos, y en particular de la cama de los pollos (Bolan *et al.*, 2010). Al respecto, Pandey (2000) menciona que la utilización de los residuos agroindustriales en la SSF por un lado proporcionan sustratos alternativos y por otro ayuda en la solución de los problemas de contaminación.

Estudios anteriores han evidenciado que la fermentación anaerobia ha sido eficaz en la eliminación de microorganismos patógenos presentes en la pollinaza. En un estudio Chaudhry *et al.* (1998) ensilaron la pollinaza con agua y melaza para alcanzar 40% de humedad en tambos metálicos forrados con bolsa de polietileno durante 42 días. Encontrando una disminución del pH y un aumento en el ácido láctico post ensilado. Así mismo, los coliformes totales y fecales se eliminaron por completo.

Por su parte Al-Rokayan *et al.* (1998) mezclaron pollinaza con sorgo forrajero en diferentes proporciones (1) 0:100, (2) 25:75, (3) 5:65 y (4) 45:55 (base húmeda) respectivamente y fueron puestas a ensilar en bidones metálicos revestidos con una doble capa de polietileno. En este estudio el pH se redujo en todas las mezclas, encontrándose una disminución mayor para la mezcla de solo sorgo. Así mismo, la disminución del pH fue menor conforme aumento la cantidad de pollinaza en la mezcla, encontrando valores de pH de 4.09, 4.21, 4.89 y 5.41 para las mezclas (1), (2), (3) y

(4) post ensiladas respectivamente. Sin embargo, los valores de ácido láctico post ensilado aumentaron con forme aumente la pollinaza en la mezcla. Los conteos más altos de unidades formadoras de colonias (UFC) fecales se encontraron en las mezclas que contenían pollinaza, así mismo, *Salmonell*, *Shigella* y *Proteus* solo estuvieron presentes en las mezclas que contenían pollinaza antes de ensilar. Después del ensilaje todas las mezclas se redujeron a cero para UFC fecales y dieron negativo para *Salmonell*, *Shigella* y *Proteus*.

En otro estudio Mthiyane *et al.* (2001) realizaron ensilajes de una mezcla de caña de azúcar picada con diferentes proporciones de pollinaza (15, 30, 45 y 60%) con o sin agua en bolsa de polietileno las cuales fueron compactadas y cerradas herméticamente con cuerdas, con el fin de examinar los cambios en la composición química y características fermentativas, así como la desaparición de hongos productores de micotoxinas. En este caso resalta la eliminación del olor de la pollinaza cruda por parte de la fermentación encontrando un olor agradable en todos los tratamientos. Al ensilar con o sin agua, se eliminó la presencia de los hongos del género *Fusarium* y *Rhizopus* y se redujo drásticamente a *Scopularipsis*. Sin embargo, el bajo contenido de ácido láctico y el pH alto en el nivel de inclusión de pollinaza al 60% estuvo relacionado con la incidencia de algunos hongos del genero *Scopularipsis* en los ensilajes sin agua y de *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *Aspergillus* amarillo y *Fusarium* en los ensilajes con agua. El agua ayudo a destruir a la mayoría de los hongos productores de micotoxinas en los ensilajes con la excepción de *Penicillium*.

En un estudio más reciente Ramos *et al.* (2013) realizaron un experimento con el fin de determinar el tiempo de la SSF en una mezcla con pollinaza, melaza y un activador biológico de la fermentación (Vitafert) que actuara sobre las poblaciones enterobacterias indeseables y mejorara las características de indicadores nutricionales. Los resultados obtenidos indicaron que SSF logro incrementar el contenido de proteína cruda (PC), las levaduras y la degradación *in situ* de la materia seca (DIMS). Así mismo, el pH disminuyo y el ácido láctico aumento con el tiempo de fermentación. Además se logró la eliminación al día 10 de la SSF de *Escherichia coli* y la disminución del contenido de bacterias aerobias.

### **3.9. Calidad de la leche.**

La leche es el producto secretado por los mamíferos para la alimentación de sus crías durante las primeras etapas de crecimiento, sin embargo, el hombre ha buscado utilizarla y procesarla con

finés alimenticios. Por su importancia nutricional, económica e histórica la leche que más se ha estudiado y que mejor se conoce es la de vaca (Maza, 2011; Villegas de Gante y Moreno, 2011). Si bien la calidad de la leche cruda debe ser entendida como la suma de un conjunto de atributos de distinta índole, para operar prácticamente en la realidad, es decir, con criterio tecnológico, es evidente la utilidad de “descomponer” la noción de “calidad integral” (la suma de atributos) en componentes parciales. Por lo tanto, la calidad de la leche puede definirse como la suma de las características que la definen (nutritivas, composicionales, higiénicas, microbiológicas, sensoriales, etc.) y que concurre a proporcionar una mayor o menor satisfacción al usuario, ya sea éste consumidor intermedio (industrial) o final (Villegas de Gante y Moreno, 2011). Cada una de estas “calidades” pueden revelarse por la medición de variables (o parámetros) concretas, por ejemplo:

- Calidad composicional: porcentaje de sólidos totales, porcentaje de grasa, porcentaje de proteínas, etcétera.
- Calidad fisicoquímica: el pH de la leche, su acidez titulable, su densidad, su punto crioscópico.
- Calidad sanitaria: carga bacteriana total, cuenta de coliformes, carga de células somáticas, presencia de inhibidores, presencia de adulterantes, etcétera.
- Calidad sensorial: color, sabor, olor (Villegas de Gante y Moreno, 2011).

Sin embargo, la leche es una mezcla variable de estructuras y microorganismos, por lo que su calidad puede ser afectada por diversos factores, algunos de estos son: la época del año, la etapa de lactancia, el número de parto y el nivel de producción del animal, así como de su salud, prácticas de manejo y alimentación. Por lo tanto, se han creado una serie de normas, leyes y reglamentos (Cuadro 9) que la leche debe de cumplir con el fin de ayudar a mejorar su calidad y garantizar su inocuidad a los consumidores y facilitar su desplazamiento en los canales de comercialización (Moreno *et al.*, 2007; Álvarez, 2009; Moncada y Pelayo, 2011).

Cuadro 9. Especificaciones nutricionales y sanitarias en la leche.

Parámetro	Especificación	Norma
Grasa	30 g L <sup>-1</sup> mínimo	NOM-155-SCFI-2003
Proteínas totales	≥ 30 g L <sup>-1</sup>	NOM-155-SCFI-2003
Lactosa	43-50 g L <sup>-1</sup>	NOM-155-SCFI-2003
Sólidos no grasos	83 g L <sup>-1</sup> mínimo	NOM-155-SCFI-2003
Cuenta total de bacterias mesofílicas aerobias	≤ 100 000 UFC ml <sup>-1</sup>	NOM-243-SSA1-2010
Células somáticas (CS)	≤ 400 000 CS ml <sup>-1</sup>	PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012
Coliformes totales	≤ 10 UFC ml <sup>-1</sup>	NOM-243-SSA1-2010
<i>Salmonella spp</i>	Ausente en 25 ml	NOM-243-SSA1-2010
<i>Escherichia coli</i> *	≤ 3 **NMP ml <sup>-1</sup>	NOM-243-SSA1-2010
Antibióticos	Negativo	LICONSA, (2007)

\* En leche utilizada para la elaboración de quesos. \*\*NMP: número más probable.

### 3.10. Análisis sensorial.

La evaluación sensorial se ha definido como un método científico utilizado para evocar, medir, analizar e interpretar las respuestas a los productos según la percepción a través de los sentidos de la vista, el olfato, el tacto, el gusto y el oído (Stone y Sidel, 2004). Al respecto Lawless y Heymann (2010) mencionan que los principios y prácticas de la evaluación sensorial implican cada una de las cuatro actividades mencionadas en esta definición (evocar, medir, analizar e interpretar). La valoración sensorial es una función que la persona realiza desde la infancia y que la lleva, consciente o inconscientemente a aceptar o rechazar los alimentos de acuerdo con las sensaciones experimentadas al observarlos o ingerirlos. Sin embargo, las sensaciones que motivan este rechazo o aceptación varían con el tiempo y el momento en que se perciben, por lo tanto, dependen tanto de la persona como del entorno (Sancho *et al.*, 2002). Consecuentemente, la evaluación sensorial da directrices para la preparación y servicio de las muestras bajo condiciones controladas a manera de evitar que las personas se formen juicios que no sean basados a sus experiencias sensoriales. Por otra parte, la evaluación sensorial es una ciencia cuantitativa en la que se recogen los datos numéricos para establecer relaciones legales y específicas entre las características del producto y

de la percepción humana. Las técnicas de investigación del comportamiento y la psicología experimental ofrecen pautas sobre cómo las técnicas de medición se deben emplear y cuáles puedan ser sus posibles defectos. Así mismo, el análisis adecuado de los datos es una parte crítica de las pruebas sensoriales. Con el fin de evaluar si las relaciones observadas entre las características del producto y las pruebas sensoriales son propensas a ser reales y no solo el resultado de la variación incontrolada en las respuestas, los métodos estadísticos se utilizan para analizar los datos de evaluación. Los análisis estadísticos adecuados y la utilización de un buen diseño experimental hacen que las variables de interés sean investigadas de una manera que permitan conclusiones sensatas. La interpretación de los resultados es el último proceso de la evaluación sensorial, este punto sugiere que las conclusiones deben de ser juicios razonables sobre la base de datos, análisis y resultados. Las conclusiones implican la consideración del método, las limitaciones del experimento y el marco contextual del estudio (Lawless y Heymann, 2010).

Por otro lado, la calidad sensorial de un alimento no es una característica propia, sino el resultado de la interacción entre el alimento y el hombre, por lo tanto, se puede definir como la sensación humana provocada por determinados estímulos procedentes del alimento, mediatizada por las condiciones fisiológicas, psicológicas y sociológicas de la persona o grupo de personas que la evalúan (Sancho *et al.*, 2002). La metodología para la evaluación sensorial de alimentos consiste en una serie de procedimientos que se encuentran normalizados (ISO, 1988; AENOR, 1997). Se han desarrollado y estandarizado una serie de pruebas sensoriales para evaluar las diferencias/semajanzas, preferencias, grado de aceptación así como la intensidad de las características sensoriales.

Los métodos actuales de evaluación sensorial comprenden un conjunto de técnicas de medición con una trayectoria establecida de uso en la industria y la investigación académica. Gran parte de lo que se considera procedimiento estándar viene de obstáculos y problemas encontrados en la experiencia práctica de los especialistas sensoriales en los últimos 70 años de investigación alimentaria y de productos de consumo. La principal preocupación de cualquier especialista en evaluación sensorial es asegurar que el método de ensayo es el adecuado para responder a las preguntas que se hacen sobre el producto en la prueba. Por esta razón, las pruebas se suelen clasificar de acuerdo a su propósito principal y su uso más adecuado. Hay tres tipos de pruebas sensoriales (afectivas, discriminatorias y descriptivas) que se utilizan habitualmente, cada una con

un objetivo diferente y cada uno usando los participantes seleccionados utilizando diferentes criterios (Lawless y Heymann, 2010).

### **3.10.1 Pruebas discriminatorias.**

Las pruebas de diferencias simples o discriminatorias, intentan responder si existe cualquier diferencia perceptible entre dos tipos de productos. El análisis se basa generalmente en las estadísticas de frecuencia y proporciones, contando las respuestas correctas e incorrectas. A partir de los resultados de las pruebas, se infiere diferencias basadas en las proporciones de las personas que son capaces de elegir un producto correctamente, de entre un conjunto de productos similares o de control (Deliza y Abreu, 2011).

- Prueba triangular: en esta prueba tres muestras se presentan simultáneamente a los panelistas, dos muestras son iguales y una es diferente. Cada penalista debe indicar cuál es diferente (Kemp *et al.*, 2009).
- Prueba dúo-trío: en esta prueba los panelistas también reciben las tres muestras simultáneamente. Una muestra de referencia es marcada y esta muestra es igual a una de las dos muestras codificadas. Los panelistas tienen que identificar la muestra que es similar a la de referencia (Kemp *et al.*, 2009).

### **3.10.2 Pruebas descriptivas.**

Los análisis descriptivos son generalmente útiles en cualquier situación donde se desea una especificación detallada de los atributos sensoriales de un solo producto o una comparación de las diferencias sensoriales entre varios productos. Estas técnicas tienden a ser demasiado caras, además no deben usarse nunca con consumidores, debido a que en todos los métodos descriptivos los panelistas deben de ser entrenados para que la técnica sea consistente y reproducible. Sin embargo, en garantía de calidad, las técnicas descriptivas pueden ser muy valiosas cuando se deben de definir los aspectos sensoriales de un problema (Lawless y Heymann, 2010; Deliza y Abreu, 2011).

1. Análisis cuantitativo descriptivo (QDA<sup>®</sup>): es un método propuesto por un grupo del Instituto de Investigación de Stanford en 1970 para remediar algunas de las desventajas del método del

sabor el cual también forma parte de las pruebas descriptivas. Este método es ampliamente aplicable a todas las propiedades sensoriales de los alimentos, y no solo al sabor y textura como en otros métodos. Toma mucho en cuenta la investigación del comportamiento y utiliza diseños experimentales y análisis estadísticos. Esto asegura juicios independientes de penalistas en contraste con los procedimientos de los grupos de discusión y consenso del método de sabor. Las evaluaciones del producto se realiza por cada juez individual, por lo general, mientras esta en cabinas aisladas. Se utilizan prácticas sensoriales estándares tales como la codificación de las muestras, la iluminación de la cabina, etc., (Lawless y Heymann, 2010). Se utiliza escalas de líneas graficas no estructuradas ancladas a los extremos con palabras generadas por el panel para describir la intensidad de los atributos nominales. Los datos resultantes pueden ser analizados estadísticamente mediante análisis de varianza y las técnicas estadísticas multivariantes. Es necesario que los jueces repliquen sus juicios para permitir que el científico sensorial verifique la consistencia de los panelistas. La presentación de los datos a menudo implica el uso de graficas de telaraña. QDA tiene el inconveniente de que el panel debe ser entrenado para la evaluación del producto. Durante las sesiones de entrenamiento diez a doce jueces se exponen a variaciones posibles del producto para facilitar la formación de conceptos precisos. La elección de la gama de muestras esta dictada por el propósito del estudio, los panelistas generan un conjunto de términos que describen las diferencias entre los productos. Luego a través del consenso, los panelistas desarrollan un vocabulario estandarizado para describir las diferencias sensoriales entre las muestras. Los panelistas también deciden sobre los patrones de referencia y/o definiciones verbales que se deben utilizar para anclar los términos descriptivos. Después de varias sesiones de entrenamiento, se realiza una serie de evaluaciones de prueba, esto permite que el presidente de la comisión para evaluar a los jueces individuales basado en el análisis estadístico de sus resultados respecto al de todo el panel (Stone y Sidel, 2004; Lawless y Heymann, 2010).

## IV. MATERIALES Y METODOS

### 4.1. Localización geográfica del área de estudio.

El trabajo de investigación se realizó en la unidad de producción “Rancho Alegre” propiedad del Lic. Rodolfo Campos Montejo, ubicado en Vicente guerrero 1ª sección, municipio de Jalpa de Méndez, Tabasco, México. Jalpa de Méndez se encuentra entre las coordenadas geográficas 18° 25' latitud norte y entre 18° 04' longitud oeste, el clima es cálido húmedo con abundantes lluvias en verano, presenta un rango de temperatura anual de 24 a 26° C y un rango de precipitación pluvial anual de 1500 a 2000 mm.



Fuente: Datos del mapa® 2014 Google, INEGI.

Figura 1. Instalaciones del “rancho alegre”, ubicado en el municipio de Jalpa de Méndez, Tabasco.

### 4.2. Animales, tratamientos y diseño experimental.

Se utilizaron diez vacas (5 Holstein-Cebú, 2 Suizas, 2 Gyr y 1 Suiza-Cebú) con un nivel de encaste indefinido, un peso vivo promedio de  $439.4 \pm 47$  kg y con  $53 \pm 20$  días de lactancia de un sistema de doble propósito, las cuales fueron aleatorizadas en un diseño rectángulo latino Cross over de tal forma que los tratamientos fueron probados en todas las vacas en dos periodos de tiempo distintitos (Cuadro 10). Cada periodo tuvo una duración de 30 días, de los cuales, 20 días fueron para la adaptación de los animales a las suplementos (tratamientos) y la eliminación de cualquier efecto residual entre tratamientos y 10 días de fase experimental para la obtención de las muestras

de leche, suplementos, registro de consumo y producción de leche. Los tratamientos (T) evaluados fueron: T1, alimento fermentado a base de pollinaza (AFBP) y T2, alimento sin fermentar a base de grano (ASFBG).

Cuadro 10. Representación de la aleatorización de los tratamientos en el diseño rectángulo latino cross over.

	Vaca 1	Vaca 2	Vaca 3	Vaca 4	Vaca 5	Vaca 6	Vaca 7	Vaca 8	Vaca 9	Vaca 10
Periodo 1	A	A	B	A	B	B	B	A	A	B
Periodo 2	B	B	A	B	A	A	A	B	B	A

#### 4.3. Manejo de los animales.

Las vacas se ordeñaron una vez al día (5:00 AM) con una ordeñadora mecánica, durante la ordeña se les ofreció 4 kg en base húmeda del tratamiento correspondiente de manera individual, posterior a la ordeña, todas las vacas eran trasladadas a un mismo potrero junto con sus crías para que estas mamaran durante un periodo de tiempo aproximado de 4 horas, después se les separaba de sus crías y se trasladaban a otro potrero donde se mantenían pastando el resto del día. Las vacas pastorearon *Brachiaria humidicola* en 8.7 ha divididas en 5 potreros.



Figura 2. Comederos implementados para que cada animal consumiera el suplemento de manera individual.

#### 4.4. Elaboración de los suplementos (tratamientos).

Para formular los suplementos, primero se hizo un balance alimentario tomando en cuenta la disponibilidad de pasto, su contenido de proteína cruda y de energía metabolizable y los requerimientos del programa CalRac Rumiantes V3 del Instituto de Ciencia Animal de Cuba, para una vaca lechera con producción de 10 litros de leche. Los suplementos se formularon isoenergéticos e isoproteicos (Cuadro 11).

Cuadro 11. Ingredientes y porcentajes de inclusión utilizados para la elaboración de los alimentos.

Ingredientes	% de inclusión base húmeda.	
	AFBP <sup>1</sup>	ASFGB <sup>2</sup>
Pollinaza	35	-----
Maíz	15.6	-----
Sorgo	6	12
Pasta de coco	8	11
Pasta de soya	-----	10.4
Pulido de arroz	6	10.1
Salvado de trigo	-----	35.9
Melaza	10	15
Inóculo microbiano	12	-----
Aceite de pollo	5	3.2
Sulfato de Magnesio	0.4	0.4
Minerales	2	2
Composición química, %		
Materia seca	80.02	87.47
Proteína cruda	15.60	15.60
EM <sup>3</sup> (Mcal kg MS <sup>-1</sup> )	2.62	2.62

<sup>1</sup>AFBS: alimento fermentado a base de pollinaza; <sup>2</sup>ASFGB: alimento sin fermentar a base de grano.

<sup>3</sup>EM: Energía metabolizable.

#### 4.4.1 Preparación del inóculo microbiano.

El inóculo microbiano (IM) se obtuvo por fermentación en estado líquido. Se utilizó como un activador de la fermentación láctica en el suplemento a base de pollinaza. En cada periodo se preparó el IM de acuerdo a los ingredientes y porcentaje indicados en el Cuadro 12, en un tanque de 200 litros de capacidad. Se agitó durante tres días consecutivos 4 veces al día durante 5 minutos.

Cuadro 12. Ingredientes utilizados para la elaboración del IM.

Ingredientes	% utilizado
Pasta de soya	4.0
Pulido de arroz	4.0
Melaza	15.0
Sales minerales	0.5
Urea	0.5
Sulfato de magnesio	0.3
Yogurt maraca Yoplait®	5.0
Agua	70.7

#### 4.4.2 Mezclado de los suplementos.

El AFBP, se elaboró 20 días antes de iniciar la fase de adaptación de los animales en cada periodo, con el fin de darle el tiempo adecuados de fermentación para la eliminación de los efectos negativos de la pollinaza (Ramos *et al.*, 2013). Para su elaboración se mezcló los ingredientes y porcentajes indicados en el Cuadro 11, en una mezcladora de cinta estacionara con capacidad para 500 kg con la finalidad que todos los ingredientes se mezclaran correctamente y la fermentación fuese homogénea. Posteriormente se embolso 30 kg del alimento en bolsas de nylon las cuales se metieron dentro de costales de rafia para su protección, se extrajo todo el aire de las bolsas, se amarraron perfectamente con cuerdas para evitar el contacto con el oxígeno y se almacenaron en una bodega para su fermentación.

El ASFBG, se preparó dos días antes de ser proporcionado a los animales. Para su preparación se mezclaron los ingredientes y porcentajes indicados en el Cuadro 11, en forma manual con palas (no se utilizó la mezcladora, debido a que en ella se había mezclado pollinaza en otras ocasiones, por lo tanto, se quiso evitar la contaminación de este alimento con algún residuo de pollinaza que

pudiera haber quedado en la mezcladora y causar algún efecto negativo en los resultados). Una vez mezclados todos los ingredientes se guardaron en costales de 40 kg sin bolsas de plástico para evitar algún proceso fermentativo y se almacenaron en una bodega.

#### **4.5. Muestreos de leche y suplementos.**

Se tomaron muestras individuales de leche los días 1 y 10 de cada periodo experimental (para poder procesar las muestras tomadas y evaluar las otras variables planeadas) de acuerdo a la metodología sugerida por Wolter *et al.* (2004) los cuales indican lavar los pezones solamente si existe suciedad y secar con una toalla desechable. Posteriormente se rociaba una toalla desechable con una solución de etanol al 70% y se limpiaba cada pezón, se desechaban de 10 a 15 ml de leche (despunte) de cada cuarto y enseguida se limpiaba la punta del pezón y su orificio durante 10 a 15 segundos con torundas sumergidas en alcohol al 90% para desinfectar. Cabe señalar que para cada pezón se utilizaban toallas y torundas diferentes. A continuación se procedía a tomar la muestra de leche directamente de los 4 pezones en bolsas estériles Whirl-Pak<sup>®</sup>, se tomaban dos bolsas de 100 ml por cada vaca, una para los análisis microbiológicos y otra para la composición nutricional y se guardaban en una hielera a 4 °C para su transporte al laboratorio de tecnología de los alimentos del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco para su análisis correspondientes. Así mismo, se tomaban dos muestras grupales por tratamiento (1 y 2) en frascos de vidrio con tapa hermética y capacidad de 5 L para su transporte y posterior análisis sensorial en la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT).

Se tomó muestras de la pollinaza empleada para la elaboración del AFBP antes de ser mezclada con lo demás ingredientes con la finalidad de analizar su carga microbiológica, así mismo, se tomó muestras del AFBP al momento de la mezcla (AFBP 0h) y después de proceso de fermentación para comprobar el efecto de la fermentación en el alimento. Los días que se realizaron los muestreos de la leche, se tomó muestras representativas homogéneas del AFBP y del ASFBG y se guardó en bolsas estériles Whirl-Pak<sup>®</sup> para ser transportadas al Colegio de Postgraduados Campus Tabasco para su análisis correspondiente.

#### **4.6. Análisis químico del pasto y los alimentos.**

La materia seca (MS), proteína cruda (PC) y Cenizas, se determinó según la AOAC (2005). La Fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA), se determinó de acuerdo con Van Soest *et al.* (1991). La degradación de la materia seca (DIMS), se determinó según la metodología descrita por Ørskov *et al.* (1992).

#### **4.7. Producción de leche y consumo de los suplementos.**

Los días 4, 5, 6,7 y 8 de la fase experimental de cada periodo se registró la producción de leche individual con la ayuda de medidores de leche de la marca DeLaval® modelo MM6. Así mismo, se evaluó el consumo de los suplementos de manera individual, restando la cantidad de rechazo de la cantidad ofrecida.

#### **4.8. Análisis microbiológicos.**

Se realizaron análisis microbiológicos para la detección de *Salmonella spp.*, y detección y conteo de mesófilos aerobios, coliformes totales y *Escherichia coli* en las muestras de leche, pollinaza sola, AFBP 0h (antes de fermentar), AFBP y del ASFBG.

El análisis para la detección de *Salmonella spp* se realizó con el empleo del kit RIDASCREEN®*Salmonella* de R-Biopharm AG® el cual es un inmunoensayo enzimático sándwich (ELISA) para la detección de *Salmonella* móviles y no móviles (incluyendo *S. pullorum* y *S. gallinarum*) a partir de un caldo enriquecido. El procedimiento especificado por el fabricante fue el siguiente:

1. Enriquecimiento: se agregaron 25 g o ml de la muestra (suplementos o leche) a 225 ml de Agua Peptonada Buferada (BPW) en frascos de 500 ml con cierre hermético y se homogenizó durante 5 min en zaranda y se procedió a incubar a 35-37°C +/- 1°C durante 16-20 horas.
2. Preparación de la placa: se abrió la bolsa incluida en el kit y se sacaron las microceldas (pozos) y se ajustaron firmemente a una placa (incluida en el kit), permitiendo un pozo para cada muestra, uno para el control positivo y uno para el control negativo.
3. Ligado de *Salmonella* presente en la muestra: se agregó con la ayuda de una micropipeta 100 µl del control positivo, negativo (incluidos en el kit) y muestras enriquecidas en los pozos, se cubrieron y se incubaron a 35-37°C +/- 1°C durante 30 min.

4. Primer lavado: se vaciaron los pozos y posteriormente se procedió a lavar 7 veces cada uno de ellos con 300µl de agua buffer (incluida en el kit).
5. Enriquecimiento secundario de *Salmonella spp*: se agregaron 250 µl de *Salmonella* Bouillon (incluido en el kit) a cada uno de los pozos utilizados, se cubrieron y se metieron a incubar a 35°C durante 5 horas.
6. Agregado del conjugado: se vaciaron los pozos y se lavaron 5 veces con 300µl de agua buffer. Posteriormente con la ayuda de una micropipeta se agregaron 100µl del conjugado (incluido en el kit), se cubrió y se metió a incubar por 30 min a 35°C.
7. Segundo lavado: se vaciaron los pozos y se procedió a lavarlos 7 veces con 300µl de agua buffer.
8. Agregado del sustrato y lectura: se agregaron 100 µl de sustrato/cromógeno (incluido en el kit) a cada uno de los pozos con los controles y muestras, se cubrieron y se incubaron a temperatura ambiente en la oscuridad por 15 min. Pasados los 15 minutos se procedió a leer los controles y las muestras analizadas, el cambio de color rojo a azul indicaba la presencia presuntiva de *Salmonella spp*.
9. Agregado de la solución stop y lectura: se agregaron 100µl de la solución stop (incluido en el kit) a cada uno de los pozos y se procedió a leer inmediatamente el cambio de color azul a amarillo indica la presencia presuntiva de *Salmonella spp*.

Los análisis microbiológicos de identificación y conteo de mesófilos aerobios, coliformes totales y *Escheriachia coli*, se realizaron utilizando los kits de prueba RIDA® COUNT Total, Coliform y E. coli respectivamente del laboratorio R-Biopharm AG® las cuales son placas de medio de cultivo seco, con una capa de tejido en la parte superior del medio, que permite a las aplicación de la muestra, después se incuban a temperaturas especificadas y se examinan para colonias típicas; la metodología empleada fue la sugerida por el fabricante la cual fue la siguiente:

1. En un frasco de vidrio estéril de 500 ml se pesó asépticamente 20 g en caso de la muestra solida (suplementos) o se añadieron 20 ml con la ayuda de una micropipeta en el caso de la muestra liquida (leche) y posteriormente se agregaron 180 ml de BPW.
2. Se homogenizo durante 5 min en zaranda.

3. En tubos de ensaye de 16 x 150 mm con 9 ml de BPW previamente esterilizados se realizaron las diluciones seriadas hasta la dilución  $10^{-10}$  siguiendo la metodología indicada por las Normas Oficiales Mexicanas (NOM) para la preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
4. Se tomaron las placas necesarias del sobre para la identificación y conteo de mesófilos, coliformes y E.coli y se identificaron de acuerdo a la dilución y muestra correspondientes.
5. Se sembró 1 ml de la dilución y muestra correspondiente en la almohadilla de la placa, de acuerdo a las diluciones del Cuadro 13.
6. Una vez realizada la siembra se metieron a incubar a  $35^{\circ}\text{C}$  y el conteo se realizó pasadas las 24 y 48 horas.
7. Se identificaron y contaron la colonias que crecieron en la almohadilla después de la incubación. La identificación para cada colonia típica se realizó de acuerdo al Cuadro 14.

Cuadro 13. Diluciones utilizadas en las muestras.

Muestra	Mesofilos.	Coliformes.	E.coli.
Leche	$10^3, 10^4, 10^5$	$10^1, 10^2, 10^3$	$10^1, 10^2, 10^3$
Pollinaza sola y AFBP 0h	$10^3, 10^4, 10^5$	$10^3, 10^4, 10^5$	$10^3, 10^4, 10^5$
AFBP y ASFBG	$10^3, 10^4, 10^5$	$10^1, 10^2, 10^3$	$10^1, 10^2, 10^3$

AFBP 0h: alimento fermentado base pollinaza cero horas (antes de fermentar); AFBP: alimento fermentado a base de pollinaza; ASFBG: alimento sin fermentar a base de granos.

Cuadro 14. Identificación de colonias típicas de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

Microorganismo.	Colonias.
Mesófilos	Rojas
Coliformes	Azules-verdes
<i>E. coli</i>	Violetas-rojizas

#### 4.9. Análisis de composición nutricional de la leche.

Los análisis de la composición nutricional de la leche incluyeron grasa, proteína, lactosa y solidos no grasos se realizaron utilizando el Milk Analaizer Lactoscan pantalla LCD 4 líneas x 16 caracteres el cual es un equipo portátil analizador de leche que trabaja mediante la tecnología del

ultrasonido. La metodología empleada fue la especificada por el fabricante. Básicamente consiste en colocar una muestra representativa en un vasito el cual es colocado en el compartimento del aparato donde es succionada la leche, y se selecciona la tecla “enter”. El aparato aspira un poco de la muestra (15ml), efectúa la medición la cual dura 60 segundos y el analizador muestra los resultados en la pantalla.

#### **4.10. Análisis de células somáticas y de presencia de antibióticos en leche.**

El análisis de células somáticas (CS) en leche se realizó utilizando el equipo DeLaval® Cell Counter (DDC), el cual cuenta las células ópticamente y de forma automática. La metodología empleada fue la indicada por el fabricante. El principio se basa en aspirar una pequeña cantidad de leche en un cassette desechable el cual viene incluido en el kit, este cassette contiene un reactivo fluorescente específico del ADN el cual tiñe a las células con núcleo (células somáticas) presentes en la leche, este cassette es introducido al DCC el cual cuenta con una cámara digital la cual toma una fotografía de las células que se tiñen, las cuenta y muestra los resultados expresados en CS/ $\mu$ l de leche en una pantalla en 45 segundos, en este caso se realizó una transformación para tener los resultados en CS/ml.

Los análisis para la presencia de residuos de antibióticos en leche se realizó empleando el Kit Delvotest® SP- NT la cual es una prueba de difusión estándar para la detección de los residuos de sustancias antibacterianas (tales como antibióticos y sulfonamidas) en leche. La prueba consiste de ampollitas que contienen al medio sólido agar sembrado de un número estandarizado de las esporas de *Bacillus stearothermophilus var. Calidolactis*, junto con nutrientes requeridos para el crecimiento y un antifolato trimetoprim. El medio es coloreado púrpura por el indicador de pH púrpura de bromocresol. Las muestras de leche que están libres de sustancias antibacterianas, o las que contienen debajo de niveles especificados, cuando se les hace la prueba permiten la germinación y el crecimiento de la bacteria. Esto conducirá a un cambio en colores del indicador de púrpura a amarillo. Cuando la muestra de leche contiene sustancias antibacterianas el crecimiento es inhibido y como resultado el color permanece púrpura. Se empleó la metodología descrita por el fabricante la cual es la siguiente:

1. Cortar con tijeras el número requerido de ampollitas.
2. Abrir las ampollas realizando un agujero en la parte de la lámina.

3. Identificar debidamente las ampollas.
4. Tomar una pipeta desechable (incluida en el kit). Utilizar una pipeta individual por cada muestra de leche y tener cuidado de no tocar el extremo de la punta que estará en contacto con la leche.
5. Añadir la leche en la pipeta apretando una vez la pera superior más pequeña, sostenerlo y mojar la punta en 1 cm de la muestra de leche y soltar la presión sobre la pera, lo cual permitirá tomar la cantidad adecuada de leche para la prueba (0.1 ml).
6. Transferir las muestras de leche suavemente y totalmente apretando el mismo bulbo superior, añadiendo la leche directamente en el medio de agar.
7. Comprobar la temperatura de la mini incubadora (incluida en el kit) la cual debe de estar a  $64^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y poner a incubar las ampollas con las muestras de leche por 3 horas.
8. Leer el color del agar solido en los 2/3 finales de la ampolla una vez transcurrido el tiempo requerido.

#### **4.11. Análisis sensorial.**

Las muestras de leche obtenidas de manera grupal y que fueron transportadas a la DACA se pasteurizaron inmediatamente en el laboratorio de evaluación sensorial mediante el procedimiento de pasteurización lenta a  $65^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos y posterior disminución de la temperatura hasta  $5^{\circ}\text{C}$  para su análisis. Cabe mencionar que el laboratorio de análisis sensorial cuenta con cabinas individuales provistas de luz incandescente en un área con temperatura controlada ( $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), condiciones necesarias para la aplicación correcta de las pruebas sensoriales.

En este trabajo de investigación se utilizaron pruebas discriminativas y pruebas descriptivas. Las pruebas discriminativas permiten identificar diferencias entre dos muestras, y en este caso se aplicaron dos tipos, la prueba triangular y la prueba dúo-trío, con la finalidad de comparar los resultados obtenidos en cada una, dadas sus diferencias en cuanto al nivel de probabilidad de acertar por azar (33.3 y 50%, respectivamente) en la identificación de la muestra diferente.

Para la aplicación de dichas pruebas se siguieron los procedimientos descritos en la norma 10399 y 4120 del sistema ISO, que establecen los métodos estándar para el análisis sensorial mediante la prueba dúo-trío y prueba triangular, respectivamente (formatos en Anexo 1 y 2).

Asimismo, dado que uno de los objetivos dentro de las pruebas sensoriales fue identificar características específicas del producto y posibles defectos inducidos por la dieta de los animales,

se llevó a cabo una evaluación sensorial descriptiva empleando la prueba de análisis descriptivo cuantitativo ADQ, la cual requiere de jueces entrenados para la cuantificación de la intensidad de los atributos de interés.

#### **4.11.1 Selección de jueces para la prueba descriptiva.**

Se llevó a cabo un reclutamiento interno en la DACA, para lo cual se aplicaron 30 cuestionarios a los maestros de la División, la pre-selección se realizó con base al interés, disponibilidad, salud, hábitos y preferencias alimenticias. Los candidatos preseleccionados fueron evaluados en cuanto a percepción e identificación de gustos básicos, detección del umbral de gustos básicos, identificación de olores y capacidad discriminante de estímulos de color, olor, textura, dulzor y acidez, mediante aplicación de pruebas triangulares para lo cual se prepararon muestras estándar de acuerdo con los procedimientos establecidos por la Agencia Española de Normalización (AENOR, 1997). La selección final se realizó en base en los resultados de un análisis secuencial (Meilgaard, 1999) y el panel quedó conformado por once jueces (6 hombres y 5 mujeres).

#### **4.11.2 Descriptores de la leche entera de vaca.**

Se prepararon muestras de leche con diferentes características y se procedió a definir los términos para describir los atributos y características relevantes del producto. En primera instancia, se generó individualmente una lista de términos, las listas individuales fueron analizadas utilizando el método check list (Moskowitz, 1983) para identificar los eliminar términos repetidos y/o redundantes y así obtener una lista inicial de términos propuestos por los jueces. A partir de la lista de términos propuestos por los jueces y de la revisión de términos utilizados en trabajos de investigación previos, se seleccionaron los descriptores para integrar una primera versión de la planilla de evaluación. Esta fue analizada y discutida en una sesión de trabajo con los jueces para aclarar las dudas y definir los términos por consenso, a partir de esta y las sesiones siguiente la planilla de evaluación se fue modificando para integrar los descriptores de interés en el producto y en el estudio, e incluir las aclaraciones necesarias para la adecuada interpretación de los términos. Una vez integrada la planilla (Anexo 3) para la evaluación sensorial descriptiva de la leche de las vacas suplementadas con un AFBP y ASFBG, se procedió a la fase de entrenamiento de los jueces.

#### **4.11.3 Entrenamiento y calibración de jueces para la prueba descriptiva.**

El entrenamiento se llevó a cabo mediante la evaluación de muestras con diferentes características sensoriales, usando la planilla generada previamente. Las diferencias entre las muestras fueron inducidas para evaluar la percepción de características como sabor característico, extraño, dulce, etc. Asimismo, se incluyeron muestras de leche recién ordeñada pasteurizada y leche entera comercial para evaluar el desempeño de los jueces en la identificación y cuantificación de los atributos. Los resultados de cada sesión se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza para detectar diferencias significativas entre los jueces. Una vez que el análisis de varianza no indicó diferencias entre los jueces, se consideró que el panel estaba calibrado y listo para la evaluación de las muestras de leche de los tratamientos de interés en el estudio.

#### **4.11.4 Preparación y evaluación de las muestras en la prueba descriptiva.**

Las muestras de leche de las vacas suplementadas con AFBP y ASFBG fueron servidas en vasitos de vidrio con un volumen de 40 ml codificados con números aleatorios de tres dígitos generados en el programa Excel usando la función aleatoria.

El orden de la evaluación de las características se realizó conforme a la planilla mencionada anteriormente (Anexo 3). La intensidad de cada atributo se indicó colocando una marca sobre la escala lineal no estructurada de 10 cm, con los términos ubicados a cada extremo de la línea. La cuantificación de las respuestas se hizo midiendo la distancia (en centímetros) desde el ancla izquierda hasta la marca señalada por el panelista. Todas las muestras se mantuvieron a una temperatura de 12 °C para la evaluación. Entre una muestra y otra se instruyó a los jueces a tomar sorbos de agua natural para eliminar efectos de la muestra anterior.

Con base en los resultados correspondientes a los valores promedio para cada característica, se elaboraron las gráficas de tela de araña correspondientes al ADQ, que describen el perfil sensorial del producto.

#### **4.12. Análisis de ingreso neto por concepto de suplementación.**

Primero se obtuvo los ingresos por venta de la leche, multiplicando la cantidad de leche producida por vaca por el precio de venta de 1 Kg (\$6.00 pesos) de leche al quesero en el lugar de producción. Después se obtuvo el costo por concepto de suplementación, multiplicando el consumo del

alimento por vaca en base húmedo por el costo de 1 kg alimento. El ingreso neto se obtuvo por la diferencia del ingreso por venta y el costo de la suplementación.

#### **4.13. Análisis estadísticos.**

Las variables de composición química del pasto, de los alimentos, pH y mesófilos aerobios, coliformes totales, *E.coli* en la pollinaza sola, AFBP 0h, AFBP y ASFBG se analizaron mediante un análisis de varianza para un diseño completamente al azar, usando el PROC GLM de SAS versión 9.4 y para las comparaciones de medias se empleó la prueba de Tukey.

Los variables de producción de leche, consumo de los suplementos, mesófilos aerobios, Coliformes totales, CS y composición nutricional de la leche fueron analizados mediante un análisis de varianza con el procedimiento PROC MIXED del software para análisis estadístico SAS versión 9.4. Los valores de mesófilos aerobios y coliformes fueron transformados a base  $\text{Log}_{10}(Y+1)$ , así mismo, los valores de CS fueron transformados a base  $\text{Log}_{10}$ .

Los datos obtenidos correspondientes a las pruebas discriminativas, se analizaron contabilizando el número de aciertos y comparando éste con el número mínimo requerido para establecer diferencia significativa entre las muestras en una prueba triangular y dúo-trío, de acuerdo con Roessler *et al.* (1978), a un nivel de significancia de 0.05 (Anexo 4). Los datos de la evaluación sensorial para la prueba ADQ se analizaron mediante estadística descriptiva y un análisis de varianza para un diseño completamente al azar, para determinar diferencias significativas entre las dos muestras de leche evaluadas. Se realizó una prueba de comparación de medias de Tukey ( $p=0.05$ ) para determinar dichas diferencias.

## V. RESULTADOS

### 5.1. Composición química del pasto y de los alimentos.

En el Cuadro 15 se muestran los resultados de la composición química promedio y la desviación estándar del pasto *Brachiaria humidicola* y en el Cuadro 16 la composición química de los alimentos, los resultados muestran que el ASFBG contenía mayores porcentajes ( $p < 0.001$ ) de MS, PC, MO y DIMS y de FDN ( $p < 0.05$ ). Por otra parte, el AFBP tuvo mayor ( $p < 0.001$ ) porcentaje de cenizas y de FDA ( $p < 0.05$ ).

Cuadro 15. Composición química (g/kg de MS) del pasto *Brachiaria humidicola* en los potreros donde pastaban las vacas.

MS <sup>1</sup>	PC <sup>2</sup>	MO <sup>3</sup>	CENIZAS	FDN <sup>4</sup>	FDA <sup>5</sup>	DIMS <sup>6</sup>
260.4	51.1	900.6	99.4	757.6	393.5	589.9
±19.6	±3.4	±9.6	±9.6	±15.4	±14.2	±11.7

<sup>1</sup>MS: Materia seca; <sup>2</sup>PC: Proteína cruda; <sup>3</sup>MO: Materia orgánica; <sup>4</sup>FDN: Fibra detergente neutro; <sup>5</sup>FDA: Fibra detergente ácido; <sup>6</sup>DIMS: Degradación *in situ* de la materia seca.

Cuadro 16. Composición química (g/kg de MS) de los suplementos.

Factor	TRATAMIENTOS		EEM
	AFBP <sup>1</sup>	ASFBG <sup>2</sup>	
pH	5.45 <sup>a</sup>	5.42 <sup>a</sup>	0.067
Materia seca	746.6 <sup>b</sup>	885.7 <sup>a</sup>	31.2**
Proteína cruda	150.2 <sup>b</sup>	180.3 <sup>a</sup>	3.9**
Materia orgánica	831.8 <sup>b</sup>	919.5 <sup>a</sup>	11.4**
Cenizas	168.1 <sup>a</sup>	80.4 <sup>b</sup>	11.4**
Fibra detergente neutro	261.9 <sup>b</sup>	307.2 <sup>a</sup>	8.9*
Fibra detergente ácido	168.4 <sup>a</sup>	148.7 <sup>b</sup>	4.2*
Degradación <i>in situ</i> MS	690.2 <sup>b</sup>	824.4 <sup>a</sup>	22.6**

<sup>ab</sup>Medias con diferentes literales en la misma fila indican diferencia estadística ( $p < 0.05$ ). \* ( $p < 0.05$ ), \*\* ( $p < 0.001$ ).

<sup>1</sup>AFBP: Alimento fermentado a base de pollinaza; <sup>2</sup>ASFBG: Alimento sin fermentar a base de granos.

### 5.2. Resultados microbiológicos en los alimentos.

En relación a las características microbiológicas, en el Cuadro 17 se observa que la pollinaza sola y a la hora de la mezcla con los otros ingredientes (AFBP 0h), tienen mayor ( $p < 0.05$ ) cantidad de

microorganismos, sin embargo a los 20 días de fermentación, se observa una disminución para mesófilos aerobios, coliformes y *E.coli*. No se encontraron diferencias entre el AFBP y ASFBG. Los resultados para la detección de *Salmonella spp.*, fueron positivos en todos los casos (cuadro 17).

Cuadro 17. Características microbiológicas de los alimentos.

	P <sup>1</sup>	AFBP 0h <sup>2</sup>	AFBP <sup>3</sup>	ASFBG <sup>4</sup>	EE <sup>±</sup>
Mesófilos aerobios (Log <sub>10</sub> UFC ml <sup>-1</sup> )	7.26 <sup>a</sup>	6.47 <sup>a</sup>	5.18 <sup>b</sup>	4.24 <sup>b</sup>	0.326**
Coliformes totales (Log <sub>10</sub> UFC ml <sup>-1</sup> )	5.25 <sup>a</sup>	4.49 <sup>b</sup>	2.34 <sup>c</sup>	3.05 <sup>c</sup>	0.306**
<i>E. coli</i> (Log <sub>10</sub> [Y+1] UFC ml <sup>-1</sup> )	5.08 <sup>a</sup>	4.24 <sup>a</sup>	0.78 <sup>b</sup>	1.24 <sup>b</sup>	0.497**
<i>Salmonella spp.</i>	+	+	+	+	

<sup>abcd</sup>Medias con diferentes literales en la misma fila indican diferencia estadística (p <0.05); \* (p <0.05), \*\* (p <0.001); (+) Indica positivo a la prueba; <sup>1</sup>P: Solo pollinaza; <sup>2</sup>AFBP OH: Alimento fermentado a base de pollinaza con 0 horas de fermentación; <sup>3</sup>AFBP: Alimento fermentado a base de pollinaza; <sup>4</sup>ASFBG: Alimento sin fermentar a base de granos.

### 5.3. Consumo de los alimentos, producción y composición nutricional de la leche.

Con relación al consumo de los alimentos, cuando se expresa en base húmeda, no hay diferencias, sin embargo, cuando se expresa en base seca, si hubo diferencias (p <0.001), el ASFBG tuvo mayor consumo. Con relación a la producción de leche, las vacas que consumieron el ASFBG tuvieron mayor (p <0.05) producción de leche. En relación a sus componentes nutricionales no se encontró diferencias (Cuadro 18).

### 5.4. Calidad sanitaria de la leche.

No se encontró diferencias entre los tratamientos estudiados para las variables: células somáticas en la leche, mesófilos aerobios y coliformes totales. No se encontró *E. Coli* en la leche de las vacas y las pruebas en leche fueron negativas para *Salmonella spp.*, y antibióticos (Cuadro 19).

### 5.5. Calidad sensorial de la leche.

No se encontró diferencia sensorial perceptible en la prueba dúo-trío en las leches de las vacas suplementadas con los AFBP y ASFBG en ningún muestreo de los dos periodos. Con relación a

la prueba triangular, no se encontró diferencias en los dos muestreos del periodo uno, sin embargo, en el periodo dos, se encontró diferencias en el muestreo uno y dos (Cuadro 20). En la prueba ADQ no se encontraron diferencias para ninguno de los 24 atributos estudiados en la leche de las vacas suplementadas con AFBP y ASFBG (Figura 3).

Cuadro 18. Consumo de los alimentos, producción y composición nutricional de la leche de vacas suplementadas.

	TRATAMIENTOS		EEM <sup>3</sup>
	AFBP <sup>1</sup>	ASFBG <sup>2</sup>	
Consumo de alimento, Kg BH vaca <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup>	3.66 <sup>a</sup>	3.84 <sup>a</sup>	0.176
Consumo de alimento, Kg MS vaca <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup>	2.73 <sup>b</sup>	3.40 <sup>a</sup>	0.132**
Producción de leche, Kg vaca <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup>	6.80 <sup>b</sup>	7.62 <sup>a</sup>	0.589*
Grasa, g/kg L <sup>-1</sup>	11.58 <sup>a</sup>	10.90 <sup>a</sup>	1.389
Proteína cruda, g/kg L <sup>-1</sup>	33.33 <sup>a</sup>	33.67 <sup>a</sup>	0.478
Lactosa, g/kg L <sup>-1</sup>	46.77 <sup>a</sup>	47.31 <sup>a</sup>	0.718
Sólidos no grasos, g/kg L <sup>-1</sup>	85.14 <sup>a</sup>	86.07 <sup>a</sup>	1.312

<sup>ab</sup>Medias con diferentes literales en la misma fila indican diferencia estadística (p<0.05). \*(p<0.05), \*\*(p<0.001).

<sup>1</sup>AFBP: Alimento fermentado a base de pollinaza; <sup>2</sup>ASFBG: Alimento sin fermentar a base de grano.

Cuadro 19. Calidad sanitaria de la leche de vacas suplementadas.

	TRATAMIENTOS		EEM <sup>3</sup>
	AFBP <sup>1</sup>	ASFBG <sup>2</sup>	
Células somáticas (Log <sub>10</sub> CS ml <sup>-1</sup> )	4.7420 <sup>a</sup>	4.7969 <sup>a</sup>	0.1645
Mesofilos aerobios (Log <sub>10</sub> [Y+1] UFC ml <sup>-1</sup> )	1.3229 <sup>a</sup>	1.6454 <sup>a</sup>	0.3589
Coliformes totales (Log <sub>10</sub> [Y+1] UFC ml <sup>-1</sup> )	0.9034 <sup>a</sup>	0.6980 <sup>a</sup>	0.4073
E.coli (UFC ml <sup>-1</sup> )	0	0	-----
<i>Salmonella</i> spp	-	-	-----
Antibióticos	-	-	-----

<sup>ab</sup>Medias con diferentes literales en la misma fila indican diferencia estadística (P <0.05); (-) indica negativo a la prueba; <sup>1</sup>AFBP: Alimento fermentado a base de pollinaza; <sup>2</sup>ASFBG: Alimento sin fermentar a base de grano; <sup>3</sup>EEM: Error estándar de la media.

Cuadro 20. Número de acierto en las pruebas discriminativas para el AFBP y ASFBG en las cuatro evaluaciones realizadas en los dos periodos.

	Dúo-trío		Triangular	
	Nº de respuestas correctas del total de pruebas	Valor-p*	Nº de respuestas correctas del total de pruebas	Valor-p*
P1M1 <sup>1</sup>	14/30	>0.05	11/30	>0.05
P1M2 <sup>2</sup>	17/30	>0.05	10/30	>0.05
P2M1 <sup>3</sup>	12/25	>0.05	13/25	<0.05
P2M2 <sup>4</sup>	12/25	>0.05	17/25	<0.05

<sup>1</sup>P1M1: Periodo uno muestreo uno; <sup>2</sup>P1M2: Periodo uno muestreo dos; <sup>3</sup>P2M1: Periodo dos muestreo uno; <sup>4</sup>P2M2: Periodo dos muestreo dos; \*(p<0.05) de acuerdo a Roessler *et al.* (1978).

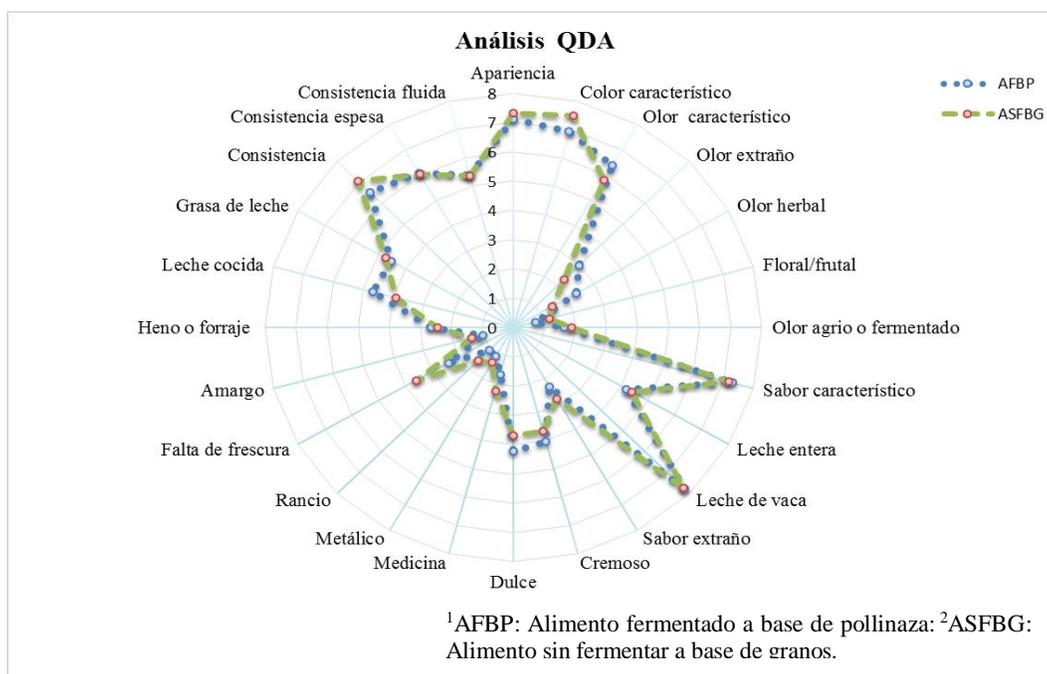


Figura 3. Perfil sensorial de la leche proveniente de las vacas suplementadas con el AFBP y ASFBG.

### 5.6. Análisis de ingreso neto por concepto de suplementación.

En el Cuadro 21 se muestran los costos de suplementación por vaca, los ingresos por la venta de la leche y el ingreso neto siendo este mayor para AFBP.

Cuadro 21. Análisis de ingreso neto por concepto de suplementación.

CONCEPTO	TRATAMIENTOS	
	AFBP <sup>1</sup>	ASFBG <sup>2</sup>
Producción de leche, vaca día <sup>-1</sup>	6.80	7.62
Ingreso por venta de la leche, \$ 6.00 Kg leche <sup>-1</sup>	40.8	45.72
Consumo de alimento, Kg BH vaca <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup>	3.66	3.84
Costo del suplemento, \$ Kg <sup>-1</sup>	3.15	4.62
Costo de la suplementación, \$ vaca <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup>	11.52	17.74
Ingreso neto, \$ vaca <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup>	29.28	27.98
Ingreso neto, \$ vaca <sup>-1</sup> mes <sup>-1</sup>	878.4	839.4

<sup>1</sup>AFBP: Alimento fermentado a base de pollinaza; <sup>2</sup>ASFBG: Alimento sin fermentar a base de granos; Los costos de los ingredientes fueron de abril 2015.

## VI. DISCUSIÓN

El contenido de PC del pasto *Brachiaria humidicola* estuvo por debajo de lo reportado por Cardona *et al.* (2002) y Meléndez (2000), ellos reportan niveles de PC de 60 g Kg de MS<sup>-1</sup> en relación a los 51.1 g Kg de MS<sup>-1</sup> de nuestro estudio. En los forrajes de mala calidad como el de nuestro estudio, Lazzarini *et al.* (2009) señalan que la suplementación con nitrógeno es fundamental, ya que cuando la PC es menor a 70 g kg de MS<sup>-1</sup>, se limita la degradación de la fibra del pasto y la síntesis de proteína microbiana en el rumen.

Piñeiros *et al.* (2012) indica que la MS de los alimentos ensilados es resultado de la composición bromatológica de los componentes utilizados. En este caso la MS del AFBP fue menor que el ASFBG, 746.6 vs 885.7 g kg de MS<sup>-1</sup> respectivamente, la cual se debe a que al AFBP se le agregó 12% del inoculo microbiano que es un fermento líquido con alto porcentaje de humedad (83%).

El porcentaje de PC obtenido en el análisis químico del AFBP estuvo dentro del margen para el cual fue formulado, sin embargo, el ASFBG estuvo por encima de lo formulado, esto pudo deberse a la variación de PC de las materias primas utilizadas. Los niveles de MO depende fundamentalmente del porcentaje de cenizas, en este caso el contenido de cenizas fue mayor en el AFBP que en el ASFBG (168.4 vs 80.4 g/kg MS) esta gran diferencia se debe a que la pollinaza es una fuente importante de minerales (Van Ryssen y Mavimbela, 1999; Segura *et al.*, 2000; Pinto-Ruiz *et al.* 2012). El mayor nivel de FDN en ASFBG puede deberse a el elevado porcentaje de salvado de trigo utilizado para su elaboración, ya que esta materia prima contiene entre 350 y 400 g kg MS<sup>-1</sup> de FDN (FEDNA, 2011). El mayor contenido de FDA y la menor DIMS en el AFBP puede deberse a la pollinaza debido al tipo de fibra utilizado como material para la cama de los pollos.

La alta carga microbiológica presente en la pollinaza sola y en el AFBP a la hora de la mezcla (AFBP 0h) disminuyó durante el proceso de fermentación. Esto se debe a que durante este proceso se producen ácidos orgánicos los cuales afectan a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, así como levaduras y mohos, estos ácidos interfieren con el mantenimiento del potencial de la membrana celular inhibiendo el transporte activo, reduciendo el pH intracelular y la inhibición de una variedad de funciones metabólicas (Savadogo, 2012). En estudios realizados por Al-Rokayan *et al.* (1998), Baksh y Fontenot (1998), Chaudhry *et al.* (1998) se ha logrado eliminar por completo a los coliformes totales, *E. coli* y *Salmonella spp.*, en nuestro estudio la fermentación logro disminuir a los coliformes y *E.coli*, lo cual comprueba los beneficios de la fermentación en el

control de microorganismos indeseables, sin embargo, no los elimino por completo. *Salmonella spp.*, no logro ser eliminada por el proceso de fermentación. Al respecto Bush *et al.* (2007) menciona que para la eliminación de Salmonella en la pollinaza hay que tener en cuenta varios factores como la temperatura, humedad, pH y concentración de amoniaco.

La cantidad de suplemento rechazado por parte de las vacas que consumían AFBP fue baja, lo anterior sugiere que el AFBP es un suplemento palatable para las vacas debido a que durante el proceso de SSF de la pollinaza, el olor del amoniaco ( $\text{NH}_3$ ), característico en la pollinaza fresca, desaparece, lo anterior puede deberse a la conversión del  $\text{NH}_3$  a amonio ( $\text{NH}_4$ ), por la disminución del pH provocado por los ácidos orgánicos producidos por las bacterias ácido lácticas durante el proceso de SSF; este efecto fue reportado también por Ramos *et al.* 2013. Ríos de Álvarez *et al.* (2005), mencionan que el  $\text{NH}_3$  de la pollinaza fresca, disminuye el consumo voluntario. La pollinaza fresca tiene un pH alcalino (8.03), por lo cual el  $\text{NH}_3$  es volátil y podría afectar las características sensoriales de la leche, pues ésta absorbe olores con gran facilidad.

La mayor producción de leche en las vacas suplementadas con el ASFBG se debe al mayor consumo de MS y a la mejor composición química en comparación con el AFBP. Matenga *et al.* (2003) mencionan que la producción de leche se ve afectada por muchos factores, sin embargo, la cantidad de proteína en la dieta del animal juega un papel importante, en este sentido, el ASFBG le aportó 613 g de proteína a las vacas y el AFBP solo aportó 410 g. La energía es otro nutriente importante en la producción de leche, si consideramos que la DIMS de los suplemento fue de 69.02 y de 82.4% para AFBP y ASFBG, respectivamente, aplicando la fórmula del ARC (1980), para calcular la energía metabolizable del suplemento [ $\text{TND} = (\text{DIMS} \times \% \text{MO})/100$ ;  $\text{EM} = (\text{TND} \times 3.616)/100$ ], el ASFBG tuvo 2.74 Mcal/kg de MS y le aportó 9.31 Mcal a las vacas, mientras que el AFBP tuvo 2.07 Mcal/kg MS y solo les aportó 5.65 Mcal.

Muia *et al.* (2000), reportaron una producción de leche de 5.9 Kg  $\text{dia}^{-1}$  en vacas suplementadas con un alimento a base de pollinaza (40 %), germen de maíz (36 %), harina de girasol (23 %) y premezcla mineral (1 %). Ibrahim *et al.* (2001), reportaron producción de leche de 5.9 Kg  $\text{dia}^{-1}$  en vacas suplementadas con pollinaza y melaza y 6.0 Kg  $\text{dia}^{-1}$  en vacas suplementadas con pollinaza, caña de azúcar y salvado de trigo. Los datos anteriores son ligeramente inferior a los que se obtuvo en nuestro estudio cuando las vacas se suplementaron con el AFBP (6.80 Kg  $\text{vaca}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ ).

La nutrición es el principal factor que afecta a las concentraciones de grasa de leche, suplementos ricos en almidón y menor contenido de fibra se asocian con cambios en el contenido de grasa en

la leche (Muia *et al.*, 2000; Shingfield y Griinari, 2007), en este estudio la grasa fue similar en la leche de las vacas suplementadas con un AFBP y ASFBG, sin embargo, el contenido de grasa en ambos tratamientos están muy por debajo de lo especificado por la norma NOM-155-SCFI-2003 ( $\geq 32$  g/L) y por debajo de lo reportado por otros autores cuando han utilizado pollinaza como dieta base. Muia *et al.* (2000) utilizó suplementos con 40 % de pollinaza sin fermentar y el contenido de grasa en la leche fue de 36 g/Kg. Las razones por el cual el contenido de grasa fue bajo en este estudio, se desconocen, sin embargo, debido a que el efecto está presente con ambos tratamientos, se puede suponer que es provocado por otros factores (pasto, genética de los animales, ambiente, etc.) que no están relacionados con los suplementos utilizados en esta investigación. El contenido de PC, lactosa y sólidos no grasos se encuentran dentro de los rangos establecidos por la NOM-155-SCFI-2003. El porcentaje de proteína y sólidos no grasos de las vacas suplementadas con AFBP, son mayores a los reportados por Muia *et al.* (2000).

El conteo de células somáticas en este trabajo fue de 54,954 CS/ml para la leche de las vacas suplementadas con AFBP y 61,659 con ASFBG y de acuerdo a la Norma Mexicana PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012, la leche obtenida con ambos tratamientos se clasifica como clase 1 ( $\leq 400\ 000$  CS/ml), lo cual es un buen indicador de calidad en cuanto a esta variable.

El conteo de bacterias mesófilas aerobias en la leche de las vacas suplementadas con el AFBP y el ASFBG fue de 21 UFC/ml y 44 UFC/ml, respectivamente, los cuales están dentro del rango establecido por la norma NMX-F-700-COFOCALEC-2012, clasificándose en ambos casos como leche clase 1 ( $\leq 100\ 000$  UFC/ml). Los bajos conteos de UFC en ambos casos se puede deber a que la leche fue obtenida directamente de la vaca y con los adecuados cuidados de asepsia.

Los coliformes totales en la leche de las vacas suplementadas con el AFBP y el ASFBG fue de 8 UFC/ml y 5 UFC/ml respectivamente y están dentro de los rangos señalados por la norma NOM-243-SSA1-2010, en esta norma el límites máximos para coliformes totales es de 10 UFC/ml.

*E. coli* no se encontró en la leche y las pruebas para *Salmonella spp.*, y para antibióticos fueron negativas en ambos tratamientos, lo cual indica buena calidad sanitaria en la leche.

Ríos de Álvarez *et al.* (2005) mencionan que existe cierto rechazo en el uso de la pollinaza en los animales en lactación ante la sospecha de que los posibles elementos tóxicos, residuos de medicamentos y microorganismos patógenos contenidos en ella, pueda contaminar la leche y afectar la calidad de los subproductos que se elaboren a partir de ésta. Sin embargo, la literatura no es uniforme y concluyente sobre estas sospechas y la información es particularmente escasa,

por lo que parece necesario continuar investigando sobre este aspecto antes de emitir una conclusión definitiva. En este trabajo los resultados obtenidos demuestran que la leche de las vacas suplementadas con un AFBP no fue afectada en cuanto a su calidad sanitaria.

El hecho de no encontrar diferencias perceptibles entre la leche de vacas suplementadas con el AFBP y ASFBG en la mayoría de las pruebas discriminativas realizadas, puede estar relacionados a que ambas leches, tuvieron similar contenido de grasa. Frost *et al.* (2001) mencionan que hay evidencias de que la grasa es el principal componente que afecta las características sensoriales de la leche. Así mismo, los bajos contenidos de grasa en las leche concuerdan con la baja intensidad percibida por los jueces para este atributo en la prueba ADQ.

Cualquier variación ocurrida en el segundo periodo experimental de este trabajo pudo ocasionar que los jueces detectaran diferencias sensoriales perceptibles entre las muestras con la prueba triangular, el hecho de encontrar diferencias entre las muestras con esta prueba y no con la prueba dúo-trío en el segundo periodo puede deberse a la mayor probabilidad de acertar por azar con la prueba dúo-trío (50%).

Olivas-Gastelum *et al.* (2009) mencionan que las pruebas discriminativas como la triangular y dúo-trío permiten establecer si hay o no diferencias entre dos muestras, independientemente de la razón por la cual se podría generar esta. Por otro lado, Lawless y Heymann (2010) mencionan que las técnicas descriptivas pueden ser muy valiosas cuando se deben de definir los aspectos sensoriales de un problema. En este trabajo aunque en la prueba triangular hubieron diferencias perceptibles sensoriales entre la leche de las vacas suplementadas con AFBP y ASFBG, con la prueba descriptiva se pudo comprobar que estas diferencias no se deben a algún efecto negativo que el AFBP pueda transferirle a la leche en cuanto a sabor extraño, amargo, rancio, medicina, así como para olor extraño, agrio o fermentado, floral o frutal; las cuales muestran intensidades perceptibles muy bajas y sin diferencias entre la leche de los dos tratamientos.

Aunque la producción de leche fue mayor con el ASFBG se obtuvo un mayor ingreso neto con el AFBP debido al menor costo de suplementación consecuencia del bajo costo del alimento por la inclusión de la pollinaza. Es importante tomar en cuenta que en este trabajo ambos suplementos fueron preparados en la unidad de producción, razón por la cual el ASFBG tiene un costo relativamente bajo en comparación con un concentrado comercial con las mismas características nutricionales las cuales no siempre se encuentran en las concentraciones especificadas por el fabricante.

## VII. CONCLUSIÓN

- La producción de leche en las vacas suplementadas con el alimento fermentado en estado sólido a base de pollinaza fue 10.77 % menor a la de las vacas suplementadas con el alimento sin fermentar a base de grano.
- El contenido nutricional de la leche de las vacas suplementadas con el alimento fermentado en estado sólido a base de pollinaza fue similar a la de las vacas suplementadas con el alimento sin fermentar a base de grano.
- La calidad sanitaria de la leche de las vacas suplementadas con el alimento fermentado en estado sólido a base de pollinaza fue similar a la de las vacas suplementadas con el alimento sin fermentar a base de grano y de acuerdo a las Normas Mexicanas, se clasifican como leche de calidad.
- La calidad sensorial de la leche de las vacas suplementadas con el alimento fermentado en estado sólido a base de pollinaza fue similar a la de las vacas suplementadas con el alimento sin fermentar a base de grano.

## VIII. LITERATURA CITADA

- AENOR. 1997. Análisis sensorial. Tomo 1: Alimentación. Recopilación de normas UNE. AENOR, Madrid, España.
- Aguilar-Pérez, C., J. Ku-Vera., F. Centurión-Castro., and P.C. Garnsworthy. 2009. Energy balance, milk production and reproduction in grazing crossbred cows in the tropics with and without cereal supplementation. *Livestock Science*. 122: 227–233.
- Al-Rokayan, S.A., Z. Naseer., and S.M. Chaudhry. 1998. Nutritional quality and digestibility of sorghum-broiler litter silages. *Animal Feed Science and Technology*. 75:65-73.
- Alvarez, V. 2009. Fluid Milk and Cream Products. *In: The Sensory Evaluation of Dairy Products* Clark S, Costello M, Drake M, Bodyfelt F. (eds). Springer-Verlag New York.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. 18<sup>th</sup> Ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
- ARC (Agricultural Research Council). 1980. The nutrient requirements of ruminant livestock. Farnham Royal, Common. Agric. Bur.
- Argel, P.J. 2006. Contribución de los forrajes mejorados a la productividad ganadera en sistemas de doble propósito. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*. 14 (2): 65-72.
- Bakshi, M.P.S., J.P. Fontenot. 1998. Processing and nutritive evaluation of broiler litter as livestock feed. *Animal Feed Science and Technology*. 74:337-345.
- Bandyk, C.A., R.C. Cochran., T.A. Wickersham., E.C. Titgemeyer., C.G. Farmer and J.J. Higgins. 2001. Effect of ruminal vs postruminal administration of degradable protein on utilization of low-quality forage by beef steers. *Journal of Animal Science*. 79:225-23.
- Bolan, N.S., A.A. Szogl., T. Chuavasathi., B. Seshadri., J.R.M. Rothrock., and P. Panneerselvam. 2010. Uses and management of poultry litter. *Poultry Science*. 66 (12):673-698.
- Boval, M., and R.M. Dixon. 2012. The importance of grasslands for animal production and other functions: a review on management and methodological progress in the tropics. *Animal*. Vol. 6 (5): 748–762.
- Bush, D.J., M.H. Poore, G.M. Rogers., C. Altier. 2007. Effect of stacking method on *Salmonella* elimination from recycled poultry bedding. *Bioresource Technology* 98:571–578.
- Campos, A.F., O.G. Pereira., K.G. Ribeiro., S.A Santos and S. de C. Valadares. 2014. Impact of replacing soybean meal in beef cattle diets with inactive dry yeast, a sugarcane by-product of ethanol distilleries and sugar mills. *Animal Feed Science and Technology*. 190:38-46.

- Cardona, M.G., J. D. Sorza., S.L. Posada., J.C. Carmona., S.A. Ayala., O.L. Alvarez. 2002. Establecimiento de una base de datos para la elaboración de tablas de contenido nutricional de alimentos para animales. *Rev Col Cienc Pec.* 15(2):240-246.
- Castellanos-Ruelas, A.F., y M. L. Murguía-Olmedo. 2002. Comportamiento de la contaminación microbiológica en alimentos balanceados para rumiantes elaborados con pollinaza. *Revista Biomédica.* 13:171-177.
- Chaudhry, S.M., J.P. Fontenot., and Z. Naseer. 1998. Effect of depp stacking and ensiling broiler litter on chemical composition and pathogenic organisms. *Animal Feed Science and Technology.* 74:155-167.
- Deliza, R., and M.B. Abreu. 2011. Sensory perception. *In: Sensory analysis of foods of animal origin.* Nollet, L.M., and F. Toldrá (eds). Taylor and Francis Group, LLC. pp:62-82.
- Detmann, E., M.F. Paulino., J.T. Zervoudakis., P.R. Cecon., S.C. Valadares., L.C. Gonçalves., L.S. Cabral. 2004. Níveis de proteína bruta em suplementos múltiplos para terminação de bovinos mestiços em pastejo durante a época seca: desempenho produtivo e características de carcaça. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 33: 169–180.
- Faria M, J. 2006. Manejo de pastos y forrajes en la ganadería de doble propósito. *In: memorias del X seminario de pastos y forrajes.* Facultad de agronomía, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.pp:1-9.
- FEDNA (Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal). 2011. Ingredientes para piensos. <http://www.fundacionfedna.org/ingredientes-para-piensos>. Fecha de consulta 20 de mayo de 2015.
- Frost, M.B., G. Dijksterhuis., M. Martens. (2001). Sensory perception of fat in milk. *Food Quality and Preference* 12:327-336.
- Gusha, J., C. R. Manyuchi., V. E. Imbayarwo-Chikosi., V. R. Hamandishe., S. Katsande., and P. I. Zvinorova. 2014. Production and economic performance of F1-crossbred dairy cattle fed non conventional protein supplements in Zimbabwe. *Tropical Animal Health and Production.* 46: 229–234.
- Holmann, F., L. Rivas., P. Arjel., y E. Perez. 2005. Impacto de la adopción de pastos *Brachiaria*: Centroamérica y México. *In: Documento de trabajo No. 197.* Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. 31p.
- Hyden, J. M. 2001. Control de *Salmonellas* y *E.coli* en avicultura: Alternativas terapéuticas. *Rev. Tecnología Avipecuaria en Latinoamérica.* 14: 44.
- Ibrahim, M., M. Franco., D.A. Pezo., A. Camero., and J.L. Araya. 2001. Promoting intake of *Cratylia argentea* as a dry season supplement for cattle grazing *Hyparrhenia rufa* in the subhumid tropics. *Agroforestry Systems.* 51: 167–175.

- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 2008. Anuario estadístico de los Estados Unidos de Mexicanos. Edición 2007.
- Kaur, P., A. Vohra., T. Satyanarayana. 2013. Laboratory and industrial bioreactors for submerged fermentations. *In: Fermentation processes engineering in the food industry.* Soccol, C.R., A. Pandey., and C. Larroche (eds). CRC Press. pp: 165-178.
- Kelleher, B.P., J.J. Leahy., A.M. Henihan., T.F. Odwyer., D. Sutton., M.J. Leahy. 2002. Advances in poultry litter disposal technology- a review. *Bioresource technology.* 83(1): 27-36.
- Kemp, S.E., T. Hollowood., and J. Hort. 2009. *Sensory evaluation: a practical handbook.* Hoboken, NJ, USA: Wiley-Blackwell.
- Lawless, H.T., and H. Heymann. 2010. *Sensory evaluation of food, principles and practices.* Springer Science and Business Media, LLC.
- Lazzarini, I., E. Detmann., C.B. Sampaio., M.F. Paulino., S.C. Valadares., M.A. de Souza., F.A. Oliveira. 2009. Dinâmicas de trânsito e degradação da fibra em detergente neutro em bovinos alimentados com forragem tropical de baixa qualidade e compostos nitrogenados. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.* 61: 635–647.
- Li, K.Y. Fermentation: principles and microorganisms. 2004. *In: Handbook of food and beverage fermentation technology.* Hui, Y.H., L. Meunier-Goddik., S. Hansen., J. Josephsen., W.K. Nip., P.S. Stanfield., and F. Toldra (eds). CRC Press.
- LICONSA. 2007. Manual de Normas de Calidad de Leche Cruda. <http://www.liconsa.gob.mx/wp-content/uploads/2012/01/man-nor-cont-cal-lec-cruda-hist.pdf>. Fecha de consulta 20 de mayo de 2015.
- Liu, S., D. Zhang., J. Chen., and Y. Zhu. 2013. History and development of solid-state fermentation. *In: Solid State Fermentation for Foods and Beverages.* Chen, J., and Y. Zhu (eds). CRC Press. pp: 2-25.
- Lobo, M. y V. Acuña. 2001. Efecto de la suplementación con *Cratylia argentea* cv. Veraniega fresca y ensilada sobre la producción de leche en vacas en sistemas doble propósito en el trópico subhúmedo de Costa Rica. *In: Sistemas de alimentación con leguminosas para intensificar fincas lecheras: un proyecto ejecutado por el consorcio Tropileche.* Documento de trabajo No. 184 Holmann F. y C. Lascano (eds). Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. 109p.
- Magaña M, J. G., G Ríos A y J. C. Martínez G. 2006. Los sistemas de doble propósito y los desafíos en los climas tropicales de México. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal.* 14 (3): 105-114.

- Matenga, V.R., N.T. Ngongoni., M. Titterton., B.V. Maasdorp. 2003. Mucuna seed as a feed ingredient for small ruminants and effect of ensiling on its nutritive value. *Tropical and Subtropical Agroecosystem*. 1: 97–105.
- Mathis, C.P., R.C. Cochran., J.S. Heldt., B.C. Woods., I.E. Abdelgadir., K.C. Olson., E.C. Titgemeyer., and E.S. Vanzant. 2000. Effects of supplemental degradable intake protein on utilization of medium-to low-quality forages. *Journal of Animal Science*. 78: 224–232.
- Maza, M.P. 2011. Historia de la leche y los productos lácteos. *In: El libro blanco de la leche y los productos lácteos*. Estrada, M.M., J.A. Gutierrez (eds). D.F. México. Pp: 9.
- Mehta, B.M., R.Z. Iwanski., and A. Kamal-Eldin. 2012. Introduction. *In: Fermentation: effects on food properties*. Mehta, B.M., A. Kamal-Eldin., and R.Z. Iwanski (eds). CRC Press. pp: 1-5.
- Meilgaard M., G.V. Civille., B.T. Carr. 1999. *Sensory Evaluation Techniques*. CRC Press. Boca Raton, FLA, USA. Pp: 199-222.
- Meléndez N, F. 2012. Principales forrajes para el trópico. 1ª edición. Impreso en los talleres de la imprenta Yax-Ol. S.A. de C.V. Corregidora Josefa Ortiz de Domínguez No.121. H. Cárdenas Tabasco. 516p.
- Monca, A.J., B.H. Pelayo. 2011. Análisis químico, biológico y fisicoquímico de la leche: calidad y contenido nutricional. *In: El libro blanco de la leche y los productos lácteos*. Estrada, M.M., J.A. Gutierrez (eds). D.F. México. Pp: 66-83.
- Moreno, V.F., M.G. Rodríguez., M.V. Méndez., A.L. Osuna., M.R. Vargas. (2007). Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del Alto de Chicamocha (departamento de Boyacá). *Revista de Medicina Veterinaria* 14: 61-83.
- Moskowitz, H.R. 1983. *Product Testing and Sensory Evaluation of Foods*. Food & Nutrition Press, Trumbull, COM.
- Mthiyane, D.M.N., I.V. Nsahlai and M.L.K. Bonsi. 2001. The nutritional composition, fermentation characteristics, in sacco degradation and fungal pathogen dynamics of sugarcane tops ensiled with broiler litter with or without water. *Animal Feed Science and Technology*. 94:171-185.
- Muia, J.M.K., S. Tamminga., and P.N. Mbugua. 2000. Effect of supplementing napier grass (*Pennisetum purpureum*) with sunflower meal or poultry litter-based concentrates on feed intake, live-weight changes and economics of milk production in Friesian cows. *Livestock Production Science*. 67: 89–99.

- Negesse, T., A.K. Patra., L.J. Dawson., A. Tolera., R.C. Merkel., T. Sahlu., and A.L. Goetsch. 2007. Performance of Spanish and Boer × Spanish doelings consuming diets with different levels of broiler litter. *Small Ruminant Research*. 69: 187–197.
- Norma Oficial Mexicana NOM-044-ZOO-1995. Campaña nacional contra la influenza aviar. Consultada en: [www.senasica.gob.mx](http://www.senasica.gob.mx). Fecha de consulta 20 de mayo de 2015.
- Norma Oficial Mexicana NOM-024-ZOO-1995. Especificaciones y características zoonosológicas para el transporte de animales, sus productos y subproductos, productos químicos, farmacéuticos, biológicos y alimentos para uso en animales o consumo por estos. Consultada en: [www.senasica.gob.mx](http://www.senasica.gob.mx). Fecha de consulta 20 de mayo de 2015.
- Norma Oficial Mexicana NOM-061-ZOO-1999. Especificaciones zoonosológicas de los productos alimenticios para consumo animal. Consultada en: [www.senasica.gob.mx](http://www.senasica.gob.mx). Fecha de consulta 20 de mayo de 2015.
- Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2003, Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=690308&fecha=12/09/2003](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=690308&fecha=12/09/2003). Fecha de consulta 20 de mayo de 2015.
- Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5160755&fecha=27/09/2010](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5160755&fecha=27/09/2010). Fecha de consulta 20 de mayo de 2015.
- Obeidat, B.S., M.S. Awawdeh., A.Y. Abdullah., M.M. Muwalla., M.A. Abu Ishmais., B.T. Telfah., A.J. Ayrout., S.K. Matarneh., H.S. Subih., and T.O. Osaili. 2011. Effects of feeding broiler litter on performance of Awassi lambs fed finishing diets. *Animal Feed Science and Technology*. 165: 15–22.
- Olivas-Gastélum, R., G.V. Nevárez-Moorillón., M.G. Gastélum-Franco. (2009). Las pruebas de diferencia en el análisis sensorial de los alimentos. *Tecnociencia Chihuahua*. 3(1): 1-7.
- Ørskov, E.R. 1992. Protein nutrition in ruminants. 2<sup>a</sup> Ed. New York. Academic Press Inc. London. p. 175.
- Ortiz-Rubio, M.A., E.R. Ørskov., J. Milne., and A. Galina. 2007. Effect of different sources of nitrogen on *in situ* degradability and feed intake of Zebu cattle fed sugarcane tops (*Saccharum officinarum*). *Animal Feed Science and Technology*. 139:143-158.

- Osorio A, M. 2000. El sistema de producción bovina de doble propósito en el trópico “la rejegueria”. *In: Producción bovina de doble propósito en el trópico “la rejegueria”*. Volumen 1. La producción de forrajes en la rejegueria. Colegio de Postgraduados Campus Tabasco. pp: 2-9.
- Pacheco A, J.A., J.L. Rosciano G., W.A. Villegas C., V.M. Alcocer V y A.F. Castellanos R. 2003. Cuantificación del contenido de cobre y otros minerales en pollinazas producidas en el estado de Yucatán. *Técnica Pecuaria en México*. 41(2):197-207.
- Pandey, A. 2003. Solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 13:81–84.
- Pandey, A., C.R. Soccol., and D. Mitchell. 2000. New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products. *Process Biochemistry*. 35:1153–1169.
- Pinto-Ruiz, R., E. Alfonso-Ruiz., H. Gomez-Castro., F. Guevara-Hernandez., B. Ruiz-Sesma., and J.A. Jimenez-Trujillo. 2012. Quality of chicken manure as cattle feed and its effect on composition of cows milk and blood serum in a dry tropical pastoral system. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 11(2): 289-294.
- Piñeiros, R., D. Villalba., V. Holguin y J. Mora. 2011. Comportamiento poblacional de microorganismos en ensilajes a base de subproductos de cosecha de la region cafetera del Norte de Tolima. Tesis de Maestria en Ciencias Pecuarias. Universidad de Tolima, Colombia.
- PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012. Sistema Producto Leche- alimento Lácteo- leche cruda de vaca- especificaciones fisicoquímicas, Sanitarias Y métodos de prueba. <http://www.canilec.org.mx/Circulares%202012/93del12/PROY-NMX-F-700COFOCALEC2012%20110212.pdf>. Fecha de consulta 20 de mayo de 2015.
- Ramos, J.A., A.R. López., A. Elías., C del C. Bautista., E.M. Aranda., y D.C. Martínez. 2013. Fermentación en estado sólido de la mezcla de pollinaza, melaza y Vitafert. *In: Memorias de la XXIII Reunión de la ALPA y IV Congreso Internacional de Producción Animal Tropical*. 18-22 de noviembre del 2013. Palacio de convenciones de la Habana, Cuba. pp: 1697-1701.
- Razz, R., T Clavero., J. Combellas., y T. Ruiz. 2004. Respuesta productiva y reproductiva de vacas doble propósito suplementadas con concentrados pastoreando *Panicum Maximum* y *Leucaena leucocephala*. *Revista científica, FCV-LUZ*. Vol. XIV (6):526-529.
- Ríos de Álvarez, L., J. Combellas., R Álvarez. 2005. Uso de excretas de aves en la alimentación de ovinos. *Zootecnia Tropical* 23(2):183-210.
- Riquelme, V.E. 1987. Suplementación energética para bovinos en pastoreo. *In: Memoria del seminario internacional suplementación para bovinos en pastoreo*. González, S.M. (Ed). Centro de Ganadería, Colegio de Postgraduados.

- Rodriguez C, S., and M.A. Sanromán. 2006. Application of solid-state fermentation to food industry- A review. *Journal of Food Engineering*. 76: 291–302.
- Roessler, E.B., R.M. Pangborn., J.L. Sidel., H. Stone. 1978. Expanded statistical tables for estimating significance in paired preference, paired-difference, duo-trio and triangle tests. *Journal of Food Science* 43: 940-941.
- Rojo-Rubio, R., J.F Vázquez-Armijo., P. Pérez-Hernández., G.D. Mendoza-Martínez., A.Z.M. Salem., B. Albarrán-Portillo., A. González-Reyna., J. Hernández-Martínez., S. Rebollar-Rebollar., D. Cardoso-Jiménez., E.J. Dorantes-Coronado., y J.G. Gutiérrez-Cedillo. 2009. Dual purpose cattle production in Mexico. *Tropical Animal Health and Production*. 41:715-721.
- Sampaio, B.C., E. Detmann., I. Lazzarini., M.A. de Souza., M.F. Paulino., and S.C. Valadares. 2009. Rumen dynamics of neutral detergent fiber in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 38: 560–569.
- Sampaio, B.C., E. Detmann., M.F. Paulino., S.C. Valadares., M.A. de Souza., I. Lazzarini., P.V. Rodrigues., and A.C. de Queiroz. 2010. Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. *Tropical Animal Health and Production*. 42:1471–1479.
- Sancho, J., E. Bota., y J.J. de Castro. 2002. *Introducción al análisis sensorial de los alimentos*. Alfaomega grupo editor, S.A. de C.V. México. D.F. 319p.
- Savadogo, A. 2012. The role of fermentation in the elimination of harmful components present in food raw materials. *In: Fermentation: effects on food properties*. Mehta, B.M., A. Kamal-Eldin., and R.Z. Iwanski (eds). 2012. CRC Press. pp: 169-179.
- SE (Secretaria de Economía). 2012. *Análisis del sector lácteo en México*.
- Segura C, V.M., J.A. Tepal C., J. Carvajal A., and A.F. Castellanos R.2000. La pollinaza como fuente de fosforo para rumiantes en pastoreo. *Livestock Research for Rural Development*. 12 (2).
- Shingfield, J., J. Griinarib. 2007. Role of biohydrogenation intermediates in milk fat depression. *European Journal of Lipid Scienie and Technology*. 109:799-816.
- Singhania, R.R., A.K. Patel., C.R. Soccol and A. Pandey. 2009. Recent advances in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*.44: 13-18.
- Sonoda, LT, D.J. Moura., L.G. Bueno., D.C. Cordeiro., A.S. Mendes. 2012. Broiler litter reutilization applying different composting concepts. *Revista Brasileira de Ciencia Avícola*. 14(3):227-232.

- Stone, H., and J.L. Sidel. 2004. Sensory evaluation practices 3rd Edn. Jordan Hill, GBR: Academic press. pp: 1-16, 215-235.
- Tinoco-Magaña, J.C., C.F. Aguilar-Pérez., R. Delgado-León., J.G. Magaña-Monforte., J.C. Ku Vera., and J. Herrera-Camacho. 2012. Effects of energy supplementation on productivity of dual purpose cows grazing in a silvopastoral system in the tropics. *Tropical Animal Health and Production*. 44: 1073-1078.
- Vaccaro, L., R. Vaccaro., O. verde., H. Mejias., and E. Romero. 1993. Harmonizing type and environmental level in dual purpose cattle herds in Latin American. *World Animal Review*. 77:15-20.
- Van Ryssen, J.B.J., and D.T. Mavimbela. 1999. Broiler litter as a source of selenium for sheep. *Animal Feed Science and Technology*. 78: 263-272.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.P. & Lewis, B.A. 1991. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *J. Dairy Sci*. 74:3583 – 3597.
- Villegas de gante, A., A.M. Santos. 2009. Manual básico para elaborar productos lácteos. Trillas, Mexico. Pp:9-18.
- Wolter, W., H. Castañeda, B. Kloppert., M. Zschock. 2004. *Matitis Bovina. Prevención, diagnóstico y tratamiento*. Editorial universitaria. Guadalajara Jalisco, Mexico. 143p.
- Zemmelinka, G., and L.T. Manneljeb. 2002. Value for animal production (VAP): a new criterion for tropical forage evaluation. *Animal Feed Science and Technology*. 96: 31-42.
- Zhang Y., W. Mao and W. Li. 2013. Utilization survey of livestock manure resources in large-scale farms of yangzhou. *Animal Husbandry and Feed Science*. 5(1): 37-49.

## IX. ANEXOS

### Anexo 1. Formato para la prueba dúo-trío.

**LABORATORIO DE EVALUACIÓN SENSORIAL DACA-UJAT**  
**PRUEBA DISCRIMINATIVA**  
Tipo dúo-trío

Sexo F  M       edad: \_\_\_\_\_      fecha: \_\_\_\_\_

**Instrucciones:** en esta ocasión se le presentan tres muestras de leche. Una muestra de referencia marcada con "R" y dos muestras codificadas. Pruebe primero la muestra "R" y posteriormente cada una de las muestras codificadas. Identifique cuál muestra es igual a "R" y coloque el código correspondiente en la línea.

Muestra igual a "R" 544

Comentarios \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Gracias!!

### Anexo 2. Formato para la prueba triangular.

**LABORATORIO DE EVALUACIÓN SENSORIAL DACA-UJAT**  
**PRUEBA DISCRIMINATIVA**  
Tipo triangular

Sexo F  M       Edad: 19      Fecha: 3-12-2014

**Instrucciones:** en esta ocasión se le presentan tres muestras de leche. Pruebe cada una cuidadosamente e indique cual es la muestra diferente colocando en la línea el código correspondiente.

Muestra diferente 722

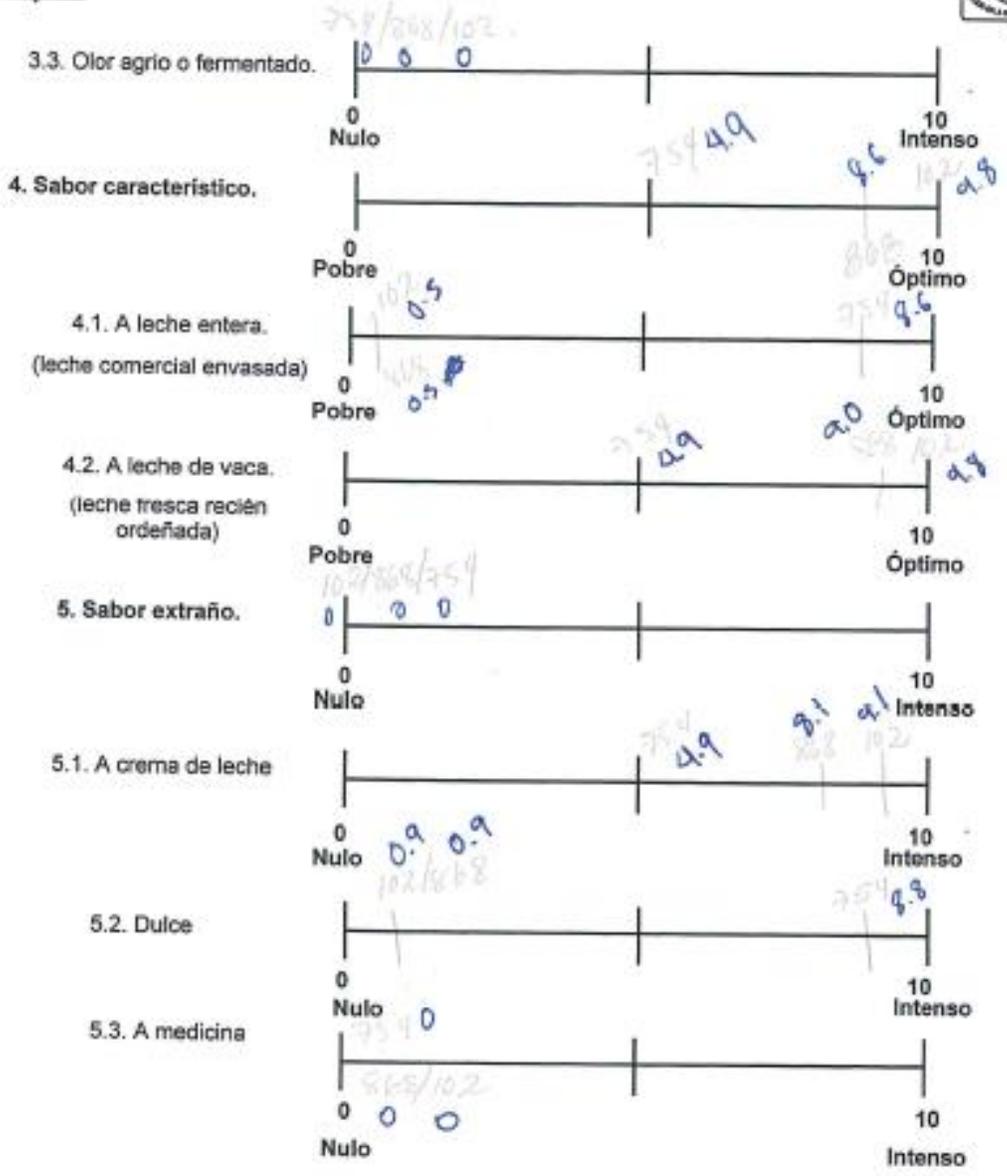
Comentarios Se sabe un sabor mas agradable que otras tres muestras.  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Gracias!!





UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO  
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
LABORATORIO DE EVALUACIÓN SENSORIAL





Anexo 4. Tabla de significancia para las pruebas dúo-trío y triangular.

UNE 87-008-92

- 20 -

Tabla 1  
Tablas de Significación

NOTA - Todos los resultados se refieren al nivel de significación del 5%. Para otros niveles véase ROESSLER, PANG-BORN, SIDEL Y STONE. J. Food Science 43 1978: 940.

Número de participantes	Prueba de comparación por parejas (bilateral)	Prueba triangular	Prueba dúo-trío y prueba de comparación por parejas (unilateral)	Prueba 2 de 5
5	-	4	5	3
6	6	5	6	3
7	7	5	7	3
8	8	6	7	3
9	8	6	8	4
10	9	7	9	4
11	10	7	9	4
12	10	8	10	4
13	11	8	10	4
14	12	9	11	4
15	12	9	12	5
16	13	9	12	5
17	13	10	13	5
<del>18</del>	14	<del>10</del>	13	5
19	15	11	14	5
20	15	11	15	5
21	16	12	15	6
22	17	12	16	6
23	17	12	16	6
24	18	13	17	6
25	18	13	18	6
26	19	14	18	6
27	20	14	19	6
28	20	14	19	7
29	21	15	20	7
30	21	15	20	7