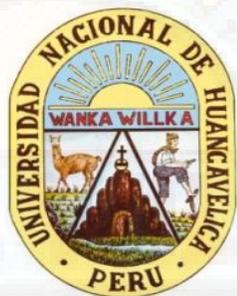


UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCVELICA

(Creada Ley N° 25265)

FACULTAD DE CIENCIAS DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE ZOOTECNIA



**EFFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE LEVADURA DE PAN
(*Saccharomyces cerevisiae*) Y TIEMPOS DE FERMENTACIÓN SOBRE
LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES EN
ENSILAJE DE CEBADA (*Hordeum vulgare L.*)**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN
NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL**

PRESENTADO POR:

Bach. ROMARIO INGA MALLQUI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO ZOOTECNISTA

HUANCAVELICA – PERÚ

2020



UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCVELICA



FACULTAD DE CIENCIAS DE INGENIERÍA

ACTA DE SUSTENTACIÓN VIRTUAL DE TESIS

En la ciudad de Huancavelica, a los dieciocho días (18) del mes de diciembre del año 2020, siendo las diez horas (10:00 a.m.), se reunieron los miembros del Jurado Calificador conformado por los docentes: **Dr. Manuel CASTREJON VALDEZ (PRESIDENTE)**, **M.Sc. Rodrigo HUAMÁN JURADO (SECRETARIO)**, **M.Sc. Héctor Marcelo GUILLEN DOMÍNGUEZ (VOCAL)**, designados con Resolución de Decano N° 194-2019-FCI-UNH, de fecha 29 de octubre del 2019, a fin de proceder con la sustentación y calificación virtual mediante el aplicativo MEET del informe final de tesis titulado: "EFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE LEVADURA DE PAN (*Saccharomyces cerevisiae*) Y TIEMPOS DE FERMENTACIÓN SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES EN ENSILAJE DE CEBADA (*Hordeum vulgare L.*)", presentado por el Bachiller **INGA MALLQUI, Romario**, para optar el **Título Profesional de Ingeniero Zootecnista**. Finalizada la sustentación virtual a horas 12:03; se comunicó al sustentante y al público que los Miembros del Jurado que abandonaran el aula virtual para deliberación por parte de los Jurados y se llegó al siguiente resultado:

APROBADO

POR MAYORÍA

DESAPROBADO

En señal de conformidad, firmamos a continuación:



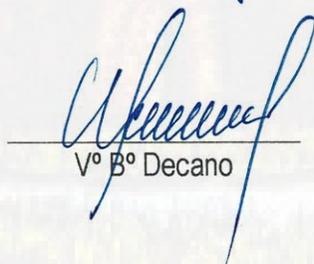
Presidente



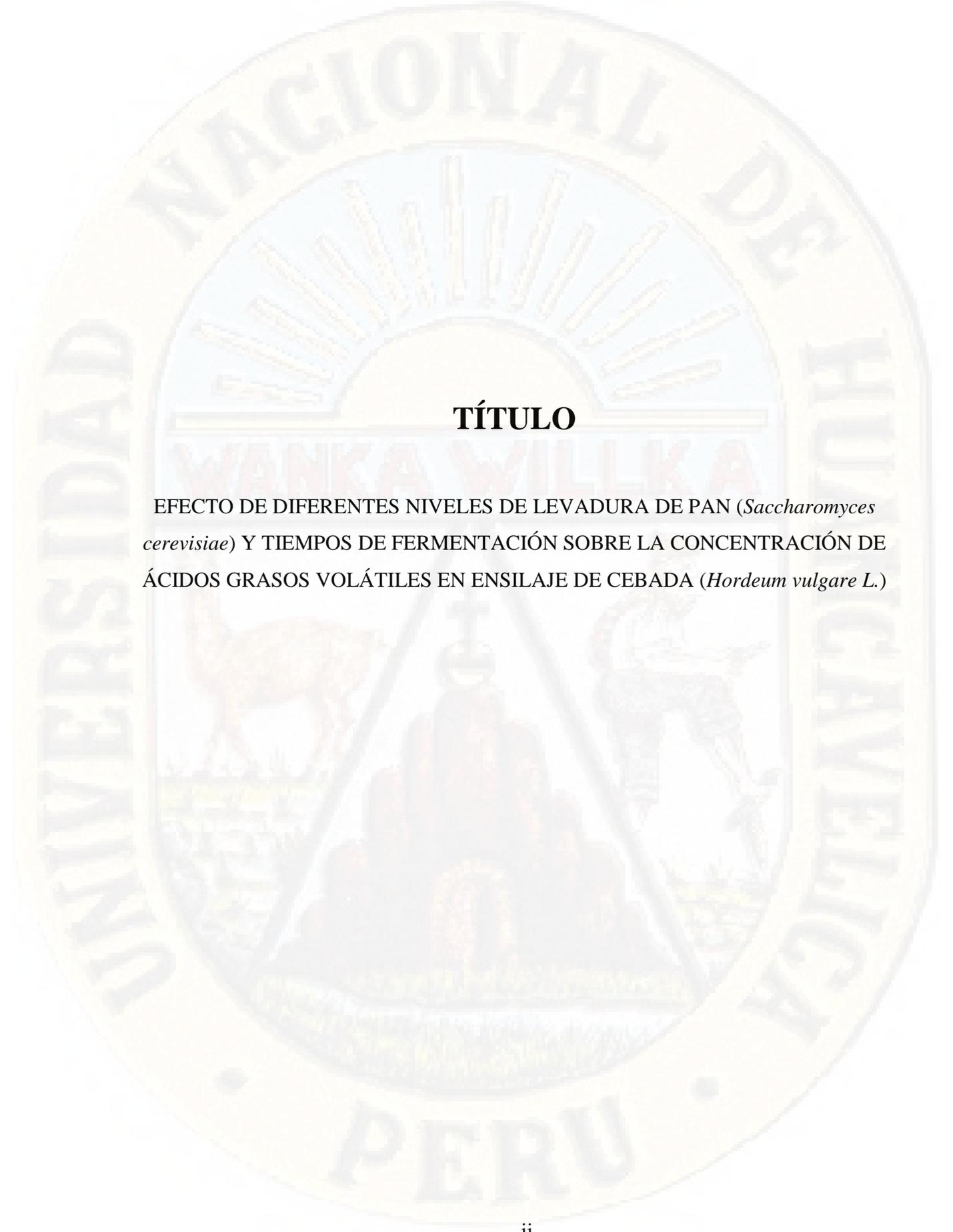
Secretario



Vocal

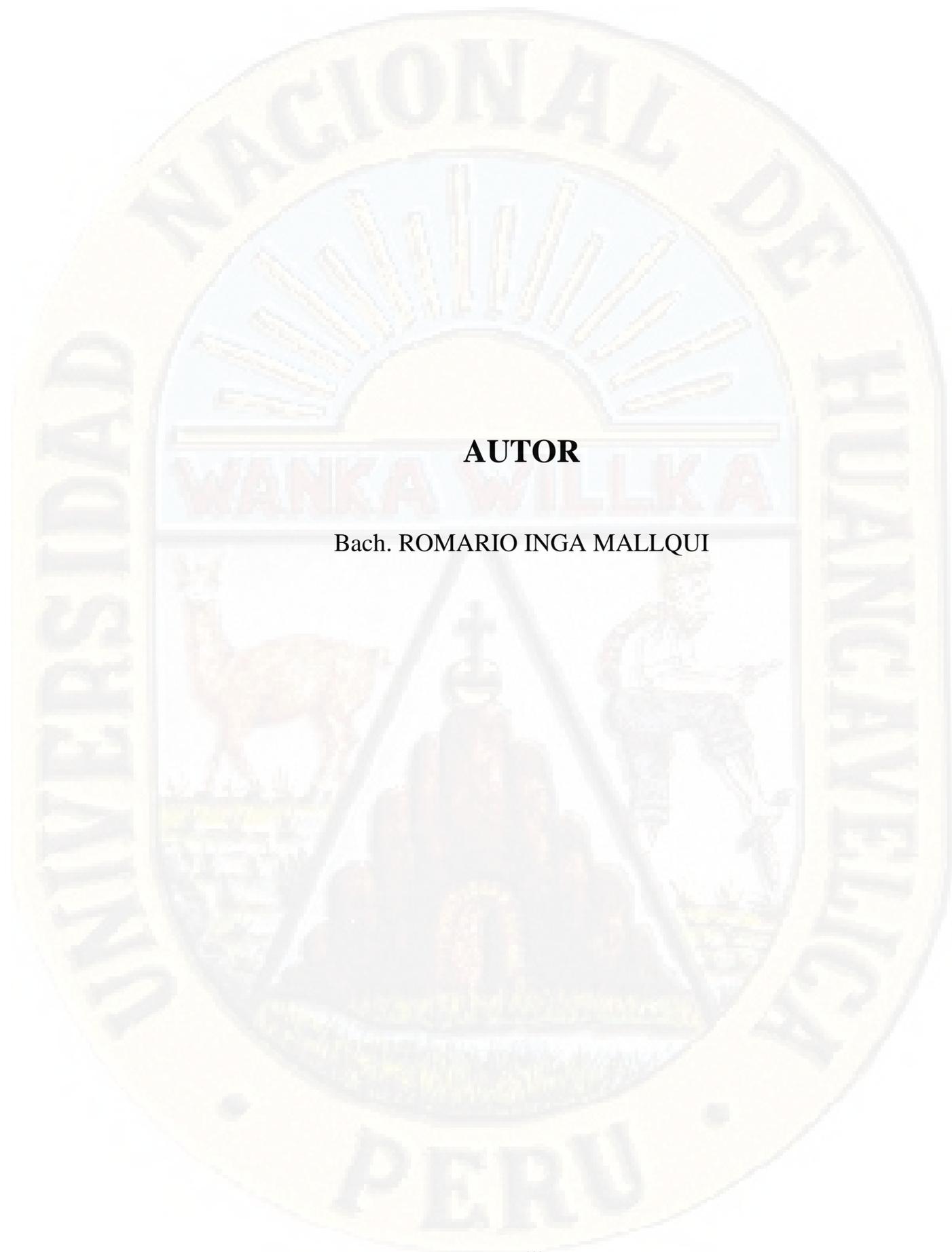


Vº Bº Decano



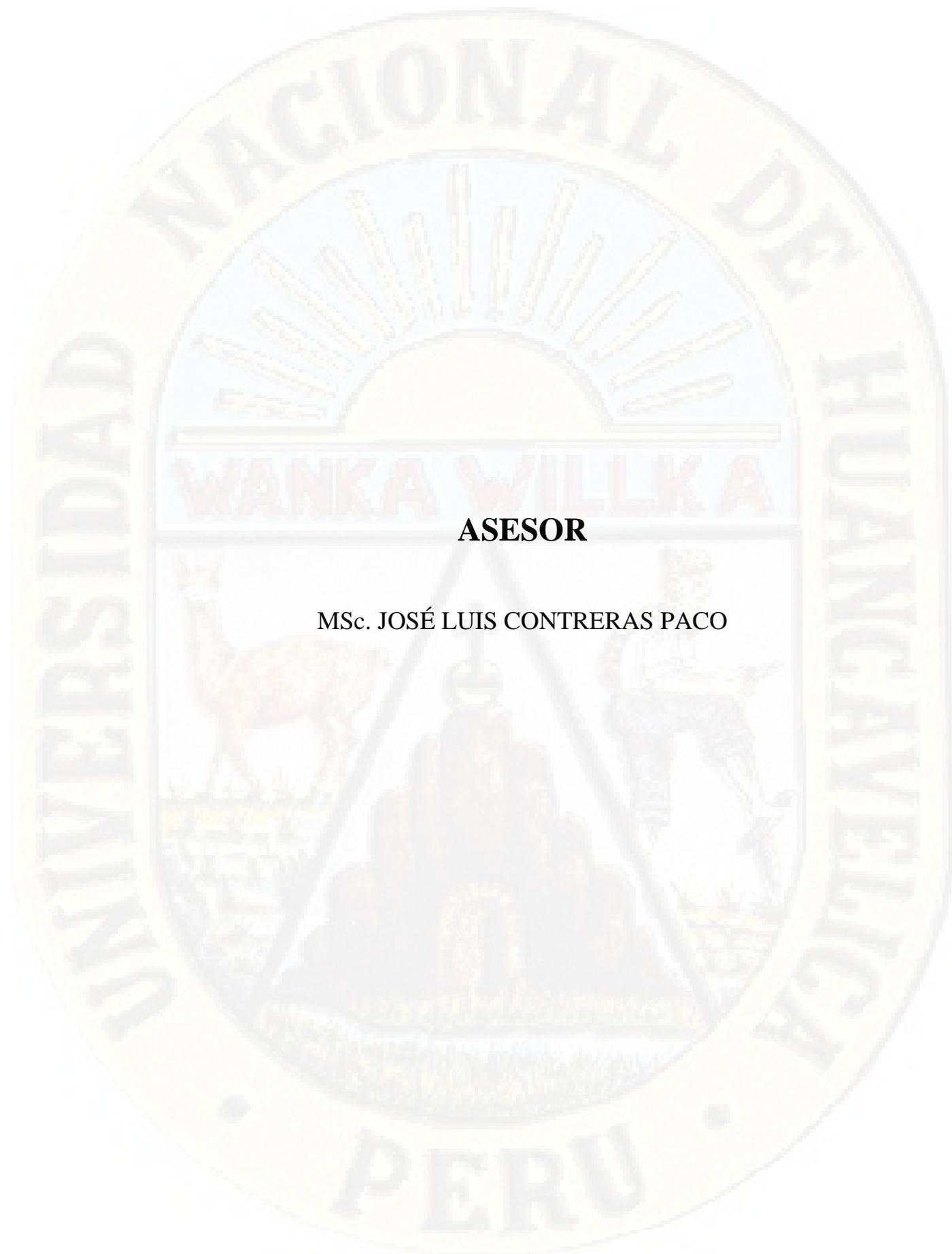
TÍTULO

EFFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE LEVADURA DE PAN (*Saccharomyces cerevisiae*) Y TIEMPOS DE FERMENTACIÓN SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES EN ENSILAJE DE CEBADA (*Hordeum vulgare* L.)



AUTOR

Bach. ROMARIO INGA MALLQUI



ASESOR

MSc. JOSÉ LUIS CONTRERAS PACO

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a Dios por haberme dado salud y las fuerzas para poder culminar el presente trabajo de investigación.

Al término de la presente quiero expresar mi profundo agradecimiento a todas aquellas personas quienes hicieron posible que concluya el presente trabajo de investigación.

Al Ing. José Luis Contreras Paco, en su calidad de asesor del presente trabajo de investigación quien me brindó su apoyo y dedicación en la ejecución del presente trabajo.

Al Ing. James Curasma Ccente quien me brindo orientación e invaluable contribución para la ejecución del presente trabajo.

Quiero expresar de la manera especial mi agradecimiento sincero a mis familiares quienes supieron darme su constante apoyo para la culminación de esta primera parte de mi vida profesional.

TABLA DE CONTENIDO

TÍTULO	ii
AUTOR	iii
ASESOR	iv
AGRADECIMIENTO	v
TABLA DE CONTENIDO	vi
CONTENIDOS DE TABLAS	ix
TABLA DE CONTENIDOS DE FIGURAS	x
RESUMEN	xi
ABSTRAC	xii
INTRODUCCIÓN	xiii

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

1.1 Descripción del Problema	1
1.2 Formulación del Problema	1
1.3 Objetivos	3
1.3.1 Objetivos generales	3
1.3.1 Objetivos específicos	3
1.4 Justificación	3

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes	5
2.2 Bases teóricas	12
2.2.1 Cebada (<i>Hordeum vulgare L.</i>)	12
2.2.2 Silaje	12

2.2.3 Levadura de pan (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	13
2.2.4 Proceso de ensilado	16
2.2.5 Ácidos grasos volátiles en ensilado.	20
2.3 Definición de términos	23
2.4 Hipótesis.....	25
2.5 Variables	25
2.5.1 Variable independiente	25
2.5.2 Variable dependiente.....	26
2.6 Operacionalización de variables	26

CAPITULO III

METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

3.1 Ámbito temporal y espacial	27
3.1.1 Ámbito temporal	27
3.1.2 Ámbito espacial.....	27
3.2 Tipo investigación.....	27
3.3 Nivel de investigación.....	27
3.4 Método de investigación.	28
3.5 Diseño de investigación.	28
3.6 Población, Muestra, Muestreo.	28
3.7 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	29
3.8 Procedimiento de recolección de datos.	29
3.9 Técnicas de procesamiento y análisis de datos	31

CAPITULO IV

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Análisis de información	32
4.2 Prueba de hipótesis.....	42
4.3 Discusiones de resultados	46
Conclusiones	49
Recomendaciones.....	50
Referencia bibliografía.....	51
Apéndice	58

CONTENIDOS DE TABLAS

Tabla 1	Análisis de varianza de la concentración de ácido acético, propiónico y butírico del ensilado de cebada.....	32
Tabla 2	Tenores medios y ecuación de regresión de contenido de ácido acético, propiónico y butírico en ensilado de cebada en función a niveles de levadura.....	33
Tabla 3	Tenores medios y ecuación de regresión de ácido acético, propiónico y butírico en ensilado de cebada en función a los tiempos de fermentación.....	36
Tabla 4	Ecuaciones de regresión y coeficientes de determinación de las variables en estudio del ensilado de cebada en función a los niveles de levadura dentro de los tiempos de fermentación.....	39
Tabla 5	Ecuaciones de regresión y coeficientes de determinación de las variables en estudio del ensilado de cebada, en función a los niveles del tiempo de fermentación dentro de los niveles de levadura de pan.....	41
Tabla 6	Test de normalidad de la concentración de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) en diferentes niveles de levadura en ensilado de cebada.....	42
Tabla 7	Test de normalidad de la concentración de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) en diferentes tiempos de fermentación.....	42
Tabla 8	Test de Levene para la concentración de ácido acético, propiónico y butírico con diferentes niveles de levadura y tiempos de fermentación.....	43
Tabla 9	Análisis de varianza de concentración de ácido acético en ensilado de cebada con diferentes niveles de levadura y tiempos de fermentación.....	44
Tabla 10	Análisis de varianza de concentración de ácido propiónico en ensilado de cebada con diferentes niveles de levadura y tiempos de fermentación.....	44
Tabla 11	Análisis de varianza de concentración de ácido butírico en ensilado de cebada con diferentes niveles de levadura y tiempos de fermentación.....	44

CONTENIDOS DE FIGURAS

Figura 1	Concentración de ácido propiónico (AP) en ensilado de cebada con diferentes niveles de levadura.....	34
Figura 2	Concentración de ácido butírico en ensilado de cebada con diferentes niveles de levadura.....	35
Figura 3	Concentración de ácido acético (AA) en diferentes tiempos de fermentación (días).....	36
Figura 4	Concentración de ácido propiónico (AP) en diferentes tiempos de fermentación (días).....	37
Figura 5	Concentración de ácido butírico (AB) en diferentes tiempos de fermentación (días).....	38

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar los efectos de diferentes niveles de levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*) y tiempos de fermentación sobre la concentración de ácidos grasos volátiles en ensilaje de cebada (*Hordeum vulgare L.*). El experimento fue conducido en las instalaciones de Laboratorio de Nutrición Animal y Evaluación de Alimentos de la Escuela Profesional de Zootecnia de la Universidad Nacional de Huancavelica, Perú. La concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) fue determinada mediante cromatografía de gases. Se utilizó un diseño completamente aleatorio, con tres repeticiones por tratamiento, en esquema factorial de 4x3 con cuatro niveles de levadura (0; 0,5; 1,0 y 1,5 %) y tres tiempos de fermentación (6, 12 y 24 días). Los niveles de levadura fueron mezclados con la cebada y enseguida almacenada en bolsas de polietileno (0,60 m x 0,90 m; espesor 0,20 mm). Los resultados obtenidos de los niveles de levadura no tuvieron efecto significativo ($P > 0,05$) sobre el contenido de ácido acético. El contenido de ácido propiónico incrementó de 0,0130 a 0,0143 g/kg MS, mientras el contenido de ácido butírico disminuyó de 0,0098 a 0,0093 g/kg MS a medida que se incrementó la levadura. El contenido de ácido acético aumentó linealmente en función a los tiempos de fermentación, a los 12 días de fermentación se obtuvo mayor contenido de ácido propiónico, mientras el contenido de ácido butírico no varió en función a los tiempos de fermentación. Llegamos a la conclusión que la adición de levadura tiempos de fermentación modificó el contenido de AGV en ensilado de cebada, así mismo los valores obtenidos de AGV se encuentran dentro de los valores aceptables de un ensilado de calidad, por tanto, la levadura mejoró la calidad fermentativa de ensilado de cebada.

Palabras clave: levadura; calidad fermentativa; acético, propiónico y butírico

abstrac

The objective of the present study was to determine the effects of different levels of bread yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and fermentation times on the concentration of volatile fatty acids in barley silage (*Hordeum vulgare L.*). The experiment was conducted in the facilities of the Animal Nutrition and Food Evaluation Laboratory of the Professional School of Zootechnics of the National University of Huancavelica, Peru. The concentration of volatile fatty acids (VFA) was determined by gas chromatography. A completely randomized design was used, with three repetitions per treatment, in a 4x3 factorial scheme with four levels of yeast (0, 0.5, 1.0 and 1.5%) and three fermentation times (6, 12 and 24 days). The yeast levels were mixed with the barley and immediately stored in polyethylene bags (0.60 m x 0.90 m; thickness 0.20 mm). The results obtained from the yeast levels had no significant effect ($P > 0.05$) on the acetic acid content. The propionic acid content increased from 0.0130 to 0.0143 g / kg DM, while the butyric acid content decreased from 0.0098 to 0.0093 g / kg DM as the yeast increased. The acetic acid content increased linearly as a function of the fermentation times, at 12 days of fermentation a higher content of propionic acid was obtained, while the butyric acid content did not vary as a function of the fermentation times. We reached the conclusion that the addition of yeast fermentation times modified the content of VFA in barley silage, likewise the values obtained from VFA are within the acceptable values of a quality silage, therefore, the yeast improved the quality fermentation of barley silage.

Keywords: yeast; fermentation quality; acetic, propionic and butyric

INTRODUCCIÓN

El ganado representa el 40% de la producción mundial y contribuye a la subsistencia y seguridad alimentaria de casi 1300 mil millones de personas, aporta 15% de la energía alimentaria mundial y 25% de las proteínas de la dieta que utiliza; además, 60% de los hogares rurales tienen ganado bovino (Callejas *et al.*, 2014), la alimentación del ganado vacuno en la sierra central del Perú, viene siendo afectado por la escasez de alimentos a causa de presencia de heladas y sequías que se presentan en transcurso del año, por ello los productores ganaderos tienen que recurrir a la conservación de forraje disponible en épocas de abundancia como los forrajes de invierno en forma de ensilaje con la finalidad de alimentar al ganado en cantidades necesarias, durante épocas donde hay escasez de alimentos (Vásquez, 2016).

El ensilaje es una buena alternativa de conservación, siendo la más segura y eficiente de aprovechar el excedente de pradera (Macias, 2011), siendo en la actualidad de mayor interés, ya que consiste en disponer de un aporte nutritivo que asegure la producción del ganado durante períodos de escasos (Cahuana y Yauri, 2016), Una de las fuentes que provee alimento en forma de silaje para el ganado, proviene de los cereales inmaduros o cereales de invierno (trigo, cebada y avena) (Carhuapoma y Soldevilla, 2014), se desconoce la concentración de ácidos grasos volátiles de estos en el proceso de ensilado específicamente de la concentración de ácidos acético, propiónico y butírico siendo estos indicador de la calidad de ensilado.

El uso de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico en ensilado ha sido desarrollado para disminuir los riesgos del proceso de ensilaje, para mejorar el valor nutritivo y la calidad fermentativa (Macias, 2011), pero se desconoce cuáles son los efectos sobre la concentración de ácidos grasos volátiles en el proceso de ensilado, siendo este indicador de la calidad fermentativa de ensilaje de la cebada.

Los ácidos grasos volátiles (AGV) son generados en las distintas fermentaciones que se llevan a cabo durante el proceso del ensilaje, la presencia o ausencia de algunos pueden determinar la calidad del material ensilado (Guardián, 2019). El contenido de AGV en el material ensilado varía en función del nivel de materia seca del cultivo, cuando éstos se presentan en altas cantidades en ensilados son indicadores de pobre fermentación (Cañeque y Sánchez, 1998), la presencia de ácidos butírico y propiónico son producto de fermentaciones indeseables y deberían ser nulas en ensilajes de buena calidad (Rojas, 2018), la presencia de ácido acético en ensilados son aceptables cuando no superen los rangos porcentuales de 2 a 3% MS (Macías, 2011), para ácido propiónico < 0,1% en base materia seca y butírico de 0-1% MS (Kaiser *et al.*, 2004).

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción del Problema

El pastoreo es la forma más común y económica de alimentar al ganado; sin embargo, no se puede hacer durante todo el año, debido a las condiciones climáticas que limitan el crecimiento de los pastos. La disponibilidad de pasturas en los sistemas ganaderos depende de las estaciones porque son los factores que afectan el crecimiento de las plantas son diferentes para cada estación, lo que lleva a períodos con alta producción de forraje y por otro lado períodos de escasez (Da Silva *et al.*, 2017).

La alimentación del ganado vacuno en la sierra central del Perú, viene siendo afectado por la escasez de alimentos a causa de presencia de heladas y sequías que se presentan en transcurso del año, por ello los productores tienen que recurrir a la conservación de forraje disponible en épocas de abundancia como los forrajes de invierno en forma de ensilaje con la finalidad de alimentar al ganado en cantidades necesarias, durante épocas donde hay escasez de alimentos (Vásquez, 2016).

El ensilaje de cebada, de acuerdo a la información extranjera, ha sido usado como forraje base de raciones, para la producción de leche y carne (Rojas y Catrileo, 2000), con variados resultados, quedando de manifiesto la importancia del estado de madurez del cultivo, al momento del corte, en la producción y calidad del ensilaje (Baron y Kibite, 1987; Tetlow, 1990; Acosta *et al.*, 1991). También, se sabe que la calidad del ensilaje de cebada aumenta, en la medida que se eleva la altura del corte al momento de cosecha (Burgess *et al.*, 1989; Acosta *et al.*, 1991). Después del contenido de la energía metabolizable, la calidad fermentativa es la medida más importante de la calidad de ensilaje influenciando resultados fuertemente en la

producción animal (Macias, 2011). Sin embargo, un aspecto fundamental en la confección del ensilaje de cebada, es el uso de aditivos, para disminuir la inestabilidad aeróbica, que es característica de este ensilaje (Rojas y Catrileo, 2000).

Se ha informado que los microbios alimentados directamente, como la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, promueven la salud del rumen, mejoran la eficiencia de la alimentación y mitigan las emisiones de metano (Auclair, 2001; McAllister *et al.*, 2011), además el uso de *Saccharomyces cerevisiae* en proceso de ensilado tiene la capacidad de mejorar el contenido nutricional de aquellos forrajes que presentan bajo valor nutritivo. En consecuencia, el suministro dentro del ensilaje en lugar de como un aditivo separado de la dieta puede ser un medio conveniente para que los productores de ganado suministren estos microbios beneficiosos a los rumiantes. En el proceso de fermentación la levadura *Saccharomyces cerevisiae* tiene la capacidad de incrementar la concentración de ácidos grasos volátiles, por tanto, su uso como inoculante en el proceso de ensilado aumenta la concentración de ácidos grasos volátiles, pero no hay mucha información de cuanto es el incremento de ácidos grasos volátiles al utilizar *Saccharomyces cerevisiae* en ensilado de cebada, ya que los ensilados de buena calidad los contenidos de ácidos grasos volátiles son aceptables cuando no superan los rangos porcentuales, acético < 2% MS (Fernández *et al.*, 1999), propiónico < 0,1% MS y butírico de 0 - .1% MS (Kaiser *et al.*, 2004). Cuando éstos se presentan en altas cantidades en ensilados son indicadores de pobre fermentación (Cañeque y Sánchez, 1998), transformando en un producto no palatable, aunque el contenido de la energía metabolizable y proteína cruda sean altos, logrando como resultado disminución de consumo y baja producción en aquellos ensilajes con mala fermentación.

En la región de Huancavelica no existe información sobre el efecto de levadura sobre la concentración AGV (acético, propiónico y butírico) en ensilado de cebada. Bajo estas consideraciones, el objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar el efecto de diferentes niveles de levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*) y

tiempos de fermentación sobre la composición bromatológica y ácidos grasos volátiles en ensilaje de cebada (*Hordeum vulgare L.*).

1.2 Formulación del Problema

¿Cuáles son los efectos de diferentes niveles de levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*) y tiempos de fermentación sobre la concentración de ácidos grasos volátiles en ensilaje de cebada (*Hordeum vulgare L.*)?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivos generales

Determinar los efectos de diferentes niveles de levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*) y tiempos de fermentación sobre la concentración de ácidos grasos volátiles en ensilaje de cebada (*Hordeum vulgare L.*).

1.3.1 Objetivos específicos

- Determinar los efectos de diferentes niveles de levadura de pan (0; 0,5; 1 y 1,5%) sobre la concentración de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) en ensilaje de cebada (*Hordeum vulgare L.*).
- Determinar los efectos de diferentes tiempos de fermentación (6, 12 y 24 días) sobre la concentración de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) en ensilaje de cebada (*Hordeum vulgare L.*).
- Determinar los efectos de la interacción de diferentes niveles de levadura de pan y tiempos de fermentación sobre la concentración de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) en ensilaje de cebada (*Hordeum vulgare L.*).

1.4 Justificación

El uso de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico en la producción animal se ha incrementado por su alto valor proteico y de bajo precio, en los últimos años, siendo

utilizado en el proceso de ensilado ya que posee la alta capacidad de degradar a la fibra, y proporciona el mejor valor proteico de forrajes que presentan bajo contenido proteico como la cebada y trigo, además tiene la capacidad de incrementar la concentración de ácidos grasos volátiles, cuyas concentraciones permisibles pueden informar la calidad de ensilaje, y si está supera los parámetros los transforma al ensilado en un producto no palatable y con ello la disminución de la producción y perdidas económicas al productor.

El uso de la cebada como forraje para la alimentación de los ganados es una práctica común en la región de Huancavelica ya que la producción es considerable y es económicamente alcanzable por los productores. Como una alternativa de provisión de forraje. El proceso de ensilado es uno de los procedimientos más utilizados para la conservación del forraje en épocas de abundancia a fin de suministrar al ganado durante la época de escasez de alimentos, conservando calidad y palatabilidad a bajo costo, permitiendo aumentar el número de animales por hectárea o la sustitución o complementación a los concentrados.

La concentración de ácidos grasos volátiles del ensilado es la medida más importante de la calidad del silaje, y está relacionado fuertemente en la producción animal. En esta investigación se determina el efecto de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico en ensilado de cebada en diferentes tiempos de fermentación sobre la concentración de ácidos grasos volátiles ya que no se cuenta con esta información en la actualidad, por ello el presente estudio aportara una valiosa información a los productores dedicados a la crianza de ganado vacuno para el uso adecuado de *Saccharomyces cerevisiae* en el proceso de ensilado y así ellos generen el incremento de la producción animal y disminuya perdidas económicas

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

Rajcakova y Mlynar (2006) realizaron el estudio sobre la *influencia de algunos aditivos biológicos en la calidad fermentativa del ensilaje de cebada*, con el objetivo de estudiar el efecto de los conservantes enzimáticos y biológicos en la fermentación y la composición de nutrientes de los ensilajes de cebada, en el experimento se utilizó cebada de en su etapa de madurez de la mitad de la masa, se llenaron en silos de laboratorio de 1,7 litros colocados en una habitación con temperatura 15 a 20°C durante 200 días, se examinaron cuatro grupos diferentes: T0: control y tres variantes T1: tratado con un aditivo biológico (*Medipharm* 1 L /t), T2: tratado con un aditivo biológico (*Pioneer* 0,5 kg/t), T3: tratado con un aditivo biológico-enzimático (*Alltech* 2 L/t). Los resultados obtenidos de la concentración de ácidos acético y propiónico para el T0: 5,82 y 2,23 g/kg MS, T1: 4,30 y 0,29 g/kg MS, T2: 4,86 y 0,43 g/kg MS, T3: 4,95 y 0,22 g/kg MS respectivamente. Llegaron a la conclusión de que el uso de los aditivos biológico y químicos en proceso de ensilado disminuyen la concentración de ácidos grasos volátiles.

Kizilsimsek, Erol, y Calislar (2007) evaluaron *efecto de materia prima y tamaño de silo del silo sobre la calidad del ensilado*, con el objetivo de comparar los efectos de ensilaje de las mezclas de leguminosas con cultivos individuales para determinar los posibles efectos del tipo de silo en la calidad del ensilaje, para el experimento utilizaron avena (*Avena sativa L.*), cebada (*Hordeum vulgare L.*) como cultivos de invierno, cada materia prima se ensiló por separado y como mezclas en silo a escala de laboratorio (LSS) y silo a gran escala (BSS) con capacidades de carga de 10 kg y 3 toneladas de material fresco, respectivamente, los silos se abrieron 45 días después

de ensilar. Los ensilajes resultantes se evaluaron en términos de propiedades químicas (ácido acético, ácido butírico) el cual fue analizada por cromatografía de gases. Los resultados encontrados fueron para ensilados de avena pura de escala de laboratorio (LSS) y silos a gran escala (BSS) 10,8 y 3,5 g/kg respectivamente para la concentración de ácido acético, 1,0 y 0,8 g/kg para la concentración de ácido butírico, para mezcla del ensilado de cebada y arveja la concentración de ácido acético y butírico fueron 13,5 y 5,9 g/kg 0,5 y 1,1g/kg respectivamente para los silos de (LSS) y (BSS) respectivamente. Concluyeron que la avena pura dio como resultado la mejor calidad de los ensilajes tanto en LSS como en BSS debido al bajo de concentración de ácido acético y butírico.

Jatkauskas y Vrotniakiene (2003) realizaron el estudio titulado *característica de fermentación y valor nutritivo del trébol rojo hecho en grandes fardos y zanjas*, con el objetivo de examinar la diferencia en las características de fermentación del ensilaje cuando el forraje se ensila en grandes fardos o en una zanja. Ensayaron en zanjas de hormigón y en bolsas (35 micras grosor), los ensilados consistieron en cosechas de leguminosa con (60% de trébol rojo, 25% de Timothy, 10% de festuca y 5% de otros) las cuales fueron marchitados durante 10-20 h. las bolsas y zanjas fueron abiertos después de 100 días de haber ensilado y fueron muestreados para detectar ácidos grasos (acético y butírico). Los resultados encontrados para ensilados en zanjas para la producción de ácido acético y butírico fueron de 0,0176 g/kg y 0,00001 g/kg, para los ensilados realizados en bolsas la concentración de ácido acético y butírico 0,0145 g/kg y 0,0 g/kg. Llegaron a la conclusión de que la calidad fermentativa en ambos ensilados fue buena y además la concentración de ácido acético disminuyo al utilizar bolsas para el ensilado.

Szucs *et al.*, (2003) evaluaron la *dinámica de fermentación de marchitado de alfalfa con conservador biológico*, con el objetivo de evaluar el efecto del conservante biológico en la fermentación de ensilajes de alfalfa, planificaron un control alfalfa sin tratamiento y alfalfa con inoculante biológico (*lactobacillus plantarum PA28* y

Lactobacillus plantarum K270) a razón de 1g/Tm firmemente marchitado (53% MS) se ensilaron en silos de 4.2 litros 3 repeticiones por cada tratamiento durante 60 días a una temperatura de 20-22°C, los contenedores fueron evaluados a los días 1, 2, 4, 10, 30 y 60. Los resultados encontrados para el tratamiento control respecto a la concentración de ácido acético fue 3,7; 5,1 y 7,0 g/kg MS y propiónico 1,6; 0,2 y 0,4 g/kg MS para los días 4, 10 y 30 respectivamente, tratamiento de alfalfa con inoculante los resultados fueron para la concentración de ácido acético 2,4; 7,3 y 6,0 g/kg MS y propiónico 0,7; 0,6 y 0,5 g/kg MS respectivamente para los días de evaluación 4, 10, 30 días respectivamente. Llegaron a la conclusión que durante los primeros dos días la concentración de ácido acético aumento significativamente, la actividad microbiana se acelera durante el cuarto día y aumenta considerablemente hasta el día 30 y esto indica el aumento del contenido de ácidos grasos volátiles por la disminución del pH, la cantidad de ácidos grasos volátiles fue mayor en los henos tratados conservante biológico que en el control.

Podkowka *et al.*, (2003) realizaron su trabajo de *efecto de lactobacillus buchneri en la fermentación y la estabilidad aeróbica de ensilado de maíz*, con el objetivo determinar el efecto de agregar la bacteria *Lactobacillus buchneri* en el proceso de fermentación y la estabilidad aeróbica del ensilaje de maíz, el experimento se realizó con maíz (variedad *Matilda*), se cortó al final de la etapa de madurez de la masa, el forraje verde se cortó en paja de 20mm de largo y se ensilaron en mini silos de laboratorio de 5 litros. Los tratamientos consistieron en ensilados sin y con aditivos (*Lactobacillus buchneri*), el inoculante se aplicó a 0,5 g/kg y cada variante de ensilado se realizó en 5 repeticiones. La calidad de ensilado se evaluó después de 42 días. Los resultados encontrados de la concentración de ácido acético 12,2 g/kg MS para el tratamiento de ensilado de maíz sin aditivo y 41,7 g/kg MS para el tratamiento de ensilado de maíz con aditivo *Lactobacillus buchneri*, habiendo diferencias significativas para la concentración de ácido acético, no se encontró la concentración de ácido propiónico y butírico. Llegaron a la conclusión que el uso de *Lactobacillus buchneri* como aditivo aumenta la concentración de ácido acético.

Dinic *et al.*, (2003) realizaron estudio titulado *influencia de la fase de desarrollo y el nivel de materia seca sobre la calidad y valor nutritivo del ensilado de Dactylis glomerata*, con el objetivo de obtener forraje de alta calidad en relación con el contenido de nutrientes y proporcionar ensilajes estables y de alta calidad con la menor presencia posible de sustancias desfavorables, el experimento fue de 2x2 con tres repeticiones donde el factor A es la fase de crecimiento y fase floración y el factor B es el forraje fresco y marchitado de *Dactylis glomerata*, se ensilaron en silos de laboratorio de 5 litros durante 100 días, se determinaron la concentración de acético, butírico por cromatografía de gases. Los resultados obtenidos para la fase de crecimiento la concentración de ácido acético y butírico en forraje fresco fue 30,2 y 38,9 g/kg MS, ensilado marchitado 17,9 y 4,2 g/kg MS, y en la fase de floración la concentración de ácido acético y butírico 19,0 y 7,0 g/kg MS, forraje marchito 12,3 y 4,1 g/kg MS. Llegaron a la conclusión de que el marchitamiento del forraje disminuye la concentración de ácidos grasos específicamente del ácido butírico.

Tyrolava y Vyborna (2006) realizó estudios del *efecto de los aditivos sobre las características fermentativas del ensilado*, con el objetivo examinar los cambios en las propiedades de las hojas y el tallo de las hierbas de alfalfa, los ensayos se realizaron con cuatro variantes diferentes de ensilaje de alfalfa, T0: grupo control (C) ensilaje sin aditivo, T1: se usó inoculante bacteriano (1 g/Tm) que contenía bacterias de ácido láctico homo y heterofermentativo (*L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *P. acidilactici*), T2: Se usó el aditivo químico que contiene ácido fórmico y propiónico, T3: se ensilo en una cantidad de 5 l/Tm. El inoculante bacteriano con el ácido benzoico en la cantidad de 288 g./Tm, todos los aditivos se aplicaron al forraje troceado de alfalfa en el momento del ensilado, el forraje picado se envasó en bolsas de polietileno una cantidad de 500 g y almacenados en un ambiente de 18-20°C y después de 7 semanas las bolsas se abrieron y analizados. Los resultados encontrados de la concentración de ácido acético y propiónico para el tratamiento T0 fue 11,4 y 2,9 g/kg MS; T1: 12,2 y 1,0 g/kg MS, T2: 8,4 y 1,9 g/kg MS; T3: 1,43 y 0,16 g/kg MS respectivamente. Llegaron a la conclusión de que los tratamientos

tratados con inoculante que contenía *L. buchneri* aumentaron ($P < 0,05$) la concentración de ácido acético en comparación con el ensilaje con el aditivo químico, además todos los aditivos mejoraron la calidad del ensilaje de alfalfa.

Rajcakova y Mlynar (2008) realizaron el estudio sobre el *control de procesos de fermentación por aditivos químicos en el ensilado de alfalfa con bajo contenido de materia seca*, con el objetivo detectar el efecto de la aplicación de aditivos químicos ensiladoras en la calidad del proceso de fermentación en la alfalfa a bajo nivel de materia seca. Para el experimento se cortó la alfalfa en la etapa de germinación y se marchito hasta 23-27 %MS luego se pica y ensilados en condiciones de laboratorio 1,7 L. Se crearon tres variantes de ensilaje, T0: ensilaje control, T1: contenía 24,4 % de nitrato de sodio y 16,3 % de hexametilentetramina (3,5 L/t), T2: contenía 42,5 % de ácido fórmico; 30,3 % de formiato de amonio y 10,0% de ácido propiónico (4 L/t), cada tratamiento consistió en seis repeticiones, se colocaron en habitaciones de 21-10°C, se evaluó después de 105 días de fermentación. Los resultados encontrados de ensilado de alfalfa después de 24 horas de marchitado fueron los siguientes para la concentración de ácido acético To: 19,68; T1: 18,57 y T2: 11,78 g/kg MS, ácido propiónico To: 11,89; T1: 0,92 y T2: 2,49 g/kg MS y ácido butírico To: 58,70; T1: 1,42 y T2: 2,27 g/kg MS, 48 horas de marchitado la concentración de ácido acético To: 34,13; T1: 19,40 y T2: 12,49 g/kg MS, ácido propiónico To: 2,04; T1: 0,42 y T2: 1,13 g/kg MS y ácido butírico To: 28,53; T1: 0,24 y T2: 0,07 g/kg MS. Llegaron a la conclusión de que el uso de aditivos químicos en proceso de ensilado disminuyó estadísticamente de manera muy significativa el contenido de ácido acético, propiónico y butírico en ensilajes.

Pyrochta *et al.*, (2006) realizaron el estudio sobre el *efecto de diferentes dosis de urea sobre las características de fermentación de ensilado*, con el objetivo de evaluar los efectos de las dosis diferenciadas de urea sobre los parámetros de fermentación del ensilaje de maíz sobre la base de una comparación con el control no tratado, el experimento se trabajó con tres tratamientos diferentes: control, variante 1 tratada con

2,5 kg/t de urea, variante 2 tratada con 5 kg/t de urea. Donde la materia seca del maíz fresco fue de 265,2 g/kg. El resultado de la concentración de ácido acético fue menor y los valores correspondientes fueron solo 211 g/kg MS y 106 g/kg MS respectivamente esto significa que una dosis más baja de urea (es decir 2,5 kg/t) resultaron en una inhibición de la producción de ácido acético y síntesis estimulada de ácido láctico. Llegaron a la conclusión que ambas dosis de urea (es decir 2,5 kg/t y 5 kg/t) aumentaron la producción de ácido láctico y ácidos totales y en parte inhibieron la producción de ácido acético.

Mier (2009) en su trabajo de investigación titulado *caracterización del valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilados en forma de microsilos para maíz forrajero*, Con el objetivo de evaluar la efectividad de la mezcla de bacterias más urea en la calidad y estabilidad aeróbica de ensilaje de maíz forrajero, el experimento se realizó con muestras de maíz, donde los tratamientos fueron T1: ensilado de maíz, T2: ensilado de maíz (99,3%) + urea (0,7%) + aditivo microbiano (0,15%), las concentraciones de ácidos graso volátiles se evaluaron a los 90 días, la información fue procesada bajo un diseño completamente al azar con dos factores con tres repeticiones para cada tiempo y tratamiento. Los resultados obtenidos de los ácidos grasos a 90 días de exposición, encontrando la concentración de la producción de ácido acético $0,7 \pm 0,03$ g/kg MS; butírico $0,7 \pm 0,03$ g/kg MS y propiónico $0,3 \pm 0,03$ g/kg MS para T1, y la concentración de la producción de ácido acético de $1,17 \pm 0,7$ g/kg MS, butírico $0,37 \pm 0,04$ g/kg MS, propiónico $0,37 \pm 0,04$ g/kg MS para T2 habiendo diferencias significativas en la producción de ácido acético y no existiendo en los demás ácidos. Llegó a la conclusión que ninguno de los aditivos mejoró sustancialmente los parámetros fermentativos en el ensilaje de maíz en comparación con el testigo.

Ojeda *et al.*, (1992) realizaron el estudio titulado *efecto de diferentes proporciones de dolichos (lablab purpureus CV. rongga) sobre la calidad fermentativa de tres gramíneas tropicales. Evaluación sin conservante*, con el objetivo de evaluar cómo influye la inclusión del dolichos sobre la calidad fermentativa de los ensilajes de

hierba de guinea cv. Likoni, bermuda 68 y Taiwan A-144, se estudiaron los siguientes tratamientos; A) gramíneas 100%; B) leguminosas 100%; C) leguminosa + gramínea 20-80% y D) leguminosa + gramínea 40-60%. Como unidades experimentales se utilizaron microsilos de 400 g de capacidad, con tres réplicas por tratamiento y tiempos de apertura a los 60 días. Los indicadores medidos fueron: los AGV. Los resultados de la concentración de ácido acético 11,83; 7,55 y 1,47 g/kg MS; propiónico 0,32; 0,72 y 0,21 g/kg MS; butírico 10,02; 6,43 y 5,32 g/kg MS para los tratamientos Likoni, bermuda 68 y Taiwan A-144 respectivamente. Concluyeron que la incorporación del dolichos benefició la calidad fermentativa de los ensilajes y los mejores resultados se obtuvieron cuando la leguminosa fue incluida al 40%.

Ariaza *et al.*, (2015) realizaron el estudio *calidad fermentativa y nutricional de ensilados maíz complementados con manzana y melaza*, con el objetivo de evaluar la adición de manzana de desecho y melaza sobre la calidad fermentativa del ensilado de maíz, para el ensayo se utilizó cuatro combinaciones de maíz y manzana (100-0, 75-25, 50-50, 25-75) y tres niveles de melaza (0, 5 y 10 %) para obtener 12 tratamientos. Los resultados de la concentración de ácidos grasos volátiles mantuvieron en rangos aceptables (acético de 0,4 a 7,3 g/kg MS, propiónico de 0,2 a 7,0 g/kg MS y butírico de 0,0 a 5,8 g/kg MS). Llegaron a la conclusión que las concentraciones de ácidos grasos volátiles incrementaron con la melaza y reduciéndose con la manzana frente al ensilado control.

Bores *et al.*, (1983) realizaron el estudio titulado *características del ensilaje de pasto taiwan adicionando diversas fuentes de nitrógeno*, con el objetivo de estudiar las características fermentativas de ensilado pasto taiwa (*Pennisetum purpureum* variedad 144), el experimento se realizó en 25 mini silos distribuidas en 5 tratamientos: a) silo control; b) adicción de 0,5% de urea; c) 1,0% de urea. Obtuvieron los siguientes resultados de la concentración de ácido acético (19,6; 25,8; 43,5 % g/kg MS), propiónico (0; 3,5; 2,1; g/kg MS) y butírico (0; 2,0; 13,7; g/kg MS)

respectivamente. Llegaron a la conclusión de que el uso de urea aumenta la concentración de ácido acético y butírico.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Cebada (*Hordeum vulgare L.*)

Sánchez (2002) menciona que la cebada (*Hordeum vulgare L.*), es la que se utiliza básicamente como forraje, que actualmente es empleada en países desarrollados en un 75% a 80% de su producción para la alimentación animal y entre un 20% y 25% para la elaboración de malta. Se caracteriza por tener un grano mediano amarillo, espiga compacta, su ciclo vegetativo varía entre los 150 días, es usada tierna como forraje y en seco para la industria cervecera. La cebada es una planta de la familia de las Poáceas que tiene gran importancia para el consumo humano y animal. Es un cereal de invierno con características productivas muy similares al trigo.

2.2.2 Silaje

El ensilado es un proceso de conservación de forrajes en estado húmedo mediante fermentación que conduce a la acidificación, en unos reservorios especiales denominados silos, al abrigo del aire, la luz y la humedad exterior. Los forrajes se conservan con un mínimo de pérdidas de materia seca y de nutrientes, manteniendo una buena palatabilidad por el ganado (Mier, 2009)

El silaje es el alimento para los animales resultantes de la preservación anaeróbica de forraje o residuos forrajeras por acidificación. El ensilaje es el proceso o método de conservación de forraje cuya finalidad principal es la preservación del material con mínima pérdida de nutrientes (Cárdenas *et al.*, 2004).

El ensilado es el producto obtenido del proceso fermentativo de algún cultivo. Durante tal proceso y bajo condiciones anaerobias, ocurren una serie de cambios

químicos y bioquímicos destacándose la fermentación parcial de los carbohidratos solubles presentes en vegetales ricos en humedad, disminución y estabilidad del pH, logrando minimizar las pérdidas de nutrientes y la conservación del producto por largos periodos (Macías, 2011).

El silaje es un método de conservación de forrajes en el que se inhibe el crecimiento de microorganismos degradadores de la materia orgánica, preservados con ácidos, sean estos agregados o producidos en un proceso de fermentación natural, llevado a un depósito de dimensiones y forma variable denominado silo, en el que se dispone en capas uniformes eliminando el aire mediante compresión y cubriéndolo finalmente (Mier, 2009).

2.2.3 Levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*)

Las levaduras son hongos microscópicos, es decir, organismos unicelulares del reino vegetal, que suelen medir de 5 a 10 micras, se consideran como organismos facultativos anaeróbicos, lo cual significa que pueden sobrevivir y crecer con o sin oxígeno. La propagación de las levaduras se da por un proceso denominado metabolismo oxidativo (Llamas, 2008)

La *Saccharomyces cerevisiae*, es una levadura heterótrofa, que obtiene la energía a partir de la glucosa y tiene una elevada capacidad fermentativa, constituye una valiosa fuente de proteínas y vitaminas para la alimentación animal, está levadura es una de las especies considerada como microorganismo GRAS, por lo que ha sido aprobada para su uso como aditivo alimentario (Suárez *et al.*, 2017).

La levadura son hongos unicelulares que se utilizado durante siglos para la obtención de vino, cerveza o el pan. Todas metabolizan azúcares como la glucosa, fructosa y manosa, pero algunas son capaces de hacerlo en condiciones anaerobias, como la producción de alcohol y anhídrido carbónico, en el proceso conocido como fermentación (Martín, 2005).

La levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) constituye una valiosa fuente de proteína y vitamina para la alimentación animal. Son uno de los grupos más importantes de microfloras responsables de iniciar el deterioro aeróbico durante el ensilaje. Su crecimiento puede ser controlado por el nivel de pH, la anaerobiosis y las concentraciones de ácidos orgánicos (Oladosu *et al.*, 2016). Su uso como probiótico en el ensilado modifica el proceso fermentativo favoreciendo la anaerobiosis y estimulando el crecimiento de microorganismos (Suárez y Guevara, 2017), mejorando la calidad nutritiva y fermentativa, al mismo tiempo disminuyendo los riesgos en el proceso de ensilado.

2.2.3.1 Características de levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*)

Saccharomyces cerevisiae se caracteriza por ser un organismo unicelular eucariota, pertenece a la familia de los quimiorganótrofos, es una bacteria anaeróbica facultativa, se alimenta de glucosa y otros carbohidratos y Produce una toxina proteica que inhibe el crecimiento de otras levaduras (Harwell, 1974).

Saccharomyces cerevisiae es un microbio unicelular eucariota, de forma globular, verde amarillento. Es quimiorganótrofos, ya que requiere de compuestos orgánicos como fuente de energía y no requiere de luz solar para crecer. Esta levadura es capaz de utilizar diferentes azúcares, siendo la glucosa la fuente de carbono preferida (Kovacevi, 2015)

S. cerevisiae es anaerobio facultativo, ya que es capaz de crecer en condiciones de deficiencia de oxígeno. Durante esta condición ambiental, la glucosa es convertida en diferentes intermediarios como etanol, CO₂ y glicerol, es el medio ampliamente utilizado por la industria para fermentar los azúcares presentes en diferentes granos como trigo, cebada y maíz (Saito *et al.*, 2004).

2.2.3.2 Importancia de levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*).

Durante los últimos 100 años la levadura fue importante en la alimentación de animales por su alto contenido de proteína, aumentar ganancia de peso y mejorar la producción animal, el cual está siendo suministrado al ganado en forma de una masa fermentada producida en el rancho, subproductos de levaduras de cervecería o destilería, o productos comerciales elaborados a base de levaduras específicamente para la alimentación animal (Llamas, 2008)

Saccharomyces cerevisiae se utilizan en la nutrición animal como fuente de proteínas. Sin embargo, como resultado de las mejoras biotecnológicas en los últimos años, el cultivo de levadura viva también se usan como un aditivo alimenticio para aumentar la producción animal (Biricik *et al.*, 2001)

Documentos recientes indican que el uso de levadura pan como aditivo en ensilado mejora el valor proteico de forrajes con baja contenido de proteínas, favorece el proceso de anaerobiosis de los silos, posee la capacidad degradativo de la fibra, digestión de la celulosa y puede alterar los patrones de producción de ácidos grasos volátiles (Suárez *et al.*, 2017).

2.2.3.3 Composición química de levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*)

La composición química de la levadura está constituida generalmente vitaminas del complejo B, minerales, es una buena fuente de proteína y de aminoácidos. Aproximadamente el 40% del peso de la levadura seca consiste en proteína. La calidad de la proteína de la levadura es excelente, tratándose de una proteína de origen vegetal, y su calidad es equivalente a la soya, pues ambas son ricas en lisina (Llamas, 2008).

Se ha aseverado que la levadura *S. cerevisiae*, alcanza valores de materia seca (MS) de 18-20 % y un contenido de proteína bruta (PB) de 32-36 % sobre base seca, proteína verdadera es de 0,20 % (Suárez *et al.*, 2017).

2.2.4 Proceso de ensilado

Es un proceso de fermentación láctica en condiciones anaeróbicas, donde las bacterias lácticas epífitas fermentan los hidratos de carbono del forraje a ácido láctico y, en menor medida, a ácido acético. Debido a su ambiente anaeróbico, el oxígeno es perjudicial para el proceso, porque habilita la acción de microorganismos aerobios que degradan el forraje ensilado hasta CO₂ y H₂O. Con la presencia de ácidos lácticos y acéticos, el pH del material ensilado disminuye e inhibe los microorganismos indeseables (Rojas, 2018)

El proceso de fermentación no depende sólo del tipo y la calidad del forraje, sino también de la técnica empleada para la cosecha y para el ensilaje, para producir un ensilaje de buena calidad es esencial asegurar que se produzca una buena fermentación microbiana en el ensilado (Stefanie *et al.*, 2001).

La fermentación de ensilados es un proceso anaerobiosis para ello primero se realiza el corte del forraje, aquel forraje cortado puede ser pre marchitarse o llevarlo directamente a ensilar. Es muy importante durante la confección, que el forraje sea bien compactado con el fin de evitar la entrada de aire y minimizar pérdidas de nutrientes (Palomino *et al.*, 2004).

Mediante el proceso de fermentación de los ensilados ocurre el descenso rápido del pH del producto mediante la fermentación láctica y mantención de las condiciones anaerobias (Flores, 2004). Por tanto, los cambios bioquímicos del producto a ensilar empiezan desde el corte del forraje y los cuales pueden ser descritos en las siguientes fases: Fase aeróbica, Fase anaerobia, Fase estable y Fase de alimentación o vaciado (Sánchez, 2002).

2.2.4.1 Fase aerobia.

Luego del picado y ensilado, las células del vegetal continúan respirando hasta que consumen todo el oxígeno del aire presente en la masa ensilada. Durante esta etapa,

gran parte de los carbohidratos no estructurales, en especial el almidón, son transformados en azúcares simples (glucosa y fructosa). Posteriormente, estas sustancias son utilizadas por los M.O. que se encuentran en la superficie del vegetal (bacterias, mohos, levaduras), generando ácidos grasos volátiles (Fernández, 1999)

Se inicia luego del corte del cultivo suspendiéndose la fotosíntesis; sin embargo, continúa la respiración de las células vegetales y las enzimas de las plantas se encuentran activas hasta agotarse el oxígeno. Durante esta fase; las enzimas degradan los componentes del cultivo provocando pérdidas de materia seca, energía metabolizable y carbohidratos solubles siendo estos últimos requeridos por las bacterias lácticas para la fermentación. También se produce proteólisis enzimática que, en casos de tener exceso de oxígeno, puede provocarse una extensa degradación proteica, una elevación de temperatura y el desarrollo de microorganismos aeróbicos (levaduras y mohos), llevando a disminuir la digestibilidad y a ejercer efectos negativos en la estabilidad aeróbica del ensilaje una vez abierto (Sánchez, 2002).

Es inevitable la fase de respiración y la degradación de sus nutrientes, pero minimizar este tiempo se lo puede lograr alcanzando mejores labores de cosecha, el reducir el tamaño de partícula alcanzando un grado alto de compactación y sellado, para así alcanzar la máxima calidad del producto (Flores, 2004).

Esta fase dura pocas horas. El oxígeno atmosférico presente en la masa vegetal disminuye rápidamente debido a la respiración de los microorganismos aerobios y aerobios facultativos como las levaduras y enterobacterias. Además, hay actividad de varias enzimas vegetales, como las proteasas y las carbohidrasas, siempre que el pH se mantenga en el rango normal para el jugo del forraje fresco pH 6,5-6,0 (Molina *et al.*, 2004)

2.2.4.2 Fase anaerobia

Esta fase se inicia cuando se ha agotado el oxígeno produciendo la fermentación propiamente tal, con el crecimiento inicial de coliformes, los cuales producen ácidos

orgánicos, alcohol y gas carbónico. De tal manera, disminuye el pH provocando el incremento de microorganismos como son las bacterias lácticas siendo las homofermentativas las más deseables, cuya producción de ácido láctico conlleva a la rápida caída del pH asegurando así el éxito del proceso. Esta fase continúa hasta cuando el pH sea lo suficientemente bajo para inhibir el crecimiento potencial de microorganismos, estabilizando el proceso, lo cual puede ser alcanzado de 10 a 21 días (Sánchez, 2002).

Se inicia al producirse un ambiente anaerobio. Puede durar de días a semanas dependiendo de las características del material ensilado y de las condiciones ambientales en el momento del ensilaje. Si la fermentación se desarrolla con éxito, la actividad BAC proliferará y se convertirá en la población predominante. Debido a la producción de ácido láctico y otros ácidos, el pH bajará a valores entre 3,8 a 5,0 (Molina *et al.*, 2004).

En esta fase las bacterias aeróbicas mueren y dan paso al desarrollo de las bacterias anaeróbicas. Por lo general en condiciones normales puede durar de días a semanas y esto dependerá principalmente de las características que tenga el material ensilado y de las condiciones ambientales en el momento del ensilaje. Si hay éxito y se desarrolla la fermentación, la actividad las bacterias epifitas de ácido láctico proliferará y se volverán la población que predominara. Gracias a la producción de ácido láctico y otros ácidos, el pH disminuirá entre 3,8 – 5,0 (Martinez, 2019).

2.2.4.3 Fase Estable

En esta fase la fermentación debido a la falta de azúcares se detiene y los valores del pH se mantienen constantes, gracias a las condiciones anaeróbicas creadas (Martinez, 2019).

Una vez que la fase de fermentación se ha completado, el ensilaje luego entra en una fase de estabilidad anaeróbica. A condición que el oxígeno este excluido, habrá poco o ningún cambio en el producto conservado. (Kaiser *et al.*, 2004).

La mayoría de los microorganismos de la fase 2 lentamente reducen su presencia. Algunos microorganismos acidófilos sobreviven este período en estado inactivo; otros, como clostridios y bacilos, sobreviven como esporas. Sólo algunas proteasas y carbohidrasas, y microorganismos especializados, como *Lactobacillus buchneri* que toleran ambientes ácidos, continúan activos, pero a menor ritmo. Si el ambiente se mantiene sin aire ocurren pocos cambios (Molina *et al.*, 2004).

Mientras se mantenga el ambiente sin oxígeno, ocurren pocos cambios y lentamente los microorganismos de la fase fermentativa reducen su presencia. Algunos microorganismos acidófilos sobreviven en este período en estado inactivo; aunque clostridios y bacilos sobreviven como esporas (Rojas, 2018).

2.2.4.4 Fase de vaciado o Apertura del silo.

En esta fase el ensilaje está listo para ser suministrado a los animales, pero una vez que el silo es abierto para suministro del mismo, hay capas que quedan expuestas al oxígeno, y los hongos y levaduras que son microorganismos aeróbicos se desarrollan e inician a consumir la materia seca (ácido láctico, azúcares y otras sustancias), generando no solo un aumento de la temperatura sino también altas pérdidas (Martínez, 2019).

Esta fase se la denomina también como fase de deterioro aeróbico y se inicia con la apertura del silo al ser nuevamente expuesto al oxígeno; se originan pérdidas considerables del material, pero las magnitudes de aquellas van a depender de las fases anteriores (Sánchez, 2002).

Ocurre en todos los ensilajes al ser abiertos y expuestos al aire para su empleo, pero puede ocurrir antes por daño de la cobertura del silo. El período de deterioro puede dividirse en dos etapas. La primera se debe al inicio de la degradación de los ácidos orgánicos que conservan el ensilaje por acción de levaduras y ocasionalmente por bacterias que producen ácido acético. Esto aumenta el valor del pH, lo que permite el inicio de la segunda etapa de deterioro; en ella se constata

un aumento de la temperatura y la actividad de microorganismos que deterioran el ensilaje, los bacilos. La última etapa también incluye la actividad de otros microorganismos aerobios, también facultativos, como mohos y enterobacterias (Molina *et al.*, 2004).

2.2.5 Ácidos grasos volátiles en ensilado.

Los ácidos grasos consisten en dos cadenas de átomos de carbono que varían de entre 2 a 24 unidades o más de longitud; en el extremo de cada cadena hay un grupo carboxilo. La estructura general es RCOOH, donde R es una cadena de carbono de longitud variable (Pond y Church, 2010).

Los ácidos grasos volátiles (AGV) son generados en las distintas fermentaciones que se llevan a cabo durante el proceso del ensilaje, la presencia o ausencia de algunos pueden determinar la calidad del material ensilado (Guardián, 2019).

El contenido de AGV en el material ensilado varía en función del nivel de MS del cultivo. Los principales factores que afectan la concentración de ácido grasos son el contenido de carbohidratos solubles presentes y la capacidad amortiguadora que posea. La presencia de ácidos butírico, propiónico, son producto de fermentaciones indeseables y deberían ser nulas en ensilajes de buena calidad (Rojas, 2018).

Los ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato y butirato) son los productos finales de la fermentación microbiana anaeróbica de los carbohidratos no estructurales, en especial el almidón, son transformados en azúcares simples (glucosa y fructosa). Posteriormente, estas sustancias son utilizadas por los M.O. que se encuentran en la superficie del vegetal (bacterias, mohos, levaduras), generando ácidos grasos volátiles (Fernández, 1999).

Los ácidos grasos volátiles (AGV) son indicadores de la calidad fermentativa del ensilado, son generados en las distintas fermentaciones que se llevan a cabo durante el proceso del ensilaje, la presencia o ausencia de algunos pueden determinar la

calidad fermentativa del material ensilado (Guardián, 2019). La presencia de ácidos butírico, propiónico, son producto de fermentaciones indeseables y deberían ser nulas en ensilajes de buena calidad (Rojas, 2018). En ensilado de buena calidad los contenidos de ácidos grasos volátiles son aceptables cuando no superan los rangos porcentuales, acético < 2% MS (Fernández *et al.*, 1999), propiónico < 0,1%MS y butírico de 0-1% MS (Kaiser *et al.*, 2004). Cuando éstos se presentan en altas cantidades en ensilados son indicadores de pobre fermentación (Cañeque y Sánchez, 1998), transformando en un producto no palatable, aunque el contenido de la energía metabolizable y proteína cruda sean altos, logrando como resultado disminución de consumo y baja producción en aquellos ensilajes con mala fermentación.

Los ácidos grasos volátiles se generan por la fermentación de los carbohidratos por acción de bacterias aeróbicos facultativos en el ensilado. (Elferink *et al.*, 1997). Cuando éstos se presentan en altas cantidades en ensilados son indicadores de pobre fermentación (Cañeque y Sánchez, 1998). Su estudio se hace más relevante de manera individual de los 3 ácidos grasos volátiles teniendo como los más representativo: Acético, Butírico, y Propiónico, realizando a continuación su descripción de manera individual:

2.2.5.1 Producción de ácido acético

La concentración del ácido acético afecta la palatabilidad del conservado, un alto contenido disminuye la palatabilidad del ensilaje y se lo considera mayor inhibidor de levaduras y mejor estabilizante aeróbico que el ácido láctico. Es un constituyente normal del ensilaje que procede de las fermentaciones producidas por las bacterias coliformes, butíricas y lácticas heterofermentativas. Los valores son aceptables de 2 a 3% en base a la MS (Contreras *et al.*, 2009).

La concentración de ácido acético en ensilaje para que sea catalogado agradable y de buenas características, debe alcanzar un rango porcentual de menores de 2%

(Fernández, 1999), se considera como excelente y valores por encima del 6% se estima como muy malo (Rojas, 2018).

El ácido acético deben estar ausentes o en cantidades despreciables, ya que son el resultado de fermentaciones no deseables inducidas por la presencia de bacterias coliformes que transforman el ácido láctico en ácido acético y de gérmenes butíricos (Guardián, 2019)

2.2.5.2 Producción de ácido propiónico

Es de menor interés que los dos anteriores al encontrarse, por lo general, en menor proporción en los ensilados (0,1 a 2 g/kg de MS). Su presencia es indicadora de la degradación que han sufrido los compuestos nitrogenados, siendo valores cercanos a 0,0 a 0,1 % los que indican de buena calidad (Fernández, 1999).

La actividad metabólica fermenta sobre los hidratos de carbono conducen a la formación de ácidos orgánicos como el propiónico. Un ensilado bien hecho posee la mayor proporción poco de propiónico (Guardián, 2019).

2.2.5.3 Producción de ácido butírico

Producido por las bacterias butíricas es un buen indicador, tanto de calidad del producto conservado como de su estabilidad anaerobia. Este ácido puede ser producido bajo condiciones anaerobias debido a una variedad de factores, entre ellos los que se incluyen: la alta contaminación con suelo, baja tasa de fermentación, la baja cantidad de materia seca. Lo ideal es que no aparezca en los análisis o sólo trazas del mismo (0 – 0,1% en base a MS) (Kaiser *et al.*, 2004), >0.1% (Durango *et al.*, 2015; Fernández, 1999), dando un buen indicador de un producto de buena calidad.

La concentración de ácido butírico en ensilaje para que sea catalogado agradable y de buenas características, debe alcanzar un rango porcentual de concentraciones inferiores de 0,1%, y muy malas en concentraciones superiores a 2% (Rojas, 2018).

El ácido butírico deben estar ausentes o en cantidades despreciables, ya que son el resultado de fermentaciones no deseables inducidas por la presencia de bacterias coliformes que transforman el ácido láctico en ácido acético y de gérmenes butíricos (Guardián, 2019).

2.3 Definición de términos

Anaerobiosis

Es la capacidad que poseen algunos organismos, como hongos, bacterias, parásitos, etc., para vivir sin oxígeno molecular libre: anaerobiosis es sinónimo de vida en ausencia de oxígeno libre (Litterio Bürki y Lopardo, 2010).

Bacteria facultativa

Las bacterias facultativas son bacterias que pueden desarrollarse tanto en presencia como en ausencia de oxígeno, por lo que también se las llama aerobias facultativas o anaerobias facultativas. Pueden desarrollar un metabolismo respiratorio, usando el oxígeno presente; o fermentativo, en ausencia de oxígeno (Litterio Bürki y Lopardo, 2010).

Carbohidratos

Los carbohidratos conforman la mayor parte de la materia orgánica del planeta, sirviendo como reserva de energía, combustible e intermediario metabólico, componente de los ácidos nucleicos elementos estructurales en paredes celulares de bacterias, plantas y exoesqueletos de artrópodos (Osorio, 2003).

Cromatografía de gases

En cromatografía de gases es una técnica de separación de compuestos volátiles y semivolátiles de una muestra. La muestra se inyecta en la cabeza de una columna cromatografía. La elución se produce por el flujo de una fase móvil que es un gas

inerte, y a diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna (Gutiérrez y Droguet, 2002).

Ensilado

El ensilaje es un método de conservación de forrajes en el que se inhibe el crecimiento de microorganismos degradadores de la materia orgánica, preservados con ácidos, sean estos agregados o producidos en un proceso de fermentación natural, llevado a un depósito de dimensiones y forma variable denominado silo, en el que se dispone en capas uniformes eliminando el aire mediante compresión y cubriéndolo finalmente. El ensilado es un método de conservación de forrajes u otros alimentos con elevado contenido en humedad, al abrigo del aire, la luz y la humedad exterior mediante acidificación, que impide la continuidad de la vida vegetal y la actividad microbiana indeseable. Esta acidificación, medible en forma de pH (a menor pH, más acidez), se consigue mediante fermentaciones que tienen lugar en el forraje segado (Argamentería *et al.*, 1997).

Forraje

Son gramíneas o leguminosas cosechadas para ser suministradas como alimento para los animales domésticos herbívoros, sea verde, seco o procesado (heno, ensilaje, rastrojo, sacharina, amonificación). Toda especie vegetal silvestre, o cultivada que es consumida por los animales domésticos herbívoros, siendo capaz esta de mantener los procesos vitales y de producción. Los cultivos forrajeros son especies que se establecen con el objetivo de alimentar al ganado, los granos de algunos de estas especies pueden ser utilizados para el consumo del ser humano (ejemplo: el sorgo, maíz, caña de azúcar; entre otros) pero la mayoría de estas variedades se establecen exclusivamente para alimentar al ganado (Ramos *et al.*, 2012).

Fermentación anaeróbica

Es un proceso catabólico de oxidación incompleta, que no requiere oxígeno, y el producto final es un compuesto orgánico (Anrique G. y Paz Viveros, 2002).

Levadura

Se denomina levadura o fermento a cualquiera de los diversos organismos eucariotas, clasificados como hongos, ya se ascomicetos o basidiomicetos microscópicos, con forma unicelular predominante en su ciclo de vida, generalmente caracterizados por dividirse asexualmente por gemación o fisión binaria y por tener estados sexuales que no están adjuntos a un esporocarpo (Suárez y Guevara, 2017).

Metabolismo

Conjunto de transformaciones materiales que se efectúan constantemente en las células de los organismos vivos (Ávalos y Pérez, 2009).

2.4 Hipótesis

Ha = Existe efecto significativo de los diferentes niveles de levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*) y tiempos de fermentación sobre la concentración de ácidos grasos volátiles en ensilaje de cebada (*Hordeum vulgare L.*).

Ho = No existe efectos significativo de los diferentes niveles de levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*) y tiempos de fermentación sobre la concentración de ácidos grasos volátiles en ensilaje de cebada (*Hordeum vulgare L.*).

2.5 Variables

2.5.1 Variable independiente

- Niveles de Levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)
- Tiempos de fermentación

2.5.2 Variable dependiente

Concentración de ácido grasos volátiles (AGV)

- Concentración de ácido acético
- Concentración de ácido propiónico
- Concentración de ácido butírico

2.6 Operacionalización de variables

Cuadro 1. Operacionalización de variables

Variable	Indicador	Escala
Variable dependiente		
Concentración de ácidos grasos volátiles	Ácido acético, propiónico, butírico. (g/kg MS)	Continuos
Variable independiente		
Niveles de levadura (L)	0; 0,5; 1 y 1,5 (%)	Continuos
Tiempos de fermentación (T)	6, 12 y 24 (Días)	Discretas

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

3.1 Ámbito temporal y espacial

3.1.1 Ámbito temporal

El análisis de muestras y procesamientos de datos del presente trabajo de investigación se realizaron entre los meses de agosto a diciembre del año 2019.

3.1.2 Ámbito espacial

El Ámbito espacial del análisis de muestras y procesamiento de datos del presente trabajo de investigación se realizó en el área de cromatografía de gases de las instalaciones del Laboratorio de Nutrición Animal y Evaluación de Alimentos-LUNEA, de la Escuela Profesional de Zootecnia, Facultad de Ciencias de Ingeniería de la Universidad Nacional de Huancavelica.

El forraje verde de cebada fue recolectada a los 120 días de edad, con maduración fisiológica de la semilla de grano lechoso – pastoso, del centro poblado de Antacocha ubicado a una altitud de 3795 msnm, con 8 a 15 °C de temperatura promedio anual.

3.2 Tipo investigación.

Según la finalidad, es una investigación aplicada porque usan conceptos de variables para generar nuevos conocimientos, con el fin primordial de guiar a la toma de decisiones (Carrasco, 2005).

3.3 Nivel de investigación.

El nivel de investigación es explicativo porque tiene la finalidad de explicar el comportamiento de una variable en función a otra variable. Se centra en explicar por

qué ocurre un fenómeno y en qué condiciones se da este o porque dos o más variables están relacionadas (causa - efecto) (Carrasco, 2005).

3.4 Método de investigación.

Según su finalidad el método de investigación es el método científico, donde los principales métodos que se utilizaran en la investigación será análisis, síntesis y inductivo. Por qué los resultados se obtienes de acuerdo a una secuencia lógica (Carrasco, 2005).

3.5 Diseño de investigación.

El presente estudio presenta el diseño de investigación experimental transversal, donde es una situación de control en la cual se manipula de manera intencional, una o más variables independientes para analizar las consecuencias sobre uno o más variables dependientes (Carrasco, 2005).

3.6 Población, Muestra, Muestreo.

3.6.1 Población

La población fue constituida por una hectárea (Ha) cebada (*Hordeum vulgare L.*) cosechada en a los 120 días de edad con madurez de la semilla grano lechoso - pastoso, estado donde posee mayor cantidad de nutrientes por hectárea, fueron traídos de la comunidad de Antacocha, distrito y provincia de Huancavelica.

3.6.2 Muestra.

Se utilizaron 5 kilogramos por cada tratamiento haciendo un total de 180 kg de forraje de cebada.

3.6.3 Muestreo

La técnica del muestreo fue de carácter no probabilística tipo intencionada o por conveniencia mencionado por Lagares y Puerto, (2001). Donde, la población de cebada como forraje con maduración fisiológica de la semilla de grano lechoso – pastoso tienen la misma probabilidad de aparecer, hasta alcanzar el tamaño de muestra determinado.

3.7 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.7.1 Técnica

- Observación experimental (Bernal, 2006).
- Cromatografía de gases (Macías, 2011).

3.7.2 Instrumento

- Para los niveles de levadura y tiempos de fermentación se utilizó ficha de registro de observación.
- Para la concentración de ácidos grasos volátiles se utilizó ficha de registro de datos de análisis de cromatografía de gases.

3.8 Procedimiento de recolección de datos.

3.8.1 A nivel de campo

Obtención de muestra

Se trabajó con cebada variedad Centenario, colectadas con plantas de 120 días de edad, en estado de madurez fisiológica de la semilla de grano lechoso - pastoso, para ello se utilizó una segadora manual, la muestra fue conformado por 180 kilogramos.

Procesamiento de muestra

Se preparó ensilado de cebada utilizando toda la planta, que fue cortada en fragmentos de 2 a 2,5 cm con una picadora mecánica industrial de marca Retsch. La cebada cortada fue distribuida en proporciones de 5 kg para el acondicionamiento de los tratamientos. La levadura fue adquirida de casas comerciales, en forma granulada, esta fue esparcida en niveles de 0; 0,5; 1,0 y 1,5 % sobre la cebada cortada. El ensilado de cebada fue almacenado en bolsas de polietileno (0,60 x 0,90 m y con espesor de 0,20 mm) con tres repeticiones por cada tratamiento, el material fue compactado con la ayuda de un bastón de madera para facilitar la salida del aire. Las bolsas fueron cerradas con cintas adhesivas y almacenadas para ser abiertas y evaluadas a los 6, 12 y 24 días. Transcurridos estos tiempos, se abrieron los microsilos de acuerdo a la arquitectura de los tratamientos, esparciéndose todo sobre una superficie plástica, descartándose el material descompuesto.

3.8.2 A nivel de laboratorio

Obtención de muestra

- Se extrajeron muestras de 30 gramos de ensilaje de cebada de cada tratamiento.

Procesamiento de muestra

A nivel de laboratorio las muestras de ensilado de cebada fueron procesadas por el método descrito por Macias (2011), donde se colocaron 30 g de ensilado fresco en 150 ml de agua desionizada, en seguida se conservó durante 16 horas a 4 °C en un recipiente sellado, se filtró a través de un papel Whatman N° 1, el extracto fue colocado en tubos de polipropileno y centrifugado a 3000 rpm, por 15 minutos, de la muestra centrifugada se tomó 4 ml y fue colocado en tubo de polipropileno más 1 ml de solución conservante posteriormente se agito está solución, en viales de 1 ml se colocó 0,5 ml de solución (muestra más conservante) y 0,5 ml de agua

destilada, estas fueron llevados al equipo de cromatografía de gases para su análisis, los resultados fueron expresados gramos sobre kilogramos en base materia seca.

Se utilizó el equipo cromatógrafo de gases TRACETM 1300, equipado con una columna de 32m x 0.25mm x 0.25um, el flujo de la columna fue de 1.2 ml*min⁻¹ utilizando helio como acarreador. La temperatura del inyector fue de 250°C. La rampa de temperatura del horno se mantuvo 85°C min⁻¹, posteriormente se aumentó 4°C min⁻¹ hasta alcanzar 148°C durante 16 minutos y finalmente aumentó 35°C min⁻¹, hasta llegar al minuto 23. La temperatura del detector fue de 250°C, con un flujo del H₂ y Aire de 35 y 350 ml por minuto, respectivamente. Se utilizó estándares de ácidos grasos volátiles (ácido acético, propiónico y butírico) con un estándar interno en mezclas de concentración de 10 a 1000 (mg/L) de cada uno.

3.9 Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Se utilizó un diseño completamente al azar, con tres repeticiones por tratamiento, conducido en arreglo factorial de 4x3, de acuerdo al siguiente modelo: $Y_{ijk} = \mu + L_i + T_j + (LT)_{ij} + e_{ijk}$; donde Y_{ijk} se refiere a los valores observados de las variables estudiadas (AGV expresados en g/kg MS); μ es la media general esperada de cada una de las variables, L_i determina el i -ésimo efecto del nivel de inclusión de la levadura ($i = 0; 0,5; 1,0$ y $1,5\%$); T_j es el efecto j -ésimo de tiempos de fermentación ($j = 6, 12$ y 24 días); $(LT)_{ij}$ informa el efecto de la interacción entre L_i y T_j ; y e_{ijk} informa el efecto aleatorio residual del experimento. El nivel de significancia estadística de las medias de las variables fue considerado como $P < 0,05$. Las medias de las variables fueron contrastadas por la prueba de regresión múltiple al 1 y 5 % de probabilidad. Se verificó la normalidad de los residuos mediante la prueba de Shapiro-Wilks y la homogeneidad de varianzas mediante Test de Levene. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa SAS 9,4.

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Análisis de información

A continuación, se detalla los resultados del efecto de los diferentes niveles de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) (0; 0,5; 1,0 y 1,5 %) y los tiempos de fermentación (6, 12 y 24 días) y la interacción de estos factores de estudio sobre la concentración de ácidos grasos volátiles (g/kg MS) en ensilados de cebada (*Hordeum vulgare L.*).

Tabla 1. Análisis de varianza de la concentración de ácido acético, propiónico y butírico del ensilado de cebada.

Factor de variación	GL	P-valor		
		Ácido Acético ¹	Ácido Propiónico ¹	Ácido Butírico ¹
Levadura (L)	3	0,2298	0,0012	0,0005
Tiempos (T)	2	<,0001	0,0136	0,0170
Interacción (LXT)	6	0,4994	0,7049	0,0055
Error	24			
Total	35			
CV(%)		8,07	3,66	2,67

¹g/kg MS

Efecto de niveles de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre la concentración de ácidos grasos volátiles.

El contenido de ácido acético (AA) no fue significativo (P valor = 0,2298) en función a niveles de levadura en cebada ensilada (Tabla 1). Los valores de AA oscilaron entre 0,00670 y 0,0717 g/kg MS (Tabla 2). El análisis de regresión no evidenció diferencias significativas del efecto de los niveles de levadura sobre el contenido de AA de la cebada ensilada, cuya media fue de 0,0691 g/kg MS.

Tabla 2. Tenores medios y ecuación de regresión de contenido de ácido acético, propiónico y butírico en ensilado de cebada en función a niveles de levadura.

Variables	Niveles de levadura (%)				Media
	0	0,5	1,0	1,5	
Ácido acético	0,0704 ^a	0,0672 ^a	0,0670 ^a	0,0717 ^a	0,0691
Ácido propiónico	0,0130 ^c	0,0135 ^{bc}	0,0139 ^{ab}	0,0143 ^a	0,0137
Acido butírico	0,00980 ^a	0,00965 ^{ab}	0,00886 ^c	0,00933 ^b	0,0094

Variable	Ecuación de regresión	R ²
Ácido acético	Y = 0,0691	-
Ácido propiónico	Y = 0,0131 + 0,0008L	0,4135
Acido butírico	Y = 0,00979 – 0,00047L	0,2900

^{a,b,c} diferentes superíndices dentro de cada fila indican diferencias estadísticas (P < 0,05)
R²= coeficiente de determinación.

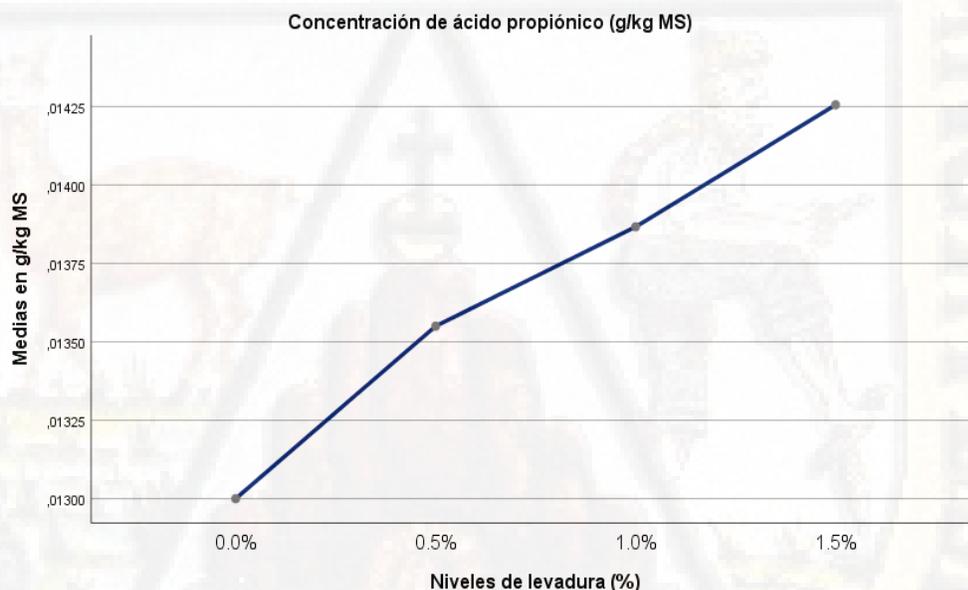
En la Tabla 1 se observa el efecto significativo (P valor = 0,0012) de levadura sobre el contenido de ácido propiónico (AP). El ensilado de cebada libre de levadura (0%; 0,0131 g/kg MS) que no difirió con el tratamiento con adición de 0,5 % de levadura (0,0136 g/kg MS) fue significativamente (P < 0,05) inferior a los tratamientos con adición de levadura 1,0 y 1,5 % (Tabla 2). El análisis de varianza de la regresión reveló el efecto lineal positivo en el contenido de AP de los tratamientos en función a los niveles de levadura, según la ecuación de regresión $Y = 0,0131 + 0,0008L$, por tanto, en el intervalo de los niveles de levadura se espera un incremento de 0,0008 g/kg MS de AP en ensilado de cebada por cada unidad de incremento de levadura.

Así mismo se puede observar en la figura 2, el contenido de la concentración de AP se incrementa a medida que los niveles de levadura se incrementa en la cebada ensilada, obteniendo mayor concentración de AP al adicionar 1,5 % de levadura al momento de ensilar la cebada.

En la Tabla 1 se observa que los niveles de levadura influyeron significativamente (p = 0,0005) en los valores del contenido de ácido butírico (AB) en cebada ensilada. El

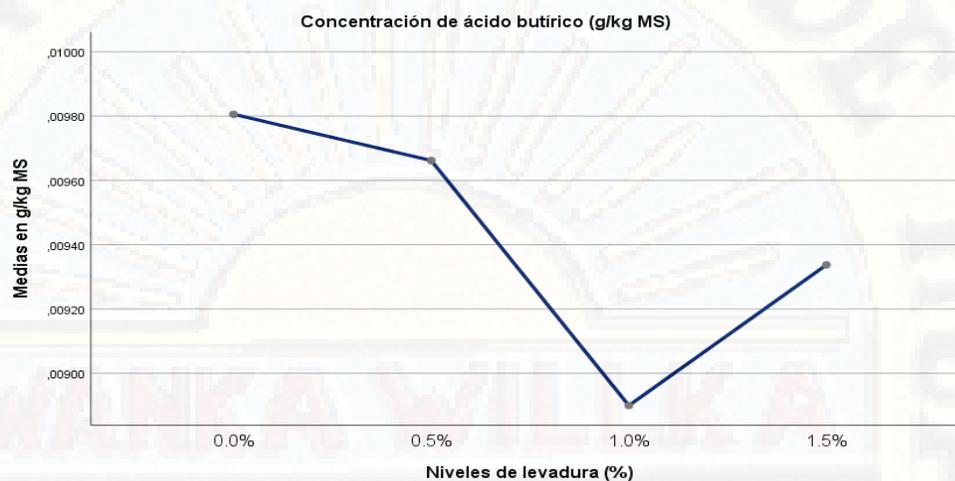
ensilado de cebada con tratamiento sin levadura (0 %; 0,0098 g/kg MS) que no difirió del tratamiento con adición de 0,5 % de levadura (0,0097 g/kg MS) fue significativamente ($P < 0,05$) superior a los tratamientos con adición de levadura 1,0 % y 1,5 % (Tabla 2). El análisis de varianza de la regresión verifico el efecto lineal negativo ($Y = 0,00979 - 0,00047L$) de los niveles de levadura en el contenido de AB. Por tanto, en el intervalo de los niveles de levadura se espera una disminución de 0,00047 g/kg MS de AB en ensilado de cebada por cada unidad de incremento de niveles de levadura.

Figura 1. Concentración de ácido propiónico (AP) en ensilado de cebada con diferentes niveles de levadura.



El contenido de AB debería ser nula en ensilado de calidad, la levadura mejoró la calidad fermentativa de ensilado de cebada como se puede observar en la Figura 3, donde la concentración de ácido butírico disminuye a medida que se incrementa los niveles de levadura en ensilado de cebada.

Figura 2. Concentración de ácido butírico en ensilado de cebada con diferentes niveles de levadura



Efecto de tiempos de fermentación sobre la concentración de ácidos grasos volátiles en ensilado de cebada.

Los valores de la concentración de AA en ensilado de cebada variaron en función a los tiempos de fermentación (Tabla 1). Los ensilados de 24 días mostraron superioridad ($P < 0,05$) en la concentración de AA en relación a 6 y 12 días de fermentación (0,0630 y 0,0682 g/kg MS) (Tabla 3). El análisis de varianza de la regresión verificó el efecto lineal positivo de los tiempos de fermentación sobre el contenido de AA (Tabla 4). Por tanto, en el intervalo de tiempos de fermentación se espera un aumento de 0,0007 g/kg MS en el ensilado de cebada por cada día de aumento

Así mismo se puede observar en la figura 4 el incremento de la concentración de AA en ensilado de cebada a medida que se incrementa los tiempos de fermentación.

Figura 3. Concentración de ácido acético (AA) en diferentes tiempos de fermentación (días)

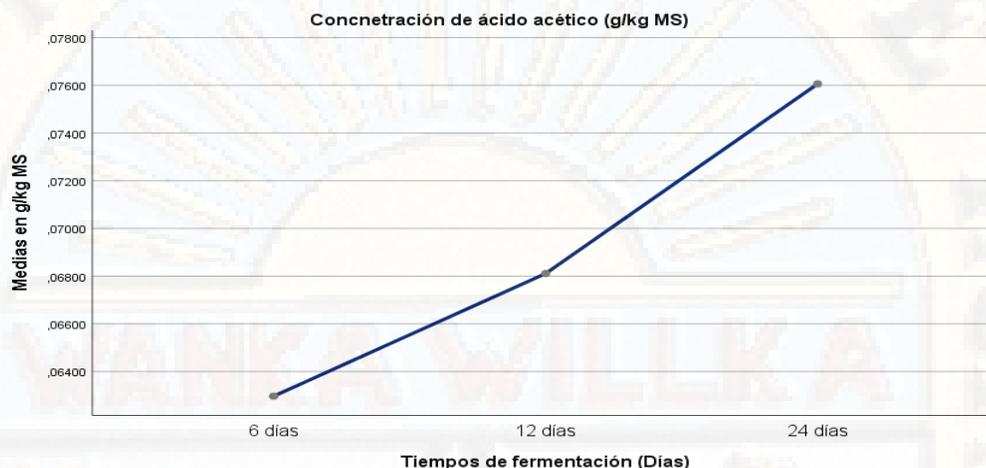


Tabla 3. Tenores medios y ecuación de regresión de ácido acético, propiónico y butírico en ensilado de cebada en función a los tiempos de fermentación.

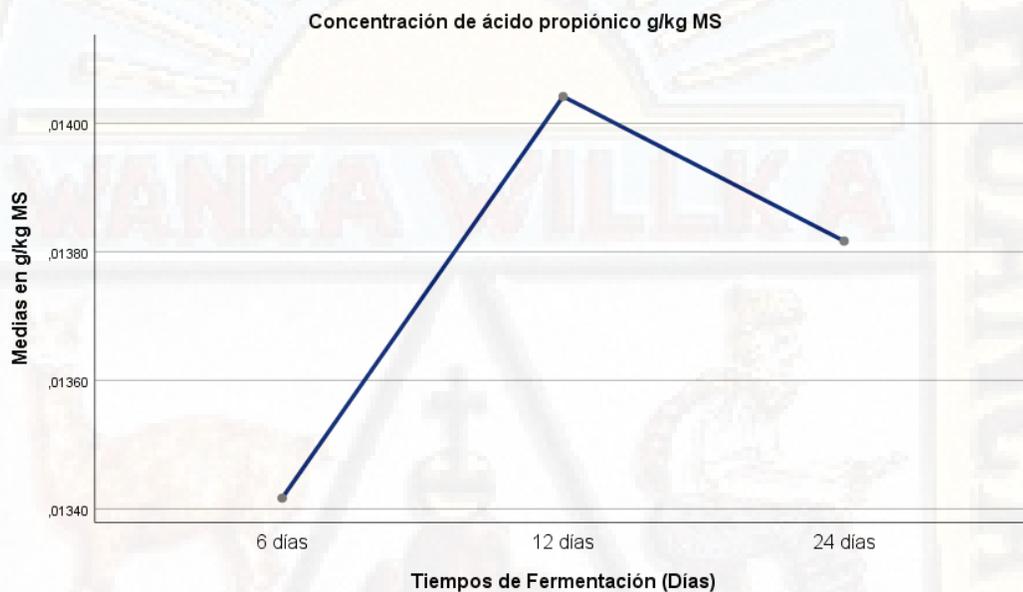
Variables	Tiempos de fermentación (días)			Media
	6	12	24	
Ácido acético	0,0630 ^c	0,0682 ^b	0,0761 ^a	0,069
Ácido propiónico	0,0135 ^b	0,0141 ^a	0,0139 ^{ab}	0,014
Acido butírico	0,00986 ^a	0,00947 ^b	0,00953 ^{ab}	0,010
Variable	Ecuación de regresión			R ²
Ácido acético	$\hat{Y} = 0,059 + 0,0007T$			0,4943
Ácido propiónico	$\hat{Y} = 0,01309 + 0,00081T$			0,4135
Acido butírico	$\hat{Y} = 0,00979 - 0,00047T$			0,2900

^{a,b,c} diferentes superíndices dentro de cada fila indican diferencias estadísticas ($P < 0,05$)
 R^2 = coeficiente de determinación.

De acuerdo a la Tabla 1 la concentración de AP en ensilado de cebada varió en función a los tiempos fermentación ($P = 0,01$). El ensilado fermentado durante 12 días (0.0141 g/kg MS) presentó contenido medio superior al tratamiento fermentado durante 6 días, pero no hubo diferencias significativas entre estos tratamientos con respecto a la cebada ensilada

durante 24 días (0,0139 g/kg MS) (Tabla 3). El análisis de varianza de la regresión verificó el efecto lineal positivo de los tiempos de fermentación sobre el contenido de AP. Por tanto, se espera un incremento de 0,00081 g/kg MS de AP por cada día de fermentación.

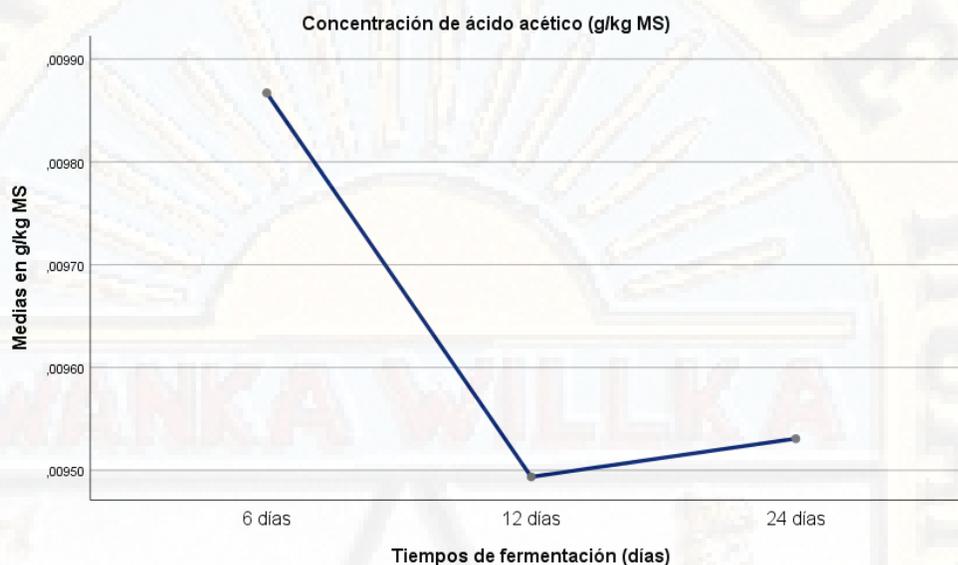
Figura 4. Concentración de ácido propiónico (AP) en diferentes tiempos de fermentación (días)



La concentración de AB en ensilado de cebada varió ($P = 0.0170$) en función a los tiempos de fermentación (Tabla 1). La cebada ensilada durante 6 días (0,00986 g/kg MS) presentó medias significativamente ($P < 0,05$) superior con respecto al tratamiento que fue fermentado durante 12 días (0,00947 g/kg MS), mientras estas no tuvieron diferencias significativas con respecto al tratamiento que fue fermentado durante 24 días (Tabla 3). El análisis de varianza de la regresión reveló el efecto lineal negativo de los tiempos de fermentación sobre el contenido de AB. Por tanto, se espera disminución de 0,00047 g/kg MS de butírico por cada día de fermentación.

Así mismo, en la figura 6 se observa que la concentración de AB en ensilado de cebada disminuye a medida que los tiempos de fermentación se incrementa. Por tanto, la calidad del ensilado mejora a mayor tiempo de fermentación.

Figura 5. Concentración de ácido butírico (AB) en diferentes tiempos de fermentación (días)



Efecto de la interacción de niveles de levadura de pan y tiempos de fermentación sobre la concentración de ácidos grasos volátiles.

En la Tabla 1 se observa la interacción de levadura y tiempos de fermentación no tuvieron efecto ($P = 0,4994$) sobre el contenido de AA en cebada ensilada. Sin embargo, el desdoblamiento de la interacción de estos factores de estudio permitió verificar respuesta lineal positivo de los tiempos de fermentación dentro de los niveles de levadura. por tanto, en el intervalo de los tiempos de fermentación estudiados se espera un amentó de 0,000356 g/kg MS; 0,001048 g/kg MS; 0,0007 g/kg MS y 0,00082 g/kg MS de AA por cada día de fermentación en ensilado de cebada (Tabla 5). El análisis de varianza de la regresión no presentó efecto significativo de los niveles de levadura dentro de 6, 12 y 24 días de fermentación de la cebada, cuyas medias fueron 0,0630 g/kg MS; 0,0682 g/kg MS y 0,0761 g/kg MS de AA respectivamente (Tabla 4).

En contenido de AP no fue significativo ($P = 0,7049$) en función a la interacción de niveles de levadura y tiempos de fermentación (Tabla 1). Sin embargo, el

desdoblamiento de estos factores de estudio permitió verificar respuesta lineal positivo de los niveles de levadura dentro de 6 y 12 días de fermentación. Por tanto, en el intervalo de levadura estudiada se espera un aumento de 0,0010 g/kg MS y 0,00089 g/kg MS de AP en ensilado de cebada por cada unidad porcentual de aumento de nivel de levadura respectivamente, mientras el análisis de varianza de la regresión no verificó efecto significativo de los niveles de levadura dentro de 24 días de fermentación, cuya media fue de 0,0138 g/kg MS (Tabla 4). El análisis de varianza de la regresión no presentó efecto significativo de los tiempos de fermentación dentro de 0, 0,5; 1,0 y 1,5 % niveles de levadura, cuyas medias fueron 0,0131 g/kg MS; 0,0135 g/kg MS; 0,0139 g/kg MS y 0,0143 g/kg MS de AP en ensilado de cebada respectivamente (Tabla 5).

Tabla 4. Ecuaciones de regresión y coeficientes de determinación de las variables en estudio del ensilado de cebada en función a los niveles de levadura dentro de los tiempos de fermentación

Variables	Ecuación de regresión	R ²
Levadura dentro del tiempo de fermentación de 6 días		
Ácido acético	$\hat{Y} = 0,0630$	-
Ácido Propiónico	$\hat{Y} = 0,0127 + 0,0010L$	0,6407
Ácido butírico	$\hat{Y} = 0,0098$	-
Levadura dentro del tiempo de fermentación de 12 días		
Ácido acético	$\hat{Y} = 0,0682$	-
Ácido Propiónico	$\hat{Y} = 0,0134 + 0,00089L$	0,5351
Ácido butírico	$\hat{Y} = 0,0095$	-
Levadura dentro del tiempo de fermentación de 24 días		
Ácido acético	$\hat{Y} = 0,0761$	-
Ácido Propiónico	$\hat{Y} = 0,0138$	-
Ácido butírico	$\hat{Y} = 0,0098 + 0,0046L - 0,0097L^2 + 0,0043L^3$	0.6425

R² = Coeficiente de determinación

La concentración de AB fue significativo ($P = 0,0055$) en función a la interacción de los niveles de levadura y tiempos de fermentación (Tabla 1). Con el desdoblamiento de los niveles de levadura dentro de 24 días de fermentación de la cebada ensilada hubo un comportamiento lineal, cuadrático y cubico en los valores de AB, disminuyó 0,0097 g/kg MS después de un aumentó 0,0046 g/kg MS, para luego aumentar 0,0043 g/kg MS de AB. Así mismo, el análisis de varianza de la regresión verificó que no hubo efecto significativo de los niveles de levadura dentro de 6 y 12 días de fermentación, cuyas medias fueron de 0,0098 g/kg MS y 0,0095 g/kg MS respectivamente (Tabla 4). El análisis de varianza de la regresión no presentó efecto significativo de los tiempos de fermentación dentro de los niveles de levadura (0, 0,5; 1,0 y 1,5 %) en ensilado de cebada. Cuyas medias fueron 0,0098 g/kg MS; 0,0097 g/kg MS; 0,0089 g/kg MS y 0,0093 g/kg MS de AB respectivamente (Tabla 5).

La concentración de AGV (acético, propiónico y butírico) están ligadas a la producción del ganado, siendo absorbidos a nivel rumen, el ácido acético al ser absorbido por las paredes del rumen repercute en el aumento de la producción de la leche, contenido de sus principales componentes y en forme especial de la grasa (Rook y Balch, 1961; Annison y linzell, 1964). El ácido propiónico es el único que se transforma en el hígado en glucosa mediante la gluconeogénesis, y se distribuye a través de torrente sanguíneo y llega al músculo y de esta forma está muy ligado con la producción de carne (Steel, 1973), así mismo participa en el aumento de la proteína de la leche. La concentración de ácido butírico repercute en el aumento del contenido de la grasa de la leche (Hardwick, Linzell y Price, 1961).

Tabla 5. Ecuaciones de regresión y coeficientes de determinación de las variables en estudio del ensilado de cebada, en función a los niveles del tiempo de fermentación dentro de los niveles de levadura de pan.

Variables	Ecuación de regresión	R ²
Tiempos de fermentación dentro del nivel 0 % de levadura		
Ácidos grasos volátiles g/kg MS		
Ácido acético	$\hat{Y} = 0,0654 + 0,000356L$	0,4900
Ácido Propiónico	$\hat{Y} = 0,0131$	-
Ácido butírico	$\hat{Y} = 0,0098$	-
Tiempos de fermentación dentro del nivel 0,5 % de levadura		
Ácidos grasos volátiles g/kg MS		
Ácido acético	$\hat{Y} = 0,05226 + 0,001048T$	0,7372
Ácido Propiónico	$\hat{Y} = 0,0135$	-
Ácido butírico	$\hat{Y} = 0,0097$	-
Tiempos de fermentación dentro del nivel 1,0 % de levadura		
Ácidos grasos volátiles g/kg MS		
Ácido acético	$\hat{Y} = 0,0579 + 0,0007T$	0,4930
Ácido Propiónico	$\hat{Y} = 0,0139$	-
Ácido butírico	$\hat{Y} = 0,0089$	-
Tiempos de fermentación dentro del nivel 1,5 % de levadura		
Ácidos grasos volátiles g/kg MS		
Ácido acético	$\hat{Y} = 0,0602 + 0,00082T$	0,5217
Ácido Propiónico	$\hat{Y} = 0,0143$	-
Ácido butírico	$\hat{Y} = 0,0093$	-

R²= Coeficiente de determinación

4.2 Prueba de hipótesis

4.2.1 Contratación de hipótesis para los niveles de levadura sobre concentración de ácidos grasos volátiles

A. Test de normalidad

Tabla 6. Test de normalidad de la concentración de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) en diferentes niveles de levadura en ensilado de cebada

Test de Shapiro - Wilk	P-valor de niveles de levadura			
	0,0 %	0,5 %	1,0 %	1,5 %
Acético	0,8908	0,9922	0,07148	0,8946
Propiónico	0,2672	0,4038	0,3775	0,7506
Butírico	0,6889	0,08192	0,7242	0,3471

La prueba de normalidad se realizó con el estadístico R mediante el Test Shapiro-Wilk que es adecuado cuando los tamaños de muestra son menores a 50 unidades. Todos los p-valores (Sig.) son mayores que el nivel de significación (0,05) por tanto, se concluye las concentraciones de ácido grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) se comportan de manera normal en cada nivel de levadura (Tabla 6) por tanto, cumple con el supuesto de normalidad.

Tabla 7. Test de normalidad de la concentración de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) en diferentes tiempos de fermentación.

Test de Shapiro - Wilk	P-valor de tiempos de fermentación		
	6 días	12 días	24 días
Acético	0,4305	0,742	0,9585
Propiónico	0,202	0,6926	0,2372
Butírico	0,386	0,7742	0,643

Para los tiempos de fermentación los p-valores (Sig.) son mayores que el nivel de significación (0,05) por tanto, se concluye las concentraciones de ácido grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) se comportan de manera normal en cada tiempo de fermentación (Tabla 7) por tanto, cumple con el supuesto de normalidad.

B. Test de homogeneidad de varianzas

Tabla 8. Test de Levene para la concentración de ácido acético, propiónico y butírico con diferentes niveles de levadura y tiempos de fermentación.

Test de homogeneidad de varianza	P – valor
Ácido acético	0,9718
Ácido propiónico	0,9425
Ácido butírico	0,6188

La prueba de homogeneidad de varianza se realizó mediante el Test de Levene, en el cual resultó que los datos de la concentración de ácido acético, propiónico y butírico con diferentes niveles de levadura (0,0; 0,5; 1,0 y 1,5%) y en tiempos de fermentación (6, 12 y 24 días) presentan homogeneidad de varianzas, debido a que los P-valores (0,9718; 0,9425 y 0,6188) fue superior a 0,05 (Tabla 9).

C. Planteamiento de sistema de hipótesis

Ha = Existe efecto significativo de los diferentes niveles de levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*) y tiempos de fermentación sobre la concentración de ácidos grasos volátiles en ensilaje de cebada (*Hordeum vulgare L.*)

Ho = No existe efecto significativo de los diferentes niveles de levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*) y tiempos de fermentación sobre la concentración de ácidos grasos volátiles en ensilaje de cebada (*Hordeum vulgare L.*).

D. Establecer el nivel de significancia

Se consideró un error de 5 %; es decir $\alpha = 0,05$, y con un nivel de confianza de 95 %, es decir con $1 - \alpha = 0,95$.

E. Elegir el estadístico prueba.

Se trabajó con el análisis multivariado mediante el análisis de varianzas ANAVA (Hernández *et al.*, 2014).

Cálculo de estadígrafo de prueba.

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) para concentración de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) con diferentes niveles de levadura y tiempos de fermentación en ensilado de cebada el cual se detalla a continuación.

Tabla 9. *Análisis de varianza de concentración de ácido acético en ensilado de cebada con diferentes niveles de levadura y tiempos de fermentación.*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	11	0,00136068	0,00012370	3,98	0,0023
Error	24	0,00074597	0,00003108		
Total	35	0,00210665			

Tabla 10. *Análisis de varianza de concentración de ácido propiónico en ensilado de cebada con diferentes niveles de levadura y tiempos de fermentación.*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	9	0,00000923	0,00000103	4,03	0,0046
Error	20	0,00000509	0,00000025		
Total	29	0,00001432			

Tabla 11. *Análisis de varianza de concentración de ácido butírico en ensilado de cebada con diferentes niveles de levadura y tiempos de fermentación.*

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	6	3,5786E-6	5,9643333E-7	9,17	0,0003
Error	14	9,1086667E-7	6,5061905E-8		
Total	20	4,4894667E-6			

F. Dar lectura de p-valor

Para la prueba de una cola con $\alpha = 0,05$, en la tabla de Fisher tenemos los valores críticos de F, α , V1, V2:

- $F_{\text{tabla}} = F(0,05; 2; 60) = 3,15$
- $F_{\text{cal}} \leq F_{\text{tabla}}$; se acepta la hipótesis nula.
- $F_{\text{cal}} \geq F_{\text{tabla}}$; se rechaza la hipótesis nula.

G. Toma de decisiones

Según el análisis de varianza Tabla 9, 10 y 11 los niveles de levadura y tiempos de fermentación tuvieron efecto significativo ($P < 0,05$) para la concentración de ácido acético, propiónico y butírico en ensilado de cebada, por tanto, se acepta la hipótesis alterna (H_a) para la presente investigación.

4.3 Discusiones de resultados

Las concentraciones de ácido acético y propiónico con 0% de levadura en ensilado de cebada presentó 0,0704 y 0,0131 g/kg MS respectivamente, siendo este resultado inferior al reporte de Rajcakova *et al.*, (2006) quien obtuvo 5,82 y 2,3 g/kg MS respectivamente en ensilado de cebada, mientras Kizilsimsek *et al.*, (2007) obtuvieron 10,8 g/kg MS de ácido acético en ensilado de avena sin adicionar aditivo, estas diferencias es probable de por la variedad de la cebada, especie, etapa fenológica al momento de corte y carbohidratos estructurales.

La adición de niveles de levadura como probiótico en ensilado de cebada no mostraron efecto significativo sobre la concentración de ácido acético mostrando una media 0,0691g/kg MS. Mientras Rajcakova *et al.*, (2006) reportó disminución de ácido acético en ensilado de cebada (5,82 – 4,30) con aditivo biológico 1 l/t (*Medipharm*), así mimos Tyrolava y Vyborna (2006) en ensilado de alfalfa (11,4 – 1,43 g/kg MS) con aditivo biológico 5 l/t (ácido benzoico), Rajcakova y Mlynar (2008) en ensilado de alfalfa (19,68 – 11,8 g/kg MS) utilizando aditivo químico 4 l/t que contenía (42,5 % de ácido fórmico; 30,3 % de formiato de amonio y 10,0% de ácido propiónico), Pyrochta *et al.*, (2006) en ensilado de maíz (211 a 106 g/kg MS) utilizando como aditivo urea (2,5 y 5 kg/t) obtuvieron disminución de ácido acético. Mientras en otros estudios realizados reportaron un incremento de concentración de ácido acético, Podkowka *et al.*, (2003) en ensilado de maíz (12,2 - 41,7 g/kg MS) con aditivo de biológico (*Lactobacillus buchneri*) con una dosis de 0,5 g/kg, Mier (2009) en ensilado de maíz (0,7- 1,17 g/kg MS) con aditivo de urea (7%) más aditivo microbiano (0,15%). Esta se debe al uso de aditivos en el proceso de ensilado, ya que estas tienen la propiedad de disminuir el oxígeno y pH del en el en el proceso de anaerobiosis, con ello disminuyen los microorganismos productoras de ácido acético (Fernández, 1999).

La concentración de ácido propiónico incrementó de 0,0130 a 0,0143 g/kg MS al adicionar los niveles de levadura, este comportamiento se debe a que los aditivos de origen microbiano, en particular los hongos (levaduras y mohos) estimulan modificaciones en la población microbiana del ensilado y sus patrones fermentativos. Esto provoca aumenta la producción de ácido propiónico, disminución de la producción de metano y de ácido láctico, así como en la disminución de la degradación proteica y en la desaminación de los aminoácidos (Arcos, López, Bernabé y Hoffman, 2007). El presente trabajo de investigación mostraron similares comportamientos los reportes de Mier (2009) (0,3 - 0,37 g/kg MS) en ensilado de maíz con aditivo (0,07% urea) y Bores *et al.*, (1938) en ensilado de *Pennisetum purpureum* (0; 3,5 y 2,1 g/kg MS) utilizando como aditivo urea (0,5% y 1%), a la vez las concentraciones del presente estudio fueron inferiores a de los estudios de autores mencionados, es hecho es por la diferencia de especie vegetal ya que el contenido de materia seca y carbohidratos solubles varía en cada especie vegetal, además es probable por el método de conservación y utilización de aditivos en el proceso de ensilado. Mientras en otros estudios reportaron disminución de ácido propiónico utilizando aditivos el procesos de ensilado, Rajcakova y Mlynar (2006) en ensilado de cebada (2,23 – 0,29 g/kg MS) con aditivo biológico (medipharm 1l/t), Tyrolava y Vyborna (2006) en ensilado de alfalfa (2,9 – 0,16 g/kg MS) utilizado aditivo bacteriano 5 l/tm, (*L. buchneri*), Rajcakova y Mlynar (2008) en ensilado de alfalfa (11,89 – 0,29 g/kg MS) con aditivo químico (3,5 L/t) que contenía 24,4 % de nitruro de sodio y 16,3 % de hexametilentetramina.

La concentración de ácido butírico disminuyó a media que se incorporó los niveles de levadura, siendo esto similar a los reportes de Rajcakova y Mlynar (2008) en ensilado de alfalfa (58,70 - 1,42 g/kg MS) con aditivo químico 3,5 l/t que contenía 24,4 % de nitruro de sodio y 16,3 % de hexametilentetramina (3,5 l/t) y Mier (2009) en ensilado de maíz (0,7 – 0,37 g/kg MS) con aditivo urea (0,7%). Mientas Bores *et al.*, (1938) reporto incremento de ácido butírico (0; 2,0 y 13,7 g/kg MS) utilizando aditivo urea (0,5 y 1%). Este comportamiento de debe al uso de aditivos en el proceso

de ensilado, ya que tienen la capacidad de disminuir el pH del ensilado, pero cuando el pH de un silaje es superior a 5 pueden actuar bacterias indeseables, como el *Clostridium saccharomises* que fermenta a los CHOS y ácidos orgánicos produciendo ácido butírico (Fernández, 1999).

La concentración de acético se incrementó de 0,0630 a 0,0761 g/kg MS a media que los tiempos de fermentación se incremente, este comportamiento es similar a la investigación de Szucs *et al*, (2003) quien reporto un incremento de la concentración de ácido acético (2,4; 7,3 y 6,0 g/kg MS) en los tiempos de fermentación (4; 10 y 30 días) en ensilado de alfalfa con inoculante biológico (*Lactobacillus plantarum* PA28 y *Lactobacillus plantarum* K270) a razón de 1g/t. Este comportamiento se debe a que los niveles de la concentración de ácido acético se incrementan con el tiempo de almacenamiento (Durango *et al.*, 2015).

La mayor concentración de ácidos propiónico en ensilado de cebada se obtuvo a los 12 días (0,0141 g/kg MS), este resultado se debe a la fase fermentativa que puede alcanzar a hasta los 14 días Kaiser *et al*, (2004), es ahí que se desarrolla la degradación de carbohidratos solubles y proteínas por parte de los microorganismos liberando el ácido propiónico del forraje (Fernández, 1999).

La concentración de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico butírico) de ensilado de cebada del presente trabajo de investigación se encuentra dentro de los parámetros aceptables de un ensilado de calidad descrito por Fernández (1999) y Durango *et al.*, (2015).

CONCLUSIONES

1. La concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) varió en función a los tiempos de fermentación y niveles de levadura en ensilado cebada.
2. Los niveles de levadura tuvieron efecto en la concentración de ácido propiónico y butírico excepto para la concentración de ácido acético en ensilado de cebada, la concentración de ácido propiónico aumentó a medida que los niveles de levadura incrementaron, mientras la concentración de ácido butírico disminuyó al adicionar los niveles de levadura, los valores encontrados se encuentran en los parámetros aceptables de un ensilado de calidad.
3. Los tiempos de fermentación tuvieron efecto para la concentración de ácido acético, propiónico y butírico en ensilado de cebada, la concentración de ácido acético se incrementa a medida que se incrementa los tiempos de fermentación, mientras la mayor concentración de ácido propiónico se reportó en 12 días. La concentración de ácido butírico disminuyó a medida que los tiempos fueron incrementando.
4. No hubo efecto de la interacción de los niveles de levadura y tiempos de evaluación sobre la concentración de ácidos acético y propiónico en ensilado de cebada por tanto se concluye que estos factores actúan de manera independiente, pero si hubo para la concentración de ácido butírico, donde al adicionar los niveles de levadura y a mayor tiempo de fermentación disminuye la concentración de ácido butírico.

RECOMENDACIONES

1. Utilizar *Saccharomyces cerevisiae* como inoculante de ensilaje con otros de invierno, utilizando niveles superiores al presente trabajo de investigación para ver el comportamiento de la concentración del perfil de ácidos grasos volátiles de cadena corta (acético, propiónico y butírico) ya que esto es indicador de calidad del ensilado.
2. Realizar estudios utilizando tiempos de fermentación superiores al presente trabajos de investigación, ya que tienen efecto en la concentración de ácido acético y propiónico, por tanto, es necesario observar la producción máxima de la concentración de ácido acético y propiónico y la estabilidad de ellos.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Acosta, Y.M.; Stallings, C.C.; Polan, C.E.; Miller, C.N. (1991). Evaluation of barley silage harvested at boot and soft dough stages. *J. Dairy Sci.* 74 :167 - 176.
- Auclair, E. (2001). Yeast as an example of the mode of action of probiotics in monogastric and ruminant species. In: J. Brufau, editor, *Feed manufacturing in the Mediterranean region. Improving safety: From feed to food. Cahiers Options Méditerranéennes No. 54.* Zaragoza, Spain: CIHEAM. p. 45–53.
- Anrique G., R., y Paz Viveros, M. (2002). Efecto del ensilado sobre la composición química y degradabilidad ruminal de la pomasa de manzana. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 34(2), 189–197. <https://doi.org/10.4067/s0301-732x2002000200005>
- Annison, E.F.; y Linzell, J.L. (1964). The oxidation and utilization of glucose and acetate by the mammary gland of the goat in relation to their over-all metabolism and to milk formation *J. physiol.*(London) 175:372-335.
- Arcos-García, José Luis; López-Pozos, Roberto; Bernabé Hernández, Abelardo y Hoffman, Jean A. (2007). La actividad microbiana en la fermentación ruminal y el efecto de la adición de *Saccharomyces cerevisiae*. Recuperado el 18 de mayo de 2013, de <http://www.utm.mx/temas/temas-docs/nota3t32.pdf>.
- Ariaza, E., Delgado, E., Carrete, F., Medrano, H., Solis, A., Rosales, R., y Haubi, C. (2015). *Calidad fermentativa y nutricional de ensilados maíz complementados con manzana y melaza.* www.ujat.mx/era
- Ávalos, A., y Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal*, 8(2), 125–132.
- Baron, V.S.; Kibite, S. (1987). Relationships of maturity, height and morphological traits with whole-plant yield and digestibility of barley cultivars. *Can. J. Plant Sci.* 67:1009-1017.
- Behar, D. S. (2008). *Introducción a la Metodología de la Investigación* (Shalom (ed.); A. Rubeira).
- Bernal, C. A. (2006). *Metodología de la Investigación.* Naucalpan: Pearson Editores.

- Burgess, P.L.; Misener, G.C.; Mcqueen, R.E.; Nicholson, J.W.G. (1989). Evaluation of barley and wheat head-chop silages for dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.* 69:947-954.
- Biricik, H., y İsmet Türkmen, İ. (2001). The Effect of *Saccharomyces Cerevisiae* On in Vitro Rumen Digestibilities of Dry Matter, Organic Matter and Neutral Detergent Fibre of Different Forage: Concentrate Ratios in Diets. In *J Fac Vet Med* (Vol. 20).
- Bores, R., Rivas, F., y Castellano, A. (1983). *Características del ensilaje de pasto taiwan adicionando diversas fuentes de nitrógeno*. 160–164.
- Cahuana, M., y Yauri, V. (2016). *Composición química del ensilado de Festuca dolichophylla, Avena sativa y Vicia sativa asociada con diferentes proporciones*. [Universidad Nacional de Huancaveliva]. <http://repositorio.unh.edu.pe/handle/UNH/1162>
- Callejas, N., Aranda, H., Rebolla, S., y Leticia, M. (2014). Situación económica de la producción de bobinos de carne en el estado de chihuahua, México. *Agronomía Mesoamericana, c*, 133–139. <https://doi.org/ISSN:2215-3608>
- Cañeque, V.; Sanchez, J. (1998). *Ensilado de forrajes y su empleo en la alimentación de rumiantes*. 1ra. ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 259 p.
- Cárdenas, J., Solorio, F., y Sandoval, C. (2004). *Ensilaje de Forrajes: Alternativa Para la Alimentación de Rumiantes en El ... - Google Books* (Edición de). <https://books.google.com.pe/books?id=ItVH2PH6cp8C&printsec=frontcover&dq=ensilado+de+forrajes&hl=qu&sa=X&ved=0ahUKEwix5-Tb5djkAhULi6wKHAF5ACAQ6AEIMDAC#v=onepage&q=ensilado de forrajes&f=false>
- Carhuapoma, W., y Soldevilla, W. (2014). *Efecto de diferentes proporciones de ure y el marchitamiento sobre la composición bromatológica del ensilado de avena (Avena Sativa L.)*. <http://repositorio.unh.edu.pe/handle/UNH/759>.
- Carrasco, S. (2005). *Metodología de la investigación científica*. Lima: San marcos ra. ed.
- Contreras, F., Marsalls, A., y Laurault, M. (2009). *Inoculante Microbiales para enilaje: Su Uso en condiciones de clima calido . centro de ciencias agriculas en Tucumari, New mexico State University, Circular 642.5 p.*

- Hardwick, D.C.; Linzell, J.L.; Price, S.M. (1961). The effect of glucose and acetate on milk secretion by the perfused goat udder. *Biochem J.* 80: 37-45.
- Harwell, L. (1974). *Saccharomyces cerevisiae* cell cycle. *Bacteriological reviews*, 164-198.
- Jatkauskas, J., y Vrotniakienė, V. (2003). Fermentation characteristics and nutritive value of red clover-grass made in big bales and trench. XI. International scientific symposium „Forage Conservation. (págs. 90-91). Nitra: 11Th.
- Kaiser, A., Piltz, J., Burns, H., y Griffiths, N. (2004). Successful silage. Dairy Australia and New South Wales Department of Primary Industries, Pp: 331-419.
- Kizilsimsek, M., Erol, A., y Calislar, S. (2007). Efecto de la materia prima y tamaño de silo sobre la calidad del ensilaje. *Facultad de agricultura de KSU, Departamento de cultivos de campo Kahramanmaraş, Turquía*, 12.
- Kovacevi, M. (2015). Morphological and physiological characteristics of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* cells differing in the life span. Zagreb-Croacia: tesis de maestría en Bioquímica. Facultad de Farmacia y bioquímica, Universidad de Zagreb.
- Lagares P, Puerto J. (2001). Population and sample. Sampling techniques. *Management Mathematics for European Schools*. University of Sevilla. 20 p.
- Litterio Bürki, M. R., y Lopardo, H. (2010). La anaerobiosis más allá de las bacterias anaerobias. Su importancia en la recuperación de microorganismos aerobios a partir de materiales purulentos. *Revista Argentina de Microbiología*, 42(2), 102–107.
- Llamas, J. A. (2008). *Concentración de ácidos grasos volátiles en líquido ruminal de toros charoláis en engorda alimentados con diferentes niveles de paja y levadura de cerveza*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Macías, V. (2011). *Efecto de Métodos de Conservación y Tiempo de Almacenamiento de Ensilajes en Dos Tipos de Praderas Sobre sus Indicadores de Calidad Nutricional* [Universidad Austral de Chile]. <https://doi.org/10.1007/s10531-006-9145-3>.
- Martín, A. M. (2005). Control de metabolitos de *Saccharomyces cerevisiae* en la síntesis de glutatión. Granada- España : Editorial de la universidad de Granada .

- Martinez, F. (2019). *Proceso de Ensilaje Información Completa y Detallada*. Proceso de Ensilaje. https://infopastosyforrajes.com/metodos-de-conservacion/proceso-de-ensilaje/#Fase_de_Fermentacion_o_Anaerobica
- McAllister, T. A., K. A. Beauchemin, A. Y. AlazzeH. J. Baah, R. M. Teather, and K. Stanford (2011). Review: The use of direct fed microbials to mitigate pathogens and enhance production in cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 91:193 – 211. doi: 10.4141/cjas10047
- Mier, M. (2009). Caracterización del valor nutritivo y estabilidad aeróbica de ensilados en forma de microsilos para maíz forrajero. Universidad de Cordova.
- Molina, G., María, A., Roa, B., Alzate, R., Dleón, S., Arango, B., Felipe, A., María, A., Molina, G., Berrio, L., Santiago, R., y Alzate, R. (2004). Ensilaje como fuente de alimentación para el ganado. *Revista Lasallista de Investigación*, 1(1), 66–71.
- Ojeda, F., Isabel, J., y Díaz, D. (1992). efecto de diferentes proporciones de dolichos (lablab purpureus CV. Ronga) sobre la calidad fermentativa de tres gramíneas tropicales I. evaluación sin conservante. *Pastos y Forrajes*, 15(3), 2261–2269.
- Oladosu, Y., Rafii, M. Y., Abdullah, N., Magaji, U., Hussin, G., Ramli, A., y Miah, G. (2016). Fermentation Quality and Additives: A Case of Rice Straw Silage. *BioMed Research International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7985167>
- Osorio, J. H. (2003). Embarazo Y Metabolismo De Los Carbohidratos. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 54(2), 97–106. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=195214308004>.
- Palomino, S., Blanco, E., y Robayo, D. (2004). Manual de grnaja autosufeciencia . Bogotá - colombia : Ed. 1 IBALPE.
- Plata, G., Vega, J., Periera, S., Botana, A., Vallanares, J., Veiga, M., . . . Flores, G. (2019). Efecto del ensilado directo de la mezcla de raigras híbrido con tréboles anuales, en comparación con raigras italiano, sobre el nivel de pérdidas y calidad fermentativa de los ensilados. 58a Reunion Científica de la Sociedad Española de Pastos (págs. 73-74). España : Junta de Andalucía .
- Podkowka, Z., Podkowka, W., y Cermak, b. (2003). The efect of lactobacillus buchneri on fermentation and aerobic stability of maize silage. International scientific symposium „Forage Conservation. (págs. 124-125). Nitra 2003: XI

- Pond , W., y Church, D. (2010). *Fundamentos de Nutrición y Alimentación de los Animales*. Mexico: 2da Edición.
- Pyrochta, V., Dolezal, P., Dolezal, J., y Vyskocil, I. (2006). The effect of different urea doses on fermentation characteristics of forage conservation, 168-170.
- Rajcakova, L., y Mlynar, R. (2006). The influence of some biological additives on fermentation and quality of whole-crop barley silage. forage conservation (págs. 208-210). Czech : 12th international symposium.
- Rajcakova, L., y Mlynar, R. (2008). Control of fermentation process by chemical additives at ensilaging of lucerne with low content of dry matter. International conference forage conservation (págs. 106-107). Slovak Republic: 13th.
- Ramos, R., Cruz, M., y Navarro, I. (2012). Determinación del costo energético de la cosecha de forrajes para el ganado vacuno en Cuba. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 21(1), 73–78.
- Rojas, D. (2018). *Efecto del guineo cuadrado (Musa sp.), sobre la calidad nutricional y fermentativa de ensilajes de Morera (Morus alba) y Nacedero (Trichanthera gigantea)*. 119. <http://repositorio.una.ac.cr/handle/11056/14959>
- Rojas G., C., y Catrileo S., A. (2000). Evaluación de ensilaje de cebada en tres estados de corte en la engorda invernal de novillos. *Agricultura Técnica*, 60(4). <https://doi.org/10.4067/s0365-28072000000400006>.
- Rook, J.A.F., y Balch, C.C. (1961). the effects of intra ruminal infusions of acetic, propionic and butyric acids on the acid and composition of the milk of the cow. *Brit. J. Nutr.* 15: 361-369.
- Saito, T., Ohya, Y., y Morishita, S. (2004). *Saccharomyces cerevisiae* morphological database. *Nucleic Acids res* , 32, 319-322. doi:10.1093/nar/gkh113
- Sánchez, M. (2002). Una experiencia de forraje verde hidropónico en el Uruguay. *Bolitin informativo de la red de hidroponia N° 7 Lima-Peru*.
- Stefanie, J. W. H., Oude, E., Frank, D., Jan, G., y Sierk, F. (2001). Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación. *Uso Del Ensilaje En El Tropico Priviliando Opciones Para Pequeños Campesinos*, 161, 1–19. https://www.researchgate.net/publication/281275854_Los_procesos_de_fermentacion_del_ensilaje_y_su_manipulacion

- Suárez-machín, C., y Guevara-rodríguez, C. A. (2017). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* en la alimentación de rumiantes. Revisión bibliográfica. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar*, 51(2), 21–30.
- Steel, J.W. (1973). Effects of plane of nutrition and pregnancy on gluconeogenesis in sheep. The kinetics of glucose metabolism. *Brit. J. Nutr.* 30:451.
- Szucs, J., Peter, Z., Marki, K., y Impre, A. (2003). Dynamic of fermentation of hard wilted lucerne with biological preservative. International scientific symposium „Forage Conservation, (págs. 120-121). Nitra : XI.
- Tetlow, R.M. (1990). A decade of research into whole-crop cereals at Hurley. *In: Wilkinson, J.M. and Stark, B.A. (Eds.) Whole-crop cereals*. Marlow, Great Britain. Chalcombe Publication. p. 1 – 19
- Tyrolava, Y., y Vyborna, A. (2006). Effect of stage of maturity on leaves percentage of alfalfa and the effect of additives on silage characteristics. International symposium Forage conservation (págs. 232-234). Brno, Czech Republica.: 12th.
- Vásquez, H. V. (2016). *"Influencia de factores socio-económicos en la en la adopción de tecnologías para el mejoramiento genético de ganado vacuno, distrito de florida, Amazonas, Perú* [Universidad Nacional Agraria la Molina]. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/2710>

APÉNDICE

Apéndice 1. Matriz de consistencia

TÍTULO: EFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE LEVADURA DE PAN (*Saccharomyces cerevisiae*) Y TIEMPOS DE FERMENTACIÓN SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES EN ENSILAJE DE CEBADA (*Hordeum vulgare L.*)

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLE/INDICADOR	METODOLOGIA
¿Cuáles son efecto de diferentes niveles de pan (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) y tiempos de fermentación sobre la concentración de ácidos grasos volátiles en ensilaje de cebada (<i>Hordeum vulgare L.</i>)?	<ul style="list-style-type: none"> Determinar los efectos de diferentes niveles de pan (0; 0,5; 1 y 1,5%) sobre la concentración de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) en ensilaje de cebada. Determinar los efectos de diferentes tiempos de fermentación (6, 12 y 24 días) sobre la concentración de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) en ensilaje de cebada. Determinar los efectos de la interacción de diferentes niveles de levadura de pan y tiempos de fermentación sobre la concentración de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico) en ensilaje de cebada. 	<p>Ha = Existe efecto significativo de los diferentes niveles de pan (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) y tiempos de fermentación sobre la concentración de ácidos grasos volátiles en ensilaje de cebada (<i>Hordeum vulgare L.</i>)</p> <p>Ho = No existe efecto significativo de los diferentes niveles de pan (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) y tiempos de fermentación sobre la concentración de ácidos grasos volátiles en ensilaje de cebada (<i>Hordeum vulgare L.</i>)</p>	<p>Variable independiente</p> <p>Niveles de levadura de pan (%)</p> <p>Tiempos de fermentación (Días)</p> <p>Variable dependiente</p> <p>Concentración Ácidos grasos volátiles: (acético, butírico y propiónico) g/kg MS</p>	<p>Tipo de investigación:</p> <p>Aplicada</p> <p>Nivel de investigación:</p> <p>Explicativo.</p> <p>Método de investigación:</p> <p>Científico.</p> <p>Diseño de investigación:</p> <p>Experimental.</p> <p>Población</p> <p>Ha de cebada forrajera</p> <p>Muestra</p> <p>180 kilogramos</p> <p>Muestreo:</p> <p>No Probabilístico del tipo intencionado (bola de nieve)</p>

Fuente: Elaboración propia

Apéndice 2. Tabla de registros de laboratorio de UNH de la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV).

N°	Niveles de levadura (%)	Tiempos de fermentación (días)	Acético (g/kg MS)	Propiónico (g/kg MS)	Butírico (g/kg MS)
1	0	6	0,0664	0,0127	0,0099
2	0	6	0,0671	0,0131	0,0099
3	0	6	0,0700	0,0125	0,0099
4	0	12	0,0645	0,0129	0,0099
5	0	12	0,0743	0,0141	0,0099
6	0	12	0,0689	0,0131	0,0099
7	0	24	0,0735	ND	0,0098
8	0	24	0,0722	ND	0,0098
9	0	24	0,0766	ND	0,0097
10	0.5	6	0,0514	0,0130	ND
11	0.5	6	0,0611	0,0134	ND
12	0.5	6	0,0600	0,0130	ND
13	0.5	12	0,0667	0,0141	0,0093
14	0.5	12	0,0721	0,0147	0,0099
15	0.5	12	0,0627	0,0133	0,0090
16	0.5	24	0,0710	ND	0,0095
17	0.5	24	0,0834	ND	0,0104
18	0.5	24	0,0767	ND	0,0105
19	1	6	0,0590	0,0132	ND
20	1	6	0,0653	0,0146	ND
21	1	6	0,0642	0,0130	ND
22	1	12	0,0612	0,0140	ND
23	1	12	0,0694	0,0140	ND

24	1	12	0,0620	0,0145	ND
25	1	24	0,0795	0,0135	0,0088
26	1	24	0,0642	0,0141	0,0092
27	1	24	0,0786	0,0140	0,0086
28	1.5	6	0,0679	0,0142	ND
29	1.5	6	0,0653	0,0140	ND
30	1.5	6	0,0584	0,0147	ND
31	1.5	12	0,0712	0,0148	ND
32	1.5	12	0,0654	0,0141	ND
33	1.5	12	0,0792	0,0154	ND
34	1.5	24	0,0772	0,0142	0,0093
35	1.5	24	0,0886	0,0134	0,0094
36	1.5	24	0,0718	0,0139	0,0093

*ND: No se detecto

APÉNDICE 3: TABLAS DE ANÁLISIS DE VARIANZA

Apéndice 3A. Análisis de varianza de concentración de ácido acético con diferentes niveles de levadura y tiempos de fermentación en ensilado de cebada.

Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
LEVADURA	3	0,00014362	0,00004787	1,54	0,2298
TIEMPOS	2	0,00104591	0,00052295	16,82	<,0001
LEVADURA*TIEMPOS	6	0,00017116	0,00002853	0,92	0,4994
ERROR	24	0,00074597	0,00003108		
TOTAL CORREGIDO	35				

Apéndice 3B. Análisis de varianza de concentración de ácido propiónico con diferentes niveles de levadura y tiempos de fermentación en ensilado de cebada

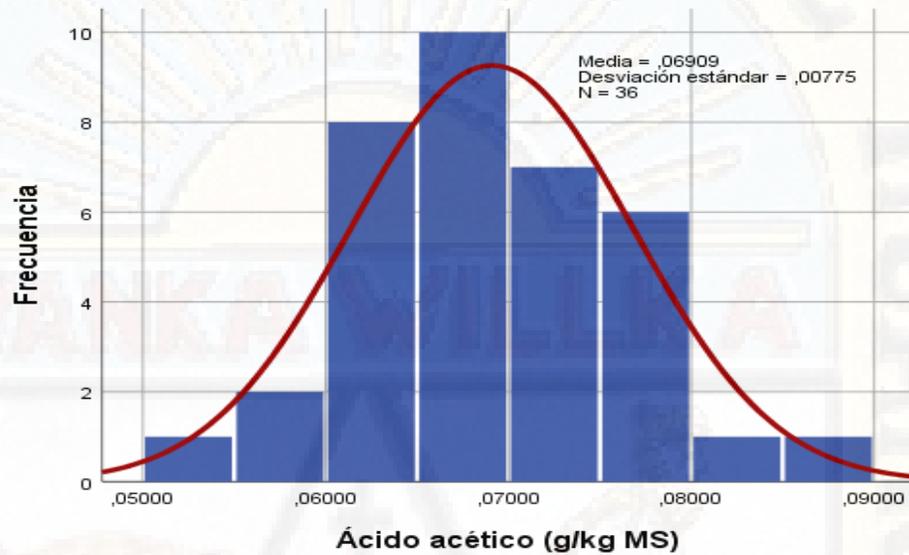
Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
LEVADURA	3	6,4059722E-6	2,1353241E-6	8,38	0,0008
TIEMPOS	2	2,7340278E-6	1,3670139E-6	5,37	0,0136
LEVADURA*TIEMPOS	6	5,5486111E-7	1,3871528E-7	0,54	0,7049
ERROR	24	0,00000509	0,00000025		
TOTAL CORREGIDO	35				

Apéndice 3C. Análisis de varianza de concentración de ácido butírico con diferentes niveles de levadura y tiempos de fermentación en ensilado de cebada

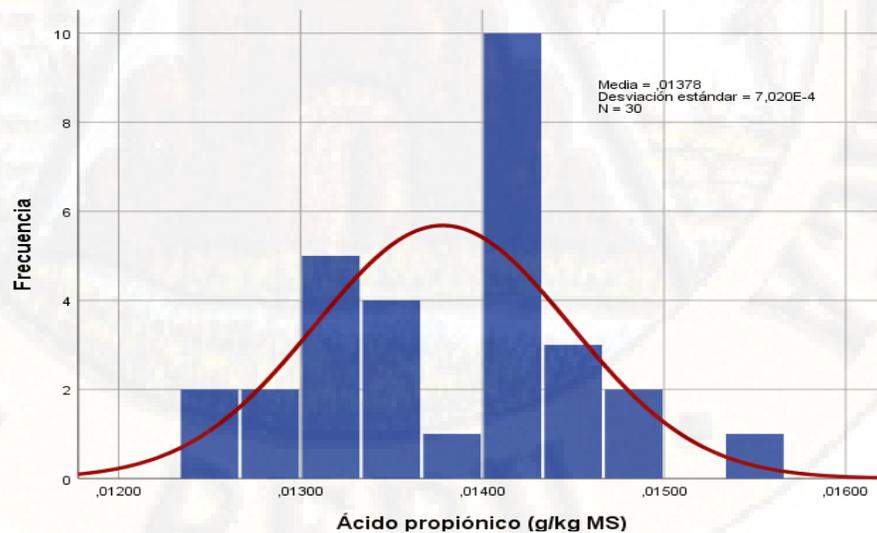
Fuente	DF	Tipo III SS	Cuadrado de la media	F-Valor	P > F
LEVADURA	3	2,535E-6	8,45E-7	12,99	0,0002
TIEMPOS	2	7,1952222E-7	3,5976111E-7	5,53	0,0170
LEVADURA* TIEMPOS	6	7,0083333E-7	7,0083333E-7	10,77	0,0055
ERROR	24	9,1086667E-7	6,5061905E-8		
TOTAL CORREGIDO	35				

APÉNDICE 4: FIGURAS Y DIAGRAMA DE CAJAS DE TEST DE NORMALIDAD Y HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS.

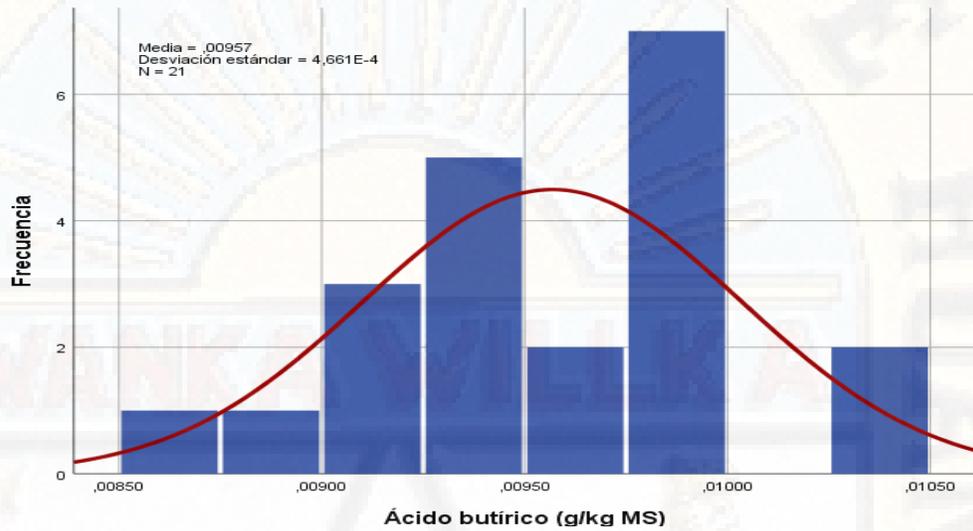
Apéndice 4A. *Test de normalidad de la concentración de ácido acético con diferentes niveles de levadura y tiempos de fermentación en ensilado de*



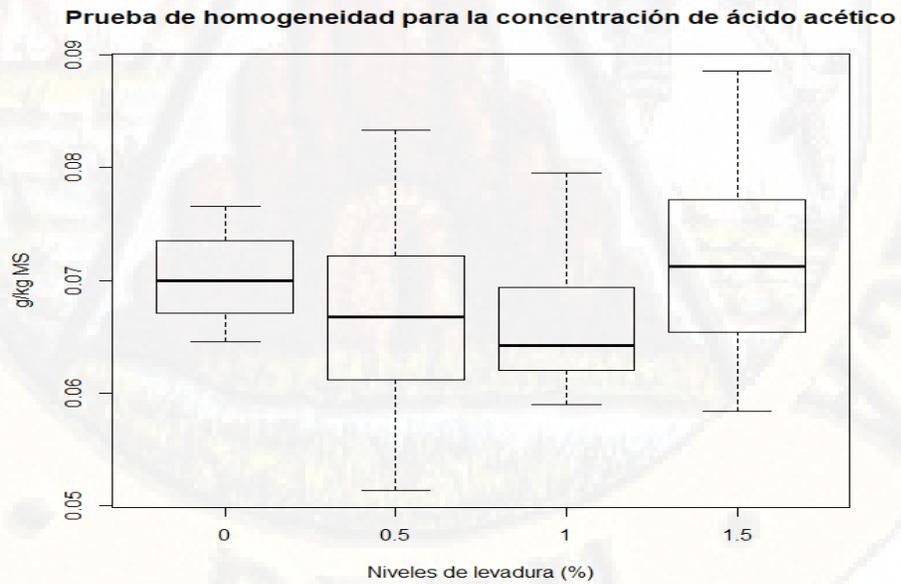
Apéndice 4B. *Test de normalidad de la concentración de ácido propiónico con diferentes niveles de levadura y tiempos de fermentación en ensilado de cebada*



Apéndice 4C. *Test de normalidad de la concentración de ácido butírico con diferentes niveles de levadura y tiempos de fermentación en ensilado de cebada*

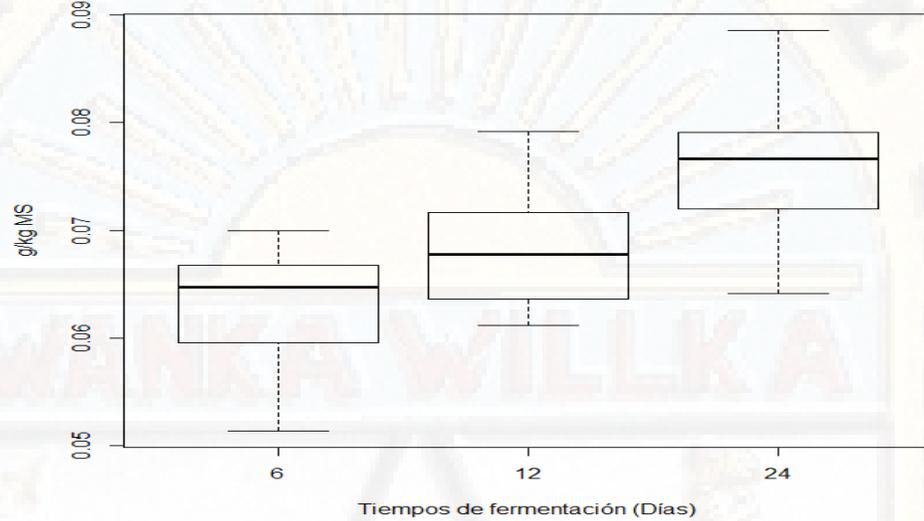


Apéndice 4D. *Diagrama de cajas para la concentración de ácido acético (AA) con diferentes niveles de levadura*



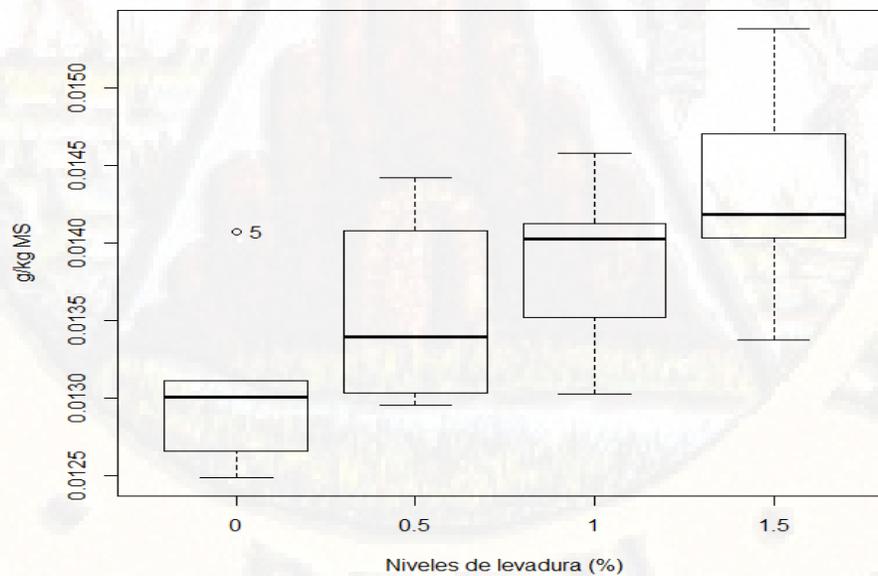
Apéndice 4E. *Diagrama de cajas para la concentración de ácido acético (AA) con diferentes tiempos de fermentación*

Prueba de homogeneidad para la concentración de ácido acético



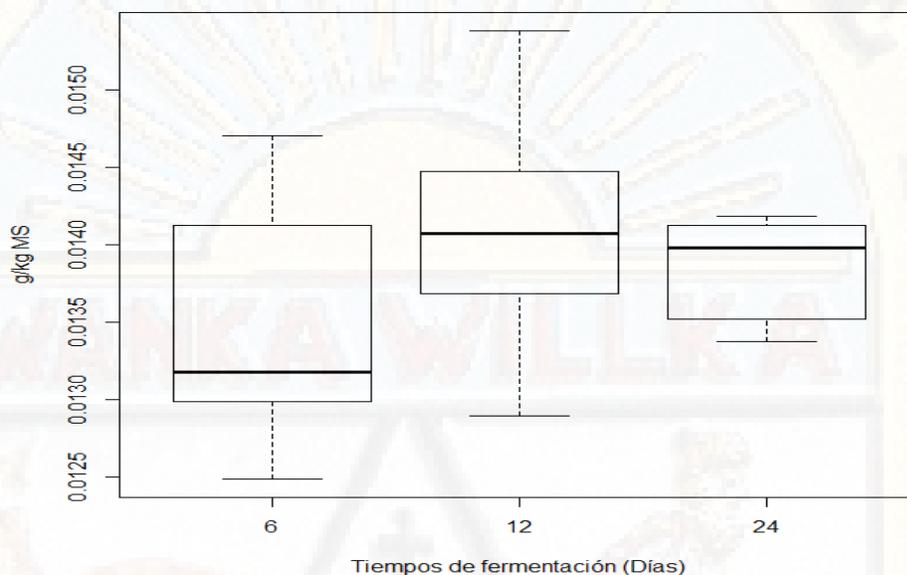
Apéndice 4F. *Diagrama de cajas para la concentración de ácido propiónico (AP) con diferentes niveles de levadura*

Prueba de homogeneidad para la concentración de ácido propiónico



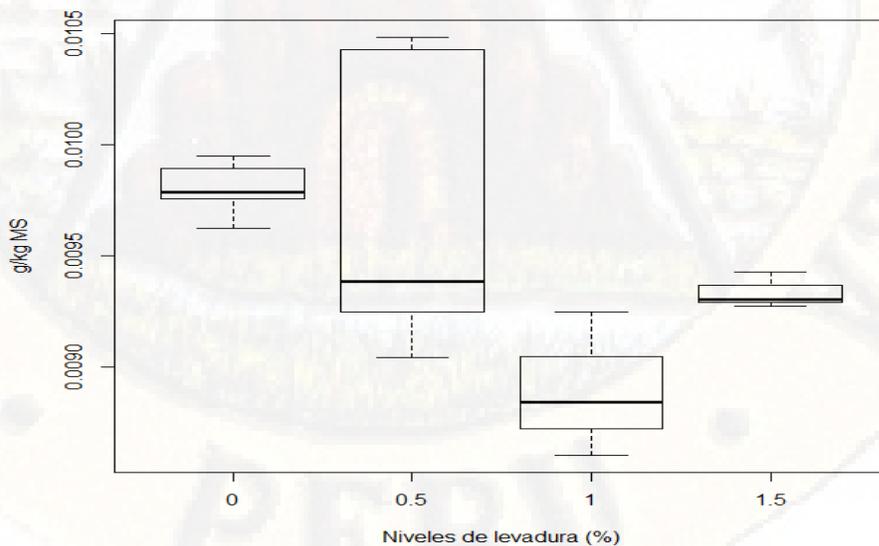
Apéndice 4G. Diagrama de cajas para la concentración de ácido propiónico (AP) con diferentes tiempos de fermentación.

Prueba de homogeneidad para la concentración de ácido propiónico

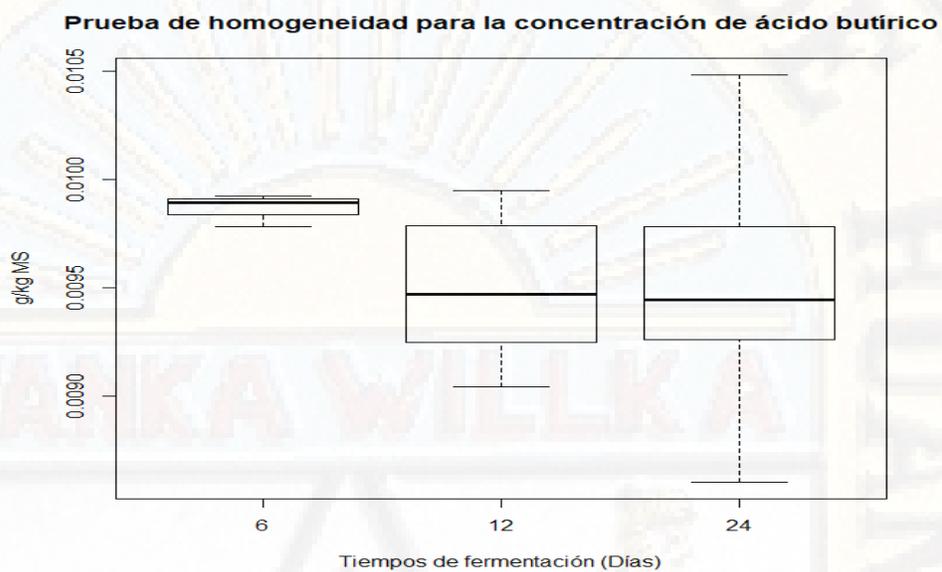


Apéndice 4H. Diagrama de cajas para la concentración de ácido butírico (AB) con diferentes niveles de levadura

Prueba de homogeneidad para la concentración de ácido butírico



Apéndice 4I Diagrama de cajas para la concentración de ácido butírico (AB) con diferentes tiempos de fermentación.



APÉNDICE 4: PANEL FOTOGRAFICO



Fotografía 1. Recolección de forraje de cebada



Fotografía 2. Cortado de forraje de cebada con una picadora Rester en 2 a 2.5 cm de tamaño.



Fotografía 3. Adición de niveles de levadura al forraje verde



Fotografía 4. Toma de muestras de para el análisis de en cromatografía de gases



Fotografía 5. Obtención de jugo del ensilado



Fotografía 6. Análisis de muestras con cromatografía de gases de marca Thermo SCINTIFI