



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Evaluación del tratamiento de rastrojo
de maíz con enzimas fibrolíticas**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PRESENTA:

Braian Padilla Herrera

ASESOR:

Q.B. Lilian Morfin Loyden

COASESOR:

DRA. Deneb Camacho Morfin

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORREA FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.



Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Trabajo de Tesis

Evaluación del tratamiento de rastrojo de maíz con enzimas fibrolíticas

Que presenta el pasante: BRAIAN PADILLA HERRERA

Con número de cuenta: 30616547-8 para obtener el Título de la carrera: Medicina Veterinaria y Zootecnia

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 21 de marzo de 2018.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Q.B. Lillian Morfin Loyden	
VOCAL	M. en C. Cesar Garza Pérez	
SECRETARIO	M.V.Z. Berenice Roa o Gutiérrez Becerra	
1er. SUPLENTE	M.V.Z. Marcos Pérez Alvarado	
2do. SUPLENTE	Dr. Jesús Jonathan Ramirez Espinosa	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127)

Agradecimientos.

A mi familia:

Gracias a ellos que me formaron como persona a base de reglas, a su apoyo, para forjarme como persona que soy, y mucho de mis logros son gracias a ustedes. Y al final de cuentas me motivaron constantemente para alcanzar mis anhelos.

A mis amigos:

Por su compañerismo y amistad ya que he compartido grandes momentos y sin esperar nada a cambio compartieron sus conocimientos

A la dr Deneb y la dr Lillian.

Parte de este logro, han sido por ustedes que fueron mi mano derecha, por su bondad, apoyo y quienes me han guiado en este duro proceso.

A Lizbeth

Con sus palabras no me dejaba decaer para que siguiera adelante y sea perseverante.

"Si todos nosotros fuéramos seres perfeccionados,
no estaríamos aquí en el mundo físico".

George Harrison

ÍNDICE.

2. MARCO DE REFERENCIA.	2
2.1. Importancia del rastrojo de maíz.	2
3. MARCO TEÓRICO.	3
3.1. Composición química	3
3.2. La pared celular del rastrojo de maíz.	3
3.2.1. Celulosa.	3
3.2.2. Hemicelulosa.	4
3.2.3. Lignina.	4
3.3. Tratamientos para el rastrojo de maíz.	4
3.3.1. Tratamientos físicos.	5
3.3.2. Tratamientos químicos.	5
3.3.3. Tratamientos biológicos.	6
3.4. Enzimas fibrolíticas exógenas.	6
3.5. Factores que afectan la actividad de las enzimas.	6
3.5.1. pH.	6
3.5.2. Temperatura.	6
3.6. Mecanismo de acción de las enzimas fibrolíticas exógenas.	7
3.7. Tipos de enzimas fibrolíticas exógenas.	7
3.7.1. Celulasas.	7
3.7.2. Xilanasas	8
3.7.3. Lacasas.	9
3.7.4. Glucanasas.	9
3.7.5. Pectinasas.	9
3.7.6. Mananasas	10
3.8. Uso de enzimas fibrolíticas exógenas.	10
4. OBJETIVOS.	11

4.1 Objetivo general.	11
4.2. Objetivos específicos.	11
5. MATERIALES Y MÉTODOS.	12
5.1. Lugar	12
5.2. Rastrojo de maíz.	12
5.3. Enzimas.	12
5.4 Estandarizaron las condiciones de manejo de los complejos enzimáticos	12
5.4.1 Relación de agua – rastrojo y condiciones de aire.	12
5.4.1.1 Tratamiento	12
5.5. Concentración de las enzimas	14
5.5.1 Tratamientos	14
5.5.2. Determinaciones.	14
5.5.3. Análisis estadístico	15
5.6. Variación de concentraciones de enzimas y tiempo de exposición.	15
5.6.1. Tratamientos.	15
5.6.2. Determinaciones.	15
5.6.3. Análisis estadístico.	16
6. RESULTADOS.	17
6.1 Relación agua – rastrojo y condiciones de aire.	17
6.2 Concentración de enzimas.	19
6.3 Variación de concentraciones y tiempo de exposición.	20
7 DISCUSIÓN.	24
8. CONCLUSIONES	27
9. PROPUESTAS DE MÉTODO	28
10. LITERATURA CITADA.	29

ÍNDICE DE CUADROS.

Cuadro	Titulo	Página
5.1	Indicadores organolépticos para evaluar a los tratamientos con enzimas fibrolíticas de rastrojo de maíz.	14
6.1	Características organolépticas del tratamiento de rastrojo de maíz con un tiempo de exposición de 48 h, 0.015 g de enzima 1 con dos relaciones agua- rastrojo, con dos condiciones de aire.	17
6.2	Características organolépticas en rastrojo de maíz tratado con dos complejos enzimáticos, a tres concentraciones con un tiempo de exposición de 48 h, en condiciones anaerobias y una relación agua – rastrojo 1:1	18
6.3	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la de la MS del rastrojo de maíz tratado con dos complejos enzimáticos comerciales a diferentes concentraciones distintas con un tiempo de exposición de 48 h.	20
6.4	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS de rastrojo de maíz tratado con el complejo 1 a diferentes concentraciones y tres tiempos de exposición.	21
6.5	Digestibilidad <i>in vitro</i> de la MS de rastrojo de maíz tratado con complejo 2 a diferentes concentraciones y tres tiempos de exposición.	22
6.6	Contenido de proteína cruda, fibra detergente neutro y fibra detergente ácido de rastrojo de maíz.	23

1. RESUMEN

Con objeto de evaluar los tratamientos de rastrojo de maíz con enzimas fibrolíticas comerciales, se trabajó en dos etapas: en la primera etapa se estandarizaron las condiciones de manejo de los dos complejos enzimáticos, en cuanto a la relación de agua y las condiciones de exposición al aire, dichas condiciones se evaluaron en forma organoléptica. En la segunda etapa, se evaluaron concentraciones de enzimas y tiempos de exposición a las mismas. Para lo cual, se trabajaron cuatro concentraciones (0, 0.015, 0.03, 0.045 %) de cada complejo enzimático con respecto al rastrojo. Cada complejo enzimático se evaluó en forma independiente. El tiempo de exposición del rastrojo a las enzimas fue de 48 h y se utilizaron como controles rastrojo húmedo y rastrojo seco al mismo tiempo de exposición. Asimismo, para los tiempos de exposición para las enzimas (48, 72 y 96 h), se utilizaron tres concentraciones (0, 0.5 y 1%) de cada complejo enzimático de forma independiente, los tratamientos fueron evaluados mediante la primera etapa de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) con tiempo de incubación de 48 h. El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias de Tukey y con alfa 0.05. En la primera etapa se obtuvieron como resultados una relación agua rastrojo de 1:1, y una exposición de 48 h sin entrada de aire, donde el producto resultante presentó aroma dulce, color amarillo, textura suave y porosa. Para la segunda etapa se obtuvo una DIVMS para el complejo 1: 48.1, 44.2, 43.7 %. Para el complejo 2: 49.9, 49.5, 48.6 %, para cada concentración, respectivamente. Para el rastrojo húmedo los resultados fueron 39.3% y al rastrojo seco 42.9%. En cuanto a los tiempos de exposición (48, 72 y 96 h), la DIVMS para la complejo 1 a una concentración de 0.5%: 52.1, 48.0, 44.7, y la concentración de 1%: 44.4, 43.56, 41%; para la complejo 2 a la concentración de 0.5%: 51.2, 41.9, 47.4%, y una concentración de 1%: 38.9, 37.9, 35.7%, para el rastrojo rastrojo seco: 52.6%. La digestibilidad fue menor estadísticamente respecto a los tratamientos comparado con los grupos controles. Se concluye que bajo las condiciones que se trabajaron los complejos enzimáticos no contribuyen a mejorar la DIVMS del rastrojo de maíz

Palabras claves: rastrojo de maíz, enzimas fibrolíticas, digestibilidad.

2. MARCO DE REFERENCIA.

2.1. Importancia del rastrojo de maíz.

Los rastrojos son residuos de cosecha que se derivan de las actividades agrícolas, y se les consideran como la porción del cultivo cosechado (hojas, tallos, espigas y brácteas de la mazorca) que queda después de extraer el grano (SAGARPA, 2009; Shanahan *et al.*, 2010). Las producciones de rastrojos se obtienen de los cereales y está asociada directamente con la producción de grano, por lo que, a medida que aumenta la cantidad producida de granos para satisfacer la demanda alimenticia de la población, se incrementa la disponibilidad de estos residuos (Macedo, 2000).

El principal subproducto que se obtiene en la producción de granos es el rastrojo de maíz, que en México es el grano más importante desde el punto de vista alimentario; de igual manera, es el más significativo por la superficie sembrada y el volumen de producción. Anualmente se destinan 7.8 millones de hectáreas para la producción de este grano, que representa 49.7% de la superficie nacional cultivable. La producción de maíz en México durante el periodo 2008-2011, fue en promedio anual de 21.3 millones de toneladas (Reyes, 2013).

Conforme aumenta la cantidad de granos de maíz producida para satisfacer la demanda alimenticia de la población humana, también aumenta la disponibilidad de estos residuos por lo que a su vez se ha incrementado la oferta de residuos agrícolas y se estima un probable incremento en su demanda (Macedo, 2000; Wortmann *et al.*, 2012).

Los residuos de cosecha de cultivos agrícolas también llamados rastrojos; se utilizan fundamentalmente en:

- La fuente de cobertura del suelo en la agricultura en laderas y es una de las tecnologías más efectivas para regular la humedad y temperatura del mismo, amortiguar la erosión hídrica, controlar la maleza y aportar materia orgánica y nutrientes al suelo (Eyhorn *et al.*, citado en Reyes, 2013).
- Consumo para la alimentación de rumiantes, suministrado como suplemento en la dieta de los animales (Correa, 2008).

La utilización de los rastrojos en la alimentación de ganado se debe a que son fuentes abundantes de energía especialmente en los periodos de sequía (Reyes, 2013), esto se debe a que en la

composición estructural del rastrojo se tiene contenidos de material de lignocelulosa, es decir, que están formados principalmente por; celulosa, hemicelulosa y lignina. (Barroso, 2010).

3. MARCO TEÓRICO.

3.1. Composición química

El rastrojo de maíz se caracteriza por tener un promedio del 4.90% de proteína cruda (PC), 46.75% de fibra detergente ácido (FDA), un 72% de fibra detergente neutro (FDN) distribuida en un 37 % de celulosa y 18 % de lignina (Fuentes *et al.*, 2001, Carroll y Sommerville, 2009).

3.2. La pared celular del rastrojo de maíz.

Las paredes celulares de los rastrojos consisten en polisacáridos, compuestos fenólicos y compuestos minoritarios (minerales, lípidos, proteínas, etc.). Los polisacáridos se clasifican en celulosa, hemicelulosas y pectinas. Gran parte de los compuestos fenólicos están presentes en la estructura de lignina. Evidentemente celulosa, hemicelulosas y lignina son los principales constituyentes de la pared celular del rastrojo de maíz. (Prinsen, 2010).

A continuación, se describen cada uno de los compuestos que forman la pared del rastrojo.

3.2.1. Celulosa.

La celulosa es el biopolímero más abundante de la naturaleza y está presente en la pared primaria y secundaria actuando como principal polímero estructural. Esta estructura consta básicamente de una cadena lineal de moléculas de D-glucopiranosas unidas por un enlace glucosídico de tipo β (1-4). Estas cadenas de β (1-4) D-glucanos mantienen enlaces estables por puentes de hidrógeno intramoleculares (entre las distintas moléculas de glucosa de una misma cadena) e intermoleculares (entre moléculas de glucosa de distintas cadenas). La celulosa puede aparecer en forma cristalina, denominada celulosa cristalina. Además, hay un pequeño porcentaje de cadenas de celulosa no organizadas, que forman celulosa amorfa. En esta conformación, la celulosa es más susceptible a la degradación enzimática (Pérez *et al.*, 2002; Barros, 2011).

3.2.2. Hemicelulosa.

La hemicelulosa contiene glucuronoarabinoxilanos o GAX que es el principal polisacárido hemicelulósico lo que se define como pared celular secundaria. Su composición química se basa en polisacáridos llamados glucuronoarabinoxilanos (GAX) que es la unión glucosídica de distintos monosacáridos, sobre todo pentosas (arabinosa y xilosa), hexosas (glucosa, manosa y galactosa), ácidos urónicos (galacturónico y glucurónico) y Los β -glucanos con enlaces mixtos son también polisacáridos hemicelulósicos que consisten en residuos de D-glucosa sin sustituciones. Las unidades que los conforman son celotriosa y celotetraosa en una proporción de 2:1. (Badui, 2006; Barros, 2011).

3.2.3. Lignina.

La lignina está presente en la pared celular, confiere soporte estructural, impermeabilidad y resistencia contra el ataque microbiano de los microorganismos ruminales. Estructuralmente, la lignina es un heteropolímero amorfo, que consiste en unidades de grupos fenilpropanoides (anillo bencénico y una cadena de 3 carbonos) altamente ramificado. El polímero de lignina es formado por uniones oxidativas de los monolignoles o alcoholes fenilpropílicos: coniferílico, cumarílico y sinapílico, que son sintetizados a partir del aminoácido aromático fenilalanina vía varios derivados del ácido cinámico. Los productos intermediarios de la ruta de biosíntesis de los monolignoles sirven como precursores de los ácidos hidroxicinámicos y otros compuestos fenólicos. (Pérez *et al.*, 2002; Barros, 2011; Kubo y Kadla, 2005 citado en Hernández, 2013).

La función principal, es la interacción de la lignina y la celulosa es para proporcionar rigidez a la pared celular (Prinse, 2010). Mientras que la función de la lignina con la hemicelulosa la forman una red hidrofóbica, la cual limita el acceso de las bacterias rumiantes, esto hace que la principal limitante de los o rastrojos sean de material lignocelulósico, por lo que los microorganismos ruminales no son capaces de hidrolizar toda la celulosa y hemicelulosa (Basurto *et al.*, 2012).

3.3. Tratamientos para el rastrojo de maíz.

Para que los microorganismos ruminales puedan degradar la celulosa que está en el rastrojo de maíz se han utilizados tratamientos con el objetivo de reducir el grado de cristalinidad y aumentar

la celulosa amorfa, lo cual permite que los animales puedan utilizar esta celulosa como fuente de energía (Bobadilla, 1997; Delgado, 2012; Suesca, 2012). Dentro de estos tratamientos podemos encontrar: físicos, químicos, biológicos (Amaral, 1995).

3.3.1. Tratamientos físicos.

En este tipo de tratamientos se encuentran; el tratamiento picado, molido, los cuales tienen como finalidad reducir el tamaño de partícula logrando así una disminución de desperdicio del rastrojo y así aumentar el consumo de este, logrando que los microorganismos ruminales tengan más sitios de acción, por lo que favorecerá un aumento en la digestibilidad (Bobadilla, 1997).

3.3.2. Tratamientos químicos.

Este tipo de tratamiento en el rastrojo mejora la calidad y su conservación (FAO, 2017) de acuerdo con Tejada 1976 citado en (Miranda, 2014) este tipo de tratamientos tienen como objetivo el realizar una predigestión, fraccionando los enlaces de la lignina y hemicelulosa, así también fraccionando los enlaces de celulosa y hemicelulosa por lo que aumenta el ataque de los microorganismos ruminales, aumentando así la digestibilidad (Gutiérrez 1983 citado en Miranda, 2014; Fuentes, 2001). Dentro de los tratamientos más utilizados en los rastrojos podemos encontrar: urea como precursor de amoníaco, hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de calcio $[Ca(OH)_2]$, hidróxido de potasio (KOH) hidróxido de amonio (NH_4OH), amoníaco (NH_3) urea y cenizas de madera. Así también podemos encontrar productos ácidos y oxidantes se han empleado en menor proporción y entre los estos están: el ácido clorhídrico (HCl) y el ácido sulfúrico (H_2SO_4) el dióxido de azufre (SO_2), ozono (O_3), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), hipoclorito de sodio (NaClO) y cloruro de litio. (Bourguetts, 1998).

De acuerdo con Asmud y Lars 1983, Klopfenstein 1980 citado en (Fuentes, 2001), mencionan que se han obtenido mejores resultados con los tratamientos de hidróxido de sodio (NaOH), amoníaco (NH_3) y urea, así también Bourguetts (1998), señala que el tratamiento con hidróxido de sodio es más eficiente que el tratamiento con urea como una fuente de amoníaco, sin embargo también señala que el hidróxido de sodio además de su disponibilidad y costo serán factores que determinen su uso.

3.3.3. Tratamientos biológicos.

De acuerdo con Jackson 1978 citado en (Amarral, 1995), estos tipos de tratamientos en el rastrojo de maíz, tienen como objetivo el de aumentar la digestibilidad del rastrojo, la cual utiliza microorganismos como hongos y bacterias, así también el uso de enzimas de tipo fibrolíticas exógenas.

3.4. Enzimas fibrolíticas exógenas.

Estas enzimas fibrolíticas exógenas son proteínas catalizadoras biológicas compuestas por aminoácidos unidos por uniones entre un grupo carboxilo de un aminoácido con el grupo amino de otro aminoácido que funcionan en un pH y una temperatura específica, así también son proteínas con una estructura especial, el cual tiene un centro activo denominado apoenzima y, en algunos casos, un grupo no proteico denominado coenzima, (Bobbio1995 citado por Vivanco, 2011).

3.5. Factores que afectan la actividad de las enzimas.

3.5.1. pH.

Mckee 2003 citado en (González, 2012) mencionan que las enzimas poseen un pH en el cual la actividad de estas es máxima a un pH de 6.2, a medida que disminuye el pH hasta a lograr un pH de 4.0 la actividad enzimática de se ve afectada.

En el caso de algunas enzimas como proteasas, los valores varían desde un pH de 8 a 12, existiendo también proteasas acidas y neutras. Así también la hidrólisis de la celulosa con enzimas celulasas actúa alrededor de pH 5. (Martínez *et al.*, 2008; Reyes y Aguilar, 2011 citado en González, 2012).

3.5.2. Temperatura.

Cada enzima actúa con mayor eficiencia a una temperatura óptima. Demijaran *et al.*, 2001 citado en (González, 2012) menciona que se ha clasificado a las enzimas de acuerdo en tres grupos conforme a la temperatura de la estabilidad: termoestables moderadas (45-65°C), termoestables (65-85°C) y termoestables extremas (>85°C). De acuerdo con González (2003), hay una estimulación de la actividad de la enzima a una temperatura de 50°C y una inhibición a una

temperatura de 70°C. Sin embargo, (Tous 2010), indica que la temperatura óptima de actividad enzimática oscila entre 39°C y 40° C.

No se encontraron datos que indiquen la cantidad de humedad ni forma adecuada de almacenamiento ante la presencia de aire.

3.6. Mecanismo de acción de las enzimas fibrolíticas exógenas.

El mecanismo de acción de las enzimas fibrolíticas exógenas es similar a las enzimas producidas por los microorganismos ruminales; es decir, el sitio activo se une con un sustrato determinado por medio de puentes de hidrógeno, para formar el complejo enzima sustrato, esto hace que exista una aceleración de las reacciones químicas rompiendo así los enlaces del rastrojo. Este complejo, tiene dos destinos posibles; el primero puede disociarse en sitio activo y sustrato, o bien puede formar un nuevo producto al romper los enlaces que unen a los carbohidratos solubles (Wang y McAllister, 2002; Stryer, 1998 citado en Delgado, 2012).

3.7. Tipos de enzimas fibrolíticas exógenas.

3.7.1. Celulasas.

Este tipo de enzimas fibrolíticas exógenas se puede producir a partir de los microorganismos como los hongos aeróbicos, tales como: *Trichoderma viride*, *Trichoderma reesei*, *Penicillium pinophilum*, *Sporotrichum pulverulentum*, *Fusarium solani*, *Talaromyces emersonii* y *Trichoderma koningii*, (Eriksson & Wood 1985 citado en Ovando, 2005).

Otros microorganismos productores de la enzima celulasa incluyen a hongos aeróbicos termofílicos; *Sporotrichum thermophile*, *Thermoascus aurantiacus* y *Hemicola insolens*, los hongos anaeróbicos mesofílicos; *Neocallimastix frontalis*, *Piromonas communis*, *Sphaeromonas communis*, así también podemos encontrar a bacterias aeróbicas mesofílicas y termofílicas *Cellulomonas sp.*, *Cellvibrio sp.*, *Microbispora bispora* y *Thermomonospora sp.*, también podemos adquirirlas de microorganismos como bacterias anaeróbicas mesofílicas y termofílicas; *Acetivibrio cellulolyticus*, *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* y *Clostridium thermocellum* (Forsberg & Groleau 1982; Beguin & Aubert 1993 citado en Ovando, 2005).

Este sistema acción de las enzimas celulasas incluye en tres tipos de enzimas:

a) Endoglucanasas: [1,4(1,3;1,4)- β -D-glucán 4-glucanohidrolasas, EC.3.2.1.4] las cuales rompen al azar los enlaces β -glucosídicos, lo que provoca una rápida disminución de la viscosidad relativa con relación a la velocidad de incremento de grupos reductores. Los productos, especialmente al final de la secuencia de reacciones, incluyen a la glucosa, la celobiosa y las celodextrinas de varios tamaños (Lynd *et al.*, 2002).

b) Exoglucanasas: este tipo de celulasa se divide en dos grupos;

- Celobiohidrolasas (1,4- β -D-glucán celobiohidrolasas, EC. 3.2.1.91) estas degradan la celulosa amorfa por eliminación de celobiosa de los extremos no reductores de la celulosa. La velocidad de disminución de la viscosidad con relación al aumento en grupos reductores es mucho menor que en las endoglucanasas (Lynd *et al.*, 2002).

- Exoglucohidrolasas (1,4- β -D-glucán glucobiohidrolasas, EC.3.2.1.74), que hidroliza consecutivamente unidades de glucosa del extremo no reductor de las celodextrinas. La velocidad de hidrólisis disminuye a medida que disminuye la longitud de cadena de sustrato (Lynd *et al.*, 2002).

c) β -glucosidasas (β -D-glucósido glucobiohidrolasas, EC.3.2.1.21) se encarga de dividir a la celobiosa hasta glucosa. A diferencia de las exoglucohidrolasas, la velocidad de hidrólisis de la β -glucosidasa aumenta a medida que el tamaño del sustrato disminuye (Fennema *et al.*, 2010).

3.7.2. Xilanasas

Este tipo de enzimas son producidas por diferentes organismos tales como bacterias, hongos, algas, protozoos, sin embargo, a nivel comercial se limita a hongos como *Trichoderma sp.* y *Aspergillus sp.* (Lorea y Villaseñor, 2006 citado en Sánchez, 2010).

Las enzimas xilanasas son capaces de hidrolizar los enlaces glucosídicos de los xilanos debido a que este es un componente principal de la hemicelulosa. Este complejo de enzimas está compuesto; endoxilanasas o xilanasas (endo- β -1,4-xilanasas; EC 3.2.1.8), las cuales, actúan sobre la cadena principal del xilano hidrolizando los enlaces internos β (1-4) entre las moléculas de xilosa, dando

así a una mezcla de xilo-oligosacáridos de diferentes tamaños). Las enzimas endo- β -D-xilanasas (E.C. 3.2.1.8), rompen los enlaces de glicosídicos de los materiales xilanolíticos. La arabinofuranosidasa (E.C. 3.2.1.55) hidroliza las cadenas de arabinosa. Las enzimas acetil xilanesterasas (E.C. 3.1.1.72) liberan grupos acetatos. La glucoronidasa (E.C. 3.2.1.139) hidrolizan cadenas de ácido glucurónico a partir de unidades de xilosa. Las β -xilosidasas (E.C. 3.2.1.37) son enzimas que actúan sobre oligosacáridos, llevando a cabo la hidrólisis de los enlaces β -1,4-aril-xilopiranosido produciendo xilosa (Biely, 1985, Biely, 1993 citado en González, 2012).

3.7.3. Lacasas.

Son enzimas multicúpricas que pertenecen al grupo de oxidasas azules y existen ampliamente en la naturaleza. En contraste, con la mayoría de las enzimas las cuales son muy específicas hacia el sustrato, las lacasas tienen una amplia gama para sustratos, incluyendo difenoles, polifenoles, diferentes fenoles sustituidos, diaminas y aminas aromáticas. (Zabel y Morrol, 1992; Bourbonnais *et al.*, 1997., citado en González, 2012).

3.7.4. Glucanasas.

Las glucanasas son enzimas que degradan β -glucanos y se clasifican en dos grandes grupos según los mecanismos que utilizan para hidrolizar el sustrato, identificados por los productos de hidrólisis: a) las exo- β -glucanasas, las cuales hidrolizan el sustrato por ruptura secuencial de residuos de glucosa desde el extremo no reductor, y b) las endo- β -glucanasas, que rompen aleatoriamente los sitios de enlace β de la cadena polisacáridica, liberando pequeños oligosacáridos. (González, 2012).

3.7.5. Pectinasas.

Este tipo de enzimas exógenas puede diferenciarse de acuerdo a su acción sobre los diferentes sustratos; la pectinesterasa rompe los enlaces del grupo metilo de pectinas altamente metoxiladas. La poligalacturonasa la cual rompe los enlaces entre unidades de ácido galacturónico no esterificado, la endopoligalacturonasa que actúa a lo largo de la cadena y la exopoligalacturonasa que rompe los enlaces no reducidos del final de la cadena. La pectínliasa actúa al azar en la cadena para despolimerizar a los poligalacturanos rompiendo los enlaces entre moléculas metiladas. La pectatoliasa que rompe las uniones glicosídicas entre moléculas de ácido galacturónico no metiladas en pectinas poco metoxiladas (Amrani-Joutei *et al.*, 2003 citado en Moreno, 2013).

3.7.6. Mananasas

Las enzimas mananasas (B -1,-D-manan endo-1,4 β mananohidrolasas, EC 3.2.1.78) tiene diferentes modos de acción hidrolítica sobre los hetero – β mananos, los productos más comunes son: manotriosas y manobiosas. Este tipo de oligosacaridos pueden ser hidrolizados por b manisidasas (EC3.2.1.25) para producir manosa. Algunas β – mananasas presentan actividades de transglucosilación sobre manooligosacridos (Harjunpää *et al.*, 2005 citado en Vázquez, 2008)

3.8. Uso de enzimas fibrolíticas exógenas.

La hidrólisis del material lignocelulósico depende de las características de las enzimas, incluyendo factores como: a) Adsorción de la enzima dentro de la biomasa previo a la reacción, b) Competitividad o no competitividad con los productos finales inhibitorios, c) sinergia entre los componentes de varias enzimas y d) limitaciones de transferencia de masa que afecta el transporte de la enzima sobre el sustrato. La hidrólisis enzimática también depende de la composición del rastrojo, como la distribución de la lignina, presencia de otros compuestos tales como hemicelulosa, tamaño de la partícula y cristalización (McAllister y Cheng, 1996).

Las enzimas fibrolíticas pueden acelerar la descomposición de la pared celular del rastrojo, permitiendo así a los microorganismos ruminales acceder fácilmente y posteriormente la degradación del material lignocelósico. Lewis et al. 1996 citado en (McAllister *et al.*, 2017) plantearon la hipótesis de que la aplicación de enzimas al grano de cebada aumentaba la disponibilidad inmediata de carbohidratos fermentables y estimulaba el crecimiento microbiano en el rumen. De acuerdo con Tirado *et al.*, (2015) menciona que algunas actividades enzimáticas incrementaron la población de microorganismos ruminales así también las enzimas exógenas mostraron sinergismo con las enzimas de microorganismos del rumen.

4. OBJETIVOS.

4.1 Objetivo general.

Evaluar el tratamiento del rastrojo de maíz con dos productos comerciales con base en enzimas, con el fin de mejorar las características nutricionales del rastrojo de maíz.

4.2. Objetivos específicos.

- Proponer una metodología para tratar el rastrojo de maíz con enzimas fibrolíticas.
- Encontrar la cantidad de agua, como vehículo de la enzima, que permitiera humedecer el rastrojo de maíz, con la finalidad de favorecer el tratamiento enzimático.
- Determinar el efecto del aire sobre el tratamiento del rastrojo de maíz con enzimas fibrolíticas.
- Evaluar tres concentraciones de dos productos enzimáticos comerciales en términos de la digestibilidad *in vitro*.
- Evaluar los tiempos de exposición en la digestibilidad *in vitro* de los rastrojos tratados de los dos productos enzimáticos.

5. MATERIALES Y MÉTODOS.

El presente trabajos se realizó en 2 etapas: en la primera etapa se estandarizaron las condiciones de manejo de los dos complejos enzimáticos en relación con el rastrojo de maíz. Para la segunda etapa se evaluaron los tratamientos al rastrojo de maíz con las enzimas.

5.1. Lugar

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Bromatología de la Licenciatura de Medicina Veterinaria y Zootecnia ubicado en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán campo 4 de la UNAM.

5.2. Rastrojo de maíz.

El rastrojo de maíz provino de una tienda comercial de forrajes ubicada en Santa María Huecatitla, Cuautitlán, Estado de México. El rastrojo se molió en un molino de martillos con una criba de 0.5 cm y posteriormente se almacenó en costales para su posterior utilización en los tratamientos.

5.3. Enzimas.

Se utilizaron dos complejos enzimáticos comerciales: el primero, conformado por las enzimas xilanasas, glucanasas, pectinasas y celulasa (complejo 1) y el segundo, conformado por una β -glucanasa y celulasa (complejo 2), ambos en una presentación sólida y no se indica las concentraciones de cada una de las enzimas.

5.4 Estandarizaron las condiciones de manejo de los complejos enzimáticos

5.4.1 Relación de agua – rastrojo y condiciones de aire.

5.4.1.1 Tratamiento

Se utilizaron dos relaciones de agua – rastrojo, con objeto de estimar la cantidad de agua para humedecer rastrojo de maíz, además de estimar si la presencia de aire afectaba al tratamiento de rastrojo de maíz con enzimas fibrolíticas; para lo cual, se pesaron cuatro charolas de 150 g de rastrojo de maíz, las cuales se depositaron en charolas independientes. Por otro lado, se pesó 0.015 g de la enzima 1, cantidad calculada para 300 g de rastrojo de maíz; dicha cantidad se fijó con base a la ficha técnica de la enzima 1 (ENMEX, 2014), la cual indica que se debe utilizar de 50-150 g/ton de enzima por tonelada de sustrato.

A partir de lo anterior se elaboraron dos soluciones, la primera con 0.015 g de enzima en 200 ml de agua potable y la segunda con la misma cantidad de enzima en 300 ml de agua potable. Cada solución se dividió en dos partes iguales las cuales se asperjaron a los 150 g del rastrojo de maíz.

Posteriormente cada tratamiento se depositó en bolsas individuales, dos bolsas se mantuvieron abiertas y las dos bolsas faltantes se mantuvieron cerradas. Las cuatro bolsas se almacenaron y se dejaron reposar en un periodo de 48 h, de acuerdo al tiempo de exposición a las enzimas propuestas por (Yescas *et al*; 2003). Posterior a ese tiempo, los tratamientos se depositaron en charolas individuales y se procedió a evaluar de forma cualitativa el olor, color y textura, así como la distribución de agua en toda la muestra, a semejanza como se procede para los forrajes ensilados (Urdaneta y Borges, 2011), y con base en algunas las características de las pajas tratadas por métodos químicos (Ríos, 2017). La escala que se utilizó se muestra en el cuadro 5.1.

Cuadro 5.1. Indicadores organolépticos para evaluar a los tratamientos con enzimas fibrolíticas de rastrojo de maíz.

Características.	Buena.	Mala.
Olor.	Dulce.	Moho
Color	Amarillo brillante	Obscuro con respecto al rastrojo original
Textura.	Suave y porosa	Dura y áspera
Humedad.	Homogénea*	Heterogénea**

*Distribuida por todo el rastrojo

**Partes secas, predomina espacios secos

Padilla (2018) elaboración propia.

5.5. Concentración de las enzimas

5.5.1 Tratamientos

Se pesaron 18 charolas con 300 g de rastrojo de maíz, las cuales se distribuyeron al azar mediante un diseño factorial 2x3, dos complejos enzimáticos y tres concentraciones: 0.015 %, 0.03 % y 0.045%, con tres repeticiones. Las concentraciones utilizadas de los complejos enzimáticos se decidieron con base en las recomendaciones de la ficha técnica del complejo 1, la cual indica que se puede utilizar un intervalo entre 50 y 150 g/ton del cada complejo enzimático, por lo cual se procedió a utilizar las cantidades indicadas en el límite inferior y el superior, así como una intermedia, es decir: 0.015 g, 0.03 g y 0.045 g.

Cada concentración se diluyó en 300 ml de agua potable, la solución se asperjó en la charola correspondiente al tratamiento, cada rastrojo humedecido se homogeneizó y se depositó en bolsas de plástico individuales, se cerraron y se dejaron reposar por un periodo de 48 h a temperatura ambiente. Se utilizaron como testigos rastrojo de maíz tal cual y el segundo consistió en rastrojo de maíz humedecido con la misma cantidad de agua que los tratamientos, éste último se envasó en una bolsa de plástico y se dejó reposar 48 h al igual que los tratamientos con enzimas.

Posterior a ese tiempo, los tratamientos se depositaron en charolas individuales. Se procedió a evaluar de forma cualitativa el olor, color y la consistencia de cada tratamiento de acuerdo al cuadro 5.1

Una vez que se evaluaron las características anteriormente mencionadas, los tratamientos se secaron en una estufa a 60°C, posteriormente se molieron y envasaron.

5.5.2. Determinaciones.

A todas las muestras obtenidas en cada tratamiento se les determinó el contenido de materia seca, así como la digestibilidad *in vitro* la DIVMS mediante la técnica de Tilley y Terry (Morfin, 2018).

5.5.3. Análisis estadístico

Los datos de digestibilidad se analizaron mediante un diseño aleatorio bajo un arreglo factorial 2x3. Todos los resultados de DIVMS fueron sometidos a un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias de Tukey y con alfa 0.05 (Daniel, 2007).

5.6. Variación de concentraciones de enzimas y tiempo de exposición.

Debido a que las concentraciones de 0.015, 0.03 y 0.045 % de los complejos enzimáticos comerciales no afectaron la DIVMS del rastrojo de maíz, se planteó probar concentraciones mayores de la enzima, así como mayores tiempos de exposición.

5.6.1. Tratamientos.

Se pesaron 36 charolas de 300 g de rastrojo de maíz, las cuales se distribuyeron al azar en un arreglo factorial 2x2x3, donde el primer factor fueron los dos complejos enzimáticos, el segundo factor fueron dos concentraciones (0.5 y 1 g); el tercer factor fueron los tres tiempos de exposición (48 h, 72 h y 96 h). El testigo consistió en rastrojo de maíz seco.

Cada concentración se diluyó en 300 ml de agua potable y posteriormente se asperjó al rastrojo de maíz. Los tratamientos se depositaron en bolsas individuales, las cuales se almacenaron y se dejaron reposar por los tres tiempos de exposición que anteriormente se mencionaron.

Pasado el tiempo de exposición, cada tratamiento con su triplicado, se retiró y se secó en una estufa a 60°C, se molió y se envasó.

5.6.2. Determinaciones.

A todas las muestras obtenidas en cada tratamiento se les determinó el contenido de materia seca, así como la digestibilidad *in vitro* de la materia seca mediante la técnica de Tilley y Terry (Morfin, 2018).

5.6.3. Análisis estadístico.

Los datos fueron analizados mediante un diseño aleatorio bajo un arreglo factorial $2 \times 2 \times 3$ (dos complejos enzimáticos comerciales, dos concentraciones, tres tiempos de exposición), el testigo consistió en rastrojo sin tratamiento. El análisis estadístico se realizó mediante un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias de Tukey y con alfa 0.05 (Daniel, 2007).

6. RESULTADOS.

6.1 Relación agua – rastrojo y condiciones de aire.

En el cuadro 6.1 resalta que a una relación de 1:0.75 (150 g de rastrojo de maíz/100ml de agua) no se alcanza a humedecer todo el rastrojo; en contraste, con una relación de 1:1 p/v (150 g de rastrojo de maíz/150 ml de agua) se humedece todo el rastrojo de maíz. Por otro lado, se aprecia que las condiciones anaerobias, permitieron buenas características organolépticas en cuanto a olor y textura, en comparación con las que se presentaron en condiciones aerobias.

Cuadro 6.1. Características organolépticas del tratamiento de rastrojo de maíz con un tiempo de exposición de 48 h, 0.015 g de enzima 1 con dos relaciones agua- rastrojo, con dos condiciones de aire.

Concepto	Condiciones de aireación			
	Aerobio		Anaerobio	
Relación agua-rastrojo	1:075*	1:1**	1:075*	1:1**
Olor	Inoloro	Inoloro	Dulce	Dulce
Color	Amarillo	Amarillo	Amarillo	Amarillo
Textura	Dura	Dura	Suave y porosa	Suave y porosa
Humedad	Heterogénea	Homogénea	Heterogénea	Homogénea

* 150 g/100 ml

** 150g/150ml

Cuadro 6.2. Características organolépticas en rastrojo de maíz tratado con dos complejos enzimáticos, a tres concentraciones con un tiempo de exposición de 48 h, en condiciones anaerobias y una relación agua – rastrojo 1:1

Características	Tratamiento							
	Concentraciones		0.015% ^α		0.030% ^α		0.045% ^α	
	Rastrojo seco	Rastrojo húmedo	1 ^β	2 ^δ	1 ^β	2 ^δ	1 ^β	2 ^δ
Olor	<i>Sui generis</i>	<i>Sui generis</i>	Dulce	Dulce	Dulce	Dulce	Dulce	Dulce
Color	Amarillo opaco	Amarillo opaco	Amarillo brillante	Amarillo brillante	Amarillo brillante	Amarillo brillante	Amarillo brillante	Amarillo brillante
Textura	Dura y áspera	Dura y áspera	Suave y porosa	Suave y porosa	Suave y porosa	Suave y porosa	suave y porosa	suave y porosa

^α Concentraciones

^β Complejo 1

^δ Complejo 2

6.2 Concentración de enzimas.

En el cuadro 6.2, se observa que el olor, color y textura son similares entre los tratamientos con las concentraciones utilizadas de los dos complejos enzimáticos comerciales para el tratamiento de rastrojo, pero difiere de los controles.

En el cuadro 6.3 resalta que los tratamientos con las concentraciones de 0.015, 0.03 y 0.045 % del complejo enzimático 1, mostraron una menor digestibilidad con respecto a los dos grupos controles (rastrojo seco y rastrojo húmedo), Por otro lado, en cuanto a la concentración de 0.015 y 0.030 % del complejo enzimático 2, mostraron una digestibilidad similar con respecto al grupo control del rastrojo húmedo, sin embargo, presentan una digestibilidad menor al compararlo con el grupo control del rastrojo seco, en cuanto a la concentración de 0.045% de este complejo, fue la que mostró una menor digestibilidad.

Cuadro 6.3. Digestibilidad *in vitro* de la de la MS del rastrojo de maíz tratado con dos complejos enzimáticos comerciales a diferentes concentraciones distintas con un tiempo de exposición de 48 h.

Complejos enzimáticos	Concentración.	DIVMS.
	%*	%
1 ^α	0.015	48.13 ±0.01 b
1 ^α	0.030	44.25 ±0.81 c
1 ^α	0.045	43.68 ±0.97 c
2 ^β	0.015	49.90 ±2.81 ab
2 ^β	0.030	49.50 ±0.43 ab
2 ^β	0.045	48.61 ±0.61 ab
Rastrojo húmedo	- - -	49.08 ±0.90 ab
Rastrojo seco	- - -	52.00 ± 2.90 a

a, b, c, d. Letras distintas dentro de la columna señalan diferencia estadística ($p > 0.05$)

*300ml de agua/300g de enzima

αComplejo 1

βComplejo 2

6.3 Variación de concentraciones y tiempo de exposición.

Debido a que las digestibilidades del rastrojo con las concentraciones 0.015, 0.03 y 0.045 % de ambos complejos enzimáticos no se incrementaron por efecto del tratamiento se decidió incrementar el porcentaje de los complejos enzimáticos, así como el tiempo de exposición.

En los cuadros 6.4 y 6.5 resalta que las digestibilidades no se incrementan con las concentraciones de 0.5 y 1 % de ambos complejos enzimáticos comerciales, e incluso las digestibilidades tienden a disminuir.

Cuadro 6.4. Digestibilidad *in vitro* de la MS de rastrojo de maíz tratado con el complejo 1 a diferentes concentraciones y tres tiempos de exposición.

Tratamiento	Concentración	Tiempo de exposición	DIVMS [£]
	%*	h	%
1 ^α	0.5	48	52.14 ±1.23 a
1 ^α	0.5	72	48.00 ± 1.30 b
1 ^α	0.5	96	44.71 ±1.10 c
1 ^α	1	48	44.41 ±0.85 cd
1 ^α	1	72	43.56 ±2.46cd
1 ^α	1	96	41.05 ±2.53 d
Rastrojo	- - -	- - -	52.62 ± 1.43 a

a, b, c, d. Letras distintas dentro de la columna señalan diferencia estadística (p>0.05)

* 300ml de agua/300g de enzima

α Complejo 1

Rastrojo seco: Sin tratamiento

£: digestibilidad de la materia seca

Cuadro 6.5. Digestibilidad *in vitro* de la MS de rastrojo de maíz tratado con complejo 2 a diferentes concentraciones y tres tiempos de exposición.

Tratamiento	Concentración %*	Tiempo de exposición h	DIVMS [£] %
2 ^β	0.5	48	51.18 ±0.00 ab
2 ^β	0.5	72	41.91 ±1.99 abc
2 ^β	0.5	96	47.43 ±4.37 bcd
2 ^β	1	48	38.85 ±0.76 cd
2 ^β	1	72	37.88 ±8.21 cd
2 ^β	1	96	35.71 ±6.28 d
Rastrojo	---	---	52.62 ±1.43 a

a, b, c, d. Letras distintas dentro de la columna señalan diferencia estadística ($p > 0.05$).

*300ml de agua/300g de enzima

^βComplejo 2.

Rastrojo: Sin tratamiento.

£: Digestibilidad de la materia seca

Cuadro 6.6. Contenido de proteína cruda, fibra detergente neutro y fibra detergente ácido de rastrojo de maíz.

Concepto	Proteína cruda	FDN	FDA	Hemicelulosa
	%	%	%	%
Rastrojo sin tratamiento	4.3	83	68	15
Rastrojo tratado con 1	5.9	89	62	27
Rastrojo tratado con 2	5.7	88	63	25

FDN: Fibra detergente neutro

FDA: Fibra detergente ácido

* 0.05 % del complejo 1

** 0.05 % del complejo 2

En el cuadro 6.6 destaca el rastrojo de maíz no tratado tiene un porcentaje de proteína cruda (4.3%) y fibra detergente neutro (83 %) en comparación con el rastrojo tratado con los complejos 1 y 2. Por otro lado a la fracción de fibra detergente neutro (68 %) es mayor en comparación con los complejos 1 y 2. En cuanto al porcentaje de hemicelulosa, aumento del 15% hasta el 27% en el rastrojo de maíz tratado con el complejo 1.

7 DISCUSIÓN.

En lo que respecta a los tratamientos de pajas con enzimas en la información que hay al alcance no hay lineamientos para realizar los tratamientos, de ahí la importancia de estandarizar la relación agua-rastrojo, condiciones y tiempo de exposición. Tampoco se ha establecido las características organolépticas del forraje tratado con enzimas, sin embargo, se podría hacer comparaciones cuando las pajas son tratadas con álcalis tal como lo reporta Ríos (2017).

En cuanto a los indicadores organolépticos, olor, color y textura se percibieron cambios en ellos por el efecto del tratamiento con enzimas. De acuerdo con estos puntos de vista los tratamientos de rastrojo de maíz con los porcentajes de enzimas entre 0.015 a 0.045 concuerdan que con la concentración recomendada por el fabricante (ENMEX, 2014). Sin embargo, dichas características no muestran una significancia en cuanto a la digestibilidad.

La propuesta de utilizar indicadores organolépticos permitió establecer si había cambio por efecto del tratamiento con enzimas. En cuanto al olor dulce en los tratamientos con enzimas, si bien no se encontró información de esta característica organoléptica cuando se tratan pajas con enzimas exógenas, Wang *et al.* (2001) sugieren esta característica organoléptica hacia olores dulces, lo cual explican por liberación de azúcares reductores por efecto del tratamiento de las enzimas. Por otro lado, los resultados en cuanto a las condiciones de anaerobias y en la relación agua/rastrojo, coinciden con los resultados obtenidos por Ríos (2017), quien trabajó con tratamientos químicos en pajas.

En cuanto a los resultados de la DIVMS obtenidos con los tratamientos de los dos complejos enzimáticos trabajados a distintitos tiempos y a diferentes concentraciones estudiadas, fueron menores en comparación con los grupos controles. Dichos resultados no concuerdan con los datos obtenidos de (Feng *et al.*, 1996; Lewis *et al.* 1996; Colombatto *et al.*, 2016) quienes reportan un aumento de DIVMS un tiempo de exposición de 6, 16, 30 40 h, así mismo, mencionan un que hay un aumento de la digestibilidad del rastrojo antes del consumo. Sin embargo, algunos autores como (Colombatto *et al.*, 2003, Almaraz *et al.*, 2010 Romero *et al.*, 2014) mencionan que no hay dicho efecto en la digestibilidad en el tratamiento con enzimas exógenas.

Los resultados no concuerdan con los datos obtenidos por Colombatto *et al.* (2003), Vijay *et al.* (2013) y López-Aguirre *et al.*, (2016) quienes encontraron que el uso de enzimas exógenas mejoró la digestibilidad de henos y pajas. Sin embargo, los resultados numéricos obtenidos en la digestibilidad *in vitro* de los tratamientos coinciden con los obtenidos por Vijay *et al.* (2013) cuando trataron rastrojo de maíz con complejos enzimáticos similares. En contraste se coincide con Romero *et al.* (2013) quienes señalan que el uso de enzimas fibrolíticas exógenas no mejoró la digestibilidad del heno de zacate Bermuda. El hecho de que la digestibilidad del rastrojo de maíz tratado con los complejos enzimáticos estudiados no incrementara se podría explicar porque con las concentraciones de las enzimas recomendadas por el fabricante, pueden competir por los sitios de unión y afectar la adherencia de los microorganismos ruminales y limitar la digestibilidad del rastrojo (Tirado *et al.*, 2015); así como también a la estructura de la pared celular al tener un alto contenido de lignina que contiene el rastrojo de maíz (Wang y McAllister, 2002; Yescas *et al.*, 2003, Vijay *et al.*, 2013).

Dicha explicación se puede deber a que la adición de enzimas con concentraciones insuficientes o excesivas, por otro lado, a altas concentraciones de las enzimas, pueden competir por los sitios de unión y afectar la adherencia de los microorganismos ruminales y, por lo tanto, tener una digestibilidad limitada en la alimentación del rastrojo. Así mismo, una interacción entre enzimas exógenas y enzimas endógenas pueden afectar la respuesta del tratamiento con enzimas, otra de las causas por la cual las enzimas exógenas no afectaron la DIVMS se puede deber al alto contenido de lignina que contiene el rastrojo de maíz (Wang y McAllister, 2002; Yescas *et al.*, 2003, Tirado, 2015).

Algunos autores sugieren que la combinación enzimas producidas por microorganismos psicrófilicos y mesófilicos, pueden favorecer el aumento de la digestibilidad, así mismo, reportan que hay una especificidad de las enzimas y el sustrato (Beauchemin *et al* 2003; Colombatto *et al.* 2016; Soltan *et al.* 2013).

Por lo que respecta a la composición química, en cuanto a las fracciones de FDN y FDA, estas son similares a los datos obtenidos por Ríos (2017) con tratamientos químicos. Yescas *et al.* (2003) quién trabajo con enzimas exógenas, mencionan que en la fracción FDA, la celulosa, es más

digestible comparado con la hemicelulosa, en cuanto a la fracción de FDN se debe a la características de la pared celular del rastrojo de maíz, en cuanto a los resultados de no obstante, esto no se vio reflejado en este estudio dado que los resultados obtenidos en las fracciones de FDN y FDA son superiores.

De acuerdo con Vivanco (2015) en un estudio realizado sobre el análisis bromatológico y efecto de enzimas fibrolíticas exógenas sobre digestibilidad *in vitro* de panca de maíz, se evaluaron dos tipos de enzimas; celulasas, xilanasas y la mezcla de estas dos (50 % xilanasas + 50 % celulasas) con cuatro niveles, 0 (control), 2 000, 4 000 y 8 000 UI/kg materia seca con tres repeticiones experimentales, analizadas por separado a 24 y 48 horas de incubación. El rastrojo de maíz se tuvo 5,4 % de proteína cruda; 79,9 % de FDN; 47,1 % de FDA; 9,6 % de ceniza antes de aplicar el tratamiento con enzimas. Al aplicar las enzimas fibrolíticas exógenas a un rango de 4 000 y 8 000 UI/Kg. mejora en un 6,6 % la digestibilidad *in vitro* de materia seca y 8 % la digestibilidad *in vitro* de FDN a 48 h. Las enzimas fibrolíticas exógenas como celulasas o xilanasas solas o mixtas actúan de manera semejante.

Otro estudio realizado por Soltan (2013) sobre la respuesta de diferentes especies de pastos tropicales con tratamientos con enzimas fibrolíticas en términos de degradación de nutrientes ruminales *in vitro* y metanogénesis. Se aplicaron dos productos enzimáticos fibrolíticos; celulasa y xilanasas a 7,5 ó 0,46 UI/500 mg, para materia seca (DM), a diferentes pastos tropicales analizadas en 24 h y 48 h se observaron mejoras ($p < 0.05$) en la velocidad de degradación de fibra detergente neutra (FDN). De la misma forma, al aplicar las enzimas xilanasas solo tuvieron menores respuestas en la degradación de la materia seca (MS), de igual manera el pasto guinea y *King grass* morado mostraron mayor contenido de hemicelulosas y proteína cruda.

8. CONCLUSIONES

- La mejor relación de agua – rastrojo para los tratamientos con enzimas fue de 1:1.
- Las características organolépticas de los rastrojos tratados fueron mejores en cuanto a aromas agradables con respecto a rastrojos sin tratamiento en condiciones anaerobias, sin embargo, esto no se vio reflejado en un aumento de la digestibilidad.
- La mayor digestibilidad con respecto al testigo con la enzima 1 se logró con una concentración de 0.015 %.
- La mejor concentración para la enzima 2 fue de 0.30 %, cuyas digestibilidades fueron similares a la encontrada en la enzima 1 a una concentración de 0.015%.
- No hubo diferencias en cuanto a someter a un tiempo de exposición de 48, 72 o 96 h en la enzima 1 y la enzima 2.
- El mejor tiempo de exposición a las enzimas fue de 48 h.

9. PROPUESTAS DE MÉTODO

- Picar el rastrojo de maíz.
- Pesar el rastrojo de maíz.
- Diluir el complejo enzimático en agua potable en una relación de 1:1.
- Asperjar en el rastrojo de maíz y mezclar.
- Compactar y sellar.
- Almacenar.
- Reposar 48 h.

10. LITERATURA CITADA.

- Almaraz, I., Segundo, G. S., Pinos, J. M. R., Miranda, L. A. 2010. Effects of exogenous Fibrolytic Enzymes on *in sacco* and *in vitro* degradation of diets and on growth performance of lambs. Italian J. Anim Sci 9(1)e2.6-10.
- Amaral, V. A. 1995. Efecto de la alimentación con rastrojo de maíz amoniato durante la época de sequía sobre el comportamiento productivo del ganado bovino en la Unión Tula, Jalisco. Tesis de Licenciatura en Medicina Veterinaria Zootecnista. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional autónoma de México.
- Badui Dergal, S. 2006. Química de los alimentos. México: Pearson Educación de México
- Barroso, C. M. 2010. Pretratamiento de biomasa celulósica para la obtención de etanol en el marco de una biorrefinería. Tesis en Licenciatura en Ingeniería Técnica Forestal, Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Forestal.
- Basurto. G. R., Escamilla, M. A., Moya, V. S., Ramírez, R. E., Becerra, B. J. 2012. Composición química, digestibilidad y cinética ruminal de la digestión de residuos agrícolas tratados con explosión de vapor. Rev. MexCiencPecu; 3(4).
- Bobadilla, H. R. A. 1997. Características productivas en ovinos utilizando *Sarccharomyces cerevisiae* en una dieta con rastrojo de maíz. Tesis en Licenciatura en y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bourguetts, L.L. R. 1998. Efecto del tratamiento alcalino sobre la cinética de degradación ruminal de dos subproductos lignocelulósicos. Tesis en Maestría en Ciencias en Nutrición Animal, Universidad de Guadalajara Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias.
- Carroll, A. y Sommerville, C. 2009. Cellulosic Biofuels. Annu. Rev. Plant Biol. 60(1) 165-82.
- Colombatto D., Morgavi D. P, Furtado A. F. y Beauchemin K.A. 2003. Screening of exogenous enzymes for ruminant diets: relationship between biochemical characteristics and *in vitro* ruminal degradation. J. Anim Sci 81(10)2628-38
- Correa, L.M. 2008. Pastoreo de rastrojos de maíz y soja en cría bovina intensiva. Información técnica (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Estación Experimental Agropecuaria Olivero) INTA. Centro Regional Santa Fe Argentina.

- Daniel W. W. 2007. Bioestadística. Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. México D.F. Limusa Wiley.
- Delgado, S. J. L. 2012. Evaluación de dos complejos enzimáticos fibrolíticos comerciales sobre la digestibilidad y la cinética de digestión en el cogollo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). Tesis en Licenciatura en Medicina Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos
- Enmex. 2014. Ficha técnica.
- FAO. 2017. Tratamiento para pajas. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/007/x7660s/x7660s0d.htm>
- Feng, P., Hunt, C. W., Pritchard, G. T., Julien, W. E. 1996. Effect of enzyme preparations on *in situ* and *in vitro* digestive characteristics of mature cool – season Grass forage in beef steers. *J Amin Sci.* 74(6) 1349-57.
- Fennema, R. O. Samodaran S., Parkin, L. K. 2010. Química de los alimentos. España, Acribia.
- Fuentes, J., Calixtro, M., Suarez L., Peña R., Rodríguez, S., Ortiz de la Rosa, B. 2001. Análisis químico y digestibilidad *in vitro* del rastrojo de maíz (*Zea may sL.*) *Agronomía Mesoamericana* 12(2) 189-192.
- Hernández, M. H. 2013. Utilización de lignina de olote de maíz como componente en películas base almidón. Tesis en Maestría en Ciencias en Ingeniería Química, Universidad Iberoamericana Ciudad de México.
- González, G. E. 2003. Efectos de la suplementación con enzimas fibrolíticas en cabras lecheras. Tesis en Licenciatura en Medicina Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona.
- González, S.T. E. 2012. Actividad de enzimas fibrolíticas termoestables en *Podaxis pistillaris* (L.) Fr. Tesis en Maestría en Ciencias, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.
- Lewis, G. E., Hunt, C. W., Sanchez, W. K., Treacher, R., Pritchard, G. T., Feng, P. 1996 Effect of direct- fed fibroytic enzyme on the digestive chartacteristics of a forage-based diet fed to beef steers. *J Amin Sci.* 74(12) 3020-8.
- López-Aguirre D., Hernández-Meléndez J., Rojo R., Sánchez-Dávila F., López-Villalobos N., Abdel-Fattah Z. M. Salem, Martínez-González J.A., Vázquez-Armijo J. F. y Ruiz S. 2016. Effects of exogenous enzymes and application method on nutrient intake, digestibility and growth performance of Pelibuey lambs. *SpringerPlus.* 5:1399.

- Lynd, L. R., Weimer, P. J., VanZyl, H. W. y Pretorius, S. I. 2002. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. American Society for Microbiology. 66(3) 506–577.
- Macedo, R. J. 2000. Análisis del sistema de alimentación pecuario rastrojo de maíz alimenticio pecuario (*Zea mays*L.) – pasto estrella (*Cynodon plectostachyus* P.) en la zona norte del estado de Colima. [en línea]. Universidad de Colima: tesis doctoral [Consultado: 23 de octubre de 2017]. Disponible en: <http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Rafael%20Julio%20Macedo%20Barragan%20DOCTORADO.pdf>.
- Márquez, A. A. T., Mendoza, M. G. D., González, M. S. S. Buntinx, D. S., Meneses, M., Loera C. O. 2010. Degradación de las enzimas fibrolíticas de *Trametes sp*, EUM1, *Pleourotus ostreatus* IE8 Y Fibrosime. Arch. Zootec. 56(225) 145-148.
- McAllister, T. A. Oosting, S. J., Popp, J. D., Mir, Z., Yanke, L. J., Hristov, A. N., Treacher, R. J., y Cheng, K.J. 2017. Effect of exogenous enzymes on digestibility of barley silage and growth performance of feed lot cattle Can. J. Anim. Sci. [en línea] [consultado el 24 de octubre de 2017] Disponible en: <www.nrcresearchpress.com by 189.130.163.121>.
- McAllister, T.A., y Cheng, K.J. 1996. Microbial strategies in the ruminal digestion of cereal grains. Anim Feed Sci Tech. 62(1)29-36.
- Miranda, Q. A. 2014. Alternativas alimenticias para el ganado en agostadero que padecieron sequía en el norte de México. Tesis en Licenciatura en Medicina Veterinaria Zootecnista, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna División Regional de Ciencia Animal.
- Morfin L.L. 2018. Bromatología. Manual de laboratorio. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Moreno, P. A. A. 2013. Técnicas enológicas de frío y enzimáticas aplicadas a la extractabilidad de syrah, cabernet sauvignon y monastrell. Doctorado, Universidad de Murcia Departamento de Tecnología de Alimentos.
- Ovando, C. S.L. y Waliszewski, K.N. 2005. Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. Universidad y Ciencia 21(42) 113-122.
- Pérez, J., Muñoz, D. T. de la Rubia, T., Martínez. J. 2002. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview. Int. Microbiol, 5(2) 53-63.

- Prinsen, P. 2010 Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas. Memoria del proyecto desarrollado durante el período de investigación del Master en “Estudios Avanzados en Química”. Sevilla.
- Reyes, M. L., Camacho, V. T. C., Guevara, H. F. 2013. Rastrojos: manejo, uso y mercado en el centro y sur de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Libro Técnico Núm. 7. Pabellón de Arteaga, Aguascalientes, México.
- Ríos, H. J. J. 2017. Palatabilidad en cabras del rastrojo de maíz tratado. Tesis en Licenciatura en Medicina Veterinaria Zootecnista. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Romero, J. J., Zarate, M. A., Queiroz, O. C. M., Hand, J. H., Shin, J. H. Stapes, C. R., Brown, W. F. Adesogan, A. T. Fibrolytic. 2013. Enzyme and ammonia application effects on the nutritive value, intake, and digestion kinetics of bermudagrass hay in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 9(9) 4345-56.
- SAGARPA. 2009. Aprovechamiento de esquilmos y subproductos en la alimentación de ganado [en línea]. Distrito Federal, México. [Consulta: 2 de octubre de 2017]. Sistemas de Agronegocios Pecuarios. Disponible en: <<http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasaapt/Aprovechamiento%20de%20esquilmos.pdf>>.
- Salem, A. Z. M., Galdo, H.M., Colombatto, D., Elghandour, M. M. Y. 2013. Effects of exogenous enzymes on nutrient digestibility, ruminal fermentation and growth performance in beef steers. *Livestock Science.* 154. 69-73
- Sánchez, S. P. 2010. Extractos fibrolíticos fúngicos como modificadores de la fermentación ruminal. Tesis en Maestría en Ciencias en Recursos Genéticos y Productividad Ganadería, Institución de Ciencias e Investigación en Ciencias Agrícolas.
- Shanahan, F., Smith, D. H., Stanton, T. L. y Horn, B. E. 2010. Crop Residues for Livestock Feed. Crop series [en línea]. Collins, Colorado [Consulta: 24 de septiembre de 2017]. Colorado State University. Disponible en: <http://extension.oregonstate.edu/gilliam/sites/default/files/Crop_Residue_for_Livestock_Feed.pdf>.
- Soltan, Y.A., Abdalla, A.L., Silva, L.R.F., Natel, A.S., Morsy, A. S., Louvandini, H. 2013. Response of different tropical pasture grass species to treatments with fibrolytic enzymes in terms of

- in vitro ruminal nutrient degradation and methanogenesis. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 13(2).
- Suesca, D.A. 2012. Producción de enzimas celulíticas a partir de cultivos de *Trichoderma* sp. con biomasa lignocelulósica. Magister en Ingeniería Química, Posgrado Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería.
- Tirado-González D. N., Tirado-Estrada G. y Miranda Romero L. A. 2015. Sobre el efecto de enzimas fúngicas en la alimentación de rumiantes. *Interciencia*, 40(11)758-766.
- Tous, R.K., Valencia, E., Rodríguez, A.A., F. R.P. y A. Delgado, A. 2010. Enzimas exógenas fibrolíticas afectan la composición química, consumo voluntario y digestibilidad de nutrientes de heno de pastoguinea *Panicum maximum* Jacq. *J. Agric. Univ. P.R.* 94(1-2).
- Urdaneta, J. y Borges J. A. 2011. Características organolépticas, fermentativas y nutricionales de silajes mixtos de *Pennisetum spp. hybridum*. *Mundo Pecuario*, 7(2).
- Vázquez, O. I. J. 2008. Producción de enzimas fibrolíticas por *A. niger* GS1 mediante la fermentación de estado sólido del rastrojo de maíz y su evaluación en la digestibilidad *in vitro* de un subproducto agroindustrial. Maestro en Ciencias y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química.
- Vijay B. T., Nagalakshmi D. y Srinivasa R. D. 2013. Development of Appropriate Fibrolytic Enzyme Combination for Maize Stover and Its Effect on Rumen Fermentation in Sheep. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 26(7) 945-951.
- Vivanco, R.J. M. 2015. Utilización de enzimas como auxiliares de blanqueo en la producción de pulpa de celulosa de *Pinus radiata*. Posgrado Viçosa Minas Gerais.
- Wang, Y. y McAllister, T. A. 2002. Rumen Microbes, Enzymes and Feed Digestion-A Review *J. Anim. Sci.* 2002. 15(11).
- Wortmann, S. C., Klein, R. N. y Shapiro, C. A. 2012. *Harvesting crop residues*. [en línea]. University of Nebraska. [Consultado: 27 de septiembre de 2017]. Disponible en: <<http://www.ianrpubs.unl.edu/live/g1846/build/g1846.pdf>>.
- Yescas, Y. R., Bárcena, G. R., Mendoza, M. G. D., González, M. S. S., Cobos, P. M. Ortega, C.M. E. 2003. Digestibilidad *in situ* de dietas con rastrojo de maíz o paja de avena con enzimas fibrolíticas. *Agrociencia* 38(1) 23-31.