

**MINISTERIO DE EDUCACIÓN SUPERIOR
UNIVERSIDAD DE GUANTÁNAMO**

MAESTRÍA EN DESARROLLO AGRARIO SOSTENIBLE

Mención: Gestión para el Desarrollo Local Sostenible

Tesis en opción al título académico de Máster en Ciencias

TITULO: Fermentación en estado sólido de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.) para la alimentación cunícola

Autora: Suset Hechavarría Riviaux

Guantánamo

Año 62 de la Revolución

MINISTERIO DE EDUCACIÓN SUPERIOR

UNIVERSIDAD DE GUANTÁNAMO

MAESTRÍA EN DESARROLLO AGRARIO SOSTENIBLE

Mención: Gestión para el Desarrollo Local Sostenible

Tesis en opción al título académico de Máster en Ciencias

TITULO: Fermentación en estado sólido de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*) para la alimentación cunícola

Autora: DMV. Suset Hechavarría Riviaux

Tutor: DrC. Abel Ortiz Milán

Guantánamo

Año 62 de la Revolución

AGRADECIMIENTOS

- ✓ **A los DrC Abel Ortíz Milán y Arabel Elías Iglesias**, tutores, por compartir su amistad y brindarme su confianza, apoyo moral, dedicación y sus conocimientos.
- ✓ **A los profesores** del claustro de la Maestría en Desarrollo Agrario Sostenible por compartir sus conocimientos.
- ✓ **A la Facultad Agroforestal**, que me brindó la oportunidad de obtener conocimientos para el desarrollo de mi profesión.
- ✓ **Al DrC. Ángel Luis La O Michel**, por su apoyo en todo momento para el desarrollo de esta investigación.
- ✓ **Al DrC. Igor Bidot Martínez** por su ayuda en la elaboración y revisión del presente documento.
- ✓ **A los miembros del proyecto: Diseño y Fortalecimiento de un sistema de producción Agroecológico de cacao en Cuba: Ing. José Lescaille Acosta, DrC. Manuel Conrado Riera Nelson y DrC. Abady Lores Pérez** por la asesoría y el apoyo ofrecido en el recorrido por las diferentes fincas cacaoteras en el municipio Baracoa.
- ✓ **A la MSc. Juana Iris Durand Cos**, por la ayuda y oportunas sugerencias para el desarrollo y culminación de esta maestría.
- ✓ **A los trabajadores** del Instituto de Investigaciones Agroforestales UCTB Baracoa por la cooperación brindada.
- ✓ **A mi familia** por el apoyo dedicado a lo largo de este período de superación y para la elaboración de la presente tesis.
- ✓ **A todos aquellos** que de una manera u otra contribuyeron con el desarrollo de esta tesis.

A todos Muchas Gracias

DEDICATORIA

- ✓ *A mis padres*
- ✓ *A mi hijo*
- ✓ *A la memoria del DrC. Arabel Elías Iglesias, una persona con una amplia calidad moral, ejemplo de hombre científico a seguir, quien me orientó a realizar esta investigación.*

RESUMEN

Con el objetivo de mejorar el valor nutritivo de la cáscara de cacao, a través de la fermentación en estado sólido para su uso en la alimentación cúnícola, se realizó la presente investigación en el Centro de Estudio de Tecnologías Agropecuarias y Forestales (CETAF) de la Universidad de Guantánamo. Un primer experimento donde se evaluó la composición bromatológica de diferentes variantes de fermentación, que incluyeron niveles de urea (0; 1 y 1,5 %) y VITAFERT (0; 2,5 y 5 %). Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial, las variables en estudio fueron materia seca (MS), ceniza (Cz), proteína bruta (PB), proteína verdadera (PV), calcio (Ca), fósforo (P), materia orgánica (MO), fibra detergente neutra (FDN) y fibra detergente ácida (FDA). Con el proceso de fermentación se logró incrementar el contenido de proteína bruta y verdadera de la harina de cáscara de cacao. En un segundo experimento se realizó un estudio de digestibilidad *In vivo* donde se evaluaron tres dietas con inclusión de harina de cáscara de cacao fermentada (HCC-FES) (0; 10 y 20 %) para lo cual se utilizaron 30 conejos machos de la raza Chinchilla con un diseño completamente aleatorizado y una duración de 12 días. Se determinaron los coeficientes de digestibilidad aparente de la materia seca (MS), proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), ceniza (Cz) y materia orgánica (MO). Los resultados indican que la HCC-FES, como alimento alternativo, presenta un buen contenido de nutrientes digestibles para conejos de ceba, siendo una opción para la alimentación de esta especie.

ABSTRAC

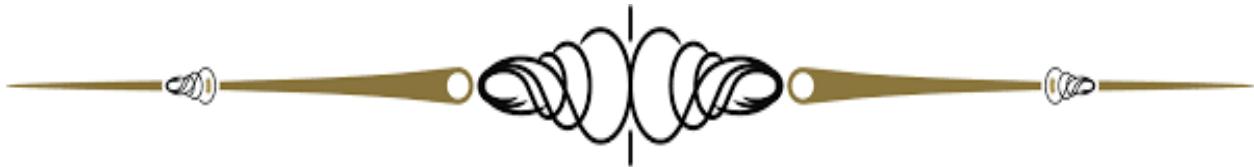
With the objective of improving the nutritional value of the cocoa husk, through solid state fermentation for use in rabbit feed, the present research was carried out at the Center for the Study of Agricultural and Forestry Technologies (CETAF) at the University of Guantánamo. A first experiment where the bromatological composition of different fermentation variants was evaluated, which included levels of urea (0; 1 and 1,5 %) and VITAFERT (0; 2,5 and 5 %). A completely randomized design was used with factorial arrangement, the variables under study were dry matter (MS), ash (C), crude protein (PB), true protein (PV), calcium (Ca), phosphorus (P), organic matter (MO), neutral detergent fiber (FDN) and fiber acid detergent (FDA). With the fermentation process it was possible to increase the content of raw and true protein in cocoa husk flour. In a second experiment where an *in vivo* digestibility study was carried out in which three diets were evaluated including fermented cocoa husk flour (HCC-FES) (0; 10 and 20 %) for which 30 rabbits were used Chinchilla breed males with a completely randomized design and a duration of 12 days. The apparent digestibility coefficients of dry matter (MS), crude protein (PB), crude fiber (FB), ash (Cz) and matter organic (MO) were determined. The results indicate that the HCC-FES, as an alternative food, has a good content of digestible nutrients for fattening rabbits, being an option for feeding this specie.

ÍNDICE

CONTENIDO	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. Cultivo del cacao	5
2.1.1. Características botánicas	5
2.1.2. Origen y distribución del cacao	5
2.1.3. Producción mundial de cacao	6
2.1.4. Producción de cacao en Cuba	6
2.2. La cáscara de cacao. Usos	7
2.2.1. La cáscara de cacao en la alimentación animal	8
2.2.2. Otros usos de la cáscara de cacao	9
2.3. Procesos fermentativos	10
2.3.1. Fermentación en estado sólido (FES)	10
2.3.2. Ventajas y desventajas de los procesos de FES	11
2.3.3. Factores que intervienen en el proceso de la FES	13
2.3.4. Subproductos agroindustriales en la FES	16
2.3.5. Alimentos obtenidos por FES	18
2.4. VITAFERT	21
2.5. Desarrollo de la cunicultura	21
2.5.1. Características de la especie	21
2.5.2. Crianza	22
2.5.3. Situación mundial de la cunicultura	23
2.5.4. Producción de conejos en Cuba	23

2.5.5. Aspectos anatómo-fisiológicos del sistema digestivo del conejo	24
2.5.5.1. La cecotrofagia	25
2.5.6. Digestibilidad	26
2.5.6.1. Principales métodos para determinar la digestibilidad.	26
III. MATERIALES Y METODOS	29
3.1. Ubicación de la investigación	29
3.2. Diseño experimental	29
3.3. Análisis estadístico.	32
3.4. Valoración económica	36
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	37
4.1. Composición bromatológica de la harina de cáscara de cacao (HCC)	37
4.1.1 Composición bromatológica de las variantes de FES de la HCC con inclusión de urea	38
4.1.2. Composición bromatológica de las variantes de FES de la HCC con inclusión de VITAFERT	46
4.2. Digestibilidad aparente de los nutrientes	52
4.3. Valoración económica	61
4.3.1. Costo de la producción de la HCC-FES	61
V.CONCLUSIONES	63
VI.RECOMENDACIONES	64

CAPÍTULO I



INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

El aumento mundial en la demanda de alimentos para la población, especialmente de proteína animal, conlleva a la necesidad de aplicar nuevas tácticas que garanticen la sostenibilidad de los sistemas pecuarios (FAO, 2015).

Sostener una alimentación a base de concentrado comercial para animales es muy costoso, por lo que es apremiante la búsqueda de nuevas alternativas de alimento con este fin. De ahí que el principal problema que en la actualidad enfrenta la ganadería en el mundo, es el aseguramiento alimentario para las distintas especies de animales económicamente útiles al hombre (FAO, 2012).

El desarrollo de la producción animal en zonas montañosas cubanas es un imperativo para cubrir la creciente demanda de alimentos de la población, desarrollo que debe evolucionar sobre bases sostenibles, con un uso eficiente de los recursos propios de la región, se debe procurar el empleo de alternativas tecnológicas sencillas y factibles que respondan a las condiciones ecológicas, económicas y sociales de los ecosistemas (Morgan, 2003).

Una de las alternativas, es el uso de recursos alimenticios regionales, tales como residuos de cosecha y subproductos agroindustriales. Desde hace varias décadas los residuos constituyen foco de atención, debido a que pueden constituir materias primas para generar diversos productos de interés, gracias a su contenido de materia orgánica, celulosa, hemicelulosa, lignina y pectinas (Saval, 2012 y Rojas *et al.*, 2014).

Los residuos agroindustriales poseen un alto potencial para su aprovechamiento en diferentes procesos como elaboración de nuevos productos, aportar valor agregado a los productos originales y recuperar condiciones ambientales alteradas. El trópico ofrece gran variedad de plantas que aportan frutos suficientes para suplir gran parte de las necesidades nutricionales, tanto proteicas como energéticas en la alimentación animal (Leyva, 2010).

Dentro de la zona oriental de Cuba, Guantánamo es la provincia que concentra las mayores producciones de cacao (*Theobroma cacao L.*). Este cultivo se cosecha todo el año y alcanza una producción total en el país de 2 058 t, de la cual el 75 % se produce

por el municipio Baracoa (ONEI, 2017). Sin embargo, se pueden aprovechar todos los beneficios que brinda el cultivo, pues para la producción de chocolate se utiliza solamente la almendra, que representa aproximadamente el 20 % del fruto, el resto lo constituye la cáscara, principal subproducto de esta industria, el cual está sub-utilizado para la alimentación animal por su bajo valor nutritivo especialmente su concentración proteica y se deposita en fosas y corraletas confeccionadas por los productores.

Actualmente parte de este subproducto se utiliza por algunos productores como abono orgánico, pero su deposición final en el terreno de cultivo trae consigo una descomposición, hasta que se fermenta espontáneamente. Los grandes volúmenes de desecho que se originan, se traducen en serios problemas ambientales tales como: la aparición de olores fétidos y generación de lixiviados que se filtran y contaminan el suelo y el manto freático. Además, estos propician el medio de cultivo para la propagación del hongo *Phytophthora sp*, causa principal de pérdidas económicas en la actividad cacaotera (Hernández *et al.*, 2014).

Su valor nutritivo pudiera mejorarse a través de procesos fermentativos y, por ende, constituir un alimento alternativo y aumentar la disponibilidad de proteína animal para contribuir a satisfacer las necesidades de la población. La fermentación en estado sólido (FES) se presenta como una de las alternativas utilizadas por investigadores de todo el mundo, Elías *et al.* (1990); Elías y Lezcano (1994); Morgan (2003); Ramos (2005) y Brea (2015) con el objetivo de incrementar el valor nutricional de diversas fuentes de alimentos y reducir sus limitantes nutricionales (Elías y Herrera, 2008).

Esta tecnología permite el uso de residuos de subproductos agroindustriales y de cosechas en las fincas como materia prima para la alimentación animal, lo que disminuye los costos de producción por reducción en la compra de alimentos convencionales que complementen la dieta, control en el impacto medioambiental por los desechos orgánicos y un gran beneficio a nivel nutricional para los animales (Moyano, 2014).

En los últimos años, aumentó el interés en el aprovechamiento de residuos en diferentes ámbitos debido al bajo costo, a su alta disponibilidad, y a la necesidad de

reducir su impacto ambiental. En este sentido, se realizan estudios enfocados al desarrollo de nuevas tecnologías que utilicen los residuos o subproductos generados para la producción de materias o sustancias con un valor agregado; y considerando la diversidad de residuos generados, hay una gran variedad en cuanto a su composición y a la tecnología o método de aprovechamiento que se puede emplear (Cabrera, 2016).

Problema: El bajo valor nutritivo de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*) limita su uso en la alimentación cunícola.

Hipótesis: La fermentación en estado sólido (FES) con inclusión de urea y VITAFERT, podría mejorar el valor nutritivo de la cáscara de cacao para su uso en la alimentación cunícola.

Objetivo general

Mejorar el valor nutritivo de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*), a través de la fermentación en estado sólido para su uso en la alimentación cunícola.

Objetivos específicos

1. Evaluar la composición bromatológica de diferentes variantes de fermentación en estado sólido de la harina de cáscara de cacao que incluyen niveles crecientes de urea y VITAFERT.
2. Determinar el coeficiente de digestibilidad aparente de los nutrientes, de dietas con inclusión de harina de cáscara de cacao fermentada en estado sólido, en conejos de ceba.
3. Determinar la ficha de costo del proceso de elaboración de la harina de cáscara de cacao fermentada en estado sólido con destino a la alimentación cunícola.

Novedad científica

- Se describe la composición bromatológica de la cáscara de cacao fermentada en estado sólido en Cuba, con adición de urea y VITAFERT y su coeficiente de digestibilidad aparente de nutrientes en dietas para conejos de ceba.

Importancia teórica

- La caracterización bromatológica de la harina de cáscara de cacao, sus modificaciones durante la fermentación en estado sólido y su coeficiente de digestibilidad aparente de nutrientes.

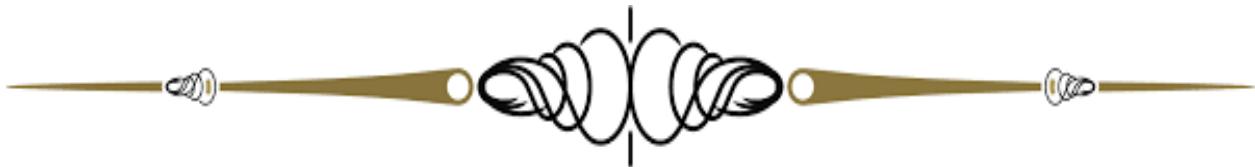
Importancia práctica

- La obtención de la harina de cáscara de cacao fermentada en estado sólido con destino a la alimentación cúnícola.

Aportes científicos

- Se demuestra que la fermentación en estado sólido con adición de urea y VITAFERT mejora el valor nutritivo de la cáscara de cacao, con incrementos en la concentración proteica.
- Se describe el coeficiente de digestibilidad aparente de nutrientes, de dietas para conejos de ceba, al incluir harina de cáscara de cacao fermentada en estado sólido

CAPÍTULO II



REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Cultivo del cacao

2.1.1. Características Botánicas

Según Mora (2009) la planta es un árbol perennifolio de 4 a 8 m de altura en cultivo y hasta 20 m en estado silvestre. El tallo tiene un crecimiento dimórfico, con brotes verticales ortotrópicos en la base, que forman un verticilo con tres a cinco ramas plagiotrópicas de crecimiento horizontal o lateral. Presenta una raíz principal pivotante que puede alcanzar más de 2 m de profundidad y un extenso sistema de raíces secundarias, la mayoría en los primeros 30 cm de profundidad del suelo. Las hojas son simples, enteras y de color verde bastante variable y de pecíolo corto. Las flores son pequeñas y se producen, al igual que los frutos, en racimos. El fruto es una baya de color amarilla o purpúrea en estado maduro de 15 a 30 cm de largo por 7 a 10 cm de ancho.

La especie *Theobroma cacao* L. de la familia Malvaceae, es la única económicamente importante dentro de las 22 especies que conforman el género y la única que se cultiva a gran escala en todo el mundo. Posee además una semilla rica en aceites y su fruto es fuente de chocolate y manteca de cacao (Parra, 2005).

2.1.2. Origen y distribución

El género *Theobroma* es nativo del nuevo mundo, y se extiende desde México hasta Perú donde se encuentran especies silvestres, con aparente centro de origen en la cuenca del Amazonas. En general, el árbol de cacao pertenece al estrato inferior de los bosques bajos, donde predominan condiciones de altas temperaturas, sombra y humedad (Enríquez, 2001).

En Cuba, según Hernández (1978) los españoles lo introdujeron en 1540, por la finca "Mi Cuba", en Cabaiguán, Sancti Spíritus, aunque no se conocen documentos que lo confirmen. Estas plantas probablemente procedían de las costas de México o el Golfo de Honduras (Bartley, 2005). Otros investigadores plantean la introducción entre 1791 y

1803 en Ti Arriba, Santiago de Cuba, por los franceses emigrantes de la Revolución haitiana (Núñez, 2010).

2.1.3. Producción mundial de cacao

A nivel mundial las mayores producciones se concentran en África, Costa de Marfil y Ghana son los países que lideran la producción de cacao además de Nigeria y Camerún, por la parte asiática se destaca Indonesia, vale destacar que Costa de Marfil, Ghana, Indonesia, Nigeria y Camerún, son los países que concentran el 80 % de la producción mundial (Arvelo *et al.*, 2016).

En América se destacan Ecuador, Perú, República Dominicana, Colombia y México, países que entre los años 2006 y 2016 produjeron más del 90 % de la producción y de la superficie sembrada en el continente, ostentando valores productivos superiores a las 675 000 t, para lo cual se sembraron alrededor de 1 700 000 ha (Arvelo *et al.*, 2016).

2.1.4. Producción de cacao en Cuba

En Cuba, el cacao se cultiva principalmente en la región oriental y se dedican actualmente 2 434 ha al desarrollo del cultivo, siendo el municipio Baracoa en la provincia de Guantánamo, donde se encuentra la mayor superficie sembrada con más del 70 % de la producción nacional. (ONEI, 2019).

Según la ONEI (2019) la producción de cacao en Cuba en el año 2016, como se muestra en la tabla 1, alcanzó un pico histórico con 2 058 t, interrumpida por "Matthew", el huracán que asoló en octubre de 2016 a esta porción del oriente cubano y dañó las áreas dedicadas a ese cultivo, cuando se lograron solo 231 t en el año 2017, el peor resultado en más de 70 años (Merencio, 2018) Sin embargo, para el 2018 se logra alcanzar 780 t por encima del año anterior.

Tabla 1. Producción agrícola del cultivo del cacao en Cuba entre los años 2015 y 2018.

Año	2015	2016	2017	2018
Producción (t)	1500	2058	231	1 011

Fuente: ONEI (2019)

2.2. La cáscara de cacao. Usos

Entre los residuos generados en la industrialización del cacao se encuentran la cáscara de la mazorca, el mucílago y la cascarilla. La cascarilla del grano de cacao generado en los procesos agroindustriales representa el 12 % del peso del grano seco y se obtiene después del proceso de tostado.

El mucílago es una pulpa aromática de muy buen sabor, crece en los tegumentos de la semilla, se compone de células parenquimatosas esponjosas y contiene savia rica en azúcares. El mucílago de cacao corresponde al 4 % del fruto, este rodea la semilla y es denominado arilo y buena parte se pierde durante el proceso de fermentación del cacao, dado que la mayor parte termina como exudado normal en sistemas fermentadores (Torres, 2012).

Expertos en la producción cacaotera, determinaron que, en esta explotación, solo se aprovecha el 10 % del peso del fruto fresco. El 90 %, lo constituyen los productos de desecho, como la cáscara que representa el 75 % del peso total de las mazorcas cosechadas (Barazarte *et al.*, 2008).

Aunque las cáscaras del fruto del cacao se tratan de utilizar para la alimentación animal por su alto contenido en sustancias asimilables, su inconveniente principal es el escaso contenido de proteína, los niveles de metabolitos secundarios y la baja digestibilidad de la fibra debido a que sus paredes celulares tienen alto contenido de hemicelulosa, celulosa y lignina (Abarca *et al.*, 2010).

Según Bermúdez *et al.* (2002) estas características bromatológicas posibilitan su uso como fuente de energía en procesos de fermentación en estado sólido para el enriquecimiento de alimentos con proteína unicelular. Las cáscaras (epicarpo) del fruto

del cacao representan un alto porcentaje de su peso, esto lo convierte en el principal desecho no comestible de la industria cacaotera, lo que representa alto porcentaje por cada tonelada de semilla seca y constituye un grave problema para la industria deshacerse de estas. Sin embargo, su composición les da el potencial para otros fines.

2.2.1. La cáscara de cacao en la alimentación animal

Nossa *et al.* (1994) evaluaron la inclusión de niveles de cáscara de cacao como parte de un suplemento suministrado diariamente a vacas lactantes en sistema de semiestabulacion, concluyen que la cáscara de cacao es una alternativa para suplementación de bovinos, utilizando niveles entre el 15 y el 25 %, su palatabilidad facilita el consumo por el ganado, plantean además que esta se puede almacenar deshidratada y su uso promueve el reciclaje contribuyendo al control sanitario de los cultivos.

Por otra parte, Mora *et al.* (2011) corroboran que la cáscara del cacao es sumamente alimenticia y no presentan elementos nocivos como en las semillas y en la cascarilla de los granos que se encuentra la teobromina. Mientras Silva (2016) plantea que los residuos de cosecha del cacao se pueden incluir en la dieta de los cerdos hasta un 15 %, debido a sus propiedades nutritivas sin afectar el comportamiento productivo. Argumenta que el incremento de consumo voluntario de dietas enriquecidas con harina de mazorca de cacao con relación al porcentaje de inclusión de la misma, no es proporcional a los resultados con la ganancia de peso, lo que muestra que mientras mayor es el contenido de harina la conversión alimenticia se reduce.

TEGUIA *et al.* (2004) estudiaron la sustitución de maíz por la harina de cáscara de cacao en la alimentación de pollos parrilleros, donde observaron un incremento progresivo del peso vivo final con sustituciones de 0 y 10 %, pero los tratamientos con 20 y 30 % tuvieron progresivamente menor peso final ($p<0,05$); lo que indica que el nivel óptimo de sustitución de maíz por la harina de cáscara de cacao en dietas de pollos es aproximadamente 10 %, esto en términos de porcentaje es de 6,5 % de inclusión de harina de cáscara de cacao.

Henao *et al.* (2012) al utilizar la cáscara de cacao en la alimentación alternativa de conejos de ceba, obtuvieron un mejor comportamiento al incluir un 20 % de este subproducto en la dieta tradicional de esta especie, sin diferencias estadísticas con respecto al balanceado tradicional, dan a conocer la posibilidad de utilizar eficientemente los subproductos generados en beneficio del cacao, en la alimentación de especies menores, proveyendo una alternativa de fácil utilización para familias campesinas.

2.2.2. Otros usos de la cáscara de cacao.

Brenes (1990) observó que las cáscaras de cacao constituyen un subproducto y se puede utilizar en la fertilización de plantas y como materia prima para biodigestores. Estos usos se propusieron por la composición química de la cáscara: 27 % de fibra cruda, 6,25 % de proteína cruda con 35,5 % de nitrógeno disponible total y 3,2 % de potasio, una tonelada métrica de materia seca de cáscara puede aportar 12 kg de nitrógeno, 2,5 kg de fósforo (P_2O_5), 42 kg de potasio (K_2O), 4,2 kg de calcio (CaO) y 4,2 kg de magnesio (MgO).

Calderón y Matos (2011) indican que las cáscaras de cacao son fuentes de pectinas, al respecto, Franco *et al.* (2010) demuestran que la pectina obtenida de la cáscara de cacao es aceptable para su empleo en la industria alimentaria de los seres humanos dando un valor agregado a este subproducto, especialmente para mejorar la condición económica de los agricultores que cultivan el cacao.

Por su parte Barazarte *et al.* (2008) identifican también el potencial de las cáscaras de cacao como fuente de pectinas, las que se usan en la industria alimentaria como gelificante, espesante, texturizante y estabilizantes, como sustitutos de grasas en alimentos de bajo aporte calórico y su aplicación más común es en la manufacturación de mermeladas y jaleas, también en la industria farmacéutica se aprovecha el uso terapéutico de la pectina como constituyente de la fibra dietaria. La cáscara de cacao es igualmente considerada como una excelente fuente de obtención de fibra dietaria (Abarca *et al.*, 2010).

Este subproducto es rico en potasio, razón por la cual los agricultores la dejan en el campo para que fertilicen los cacaotales, donde experimentan un proceso de descomposición por la acción de numerosos organismos que transforman la materia orgánica en nutrientes asimilables para las plantas, como producto se obtiene un fertilizante de alta calidad y económico de producir ya que se aprovechan los desechos de este cultivo. (FAO, 2004).

Las propiedades químicas de las cáscaras de cacao indican que puede utilizarse como fuentes alternativas de fibra para la fabricación de pasta y papel y como fuente de energía renovable (Martínez *et al.*, 2015).

2.3. Procesos fermentativos

La fermentación se define desde un punto de vista bioquímico, como el proceso de generación de energía en el que los compuestos orgánicos actúan tanto como donadores como aceptores terminales de electrones (Shirai y Malpica, 2013).

Mitchell *et al.* (2002) mencionaron que el proceso fermentativo se puede dividir en fermentación líquida sumergida (FLS) y fermentación en estado sólido (FES). La mayor diferencia entre estos dos procesos biológicos, es la cantidad de líquido libre en el sustrato. En las FLS existe agua libre en el sistema y las FES se caracterizan por desarrollarse en sustratos sólidos húmedos, donde no existe agua libre en el sistema.

2.3.1 Fermentación en estado sólido

La fermentación en estado sólido es el proceso en el que los microorganismos crecen sobre materiales sólidos o al interior de partículas porosas sólidas en ausencia de agua libre y el resultado final es un producto enriquecido nutricionalmente, con un mayor contenido de proteínas y vitaminas que el sustrato original (Hernández *et al.*, 2003).

La definición más general de la FES fue formulada por Viniegra *et al.* (2003) quienes la describen como un proceso microbiológico que ocurre comúnmente en la superficie de materiales sólidos con capacidad para absorber y contener agua, ya sea con o sin nutrientes solubles.

Este tipo de fermentación consiste en hacer crecer un microorganismo sobre un sustrato, con una fuente de nitrógeno y sales nutrientes, bajo ciertas condiciones de humedad, pH, aireación y temperatura. La FES no presenta agua libre en su estructura, aunque conlleva determinados requerimientos de humedad. El desarrollo de la Biotecnología permite el empleo de algunos microorganismos, como es el caso de los hongos filamentosos con vistas al enriquecimiento proteico del producto final y la excreción al medio de enzimas entre las que se encuentran las celulasas, amilasas, pectinasas, xilanases y glucoamilasas (Díaz y Plascencia, 2010).

La fermentación en estado sólido, se consolida como una alternativa para la alimentación animal. Gracias a este proceso biotecnológico los residuos de cosecha y desechos agroindustriales se pueden convertir en alimentos energético-proteicos, de alto valor nutricional que, en un momento dado, sustituyan total o parcialmente los alimentos balanceados, que encarecen sensiblemente los costos de producción y hacen cada vez menos rentables las explotaciones pecuarias. Por estas razones la FES, se convierte no solo en una alternativa económicamente viable, sino ambientalmente sostenible, a partir del manejo de residuos de alto potencial contaminante (Borrás y Torres, 2016).

La FES es una técnica que está principalmente enfocada a la producción de alimentos, enzimas hidrolíticas, ácidos orgánicos, giberelinas, sabores y biopesticidas. Generalmente, para la obtención de estos productos se utilizan como sustratos sólidos residuos agroindustriales, lo que resulta de gran interés ya que, por un lado, se obtienen productos de interés industrial y, por otro, se resuelven problemas de deposición de residuos sólidos (Pandey, 2003).

Además, mediante esta técnica se puede mejorar la calidad nutricional de alimentos como legumbres y cereales y las características sensoriales de otros ya que durante el proceso se producen enzimas que, pueden disminuir o eliminar factores antinutricionales, consiguiendo productos fermentados con mayor calidad nutricional. (Cuevas *et al.*, 2005).

2.3.2. Ventajas y desventajas de los procesos de FES

Pastrana (1996) enumera una serie de ventajas de los procesos generales de la FES entre las que se incluyen:

- Los medios de cultivo son simples, generalmente subproductos agrícolas que presentan un alto contenido de los nutrientes necesarios para el proceso fermentativo.
- Fermentadores con menores requerimientos espaciales, ya que los sustratos se utilizan más concentrados y no se utilizan grandes volúmenes de agua.
- La baja actividad del agua es de gran ayuda para evitar las contaminaciones, especialmente de bacterias y levaduras.
- Mayor simplicidad en el diseño de los fermentadores y en los sistemas de control.
- La aireación forzada es facilitada por la porosidad del soporte, lo que permite alta transferencia de oxígeno al microorganismo.
- Mayores facilidades para la obtención y aplicación del inóculo, pudiendo utilizarse las esporas directamente en la mayor parte de las situaciones.
- Facilidad para el escalado de los procesos.
- Necesidades reducidas de disolventes para la extracción de los productos.
- Rendimientos comparables, e incluso superiores, a los correspondientes procesos en cultivo sumergido.
- El proceso de recobrado es simplificado, ya que algunos productos son utilizados integralmente como alimento animal.
- Reducido riesgo de contaminación bacteriana, menos aptas para soportar la baja actividad de agua que caracteriza a estos sistemas. Posibilidad en ocasiones, de trabajar incluso en condiciones no asépticas.
- Bajos requerimientos energéticos. A menudo no es preciso esterilizar, airear ni agitar.

- Ambiente similar al de los hábitats naturales de los microorganismos utilizados.
- Reducido volumen de efluentes.
- Los procesos se consideran generalmente como tecnologías limpias.

Entre las desventajas inherentes al sistema debe mencionarse lo siguiente:

- Frecuente necesidad de pretratamiento de los sustratos (molienda y prehidrólisis parciales)
- Su aplicación se limita a microorganismos que crecen en bajos contenidos de humedad.
- Dificultad para mantener los niveles óptimos de humedad durante la fermentación.
- La extracción del calor metabólico puede ser un problema, sobre todo cuando se trabaja a gran escala y no se controla el proceso.
- Ausencia de métodos analíticos simples para determinar el crecimiento microbiano.
- Dificultad para la agitación en aquellos procesos que así lo requieran.

2.3.3. Factores que intervienen en el proceso de la FES

Para el desarrollo de tecnologías son de especial interés el control de algunos factores que afectan el crecimiento microbiano y el rendimiento de las FES. Entre estos factores más importantes se encuentran:

Temperatura: Al igual que para cualquier otro organismo, la temperatura es un factor importante en el crecimiento de estos, y también para que se lleven a cabo toda una serie de diversas y múltiples reacciones químicas, de manera que así puedan llevar a cabo todas sus actividades celulares. Es uno de los factores más importante de todas las variables físicas, que afectan la FES, porque el crecimiento y la producción de enzimas o metabolitos son sensible a la temperatura (Krishna, 2005).

La temperatura se eleva debido a las características exotérmicas de los procesos de fermentación y es uno de los indicadores más difícil de controlar durante el proceso de

FES. Muchos de los microorganismos usados en la FES son mesófilos y su temperatura óptima de crecimiento está entre 20 y 40 °C y un máximo inferior a 50 °C (Krishna, 2005).

Durante la FES se genera gran cantidad de calor, que es proporcional a la actividad metabólica de los microorganismos. Estos pueden crecer en un amplio rango de temperatura (20 a 55 °C). Sin embargo, la temperatura óptima para su crecimiento podría ser diferente a la que se requiere para la formación del producto de interés (Cappitelli y Sorlini, 2010).

Aireación: La aireación resulta un factor fundamental, se utiliza para suministrar el oxígeno necesario, para extraer el CO₂ que se forma, así como para extraer el calor metabólico que evoluciona, de manera que el flujo óptimo de aire debe tomar en consideración la naturaleza del microorganismo que se utiliza, los requerimientos de oxígeno para el crecimiento y la formación del producto deseado o ambos factores (Krishna, 2005).

Tamaño de partícula: Un sustrato de pequeño tamaño de partículas puede proporcionar mayor superficie para el ataque microbiano, porque existe mayor superficie de contacto entre el microorganismo y el sustrato, y por consiguiente, mejor aprovechamiento de los nutrientes y mejor transferencia de oxígeno (Krishna, 2005). Sin embargo, un tamaño de partículas muy pequeño, provoca que el sustrato se aglomere e interfiera con la respiración/aireación microbiana, dando por resultado un pobre crecimiento. Un mayor tamaño de partículas proporciona mejor eficiencia de respiración/aireación, por el incremento del espacio entre las partículas, pero limita la superficie de ataque microbiano (Pandey *et al.*, 2001).

pH: El pH afecta el desarrollo de los microorganismos en los procesos de fermentación en estado sólido y en cultivos sumergidos. En el caso de la FES el control de esta variable es prácticamente imposible, porque depende de oxigenación (Mitchell *et al.*, 2002).

El mismo cambia por diferentes razones; normalmente disminuye por la secreción y acumulación de ácidos orgánicos como acéticos y lácticos durante el proceso, producido

por la oxidación de las fuentes de carbono. No obstante, la fuente de nitrógeno utilizada influye mucho en la tendencia que sigue el pH (Duniérea, 2013).

Cada microorganismo posee un rango de pH óptimo para crecer. El crecimiento microbiano puede causar marcado cambio en el pH del sustrato, debido a la producción de ácido por la oxidación incompleta del sustrato o cuando el ión amonio es atrapado como amoníaco, por lo cual libera un protón al medio, causando una rápida disminución del pH. Por otro lado, la liberación de amonio por la desaminación de la urea u otras aminas puede incrementar el pH. La magnitud del cambio de pH, dependerá de la actividad metabólica de los microorganismos y de la capacidad amortiguadora del sustrato (Mitchell *et al.*, 2002).

Humedad y Actividad de agua: En la fermentación en estado sólido, la baja humedad dentro del sustrato limita el crecimiento y el metabolismo de los microorganismos en comparación con la fermentación sumergida, es un parámetro muy útil para medir el potencial de agua y la caracterización del estado energético del agua (Bhargav *et al.*, 2008).

La actividad del agua del medio se considera como un indicador fundamental para la transferencia de masa, de agua y los solutos, a través de la membrana celular (Anupama y Ravindra, 2001). Mitchell *et al.* (2002) y Krishna (2005) plantean que en el caso de las bacterias, la humedad de la matriz sólida puede ser mayor de 70 %, para las levaduras de 60 a 70 % y en el caso de los hongos, de 20 a 70 %.

Concentración y disponibilidad del sustrato: El medio de cultivo debe tener todos los nutrientes necesarios de forma balanceada para favorecer el crecimiento del microorganismo. Las relaciones entre algunos de sus elementos son de particular importancia, por ejemplo, carbono-nitrógeno, relevantes en lo referido a la eficiencia de conversión energética y la respiración (Cannel y Moo, 1980).

En lo que respecta a la disponibilidad del sustrato, Saval (2012) define como criterios de selección de los residuos para aprovecharlos con fines biotecnológicos, los siguientes:

- Que el residuo esté disponible localmente y en las cantidades necesarias para asegurar la fabricación de un producto de interés.
- Que no posea otras aplicaciones o usos que compitan con el proceso que se pretende promover.
- Que no requiera pretratamiento, y en caso de requerirlo, que éste sea sencillo y económico.

Fuentes de nitrógeno y carbono: El nitrógeno es un factor que determina el crecimiento de los microorganismos y desempeña un importante papel en el cambio de pH en el sustrato durante la fermentación, por lo que a la hora de seleccionarla se debe tener en cuenta este aspecto. Muchos sustratos sólidos se suplementan con fuentes solubles de nitrógeno durante su preparación, dentro de las fuentes de nitrógeno más empleadas se encuentra la urea y las sales de amonio. Reed (1981) encontró que las fermentaciones no incrementan su contenido de proteína y aminoácidos si no se añade urea como fuente de nitrógeno al medio de fermentación.

Las fuentes de carbono son de vital importancia pues cubren las principales necesidades energéticas y de cadenas carbonadas para el crecimiento de los microorganismos y puede ser un monosacárido simple o un polisacárido complejo. Según Mitchell *et al.* (2002) los principales sustratos empleados en las FES se pueden agrupar en tres grupos fundamentales:

1. Los que tienen al almidón como principal fuente de carbono.
2. Los que tienen a la celulosa o hemicelulosa como principal fuente de carbono.
3. Los que tienen azúcares solubles como principal fuente de carbono

2.3.4. Subproductos agroindustriales en la FES

Los subproductos agroindustriales son considerados generalmente los mejores sustratos para la FES debidos, principalmente, a que su utilización ayuda a solventar problemas económicos y medioambientales causados por su acumulación. Pandey (2000). Además, presentan una estructura básica macromolecular compuesta por celulosa, almidón,

pectina, lignocelulosa y otros compuestos potencialmente asimilables por una amplia gama de microorganismos quimioheterótrofos (Pandey, 2003).

Los desechos agroindustriales poseen características fisicoquímicas adecuadas para utilizarse como sustratos en los bioprocesos de FES. Su composición química caracterizada por la presencia de polisacáridos como celulosa y hemicelulosa, es de importancia fundamental como fuente de carbono para los microorganismos (Blandino, 2001).

La selección de un desecho agroindustrial para usarlo como sustrato depende de los siguientes factores: costo, disponibilidad en cantidades adecuadas para justificar una producción industrial y posibilidad de almacenamiento sin causar deterioro morfológico y microbiológico (Bhargav, 2008).

Los procesos de FES generalmente no requieren agregar agua si el sustrato tiene un alto contenido de humedad (Pandey *et al.*, 2001). Además, no siempre se inocula alguna especie de microorganismo si existe la posibilidad de potencializar el crecimiento de la flora epífita presente de manera natural en los sustratos y algunos de estos tienen una diversidad de microorganismos que conforman un sistema heterogéneo (Valiño *et al.*, 2002).

Elías *et al.* (1990) y Elías *et al.* (2010), señalaron que los sustratos empleados en los procesos de FES, deben presentar las siguientes características:

- Contenido satisfactorio de fuentes de carbono disponibles para el uso microbiano.
- Estructuras físicas fuertes para la fermentación en capas profundas y que permitan el flujo de aire.
- Poseer una estructura desmenuzada que permita el intercambio gaseoso.
- Capacidad máxima de almacenamiento del agua que permita la solubilización de nutrientes.
- Contenido moderado de sustancias indigestibles.

- Una composición favorable para el desarrollo microbiano.

2.3.5. Alimentos obtenidos por FES

La utilización de la FES se consolida en la producción de alimento para animales, utilizando diversas materias primas para este fin. Si bien es cierto, se destaca que el proceso fermentativo ha dado origen a diversos alimentos desde tiempos remotos. La utilización de este tipo de tecnologías en la alimentación animal, es más reciente y hoy frente a los diversos escenarios de escases y encarecimiento de materias primas tradicionales utilizadas en la alimentación humana y animal, se convierte en gran alternativa para este fin. En especial, si se tiene en cuenta la posibilidad de uso de otras fuentes no convencionales para la alimentación animal, como los residuos de cosecha, materiales con alto contenido fibroso y bajo nivel nutricional. Todos ellos gracias a las bondades de la fermentación en estado sólido, se pueden transformar en alimentos económicos y de gran valor nutricional (Borrás y Torres 2016).

La Sacchaharina: es un producto obtenido por FES de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum L.*) limpia y sin cogollo. Este proceso biotecnológico utilizado en Cuba, aprovecha la población de microorganismos y el alto contenido de azúcares fermentables presentes de manera natural en la caña de azúcar. La ventaja de la Sacchaharina es que tiene un valor proteico mayor a la caña de azúcar de la cual se obtuvo (Elías *et al.*, 1990) y puede sustituir parte del concentrado en la dieta en la alimentación animal.

El contenido de proteína bruta (PB), proteína verdadera (PV) y fibra bruta (FB) de la Saccharina está en el rango de 11,1 y 16,0 %, entre 8,9 y 13,8 % y de 24,6 a 26,6 %, respectivamente. Por su alto contenido de polisacáridos estructurales, se le incluyó otros alimentos que puedan servir como agentes diluyentes de la fibra o mejoradores de la eficiencia fermentativa, que originan nuevas opciones y productos Elías *et al.* (1990).

El Bagarip (bagazo rico en proteínas), es el resultado de los estudios realizados en el perfeccionamiento de la Saccharina, que elimina las principales deficiencias de las tecnologías precedentes. Este alimento y su tecnología de producción están registrados en Cuba (Pedraza *et al.*, 2000).

Sacchamaíz: En este caso se mantiene el mismo principio teórico de la Saccharina, pero la variante consistió en la inclusión de maíz molido como fuente energética. Se estudiaron diversas proporciones de maíz (0, 10, 20 y 30 %) en sustitución de la caña de azúcar (Elías y Lezcano, 1994). La materia seca (MS) y la PV se incrementaron; la fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácida (FDA), celulosa y lignina, disminuyeron en la medida que fue mayor la inclusión del maíz. La disminución en la fracción de la fibra, aumentó la digestibilidad de la materia orgánica (DMO).

Sacchasoya: Se evaluó la inclusión de soya desgrasada y sin desgrasar, en sustitución de la urea (Elías y Lezcano, 2000). A medida que se incrementó el nivel de N (nitrógeno)-ureico, el pH y el amoníaco aumentaron. Sin embargo, este incremento fue más evidente con la soya sin desgrasar. Estos investigadores señalaron que lo anterior se debe, posiblemente, a la fuerte actividad ureolíticas en la soya sin desgrasar. La PB y PV disminuyeron con el aumento del N -ureico, independiente de la fuente de soya. No obstante, la disminución fue mayor en presencia de soya sin desgrasar. Ellos sugieren no utilizar altas proporciones de N-ureico/N-soya, cuando la fuente de N-soya sea el grano entero, molido y sin desgrasar, lo que se debe a la pérdida de nitrógeno que se produce según se incrementa el N-ureico.

Sacchaboniato: Rodríguez (2004) en un primer estudio de inclusión de (25, 50 y 75 %) de boniato (*Ipomea batata* L.), encontró un incremento considerable de amoníaco, esto se debe a la fuerte actividad ureolítica; la PB disminuyó con 25 y 50 % de inclusión; además, se redujo la carga microbiana inicial y los componentes fibrosos del sustrato se disgregaron. La reducción de la carga microbiana provocó que el sustrato fuera menos degradado. También, se modificaron las características físicas y químicas del sustrato, lo que dificultó el mezclado.

En un segundo experimento estudió la dinámica de fermentación (0, 24, 48, 72, 96, 168 y 360 horas) incluyó 50 % de caña y 50 % de boniato; el mayor incremento de la biomasa se obtuvo a las 96 horas. En un tercer experimento, estudió niveles de N-

ureico (0,5; 1,0 y 1,5 %) y la mayor síntesis de proteína microbiana y la mejor eficiencia de utilización del nitrógeno se lograron a las 96 horas con la adición de 1 % de urea.

Sacchayuca: Rodríguez (2005) sustituyó la caña de azúcar por yuca (0, 16, 36 y 56 %) y a todos los tratamientos le adicionó 4 % de soya, 2 % de urea, 0,2 % de sulfato de magnesio y 0,5 % de minerales; además, los inoculó con 10 % de VITAFERT. Posteriormente, con los mismos tratamientos, incluyó carbonato de calcio (0; 0,3; 0,6 y 0,9 %) como amortiguador. El pH se elevó de 5,77 a 6,59 con la inclusión del mayor porcentaje del tampón, así mismo, la PB, la PV y la DMS se incrementaron, hubo una reducción notable de los componentes fibrosos con la inclusión de los diferentes niveles del tubérculo de yuca y se logró incrementar la DMO y la DMS aumentando la concentración energética con los diferentes niveles de inclusión de yuca.

Manzarina: Becerra (2006) desarrolló un proceso biotecnológico del cual se obtuvo este producto, se usa en la alimentación animal y se obtiene de la fermentación en estado sólido de la manzana. En este proceso la energía de los carbohidratos disponibles y la urea como fuente de nitrógeno son utilizadas para el crecimiento de la microbiota epífita de la manzana.

Soya FES: Zhang *et al.* (2014) realizaron un estudio en FES de soya bajo la acción de bacterias ácido lácticas principalmente lactobacilos, produjo en 48 horas de fermentación un rápido incremento del contenido de aminoácidos de 99,7 a 529,1 $\mu\text{mol/g}$ en el producto final, debido a la multiplicación de microorganismos y el efecto del sistema enzimático, lo que indica que este tipo de fermentación en la soya puede proveer diferentes probióticos y productos nutritivos.

Pera FES: Se empleó la fruta completa obtenida de los desechos de la cosecha, previamente se limpió y fue cortada en pequeños trozos y se le añadió los siguientes ingredientes y fuentes energéticas según método descrito por Elías *et al.* (2001): 425 g de pera rayada, 25 g de harina de arroz, 25 g de salvado de trigo, 5 g melaza, 10 g de urea, 1 g de sulfato de magnesio, 2,5 g de suplemento vitamínico y 2,5 g de carbonato de calcio. Estos ingredientes se mezclaron hasta obtener una pasta homogénea que se denominó producto pera FES (Pulido *et al.*, 2016).

Otras fuentes empleadas en FES son: el arroz (*Oriza sativa* L.) por Álvarez *et al.* (2011), en el caso de Fanchini *et al.* (2010) utilizaron varios sustratos como: el bagazo de caña (*Saccharum officinarum* L.), avena (*Avena sativa* L.), residuos de cebada (*Hordeum vulgare* L.) y la cáscara de yuca (*Manihot esculenta* C.). Por su parte, Castro *et al.* (2011) utilizaron los residuos de piña (*Ananas comosus* L.), mientras Granda *et al.* (2005) aprovecharon la harina de yuca y los residuos del plátano (*Musa paradisiaca* L.).

2.4. VITAFERT

Elías y Herrera (2008) obtuvieron en el Instituto de Ciencia Animal (Mayabeque, Cuba), un producto denominado VITAFERT. El mismo está compuesto por lactobacilos, levaduras y ácidos orgánicos de cadena corta (láctico, acético, pirúvico, succínico y otros) enzimas, vitaminas del grupo B, péptidos y aminoácidos. Es un activador de los procesos fermentativos y estimula la producción de ácidos orgánicos, disminuye el pH, incrementa y estabiliza la proteína, aumenta la digestibilidad de la materia seca y disminuye las fracciones de la pared celular de las materias alimenticias que se someten a su acción.

Según Elías y Herrera (2008) el producto posee alrededor del 15,05 % de MS; 8,01 % de PB y 4,2 de pH. La concentración de levaduras se encuentra entre 10^7 - 10^8 ufc/ml, la de *Lactobacillus* en 10^9 - 10^{10} ufc/ml, el ácido láctico en 450-600 mmol/l y ácido acético en 225-430 mmol/l.

2.5. Desarrollo de la Cunicultura

2.5.1. Características de la especie

El conejo (*Oryctolagus cuniculus*) es una especie de fácil manejo, posee características importantes que lo convierten en una opción viable para poder incrementar y mejorar rápidamente la disponibilidad de proteína animal. La capacidad para consumir grandes cantidades de forraje, tasa de crecimiento rápido, elevada capacidad reproductiva, pocas necesidades de espacio y edad joven al sacrificio entre otras, son atributos que ofrece esta especie para su explotación. El conejo presenta una excelente calidad de carne, con características que resultan benéficas para el consumo humano, debido a

que es rica en proteína, vitaminas y minerales, de fácil digestibilidad, reducida en calorías y con bajos porcentajes de materia grasa y colesterol (Urizar, 2006).

2.5.2. Crianza

La crianza de conejos constituye una de las explotaciones más económicas del trópico. Camps (2006) plantea que los conejos tienen la ventaja de ocupar poco espacio, e incluso pueden ubicarse al aire libre, bajo sencillos tejadillos, por lo que su cría requiere inversiones mínimas. En la producción cunícola pueden engordarse los animales con subproductos de la industria alimenticia (pulpas, salvados entre otros) y su producción es mucho más ventajosa que otras especies como el cerdo o las aves, que se alimentan básicamente con cereales. En los sistemas de producción industrial, el principal insumo es el alimento balanceado (Urizar, 2006).

Entre las ventajas que presenta el conejo se encuentran su hábito alimenticio herbívoro que le permite aprovechar recursos alimenticios fibrosos y subproductos recibiendo una pequeña ración de granos, resultando económicamente viable para el campesino, al aprovechar los productos de su propia finca, por otro lado, el tamaño de la especie le permite demandar poco espacio y poca cantidad de alimento, comparativamente con otras especies ganaderas (Domínguez *et al.*, 2008).

Otra ventaja es de ser apto para consumo a los dos meses, edad a la que puede alcanzar un peso vivo de 2 kg. Esta especie está dotada por una precocidad sexual, puesto que llega a la reproducción a una temprana edad (4 meses) y su ciclo de gestación es sumamente breve, solo un mes. Su período de lactancia es reducido, alrededor de los 45 días y además posee un gran poder digestivo y su rendimiento en carne es muy positivo (55 %). Relacionado con la conversión alimenticia, una coneja (de 4,5 kg de peso) mediante su descendencia puede llegar a producir cada año cerca de 100 kg de carne, cifra que difícilmente puede compararse al de otras producciones animales (Urizar, 2006).

2.5.3. Situación mundial de la cunicultura

En los últimos años, la cunicultura constituye una actividad económica que presenta elevado potencial de crecimiento en diferentes regiones del mundo, principalmente en

las zonas rurales (Morais, 2013). Según la FAO (2018) se destacan Asia con el 72 % del total de la producción de carne de conejo, seguido de Europa con el 20 % y Las Américas y África con un 7 y 1 % respectivamente.

China se destaca como el país con mayor producción de carne de esta especie con 849 150 t, le siguen en importancia productiva los países de Corea, Italia y España. (FAO, 2018). En la figura 1 se observa la producción de carne de conejo a nivel mundial desde el año 2012 hasta el año 2017 con la mayor producción en los años, 2012 – 2014.

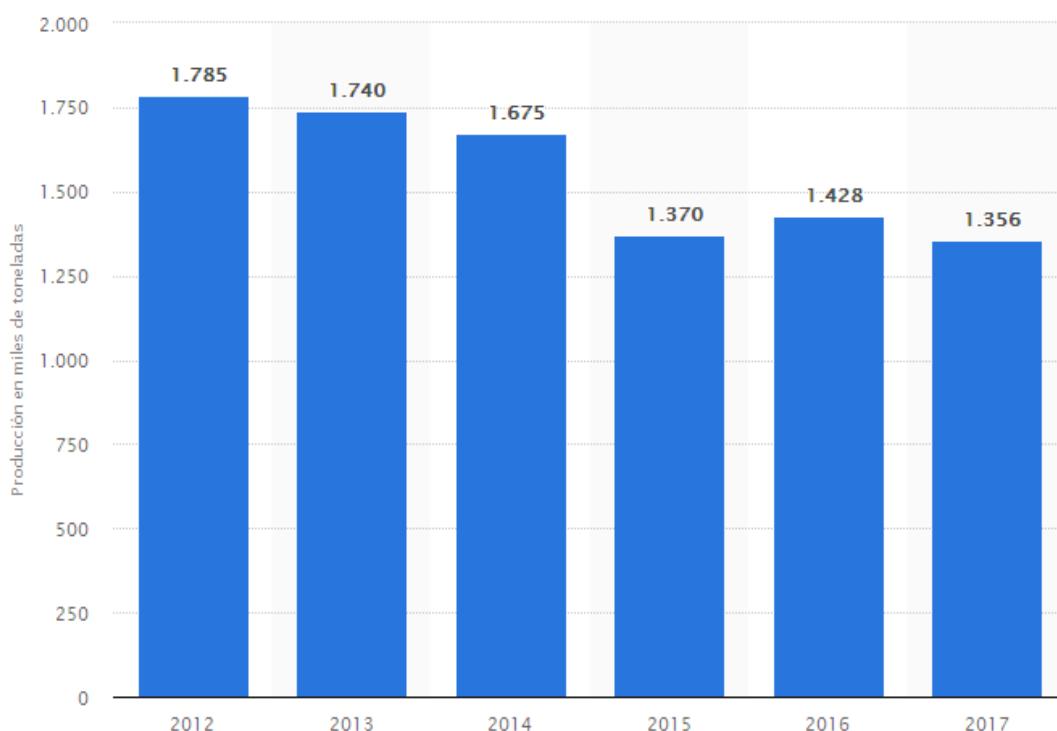


Figura 1. Volumen mundial de carne de conejo producida desde 2012 hasta 2017 (Statista, 2019)

2.5.4. Producción de conejos en Cuba

La producción cunícola en Cuba se sustenta por la Empresa de Ganado Menor (EGAME), la que fomenta la cunicultura familiar mediante convenios con los pequeños productores. De forma general, la alimentación que se emplea es de tipo no

convencional. La cunicultura se incrementa de forma acelerada como resultado de la diversificación de la producción animal en las empresas ganaderas estatales, mediante la creación de pequeñas granjas, destinadas al autoconsumo y la comercialización del producto final entre las entidades que se mencionan (López, 2009).

Es importante resaltar que la producción de conejos en Cuba se concentra en el sector privado. Según la ONEI (2018) la entrega de conejo a sacrificio fue mayor en el año 2015, con una disminución a partir del 2016, pero sin embargo ya para el año 2018 aumentó esta entrega (20,1 t) con mayor peso promedio (3,6 Kg). En la provincia Guantánamo, en cuanto a la entrega al sacrificio en miles de cabezas (Mcabz), se destacan los municipios de Guantánamo (2440,0), Maisí (1049,0), Niceto Pérez (968,0) y Baracoa (545,0), como se observa en la tabla 2.

Tabla 2. Entrega de conejos al sacrificio entre los años 2015 y 2018

Carne de conejo	2015	2016	2017	2018
Entrega al sacrificio (t)	26,5	14,7	17,3	20,1
Cabezas (Mcabz)	9955,0	5955,0	5755,0	5544,0
Peso promedio (Kg)	2,5	2,5	3,0	3,6

Fuente: ONEI (2018)

2.5.5. Aspectos anatómo-fisiológicos del sistema digestivo del conejo

El conejo es un monogástrico herbívoro, cuyo sistema digestivo está adaptado para realizar la fermentación de la pared celular vegetal debido a la presencia en el tracto gastrointestinal de una microbiota especializada. De esta forma, el conejo aumenta la eficiencia digestiva de las dietas fibrosas (Castro, 2009).

En el ciego, ocurre una fermentación similar a la que sucede en el rumen. Según Carabaño *et al.* (2010) la actividad microbiana que ocurre en el ciego desempeña un papel fundamental en los procesos de digestión y utilización de los nutrientes.

Los productos finales de la fermentación de los microorganismos son los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), NH₃, después de la fermentación de azúcares y aminoácidos. A diferencia de los rumiantes, los patrones de fermentación son acético (60-80 %), butírico (8-20 %) y propiónico (3-10 %). Además, se debe señalar que los AGCC son específicos de la biota cecal y no de la composición del sustrato fermentable (Gidenne *et al.*, 2000).

2.5.5.1. La cecotrofagia

Constituye una de las características más importantes en la fisiología digestiva del conejo, que consiste en la producción diferenciada y normal de dos tipos de heces y en el consumo voluntario de los cecotrofos o heces blandas. La actividad antiperistáltica característica de la parte distal del intestino grueso (colon), favorece la selección y eliminación de las partículas de mayor tamaño y lignificadas (heces duras), así como permite mantener en el ciego las partículas más solubles y fermentables (heces blandas) durante períodos prolongados. La presencia de este material en el ciego promueve la fermentación microbiana, y por consiguiente la producción de nutrientes tales como proteína microbiana, vitaminas (C, K y del complejo B) y ácidos grasos de cadena corta (Herrera, 2003 y Dihigo, 2005).

Desde el punto de vista nutritivo, la cecotrofia supone dos ventajas importantes, por un lado, la eliminación de las partículas gruesas de la fibra acelera notablemente la velocidad del tránsito de los residuos y el vaciado del aparato digestivo, por lo que aumenta la capacidad de ingestión de alimentos fibrosos. Por otro lado, debido a que las proteínas de las heces blandas es proteína microbiana de alta calidad y digestibilidad, el aporte proteico debido a la cecotrofia es importante, particularmente en el caso de raciones de bajo valor proteico, además aportan vitaminas hidrosolubles sintetizadas por la flora cecal (Romero, 2008).

2.5.6. Digestibilidad

La digestibilidad es la base de las metodologías de evaluación de los alimentos, por definición, es la fracción de alimento consumido que no aparece en las heces y por lo tanto se absorbe en el tracto gastrointestinal (Stein *et al.*, 2007).

La digestibilidad sirve como una medida para determinar la calidad de la dieta y de las materias primas utilizadas en ella, la disponibilidad de los nutrientes que las constituyen, la importancia que tienen estos en la salud de los animales, su desempeño y las características de las heces, además sirve como soporte para el cálculo de los requerimientos nutricionales (Harmon, 2007).

2.5.6.1. Principales métodos para determinar la digestibilidad

Para calcular la digestibilidad de un alimento, es necesario tener en cuenta varios aspectos que pueden afectar los resultados, como, por ejemplo, la especie vegetal o animal a la que pertenece el ingrediente, el procesamiento, la interacción entre los nutrientes de la dieta o ingrediente, el método analítico utilizado para determinar los valores de digestibilidad, así como también los factores ambientales y propios del individuo (Julliand *et al.*, 2006).

Digestibilidad aparente: Normalmente los valores de digestibilidad que se obtienen son valores aparentes, es decir, incluyen en las heces los aportes metabólicos y endógenos provenientes de enzimas, células epiteliales, células microbianas, metabólicos, entre otros, que llegan a la luz intestinal y que no se ofrecieron en el alimento (Stein *et al.*, 2007).

Existen diversos métodos para evaluar la digestibilidad de las materias primas que son empleadas en las dietas ofrecidas a los animales de compañía, dentro de los cuales están los métodos *in vivo* directos como la recolección total de heces, indirectos cuando se usan indicadores; métodos *in situ* como la canulación ileal y finalmente los métodos *in vitro* en los cuales se usan enzimas y técnicas de fermentación.

La colección total de excretas: Consiste en el alojamiento de animales en jaulas de metabolismo que permitan el control del alimento y la colecta de las heces separadas de la orina, durante cuatro días consecutivos. Los animales requieren un período de adaptación a las raciones y a las jaulas, el que puede variar de siete a diez días (Scapinello *et al.*, 2005).

Los ensayos de recolección total de heces, se caracterizan por el uso de animales en las investigaciones y por la recolección total de las heces que estos producen (De Brito *et al.*, 2010).

En este método, primero, se establecen los requerimientos nutricionales del animal según la raza, fase de desarrollo y estado fisiológico, posteriormente, se procede a formular las dietas con las materias primas que se van a evaluar y se suministran a los animales durante por lo menos cinco días como periodo de adaptación, antes de dar inicio al periodo experimental, que puede ser de tres a cinco días (Calavari *et al.*, 2006).

Si se alimenta en la mañana y en la tarde, la ración diaria se pesa antes de ofrecerla para pesar las sobras, al finalizar el día, y así determinar el consumo diario. Los animales deben adaptarse a la dieta a evaluar en un período no inferior de cinco días (De Brito *et al.*, 2010).

Después del periodo de adaptación se inicia el periodo de recolección total de heces, el cual tiene una duración variable dependiendo del diseño experimental empleado en el estudio, pero que por lo general es de tres a cinco días. La totalidad de las heces que se recolectan durante este periodo se deben acumular y mezclar únicamente con las heces de la misma unidad experimental, y diariamente se guardan a -15 °C hasta el momento del secado, molido y toma de muestras para los análisis de laboratorio (Zanatta *et al.*, 2011).

Terminado el periodo de recolección, las heces se descongelan, se homogenizan y se mezclan uniformemente para cada unidad experimental. Posteriormente se pesan y se secan en un horno de aire caliente a 75 °C durante 72 horas, para determinar el contenido de materia seca, parte de la muestra es incinerada para determinar el contenido de ceniza y la cantidad de materia orgánica que contiene (De Brito *et al.*, 2010).

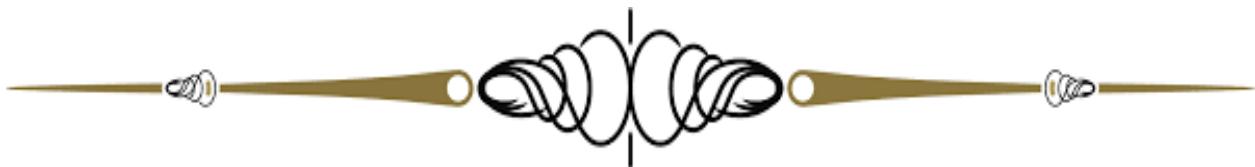
Para obtener los coeficientes de digestibilidad aparente, se usa la siguiente fórmula, establecida por Schneider y Flatt (1975) que relaciona la cantidad de alimento consumido, la cantidad de heces producidas y el contenido del nutriente que se pretende evaluar, tanto en heces como en el alimento. Todos los valores son en base seca.

$$\text{CDA de Nutriente (\%)} = \frac{\text{Nutriente ingerido (g)} - \text{Nutriente de las heces (g)}}{\text{Nutriente ingerido (g)}} \times 100$$

Este método tiene la ventaja de proporcionar datos reales de lo que sucede en el organismo del animal en cuanto al proceso digestivo y al aprovechamiento de los nutrientes. Sin embargo, algunas de sus desventajas son la posible contaminación de las heces por la orina (Nieves *et al.*, 2008).

Digestibilidad verdadera: Con el fin de obtener información más aproximada al verdadero aprovechamiento de los nutrientes por parte del animal, se establece el concepto de digestibilidad verdadera en el cual se tiene en cuenta en los cálculos los valores endógenos, ya que se reconoció que parte de los nutrientes que se encuentran en las heces se derivan del animal y no son residuos del alimento (Maynard, 1986) citado por (Osorio *et al.*, 2012).

CAPÍTULO III



MATERIALES Y MÉTODOS

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación de la Investigación

La investigación se realizó en el Centro de Estudios de Tecnología Agropecuarias y Forestales (CETAF) perteneciente a la Facultad Agroforestal. Universidad de Guantánamo, ubicada en el Km. 6 ½ Carretera Guantánamo – El Salvador.

3.2. Procedimiento experimental

El procedimiento experimental constó de dos etapas, se realizó un proceso de fermentación en estado sólido, con dos experimentos, con inclusión de diferentes niveles de urea y VITAFERT (1ra etapa) y un estudio de digestibilidad de nutrientes *in vivo* en la especie cunícola, de dietas con inclusión de harina de cáscara de cacao obtenida del proceso de fermentación en estado sólido (2da etapa).

Elaboración de la harina: Las cáscaras se recolectaron en fincas cacaoteras pertenecientes a la Empresa Agroforestal y Coco del municipio Baracoa, provincia Guantánamo (figura 2) en el período comprendido en los meses de abril – mayo de 2018.

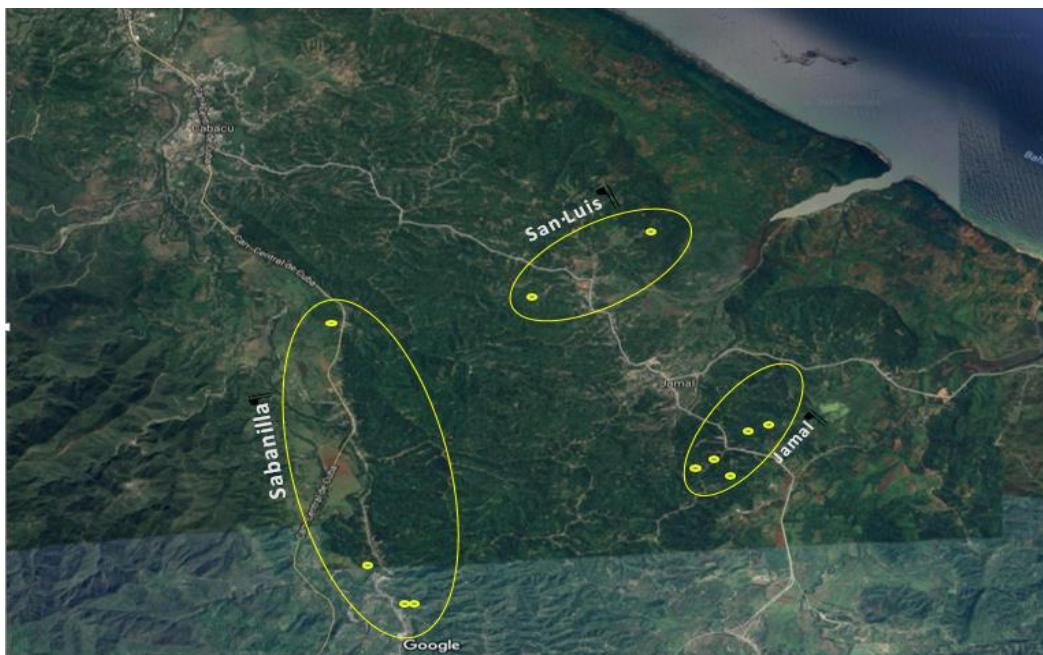


Figura 2. Imagen satelital de las fincas cacaoteras

Las cáscaras se rebanaron en trozos pequeños no mayores a 5 cm de largo y 1 cm de ancho para exponer al aire la mayor superficie posible. Para el secado las rebanadas se esparcieron de tal manera que quedaron expuestas a la acción directa de la radiación solar y al aire circundante, y al llegar la noche el material se apiló en la parte más alta del plato de secado y se cubrió con una lona impermeable para protegerla de la lluvia o del rocío en las horas tempranas del día. El volteo se realizó cada 2 h, (6 veces al día) fundamentalmente durante las primeras horas del día, cuando pierde mayor cantidad de humedad. Todo este proceso de secado duró 96 h aproximadamente (4 días soleados), tiempo suficiente para que el producto esté completamente seco (crujiente) con una humedad inferior al 12 %. Una vez secas se procedió al molinaje que se realizó en un molino de martillo hasta convertirlo en harina, con criba de 1 mm (Figura 3).



Figura 3. Etapas de la elaboración de la harina de cáscara de cacao (HCC)

a) cáscaras troceadas b) cáscaras secas c) harina

Etapa 1. Experimentos de FES

Los experimentos de fermentación se realizaron en los meses de septiembre - diciembre de 2018 en el laboratorio de bromatología del CETAF. Se realizó previamente un análisis bromatológico a la harina de cacao sin fermentar.

Experimento.1. Efecto del nivel de urea (0; 1 y 1,5 %) y el tiempo de fermentación (0; 24; 48 y 96 h) en los indicadores bromatológicos de la harina de la cáscara de cacao fermentada en estado sólido (HCC-FES).

Diseño Experimental: Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial (3x4) y 4 repeticiones. Los factores bajo estudio fueron: niveles de urea y tiempos de fermentación.

Procedimiento: Se montaron 12 tratamientos o variantes fermentativas que consistieron en la inclusión de 3 niveles de urea (0; 1 y 1,5 %) y los tiempos de fermentación (0; 24; 48 y 96 h) (Tabla 3).

Tabla 3. Tratamientos utilizados para la fermentación en estado sólido de la harina de cáscara de cacao con niveles de urea y tiempos de fermentación.

Tiempo (h)	Niveles de urea (%)		
	0	1	1,5
0	T1	T5	T9
24	T2	T6	T10
48	T3	T7	T11
96	T4	T8	T12

La urea se diluyó en agua destilada y se ajustó la cantidad de líquido que se introdujo, para que todos los tratamientos tuvieran entre el 60 y el 70 % de humedad inicial, se mezclaron 100 g de muestra (harina de cáscara de cacao) y se depositaron en nylon sellados con calor y se fermentaron a temperatura ambiente (28 ± 2 °C) durante 0; 24; 48 y 96 h, cada nylon constituyó una unidad experimental. La composición de las variantes fermentativas se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Fórmula empleada en la fermentación en estado sólido de la harina de cáscara de cacao que incluye niveles de urea

Ingredientes	Composición		
	0	1	1,5
Urea (g)	0	1	1,5
HCC (g)	50	49	48,5
Agua destilada (ml)	50	50	50
Total (g)	100	100	100

Después de la fermentación el contenido de cada nylon se recolectó en su totalidad, y se secó en una estufa a 60 °C hasta obtener peso constante, para el análisis bromatológico se enviaron las muestras a la Unidad Central de Laboratorios (UCELAB) del Instituto de Ciencia Animal (ICA) para determinar:

Indicadores Bromatológicos evaluados

- Materia seca (MS) según la AOAC (2000)
- Proteína bruta (PB) según la AOAC (2000)
- Proteína verdadera (PV) según el método de Berstein citado por Meir (1986)
- Fibra detergente neutra (FDN) según Van Soest *et al.* (1991)
- Fibra detergente ácida (FDA) según Van Soest *et al.* (1991)
- Cenizas (Cz) según la AOAC (2000)
- Fósforo (P) según la AOAC (2000)
- Calcio (Ca) según la AOAC (2000)
- Materia orgánica (MO) (100 – cenizas)

Para el proceso de fermentación se utilizaron los siguientes equipos:

- Balanza Analítica. Modelo Sartorius BS 124 S, con precisión de 0,1 mg
- Estufa. Modelo BGZ - BOXUN

3.3. Análisis estadístico

Los datos experimentales se procesaron con el paquete estadístico SPSS 15.0. Se realizó un análisis de varianza simple para todas las variables y, en los casos necesarios se aplicó la dócima de comparación múltiple de Duncan (1955) para $p<0,05$. Este análisis estadístico se utilizó en todos los experimentos realizados en la presente tesis.

Experimento. 2. Efecto del nivel de VITAFERT (0; 2,5 y 5,0 %) y el tiempo de fermentación (0 y 96 h) en los indicadores bromatológicos de la harina de la cáscara de cacao FES.

Diseño Experimental: Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial (3x2) y 4 repeticiones. Los factores bajo estudio fueron: niveles de VITAFERT (0; 2,5 y 5,0 %) y los tiempos de fermentación (0 y 96 h).

Elaboración del VITAFERT. Los ingredientes para la elaboración del VITAFERT se muestran en la tabla 5, según la metodología descrita por Elías *et al.* (1990).

Tabla 5. Fórmula para la elaboración del VITAFERT

<u>Ingredientes</u>	<u>Composición</u>
Harina de maíz (g)	4
Harina de soya (g)	4
Urea (g)	0,5
Sulfato de magnesio (g)	0,25
Premezcla mineral (g)	0,5
Azúcar crudo para consumo animal (g)	15
Agua (L)	100
Yogurt natural (L)	1

Se pesaron los ingredientes y se mezclaron con agua hasta los 100 L. Se le adicionó un litro de yogurt a la mezcla anterior, se agitó a intervalos de dos horas y se dejó fermentar por 48 h. Después de este tiempo. El producto estuvo listo para su utilización. Cabe destacar que este producto puede durar alrededor de 6 meses si es bien tapado.

Para este experimento se utilizó la mejor variante de fermentación obtenida en el experimento 1, se tuvo en cuenta los valores de los indicadores PB y PV (tablas 6 y 7), el procedimiento experimental fue el mismo.

Tabla 6. Tratamientos para la fermentación en estado sólido de la harina de cáscara de cacao con niveles de VITAFERT y tiempos de fermentación

Tiempo(h)	Niveles de VITAFERT (%)		
	0	2,5	5,0
0	T1	T3	T5
96	T2	T4	T6

Tabla 7. Fórmula empleada en la FES de la HCC que incluye niveles de VITAFERT

Ingredientes	Composición		
Urea (g)	1,5	1,5	1,5
VITAFERT (ml)	0	2,5	5,0
HCC (g)	48,5	46	43,5
Agua (ml)	50	50	50
Total	100	100	100

Etapa 2. Estudio de Digestibilidad aparente de los nutrientes de dietas con inclusión de HCC- FES.

El estudio de digestibilidad aparente de los nutrientes se realizó *In vivo* en la instalación cunícola del polígono docente investigativo del CETAF, en los meses de febrero – abril de 2019. Se utilizaron 30 conejos machos de la raza Chinchilla de 60 días de edad y peso promedio 1,5 kg y se ubicaron en jaulas de metabolismo individuales. Se empleó un diseño completamente aleatorizado, con tres tratamientos o dietas y 10 repeticiones, constituidos por la inclusión de: 0 % (dieta 1 o referencial); 10 % (dieta 2) y 20 % (dieta 3) de la harina de cáscara de cacao fermentada en estado sólido, obtenida en los experimentos de fermentación anteriormente realizados. En el fondo de las jaulas se colocaron colectores de excretas construidos con mallas plásticas. La duración del experimento fue de 12 días, con 7 días de adaptación a las dietas experimentales y cinco días de recolección de heces.

Los alimentos se ofrecieron en dos horarios (8:00 a.m. y 4:00 p.m.) en cantidad suficiente para que tuvieran acceso a ellos las 24 horas del día. Se evaluó el consumo de alimentos, basado en las diferencias entre la cantidad del alimento ofrecido y la cantidad que rechazaron. Las muestras de heces fecales se recolectaron diariamente y colocadas en bolsas de nylon identificadas y se conservaron en congelación a -20 °C. Al finalizar el período de recolección, se mezclaron las muestras para cada tratamiento y se determinaron según la metodología descrita por la AOAC (2000) la materia seca, proteína bruta, ceniza y materia orgánica, y la fibra bruta según Van Soest *et al.* (1991) estos análisis se realizaron en el laboratorio de bromatología del CETAF.

Las dietas fueron elaboradas según los requerimientos nutricionales establecidos por De Blass y Mateo (2010) para esta especie, y las materias primas se mezclaron de forma manual para cada dieta experimental hasta obtener una mezcla homogénea. Los valores de la composición porcentual de las dietas en estudio y las materias primas se presentan en las tablas 8 y 9.

Tabla 8. Composición de las dietas empleadas.

Ingredientes (%)	Niveles de inclusión de HCC-FES		
	Dieta 1 (%)	Dieta 2 (%)	Dieta 3 (%)
Harina maíz	7,00	6,00	7,00
H. de follajes de boniato	38,00	33,00	20,00
Harina de soya	24,00	21,00	20,00
HCC-FES	0,00	10,00	20,00
Afrecho de trigo	15,00	14,00	15,00
fosfato di cálcico	0,20	0,20	0,20
Carbonato calcio	0,30	0,30	0,30
Sal común	0,25	0,25	0,25
Premezcla mineral	0,25	0,25	0,25
Miel final	15	15	17
Total	100,00	100,00	100,00

Tabla 9. Composición bromatológica de los ingredientes utilizados

Ingredientes (%)	PB (%)	FB (%)	ED(Mkcal)	P (%)	Ca (%)
Harina maíz	7,90	1,73	3149	0,25	0,03
H. de follajes de boniato	10,35	26,83	2533	0,45	0,68
Harina de soya	44,00	5,30	3389	0,56	0,24
HCC-FES	19,51	41,81	2484	0,13	0,72
Afrecho de trigo	14,00	14,00	2000	0,30	0,26
fosfato di cálcico	0,00	0,00	0,00	18,50	24,50
Carbonato calcio	0,00	0,00	0,00	0,00	38,00
Sal común	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Premezcla mineral	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Miel final	4,20	0,00	2890	0,10	0,80

El coeficiente de digestibilidad aparente (CDA) de la materia seca (CDAMS), proteína bruta (CDAPB), fibra bruta (CDAFB) materia orgánica (CDAMO) y Cz (CDACz) se determinó mediante la ecuación sugerida por Schneider y Flatt (1975) donde:

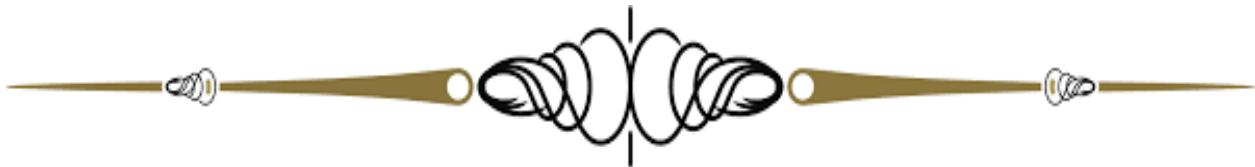
$$\text{CDA de Nutriente (\%)} = \frac{\text{Nutriente ingerido (g)} - \text{Nutriente de las heces (g)}}{\text{Nutriente ingerido (g)}} \times 100$$

Se utilizó la harina de follajes de boniato (*Ipomoea batata*) por su disponibilidad en la localidad y cualidades nutritivas para esta especie según La O (2007).

3.4. Valoración económica

Se realizó una ficha de costo para la elaboración de una tonelada de HCC-FES para zonas con elevada producción de este cultivo.

CAPÍTULO IV



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Experimento 1. Efecto del nivel de urea (0; 1 y 1,5 %) y el tiempo de fermentación (0; 24; 48 y 96 h) en los indicadores bromatológicos de la harina de la cáscara de cacao fermentada en estado sólido (HCC-FES).

Composición bromatológica de la harina de cáscara de cacao sin fermentar

En la tabla 10 se muestra la composición bromatológica de la harina de la cáscara de cacao sin fermentar. La misma presentó un bajo contenido proteico y elevado contenido fibroso.

Tabla 10. Composición bromatológica (% Base seca) de la harina de cáscara de cacao sin fermentar

Indicadores	Cantidad (%)	DS
Materia seca (MS)	90,03	1,80
Ceniza (Cz)	11,40	0,24
Proteína bruta (PB)	8,62	0,02
Fibra detergente neutra (FDN)	68,10	0,78
Fibra detergente ácida (FDA)	52,74	0,43
Calcio (Ca)	0,78	0,02
Fósforo (P)	0,12	0,02
Materia Orgánica (MO)	88,6	0,34

DS: Desviación estándar

Los componentes bromatológicos obtenidos se encuentran en rangos determinados por otros investigadores como Cressente *et al.* (1999) quienes en los subproductos del cacao describieron en la cáscara la composición química siguiente: proteína bruta - 8,69 %, fósforo - 0,15 % Ca - 1,12 %, materia orgánica - 60,14 %. Resultados similares a los de la siguiente investigación.

Según Salazar (2016) en una evaluación de rendimientos de biomasa y valoración nutrimental de residuos postcosecha de cacao obtuvo que este contenía una PB de 7,2 %; 10,05 % de Cz; 0,09 % de P, 0,44 % de Ca; 89,5 % de MO; y recomienda según estas características químicas que podría ser utilizada en la alimentación animal.

Por su parte Brenes (1990) en un estudio sobre la utilización de los subproductos del cacao, determinó que la misma contenía: 27 % de fibra cruda, 6,25 % de proteína cruda inferior a la de la presente investigación, con 35,5 % de nitrógeno disponible total y 3,2 % de potasio, plantea que una tonelada métrica de materia seca de cáscara puede aportar 12 kg de nitrógeno, 2,5 kg de fósforo, 42 kg de potasio, 4,2 kg de Calcio y 4,2 kg de Magnesio.

Similares resultados fueron obtenidos por Chafla *et al.* (2016). En una caracterización bromatológica realizado a la cáscara de cacao seca en diferentes cantones de la Amazonia, observó un 8,70 % de proteína cruda, 90,30 % de materia seca y 23,43 % de fibra cruda y refiere que esta composición química se encuentran en los rangos reconocidos en la literatura para este residual, por lo que se podría utilizar como sustrato en los procesos de fermentación en estado sólido.

Villamizar *et al.* (2017) evaluó dos formas de secado de la cáscara de cacao, por charolas y de forma natural. Esta última tuvo resultados similares a los de este trabajo, una proteína bruta de 6,30 %; 0,71 % de grasa; 82,39 % de humedad inicial 6,67 % de humedad final; 20,52 % de fibra bruta de, 11,39 % de cenizas y 74,93 % de carbohidratos.

4.1.1. Composición bromatológica de las variantes de FES de la HCC con inclusión de urea

Referente a la composición bromatológica, no hubo interacción entre el nivel de urea añadido y el tiempo de fermentación para los indicadores: MS, FDN, Cz, MO, Ca, FAD, no así para el P y la PB, como se observa en la tabla 11.

En el estudio se observó una reducción de la materia seca a medida que aumentó el tiempo de fermentación y los niveles de urea, con un valor mínimo de 86,90 % a las 96 h y de 87,22 % con la inclusión de 1,5 % de urea. Durante el curso de las fermentaciones, se reduce el nivel de humedad debido tanto a pérdidas por evaporación como a la propia actividad metabólica de los microorganismos. (Pastrana, 1996).

Las reducciones de MS en el proceso de FES de la HCC pueden deberse, fundamentalmente, a la utilización por los microorganismos de los carbohidratos solubles (sacarosa, glucosa, fructosa) de la harina de cáscara de cacao, como fuentes energéticas de los procesos metabólicos.

Tabla 11. Efecto de los niveles de urea y el tiempo de fermentación en la concentración de MS, Cz, MO, Ca, FND, FAD y PV de la harina de cáscara de cacao durante la FES.

Factor	MS (%)	Cz (%)	MO (%)	Ca (%)	FDN (%)	FDA (%)	PV (%)
Tiempo (h)							
0	89,78 ^c	11,52 ^a	88,48 ^c	0,74 ^a	67,58 ^c	50,78 ^b	7,02 ^a
24	87,46 ^{bc}	11,77 ^b	88,23 ^b	0,74 ^a	65,03 ^a	49,07 ^a	7,68 ^b
48	87,28 ^b	12,59 ^c	87,41 ^a	0,76 ^{ab}	68,59 ^d	52,21 ^c	7,85 ^c
96	86,90 ^a	11,82 ^b	88,18 ^b	0,77 ^b	66,72 ^b	50,89 ^b	9,86 ^d
EE±	0,27	0,02	0,04	0,27	0,02	0,06	0,02
P	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
Urea (%)							
0	87,67 ^b	12,46 ^a	87,54 ^a	0,85 ^c	68,65 ^c	53,78 ^c	6,60 ^a
1,0	87,56 ^a	12,18 ^b	87,82 ^b	0,73 ^b	66,61 ^b	49,97 ^a	9,09 ^b
1,5	87,22 ^a	11,19 ^c	88,81 ^c	0,68 ^a	66,46 ^a	50,70 ^b	9,41 ^c
EE±	0,27	0,02	0,04	0,27	0,02	0,06	0,02
P	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001

a, b, c, d Medias con letras distintas en cada columna difieren a p<0,05 según Duncan (1955)

En este sentido, la disminución de la MS que se encontró a partir de las 24 hasta las 96 h de fermentación, se observó en otros procesos de FES, (Elías *et al.*, 1990; Rodríguez *et al.*, 2001; Ruiz *et al.*, 2003; Ramos, 2005 y Ramos *et al.*, 2006). Los valores de MS del presente estudio son similares a los que observaron Elías *et al.* (2001); Ramos (2005) y Ramos *et al.* (2006), en donde se incluyeron diferentes fuentes amiláceas para incrementar la síntesis de proteína microbiana.

El contenido de ceniza aumenta su concentración con el tiempo de fermentación alcanzando su valor máximo a las 48 h con 1,07 unidades porcentuales por encima con respecto a la hora cero. Los niveles de urea tuvieron un comportamiento diferente en este indicador, pues disminuye en 0,28 y 1,27 unidades porcentuales con la inclusión de 1,0 y 1,5 % de urea respectivamente. La MO ($p<0,001$), mantuvo un comportamiento inversamente proporcional a la ceniza.

Los valores de ceniza de esta investigación según el tiempo de fermentación, posiblemente se deba a la presencia de minerales en la harina de cáscara de cacao. Al fermentarse los azúcares y almidones, la ceniza se concentra en el producto final de la fermentación. Los menores valores de MO al transcurrir el tiempo de fermentación, se deben, probablemente a la utilización de las fuentes de energía de fácil disponibilidad para los microorganismos que se establecen durante la FES.

La ceniza indica el contenido mineral de un alimento y es necesario para el metabolismo microbiano o animal. Así, en FES de desechos de guayaba (*Psidium guajava*), Jauregui (1992) obtuvo incrementos de 0,8 unidades, sin adición de premezclas minerales, durante los primeros 7 días de fermentación, semejante a las condiciones del presente trabajo. Por su parte, Pérez (1996) en FES del mijo de perla (*Pennisetum americanum*) obtuvo un incremento de 0,5 unidades a las 72 h. Mientras Espinosa (2008) en FES de la yuca, encontró incrementos en 3,2 unidades porcentuales durante el proceso. Contrapuesto a estos estudios, Gualtieri *et al.* (2007), en FES de residuos de pulpa de café obtuvo la disminución de ceniza en 4 unidades porcentuales, debido posiblemente a que se arrastre parte del contenido mineral, con la percolación del agua durante los lavados.

El calcio a medida que transcurre el tiempo de fermentación aumenta su concentración con respecto a la hora cero, alcanza su máximo valor a las 96 h sin diferencias a las 48 h, la inclusión de urea tuvo un efecto contrario, con una concentración mínima de 0,68 % al incluir 1,5 % de urea.

En el caso de la FDN, disminuyó a medida que transcurrió el tiempo de fermentación, mostró un ligero aumento a las 48 h, para luego disminuir y finalizar el proceso

fermentativo con diferencias de 0,86 unidades porcentuales con respecto a la hora cero. Al incluir urea al sistema, este indicador disminuye su concentración en 2,17 unidades porcentuales con 1,5 %. La FDA mostró un comportamiento similar, disminuye con la inclusión de urea y con el tiempo de fermentación, con un ligero aumento a las 48 h y posterior disminución al concluir el proceso.

Los resultados del comportamiento del componente fibroso coinciden con otras investigaciones donde ocurren modificaciones significativas en los porcentajes de la fibra durante procesos de FES como, por ejemplo, Elías *et al.* (1990) al elaborar Saccharina; Ramos (2005) al combinar la caña de azúcar con otros subproductos y Moyano (2014) en la FES de la papa. Según Aranda *et al.* (2012), el incremento de la fibra que se manifiesta durante el tiempo de fermentación pudo deberse a que los microorganismos, que se desarrollan en el sistema, utilizan los azúcares simples que se encuentra en el contenido celular, lo que provoca un incremento en la concentración de paredes celulares (Berradre *et al.*, 2009).

Así Valiño (1999) y Reis *et al.* (1990) citados por Cándido *et al.* (1999) describen que el efecto benéfico de la adición de urea en los contenidos de FDN se atribuye principalmente a la solubilización de la hemicelulosa, compuesto que es abundante en la cáscara del fruto del cacao según Abarca *et al.* (2010).

Según Loures *et al.* (2005) la reducción de FDN puede atribuirse a las pérdidas por efluentes, especialmente de los componentes del contenido celular. A su vez puede ser atribuido al efecto de la urea, que al formar puentes de hidrógeno entre las moléculas de celulosa se quiebran, solubilizando parte de este componente de la pared celular, reflejando en consecuencia la reducción de la FDN.

Rodríguez (2004) y Rodríguez (2005) mencionaron que el incremento en el contenido de la fibra en los procesos de FES se debe a una concentración relativa del producto final, al usar los azúcares que se encuentran en el contenido celular por parte de los microorganismos que se desarrollan en el sistema, lo que trae consigo una disminución en este componente.

La proteína verdadera (PV), aumentó su concentración a partir de las 24 h de fermentación (7,68 %) hasta concluir el proceso fermentativo a las 96 h con 2,84 unidades porcentuales por encima del valor de la hora cero. En cuanto a los niveles de urea añadidos, hubo un comportamiento similar, pues se manifestó un incremento de este indicador con la inclusión de 1 y 1,5 % con diferencias entre ellos, con un aumento de 2,81 unidades porcentuales con respecto a los tratamientos sin urea. Se logra el máximo valor de la PV en los tratamientos con 96 h de fermentación y con la inclusión de 1,5 % de urea.

Rodríguez (2004) señala que los incrementos de PV en los procesos de fermentación en estado sólido, confirman la efectividad de síntesis microbiana a partir de los carbohidratos y el nitrógeno ureico.

Según Pandey *et al.* (2001), la PV puede ser una vía indirecta de medir el crecimiento microbiano en los procesos de FES, ya que la microbiota mixta que se establece en el sistema, transforma el NNP (nitrógeno no proteico) de la urea en NP (nitrógeno proteico). Ramos *et al.* (2007), y Rodríguez *et al.* (2010) describen comportamientos similares de PV en trabajos de FES de caña combinada con otros residuos de cosecha, así como Brea (2015) en la FES de la harina de árbol de frutos del pan y Chafla (2016) en la fermentación de este mismo subproducto agrícola, pero de la amazonía ecuatoriana.

El fósforo no mostró grandes cambios, mantuvo su concentración durante todo el proceso fermentativo, los factores en estudio no incidieron sobre los valores de este indicador, concluye el proceso con 0,1 unidad porcentual por encima del valor inicial. Al inicio de la fermentación la PB se incrementa proporcionalmente al nivel de urea añadido ($p<0,001$) y al tiempo de fermentación, con una concentración a las 48 h y posterior aumento a las 96 h, como se observa en la tabla 12.

En los tratamientos sin urea, la PB muestra un ligero aumento a las 24 h y se mantiene sin variación hasta las 96 h. Sin embargo, la incorporación de niveles de urea y el aumento del tiempo de fermentación, trajo consigo, un incremento significativo en la PB, por otra parte, los tiempos de fermentación 48 y 96 h aumentan la concentración

sin diferencias entre los niveles 1 y 1,5 % de urea, donde se concentran los valores de este indicador. Al añadir 1,5 % de urea al proceso se observa un marcado aumento de este a partir de las 24 h y se concluye el proceso fermentativo con 10,66 unidades porcentuales por encima del valor de la harina sin fermentar.

Tabla 12. Efecto de niveles de urea y el tiempo de fermentación en la concentración de PB y P en la harina de cáscara de cacao durante la fermentación en estado sólido.

Indicador	Tiempo (h)	Niveles de urea (%)			EE±
		0	1,0	1,5	
P (%)	0	0,12 ^{abc}	0,13 ^{bc}	0,13 ^{bc}	0,01
	24	0,14 ^c	0,12 ^{abc}	0,11 ^{ab}	p <0,001
	48	0,13 ^{bc}	0,13 ^{bc}	0,11 ^{ab}	
	96	0,12 ^{abc}	0,14 ^c	0,13 ^{bc}	
PB (%)	0	8,62 ^a	14,55 ^c	14,70 ^c	0,22
	24	9,96 ^b	16,33 ^d	17,20 ^e	p <0,001
	48	10,13 ^b	16,19 ^d	15,75 ^d	
	96	10,43 ^b	18,62 ^f	19,28 ^f	

a, b, c, d, e, f Medias con letras distintas difieren a p<0,05 según Duncan (1955)

El incremento en el contenido de PB a las 96 h de fermentación al incorporar urea al sistema pudiera relacionarse con la pérdida de MS, ya que la proteína bruta pudiera concentrarse y, por lo tanto, en términos relativos se incrementó. Similar resultado encontró Brea (2015) en la FES de frutos del árbol del pan y Rodríguez *et al.* (2001) al estudiar diferentes niveles de urea (0,5; 1,0 y 1,5 %) y tiempos de fermentación (0; 48; 72 y 96 h).

Al respecto Rodríguez *et al.* (2010) en la fermentación en estado sólido de la manzana de desecho, encontró que la proteína bruta aumentó con la adición de urea a la mezcla (p<0,01), de 61,90 a 69,85 %, para los niveles de 1,5 y 2 % de urea en la mezcla, respectivamente.

Hristov *et al.* (2005) describen que, durante la FES, las proteínas solubles y degradables, y los ingredientes energéticos, se transforman por las enzimas extracelulares a péptidos, los cuales, en el interior de la célula microbiana, son atacados por peptidasas con liberación de aminoácidos utilizados para la síntesis proteica. Con la cáscara del fruto del cacao pudo ocurrir este efecto al inicio de la fermentación, pero la reducción de la PB que ocurre a las 48 h en el tratamiento con 1,5 % de urea pudo deberse a que se utilizó en la síntesis microbiana, lo que en dependencia de la eficiencia de conversión podrá producirse mayores o menores reducciones.

Según Becerra *et al.* (2008) y Rodríguez *et al.* (2010) durante la fermentación en estado sólido la PB del sustrato se incrementa con la adición de nitrógeno no proteico. Otros investigadores emplearon urea en la fermentación de diferentes sustratos. Rodríguez *et al.* (2010), al determinar el efecto del nivel de urea y pasta de soya en los desechos de manzana (*Malus domestica*), Moyano (2014), en la fermentación de la papa (*Solanum tuberosum*) y Brea (2015) en la fermentación de la harina de frutos del árbol de pan (*Artocarpus altilis*).

Church y Pond (1996) refieren que la urea es la fuente de NNP más utilizada por su bajo costo y alta disponibilidad en el mercado y se ha demostrado sus ventajas cuando se suplementa correctamente (Aranda, 2012).

Valiño *et al.* (2002) y Calderón *et al.* (2005) plantean que el crecimiento de microorganismos en la FES está ligado a la incorporación de la urea existente en los sustratos, por su parte Elías *et al.* (1990) demostraron el efecto positivo que tenía la adición de una fuente de nitrógeno no proteico como la urea, en la síntesis de proteína, el crecimiento de las levaduras y en las modificaciones de la bromatología de la caña durante su enriquecimiento proteico.

Trabajos recientes han utilizado residuales de papa con harina de alfalfa para obtener un alimento por FES, el cual disminuye la cantidad de fibra del alimento mejora la digestibilidad, y se logra un alimento con 21 % de proteína de la cual el 70 % es proteína verdadera (Borrás *et al.*, 2014).

Igualmente se elaboró un alimento a base de la harina del fruto del árbol del pan (*Artocarpus altilis*) con diferentes inclusiones de urea, con incrementos en la síntesis de proteína microbiana y disminución en la materia seca del alimento, donde a las 12 y 24 h con 1,5 % de urea hubo un incremento en la concentración de la PB con respecto a las cero horas, sin diferencia entre ellos. A las 48 h hubo un aumento mayor de 2,15 unidades porcentuales con respecto a la harina sin fermentar, al añadir 1,5 % de urea (Brea, 2015).

En tal sentido Chafla (2016) durante el proceso de fermentación de la cáscara de cacao en el Ecuador, con los niveles al 1,5 y 2,0 % de urea se observó un crecimiento de la biomasa hasta las 96 h, para luego disminuir a las 168 h. El mayor crecimiento microbiano se logró con el 1,5 % de urea a las 96 horas. Aunque se manifestaron diferencias favorables a los tratamientos con urea, el nivel de 1,5 % tuvo el valor más alto (9,71 %), con incremento de 1,81 unidades porcentuales entre los valores extremos.

Los residuos agroindustriales y de cosecha que contienen cantidades importantes de celulosa, hemicelulosa, lignina y pectina, son sustratos atractivos para el crecimiento microbiano en procesos de FES. Elías y Lezcano (1994) y Morgan (2003) mencionan que la eficiencia energética de los sustratos fibrosos se puede mejorar al introducir algunas fuentes de mayor disponibilidad energética, así como fuentes de nitrógeno, que favorecen el metabolismo microbiano para la producción de biomasa.

La incorporación de niveles de urea y el aumento del tiempo de fermentación, permitió, un aumento en la proteína bruta a las 96 h con la inclusión de 1,5 % de urea, con un incremento de 10,66 unidades porcentuales con respecto al valor de la harina de cáscara de cacao sin fermentar.

Bermúdez (2002) realizó la fermentación en estado sólido de la cáscara de cacao mediante el hongo de pudrición blanca *Pleurotus ostreatus* var. Florida., y obtuvo un sustrato remanente con características para ser utilizado como alimento animal, donde hubo en el proceso de fermentación una disminución de la MS y un aumento de la PB en 7,08 unidades porcentuales con respecto al valor de la cáscara sin fermentar

Ramos *et al.* (2006) utilizaron la caña de azúcar enriquecida con residuales de sorgo (saccha-sorgo) y con pulidura de arroz (saccha-pulido) y obtuvieron un alimento de mejor composición bromatológica con disminución de las fracciones de fibra. Según Chafla (2016) la fermentación de la cáscara de cacao con una solución de 0,5 % sales minerales, 1,5 % de urea y 2 % miel, produce incrementos de la concentración de hongos y levaduras que llevan a incrementos notables de la proteína verdadera, modificaciones en la fibra y reducción de los polifenoles presentes, a partir de las 48 h.

Durante la FES de residuos agroindustriales ricos en azúcares y celulósicos, la energía de esos carbohidratos y la urea como fuente de nitrógeno (N) se utilizan para el crecimiento de la microbiota epifítica del sustrato, duplicando la biomasa en 5 minutos, lo que hace posible obtener incrementos en las poblaciones de levaduras y bacterias principalmente, aún en la fase de secado, sin la utilización de inóculo en el sistema (Valiño *et al.*, 1994).

Como la adición de 1,5 % de urea a la fermentación de la cáscara del fruto del cacao produjo incrementos apreciables en la proteína bruta y en la proteína verdadera, se continúan los estudios, con este nivel de urea y en dinámicas hasta las 96 h. Se toman además como referencia los resultados obtenidos por Chafla (2016) donde obtuvo con esta variante de fermentación incrementos de la concentración en la biomasa microbiana traducida en incrementos de la PV y además de la disminución de polifenoles.

4.1.2. Experimento 2. Composición bromatológica de las variantes de FES de la HCC con inclusión de VITAFERT

Al analizar el efecto de los niveles de VITAFERT y el tiempo de fermentación (0 y 96 h), no se encontró interacción en los indicadores bromatológicos: Cz, PB, FDN, MO y Ca como se muestra en la tabla 18, pero si para la MS, PV y la FDA, (tabla 13).

Los incrementos de ceniza que se obtuvieron, según la adición de VITAFERT al proceso, posiblemente se deba a la presencia de minerales vigentes en la harina de cáscara de cacao. Fundamentalmente Ca y P, también al VITAFERT que se adicionó al

inicio de la fermentación. Además, a la fermentación de azúcares disponibles, así como de los almidones que bacterias y levaduras desarrolladas durante el proceso, utilizaron como fuente de energía para su desarrollo y síntesis celular. Lo que provocó una disminución de la MO, semejante a lo que plantea Blardony (2010).

Tabla13. Efecto de niveles de VITAFERT y el tiempo de fermentación en la concentración de, Cz, PB, FDN, MO y Ca DE la harina de cáscara de cacao durante la fermentación en estado sólido.

Factor	Cz (%)	PB (%)	FDN (%)	MO (%)	Ca (%)
Tiempo (h)					
0	11,46 ^a	9,72 ^a	64,60 ^a	88,53 ^a	0,74 ^a
96	11,64 ^b	11,06 ^b	65,02 ^b	88,34 ^b	0,77 ^b
EE±	0,02	0,10	0,08	0,02	0,02
Probabilidad	p<0.001	p<0.001	p<0.001	p<0.001	p<0.001
VITAFERT (%)					
0	11,05 ^a	16,00 ^a	67,24 ^c	88,94 ^b	0,68 ^a
2,5	11,47 ^b	15,98 ^a	64,23 ^b	88,51 ^a	0,75 ^b
5,0	11,45 ^b	17,34 ^b	63,63 ^a	88,54 ^a	0,75 ^b
EE±	0,02	0,10	0,08	0,02	0,02
Probabilidad	p<0.001	p<0.001	p<0.001	p<0.001	p<0.001

a, b, c Medias con letras distintas en cada columna difieren a p<0,05 según Duncan (1955)

El porcentaje de cenizas aumentó su concentración en 0,42 y 0,44 unidades porcentuales con la adición de 2,5 y 5,0 % de VITAFERT (p<0,001) sin diferencias entre estos niveles. Al transcurrir el tiempo de FES a las 96 h hubo un incremento en su contenido de 0,18 unidades porcentuales con respecto a la hora cero. Lo que tuvo relación con la disminución de la MO (p<0,001), al añadir 2,5 % de VITAFERT sin diferencia con el 5 %.

La PB aumenta con el tiempo de fermentación y la inclusión de VITAFERT, su máximo valor lo alcanza cuando se añade 5 % del producto al proceso (17,34 %). Este resultado pudiera atribuirse a que parte del nitrógeno amoniacial se retuvo, por el pH

bajo. Aunque este indicador fermentativo no se determinó en la presente tesis, el producto añadido en este experimento al proceso de fermentación tiende a disminuir el pH debido a la presencia en su composición de bacterias ácido lácticas, las que producen ácido láctico durante su actividad fermentativa. Elías *et al.* (1990) y Elías y Lezcano (1994) y pudo además transformarse en péptidos y aminoácidos por la acción directa de la enzima L-GDH.

Resultados similares fueron observados por Brea (2015) en la fermentación de la harina de frutos del árbol del pan, con inclusión de VITAFERT en niveles de 2,5 y 5,0 %, similar a lo estudiado en la presente tesis. A las 48 h con 1,5 % de urea hubo un incremento en la concentración de la PB, sin diferencias entre estos niveles de inclusión, alcanzando valores de 18,06 y 18,52 % respectivamente, con respecto a la hora cero

La inclusión de VITAFERT provoca una disminución de la FDN, su menor contenido se encontró en el tratamiento con 5 % de inclusión, hubo una disminución de 3,61 unidades porcentuales, al comparar con el tratamiento con 0 % de inclusión. El calcio aumenta su concentración con la inclusión del VITAFERT, pudiera deberse a la premezcla mineral que posee este en su composición. Los valores de la MS, PV, FDA y MO se muestran en la tabla 14.

La reducción de los niveles de FDN al incluir VITAFERT, pudiera deberse a procesos hidrolíticos, donde los carbohidratos solubles que se liberan por la biomasa microbiana, pudieran utilizarse como fuente de energía por los microorganismos y produce como consecuencia un aumento en el contenido celular, junto con la síntesis de PV. Resultados similares informaron Elías *et al.* (2001) y Ramos (2005).

Esta reducción pudo estar determinada también por aumento de la solubilidad de la pared celular de la cáscara de cacao, como resultado del aumento de la actividad enzimática de los microorganismos inoculados (presentes en el VITAFERT), por el aumento de la disponibilidad de nitrógeno, expresada en el incremento de los valores de proteína y ceniza, que según Elías y Herrera (2008) es uno de los factores que

pueden limitar la digestión de la pared de la fibra, el que tiene impacto directo en la actividad digestiva microbiana (Morales, 2013).

Dean *et al.* (2005) describen la disminución de la FDN después de añadir aditivos microbianos donde ciertas enzimas fibrolíticas pueden aumentar la digestibilidad anaeróbica del producto. Según Weinberg *et al.* (2007) refieren aumento en la digestibilidad de la MS y de la FDN en silos de trigo y de maíz inoculados con bacterias lácticas, esto se debe al efecto que tienen estas bacterias, de potencializar la degradación de la pared celular (Elías y Herrera, 2008). Se demuestra que la acción del VITAFERT provocó, un efecto estimulante sobre la actividad fibrolítica y funcional de los microorganismos presentes (Contreras *et al.*, 2009).

Tabla 14. Efecto de niveles de VITAFERT y el tiempo de fermentación en la concentración de MS, PV y FDA de la harina de cáscara de cacao durante la fermentación en estado sólido.

Indicador	Tiempo (h)	Niveles de VITAFERT (%)			EE± Probabilidad.
		0	2,5	5,0	
MS (%)	0	91,10 ^c	90,27 ^c	88,68 ^b	0,37
	96	88,23 ^b	86,35 ^a	85,39 ^a	p <0,001
PV (%)	0	9,06 ^a	10,00 ^b	10,12 ^b	0,12
	96	10,12 ^b	11,18 ^c	11,88 ^c	p <0,001
FDA (%)	0	50,56 ^a	49,25 ^a	48,02 ^a	3,20
	96	52,32 ^b	50,79 ^a	48,71 ^a	p <0,001

a, b, c, d, Medias con letras distintas difieren a p<0,05 según Duncan (1955)

La materia seca disminuye su concentración a medida que se incluyó VITAFERT y trascurrió el tiempo de fermentación. Alcanza su valor mínimo a las 96 h y 5 % de VITAFERT, con 5,71 unidades porcentuales de diferencia, con respecto al valor del inicio de la fermentación.

Como en experimentos precedentes, las menores concentraciones de la MS en el máximo nivel de VITAFERT pudieran asociarse a una mayor utilización de la energía para la síntesis (Rooke *et al.*, 1987). Por lo tanto, cuando se produce un incremento de esta acción, su reflejo sería, primeramente, en la fuente de carbono, que no es más que la fuente energética del sistema y uno de los componentes fundamentales de la MS.

La reducción de la MS puede deberse también a la utilización de los carbohidratos solubles como fuentes energéticas de los procesos metabólicos, aunque no se descarta una pérdida de los metabolitos intermediarios que son volátiles a la temperatura que se someten las muestras para este análisis

El aumento de la PV en la FES se relaciona estrechamente con el desarrollo de microorganismos (levaduras y bacterias) que se generan en el sistema. Estos utilizan al nitrógeno amoniacal como fuente nitrogenada y a los ácidos grasos como fuente de energía para sintetizar proteína unicelular (Elías *et al.*, 2001), lo que trajo consigo un incremento en este indicador. Resultados similares describieron Díaz *et al.* (2010) cuando utilizaron bagazo de manzana como sustrato en la FES, y Brea (2015) cuando incluye VITAFERT en la FES de la harina de frutos del árbol del pan.

Elías *et al.* (1990), Ramos *et al.* (2006) y Becerra *et al.* (2008) aunque utilizaron otros sustratos encontraron incrementos en la PV, relacionándolo al crecimiento microbiano que se desarrolla durante el proceso de FES. En otros productos fermentados hubo incrementos de la PV a partir de su biota epifita (Elías *et al.*, 1990; Elías *et al.*, 2001; Ramos, 2005; Rodríguez, 2005 y Díaz, 2014).

El VITAFERT, es un activador de la fermentación que estimula la producción de ácidos orgánicos, disminuye el pH, incrementa y estabiliza la proteína, aumenta la digestibilidad de la materia seca y disminuye las fracciones de la pared celular de las materias alimenticias que se someten a su acción (Elías *et al.*, 2008).

La fibra detergente ácida aumenta su concentración en la variante sin inclusión a las 96 h de fermentación. Sin embargo, en el resto de las variantes se mantiene constante mostrando una ligera disminución al finalizar el proceso al añadir 5 % de VITAFERT.

El hecho de que la FDA experimentara pocos cambios en sus relaciones porcentuales al incorporarse niveles de VITAFERT, podría indicar que los carbohidratos estructurales se utilizaron en pequeñas proporciones en los procesos energéticos y respiratorios, por lo que, las disminuciones de los carbohidratos solubles, indicarían que los microorganismos acumularon carbohidratos en forma polimerizada, ya sea en forma de pared celular, de carbohidratos de reserva o ambos (Carrillo (1971) citado por Álvarez, 1982).

Elías *et al.* (2001) estudiaron el efecto que producía la harina de maíz, de soya desgrasada, o ambas, en la FES de la caña inoculada con VITAFERT. Con la inclusión de este inóculo en el proceso se obtuvieron valores de 22,19 % de PB; 15,93 % de PV y 95,39 % de MO y disminuyó la FB en la caña (testigo). Sin embargo, Rodríguez (2005) obtuvo la sacchayuca, inoculada con 10 % de VITAFERT e incluyó carbonato de calcio (0; 0,3; 0,6 y 0,9 %) como amortiguador. El pH se elevó de 5,77 a 6,59 con la inclusión del mayor porcentaje del tampón, así mismo, la PB, la PV y la DMS.

Según Brea (2015) el proceso de fermentación en estado sólido mejora el valor nutritivo de la harina de frutos del árbol del pan al incrementarse el contenido de proteína bruta y verdadera, además disminuye la concentración de taninos y saponinas. La incorporación de 1,5 % de urea, 5 % de VITAFERT y 0,6 % carbonato de calcio mejora las características químicas de la harina de frutos del árbol del pan fermentada en 48 h.

Arias (2010) adicionó VITAFERT y melaza en la fermentación en estado sólido de la pollinaza, con el objetivo de incrementar el contenido de PB y PV en el proceso fermentativo. Encontró que en los tratamientos con mayores niveles de melaza y VITAFERT hubo mayor retención de PB y PV en el sistema a las 24 h. Así mismo, Morales (2013), utilizó el VITAFERT como aditivo en la obtención de un ensilaje de *Tithonia: Kinggrass*, donde encontró que las mezclas del ensilaje con niveles de VITAFERT 4,5 y 6,0 mL·kg⁻¹, presentaron mayor valor nutritivo, en términos de superior contenido de PB, ceniza y menor FDN.

Rodríguez (2005) estudió la inclusión de la raíz de yuca en FES de la caña de azúcar con 10 % de VITAFERT. La inclusión de yuca provocó la disgregación de los componentes de la fibra, pero el VITAFERT disminuyó el pH y no hubo incremento en el contenido de PV, lo que se debió, posiblemente, al efecto tóxico que producen los ácidos láctico y acético a pH bajo (Geros *et al.*, 2000). Posteriormente, este investigador incluyó carbonato de calcio como amortiguador, lo que trajo consigo una elevación del pH, al igual que de la PB, la PV y la DMS.

4.2. Digestibilidad aparente de los nutrientes.

Para el estudio de digestibilidad de los nutrientes se utilizó la variante de FES que contenía 1,5 % de urea, 5 % de VITAFERT y el tiempo de fermentación de 96 h, por los valores obtenidos de PB y PV. Los resultados del análisis bromatológico realizado a esta variante y a las dietas establecidas para la experimentación, se muestran en las tablas 15 y 16 respectivamente.

Tabla 15. Composición bromatológica (% en BS) de la harina de cáscara de cacao fermentada en estado sólido.

Indicadores	Cantidad (%)
Materia seca	85,39
Proteína bruta	19,51
Proteína verdadera	11,88
Fibra detergente neutra	63,39
Fibra detergente ácida	48,71
Ceniza	11,59
Materia orgánica	88,40
Fósforo	0,13
Calcio	0,72

Los valores de los componentes bromatológicos de la HCC-FES, poseen características aceptables para su utilización en la alimentación de la especie cúnícola, con adecuado contenido fibroso y proteico, a partir de los cuales se puede proponer

como ingredientes en dietas para conejos. Las dietas experimentales se encuentran en correspondencia con los requerimientos para esta especie, con un apropiado balance de nutrientes, donde los valores de la PB están alrededor del 17 % y la FB en el 14 %, acordes con lo establecido por De Blas y Mateo (2010) quienes recomiendan PB entre 14.2 % y 18 % y FB de 13.5 %- 15.0 %.

Tabla 16. Composición bromatológica de las dietas experimentales

Indicadores (%)	Dietas con inclusión de HCC-FES		
	Dieta 1 (0 %)	Dieta 2(10 %)	Dieta 3 (20 %)
Materia seca	90,34	91,12	90,65
Proteína bruta	17,79	17,38	17,17
Fibra bruta	13,62	14,61	14,45
Ceniza	11,85	11,98	12,03
Materia orgánica	88,15	88,02	87,97
Calcio	0,72	0,68	0,63
Fósforo	0,38	0,34	0,28
Energía digestible (Mkcal)	2 667	2 743	2 767

Las dietas elaboradas mostraron un elevado contenido de ceniza en un rango de 11,85-12,03 % lo cual sugiere que pudieran tener un adecuado balance de minerales, capaz de suplir las exigencias de los conejos para estos componentes.

Según los resultados obtenidos, el consumo de alimento no mostró diferencias entre las dietas en estudio, este está en correspondencia con la edad y peso de los animales en estudio como se muestra en la figura 4.

En este sentido Acosta *et al.* (2018) observó que la inclusión de 10 % y 20 % de harina de coco desgrasada en las dietas promovió un incremento del consumo de alimentos significativamente superior al del grupo de animales alimentados con la dieta con 0 %, mientras que aquellos que consumieron dietas con 30 % y 40 % no presentaron diferencias respecto al grupo que consumió la dieta referencial.

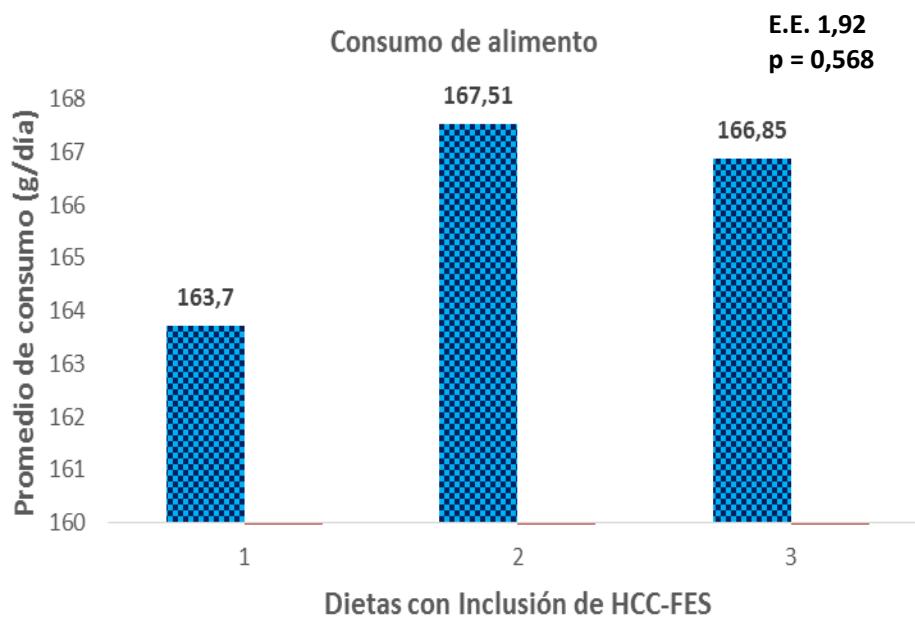


Figura 4. Promedio de consumo diario de alimento de las dietas experimentales

En lo referente al consumo de alimento los resultados son superiores a los referidos por Nieves *et al.* (2002) cuando incluyeron niveles de 20 y 30 % de follaje de *Leucaena leucocephala* en forma de harina para conejos y obtuvieron valores de 71,39 y 74,36 g/conejo/día, respectivamente. Sin embargo, estos autores informaron para niveles de 10 y 40 % de dicha planta consumo de 58,82 y 52,67 g/conejo/día, respectivamente.

Por su parte Fomunyam (2000) citado por Nieves *et al.* (2009) encontró valores de consumo de 112,5 y 121,5 g/conejo/día, en gazapos de engorde con peso promedio de 1124,1 g, al evaluar el uso de dietas balanceadas peletizadas, en ambiente tropical.

En cuanto al uso de fuentes alternativas en la alimentación de conejos, Caro y Dihigo (2012) Informaron valores de consumo diario de 102 g, 95 g y 92 g en proporciones de 0 %, 15 % y 30 %, respectivamente con el uso de *Moringa oleifera*, en tanto Nieves *et al.* (2004) al evaluar tres niveles de inclusión hasta el 30 % de harina de morera en la dieta no observaron diferencias significativas en el consumo comparado con una dieta de concentrado comercial.

Estos resultados de consumo coinciden con Nieves *et al.* (2011) al incluir forraje de árnica (*Thitonia diversifolia*) en dietas para conejos de engorde, en niveles de 0 %; 9 % y 18 % , el consumo de alimento fue similar entre las dietas en estudio, alcanzando

valores de 115,30; 118,57 y 113,77 g/dia, respectivamente y plantean además que la utilización de subproductos agrícolas puede contribuir a mejorar la alimentación de esta especie, en concordancia con una adecuada utilización de los recursos disponibles para promover la sostenibilidad de estos sistemas de producción.

Los efectos fisiológicos más importantes ocurren sobre el consumo voluntario, secreciones digestivas, absorción en el tránsito intestinal y metabolismo lipídico (Savón, 2002). Según Gidenne (2003) la inclusión de fibra incrementa el consumo alimentario para mantener el gasto de energía digestible, debido a su bajo contenido energético. Sin embargo, en este trabajo no se observó aumento del consumo de alimento debido a que los niveles de este componente se encuentran dentro del rango requerido para la especie (Riverón *et al.*, 2005).

Para una evaluación nutricional de las dietas, se hace necesario el conocimiento de la cantidad de nutrientes presente en cada una de las dietas que será utilizada por el animal, información que se obtiene a través de ensayos de digestibilidad (Coelho *et al.*, 2008), ya que el valor nutritivo se relaciona directamente con la digestibilidad de los nutrientes.

La predicción precisa del valor nutritivo se puede realizar cuando la digestibilidad se combina con los datos del aporte de nutrientes. Por esta razón, es de vital importancia determinar el contenido de nutrientes y la digestibilidad de los nutrientes en dietas cuando se incorporan fuentes no convencionales (Nieves *et al.*, 2006).

Con respecto a los valores de los coeficientes de digestibilidad aparente (CDA), no hubo diferencias entre las dietas para los CDAMS y CDAPB, encontrándose en un rango de 65, 55 % - 66,23 % para la materia seca como se observa en la tabla 17, estos valores fueron inferiores a los encontrados por Caro (2014) al utilizar harina de forraje de *Moringa oleífera* en dietas para conejos y superiores a los que informa Nieves *et al.* (2001) para dietas en forma de harina que incluían niveles análogos de follaje de *Trichanthera gigantea* y *Leucaena leucocephala* y a Adejinmy *et al.* (2008) al utilizar este mismo alimento alternativo fermentado en dietas para esta especie.

Tabla 17. Coeficientes de digestibilidad aparente de materia seca (CDAMS), proteína bruta (CDAPB), fibra bruta (CDAFB), ceniza (CDCz) y materia orgánica (CDAMO) de las dietas con inclusión de harina de cáscara de cacao fermentada en estado sólido.

Dietas	CDAMS (%)	CDAPB (%)	CDAFB (%)	CDACz (%)	CDAMO (%)
Dieta 1 (0 %)	66,23	77,22	50,16 ^a	65,00 ^a	72,73 ^b
Dieta 2 (10 %)	65,55	76,39	55,50 ^b	71,15 ^b	70,55 ^a
Dieta 3 (20 %)	65,84	76,91	62,07 ^c	72,45 ^c	70,43 ^a
EE±	1,66	1,10	1,92	1,05	0,54
Probabilidad	p=0,964	p=0,185	p<0,001	p<0,001	p<0,001

^{a, b, c} letras distintas en cada columna indican diferencias a p< 0,05 según Duncan (1955)

Gonzalvo *et al.* (2001); Hernández *et al.* (2005) y La O (2007) obtuvieron valores de coeficientes de digestibilidad de la MS, inferiores (55,60; 56,53 y 56,12 %) a los que se obtuvo en este estudio, al utilizar follajes de *Leucaena leucocephala*, *Trichanthera gigantea* y *Teramnus labialis*, respectivamente y a su vez fueron inferiores al 61,65% que alcanzó Nieves *et al.* (2006) con follaje de *Morus alba* en forma fresca.

Los CDA de la PB se encontraron altos para los niveles de inclusión de la harina de cáscara de cacao en las dietas, resultados semejantes a los de la presente investigación, fueron encontrados por Brea (2015) con la inclusión de 20 % de harina de frutos del pan fermentada en estado sólido en conejos de ceba, donde obtuvo valores del CDAPB de 78,50 % y CDAMS de 68,60 %. La elevada digestibilidad de la PB de la presente investigación se pudiera atribuir al pequeño tamaño de partículas, que proporcionó mayor ataque microbiano (Dihigo, 2007).

Por su parte Acosta *et al.* (2018) al incluir harina de coco desgrasada en dietas para conejos en crecimiento (10, 20, 30 y 40 %) obtuvo CDA de la PB de 76,56 % y de la MS de 57,56 %, entre estos indicadores con la inclusión del 20 %, no obtuvo diferencias entre las dietas en estudio.

En la investigación de diferentes fuentes de fibra y almidón para conejos en crecimiento, con dietas que contenían cáscara de soya, Arruda *et al.* (2002) describieron valores de CDA para la PB de 69,10 %, inferiores a los obtenidos en el presente trabajo.

El coeficiente de digestibilidad aparente de la FB fue mayor ($p<0,05$) en las dietas que incluyeron HCC-FES con respecto al control, con diferencias entre ellos encontrándose el valor más elevado para el nivel del 20 %. El aumento en la digestibilidad de la fibra en las dietas que contenían HCC-FES en sus dos variantes, pudiera determinarse por un mayor tiempo de retención de la digesta en el ciego, lo que generaría incremento en la actividad fermentativa. Según Gidenne *et al.* (2000) al incrementar la fibra en la dieta de la especie cúnícola se mejora su digestibilidad por un aumento tanto en cantidad como en calidad de la actividad microbiológica cecal.

Resultado similar fue obtenido por Vasconcelos (2007) quien encontró coeficientes de digestibilidad de 63,73 % para la fibra bruta de dietas con inclusión de harina de coco en esta especie y atribuyó esos resultados a la elevada proporción de fibra digestible existente.

Savón (2010) observó que la digestibilidad de FDN mejoró con la presencia de la harina de mucura (*mucuna pruriens* L.) en la dieta (10, 20 y 30 %), aunque no existieron diferencias entre el 20 % y el control (harina de forraje de alfalfa). Por otra parte, Albert (2006) encontró valores de digestibilidad de la FDN hasta un 70 % en dietas que contenían 35 % de harina de forraje de morera en cuyes, especie que posee características fisiológicas similares a las del conejo.

Por otra parte, la fibra ejerce efectos fisiológicos a lo largo del tracto gastrointestinal de especies monogástricas, a través de las propiedades físico-químicas de sus componentes solubles e insolubles (Caro y Dihigo, 2012). La fibra insoluble (hemicelulosas, celulosa y lignina), influye en la velocidad del tránsito intestinal y son el sustrato para los microorganismos, por lo tanto, regulan el crecimiento y la salud digestiva de los conejos (Gidenne *et al.*, 2010).

La proporción de fibra digerida es limitada y depende fundamentalmente de la proporción de fibra soluble (pectinas oligosacáridos, betaglucanos, pentosas) que se digiere parcialmente en el intestino delgado (Carabaño *et al.*, 2010) y es la fracción con mayor disponibilidad para los microorganismos, la fermentación de la fibra es importante porque los productos de su digestión modifican el medio en el que se desarrollan los microorganismos (acidez y concentración de ácidos grasos volátiles) en el ambiente cecal del tracto digestivo de los conejos (De Blas *et al.*, 1999) citado por Lara *et al.* (2012).

Acosta *et al.* (2018) encontró que la inclusión de harina de coco no afectó los CDA de la MS. Sin embargo, para la PB y la FB hubo una tendencia a disminuir respecto a la dieta referencial en las inclusiones del 30 % y el 40 %, mientras para la Cz y la MO el descenso se mostró a partir del 20 % y el 10 % de inclusión respectivamente.

Por su parte Vásquez *et al.* (2016) incluyeron palmiste en la alimentación del conejo y obtuvieron como resultado: en los coeficientes de digestibilidad de la MS, PB, MO, FDN y FDA, los valores siguientes: dieta base (0 % Palmiste): 73,9 %, 85 %, 47,7 %, 79,4 %, 73 % y 49,4 %; dieta 2 (15 % palmiste): 64,8 %, 78,9 %, 28,9 %, 68,4 %, 62,4 % y 38 % y dieta 3 (30 % de palmiste): 57,8 %, 76 %, 24,5 %, 66,5 %, 57,3 %, 36,9 %, respectivamente. Los resultados indicaron que el palmiste puede incluirse hasta en 30 % en la dieta de conejos sin afectar los parámetros de digestibilidad.

Alves (2014) trabajó con conejos Nueva Zelanda Blanco y encontró valores de CDMS, CDFDN y CDEB inferiores a los que se obtuvo en este estudio (57,03; 32, 15 y 57 %), respectivamente. Lui *et al.* (2005) trabajaron con conejos Nueva Zelanda Blanco y encontraron valores de digestibilidad de PB semejantes (76,06 %) al presente estudio y de MS y EB inferiores (53,56 y 59,17 %), respectivamente al utilizar una dieta que contenía heno de alfalfa. En el mismo trabajo estos autores encontraron coeficiente de digestibilidades de MS, PB y EB inferiores (55,24; 62,22 y 59,90 %), a los que se encontró en el presente estudio, en una dieta que contenía maíz molido.

Antunes *et al.* (1999) evaluaron la digestibilidad de heno de maní forrajero (*Desmodium spp*) en conejos Nueva Zelanda Blanco en crecimiento, encontraron valores inferiores

de CDMS, CDEB y CDPB (56,8; 56,3 y 66,7 %), respectivamente. Resultados similares encontraron Scapinello *et al.* (2000) al evaluar heno de leucaena, lograron digestibilidades de MS, MO, EB y PB inferiores a los del presente estudio (57,36; 57,15; 56,35 y 62,90 %), respectivamente.

Faria *et al.* (2008) estudiaron la utilización digestiva de dietas que incluían heno de alfalfa y otra heno de rama de yuca, encontraron diferencias ($p<0,05$) entre ellas para el CDMS, CDPB y CDEB, el tratamiento que incluyó heno de rama de yuca (29,64; 46,96 y 24,52 %), respectivamente fue inferior al tratamiento que incluía heno de alfalfa (50,66; 73,29 y 50,59 %), respectivamente.

Los valores del CDAMO disminuyen con los niveles de inclusión de HCC-FES, sin diferencias entre ellos, sin embargo, los conejos mostraron un buen aprovechamiento del contenido de cenizas, el CDACz incrementó conforme al porcentaje de inclusión, con valor máximo en la dieta 3 (20 %) con una concentración de 72,45 %. En este sentido De Blas y Mateos (1998) señalan que la absorción de estos compuestos por los conejos es muy eficiente, independientemente de la necesidad del animal.

Adejinmi *et al.* (2008) plantean que utilizar la cáscara de cacao fermentada en dietas para la especie cúnícola, mejora la digestibilidad de nutrientes e incrementa el rendimiento en peso de los conejos hasta un nivel de reemplazo del 40 % para el maíz. Los conejos alimentados con cáscara de cacao fermentada mostraron un mejor rendimiento general en la ingesta de alimento, aumento de peso, y mejor digestibilidad de los nutrientes.

Lara *et al.* (2012) evaluaron tres dietas con inclusión de harina de morera (*morus alba*) y tulipán (*Hibiscus rosa-sinensis*) como sustitutos parciales de la soya y la dieta convencional en dietas integrales para conejos, donde el consumo fue mayor ($p < 0,05$) en los conejos con inclusión de morera, seguido por la dieta con harina de tulipán y la dieta convencional, 153; 133 y 122 g/día respectivamente. Los valores de digestibilidad de la MS para las dietas con harina de morera y de tulipán, fueron de: 76,6 y 80,8 %; para la: MO de: 77,4 y 81,4 % y para la PB de: 86,8 y 80,0 %. Estos resultados fueron

superiores a los valores de digestibilidad de estos indicadores encontrados en el presente estudio.

Molina *et al.* (2013) al utilizar niveles de aceite de *Attalea butyracea* (palma de vino) como complemento para dietas en conejos Nueva Zelanda Blanco, obtuvo valores de digestibilidad para la MS de 72,6 % para la PB, 78,5 % y para la MO, 73,8 %, donde refieren estos valores en rangos normales y plantean además que son importantes para favorecer una función digestiva y absorción de nutrientes normal en el animal.

Chinchilla (2017) al evaluar la inclusión de botón de oro (*Thitonia diversifolia*) presentó un buen contenido de nutrientes digestibles totales, lo cual constituye un recurso alimenticio alternativo utilizable en la alimentación de conejos en condiciones tropicales, con el fin de disminuir los costos de producción.

Este mismo autor plantea además, que una alimentación a base de 100 % de concentrado, resulta muy costosa, y se debe tener en cuenta también que el conejo es un animal esencialmente herbívoro, pero en una dieta a base de 100 % forraje tampoco se le garantiza al animal los nutrientes en la cantidad requerida, al hacer la asociación con el concentrado y el botón de oro, el contenido de nutrientes de todos los tratamientos estuvieron dentro del rango de los requerimientos y mostraron una buena digestibilidad.

Los subproductos agroindustriales representan una fuente de biomasa para su uso en la alimentación animal, a través de procesos como la FES que mejora su valor nutricional y la digestibilidad como lo plantean Ajila *et al.* (2012). La inclusión de alimentos alternativos en dietas prácticas es limitada por la escasa información disponible sobre su utilización digestiva Nieves *et al.* (2006) y se emplean para disminuir el costo en concentrados. Basado fundamentalmente en la calidad del suplemento (Mora, 2010) por lo que se limitó en esta investigación, la inclusión de la harina de cáscara de cacao, obtenida por fermentación en estado sólido hasta el 20 %.

4.3. Valoración Económica

4.3.1 Costo de producción de la HCC-FES

La tabla 18 presenta el costo total para producir una tonelada de harina de cáscara de cacao fermentada, elaborada para zonas con abundante producción de este cultivo (teniendo en cuenta que para obtener 1 t de HCC se necesitan 4 t de cáscaras frescas) la cual tuvo un costo de 281,10 pesos MN.

Tabla 18. Ficha de costo para producir una tonelada de harina de cáscara de cacao fermentada en estado sólido

Insumos	Jornadas de trabajo (8 h)	Costo (CUP)
Recolección de las cáscaras (a un costo diario de 11,73 \$/obrero) 2 obreros	4	93,84
Secado	4	46,92
Molinaje	½	5,86
Gasto del molino: 1 kw/h durante 4 h	-	0,36
Montaje de la fermentación	½	5,86
Urea (30 Kg)	-	78,26
VITAFERT (50L)	-	50,00
Secado después de la fermentación	1	11,73
Costo total de una tonelada de HCC-FES		281,10

La elaboración de harina de cáscara HCC-FES, además de resultar barata, constituye un proceso poco complejo que pueden realizar los campesinos y empresas agropecuarias estatales. Con una mínima inversión pueden conservar gran cantidad de este alimento, que nutricionalmente brinda características aceptables y puede utilizarse en varias especies de animales económicamente útiles al hombre en condiciones tropicales.

Este valor está muy por debajo de los precios actuales de los granos, cereales y harinas de follajes ricos en proteína que se comercializan en el mercado internacional,

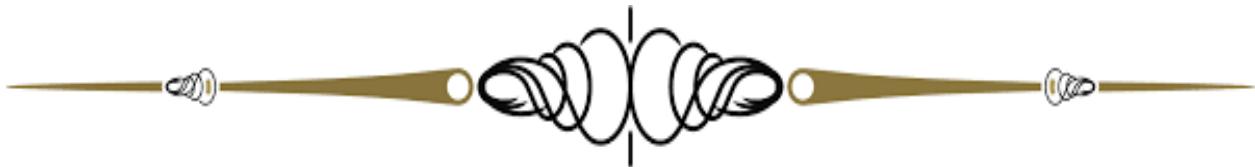
lo cual justifica su producción en el oriente cubano y otras provincias con abundante población de este cultivo, con destino a la alimentación animal.

Aunque en la presente tesis no se evaluó el comportamiento productivo de la especie, con la inclusión en la dieta de este alimento fermentado, otros investigadores refieren resultados positivos al utilizar alimentos alternativos en la alimentación animal, en este sentido, Nieves *et al.* (2008); La O (2007); Brea (2015) y Leyva (2010) informaron ahorros económicos considerables cuando utilizaron sistemas de alimentación alternativa en conejos, sustituyendo una parte de los alimentos convencionales y plantean que los indicadores productivos estuvieron dentro del rango de lo permisible para esta especie animal.

La implementación de alimentos alternativos, puede constituir una opción para conseguir la reducción de costos de alimentación y lograr que la producción de conejos en condiciones tropicales sea más competitiva, aspecto de primera importancia si se considera que en este sistema de producción, la alimentación representa alrededor de 70 % de los costos. (Nieves *et al.*, 2009).

Pérez *et al.* (2009) señalan que el uso de materias primas alternativas en la alimentación animal para sustituir importaciones, reducir la competitividad con la alimentación humana, preservar el ambiente, constituye un reto para los nutricionistas, pequeños y medianos productores, en la búsqueda de soluciones para lograr sistemas ecológicamente sostenibles y eficientes.

CAPÍTULO V

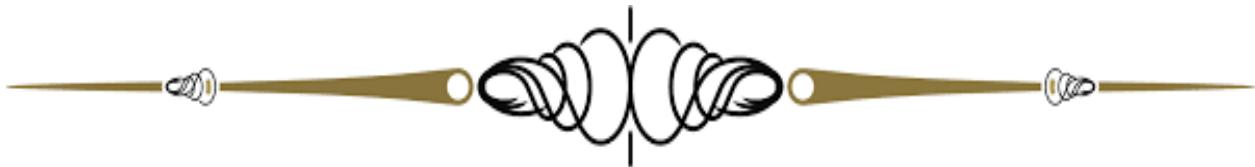


CONCLUSIONES

V. CONCLUSIONES

1. La fermentación de la harina de cáscara de cacao en estado sólido con la incorporación de 1,5 % de urea y 5 % de VITAFERT mejora las características bromatológicas a las 96 h, con incrementos de la proteína bruta, la proteína verdadera y disminución de las fracciones de fibra.
2. La HCC-FES presenta un buen contenido de nutrientes digestibles para conejos de ceba, con valores de CDA por encima del 65 %, por lo que constituye una alternativa para la alimentación de esta especie.
3. La ficha de costo de la HCC-FES resultó ser económicamente factible, lo que justifica su implementación en zonas con elevada producción de este cultivo y contribuye a la sustitución de importaciones para la alimentación cunícola.

CAPÍTULO VI

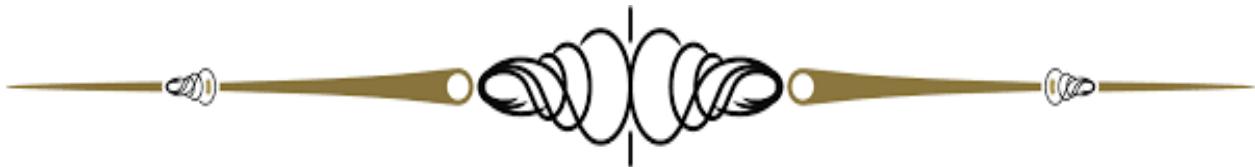


RECOMENDACIONES

VI. RECOMENDACIONES

1. Implementar la fermentación en estado sólido con urea y VITAFERT para incrementar el valor nutritivo de la cáscara de cacao y de otros subproductos agrícolas disponibles en la localidad, para su uso en la alimentación cúnícola.
2. Evaluar otros porcentajes de inclusión de este alimento alternativo, en la especie cúnícola, así como estudios de comportamiento en una etapa productiva.
3. Realizar investigaciones que incluyan a la harina de cáscara de cacao fermentada en estado sólido como sustituto parcial de alimentos convencionales, en dietas para otras especies de animales económicamente útiles al hombre.

CAPÍTULO VII



REFERENCIAS

BIBLIOGRÁFICAS

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abarca, D., Martínez, R., Muñoz, J., Torres, M., Vargas, G. 2010. Residuos de Café, Cacao y Cladodio de Tuna: Fuentes Promisorias de Fibra Dietaria. Revista Tecnológica ESPOL – RTE. 23(2): 63-69.
2. Acosta Y., La O AL., Valdivié MI., Cantalapiedra J. 2018. Digestibilidad de dietas con niveles crecientes de harina de coco desgrasada en conejos en crecimiento. Rev. Cien. Agri.; 15(1): 45-51.
3. Adejinmy, O., Hamzat, R., Fapohunda, JB. 2008. Performance and Nutrient Digestibility of rabbits fed fermented and unfermented cocoa pod husk. Nig. J. Anim prod.
4. Ajila, C.M., Brar, S.K., Verma, M., Tyagi, R.D., Godbout, S. y Valero, J. R. 2012. Bio-processing of Agro-Byproducts to Animal Feed. Critical reviews in biotechnology, 32 (4): 382-400.
5. Albert, A. 2006. Evaluación biofisiológica de las especies *Trichantera gigantea*; *Morus alba* y *Erythrina poeppigiana* en cuyes, en la región de Topes de Collantes. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Medicina Veterinaria. Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba. p. 40-53.
6. Álvarez, C.R.J. 1982. Digestibilidad de la proteína de la levadura de torula en cerdos alimentados con dietas a base de miel final de caña. Tesis en opción al grado científico de Doctor en ciencias. ICA. Habana, Cuba.
7. Alvarez, L., Mendoza, G., Aranda, E., Ramos, J., Mora, O. y Hernández, P. 2011. Efecto del nivel de sustitución del bagacillo de retorno (Pachaquil), fermentado en estado sólido y ensilado, en el comportamiento productivo de vaquillas en el trópico. Rev. Cubana Ciencias Agrícolas, 45 (3): 257-260.
8. Alves, F. 2014. Avaliação nutricional do bagaço de cana-de-açúcar enriquecido com vinhaça em dietas para coelhos em crescimento. Dissertação apresentada para Obtenção do grau de Mestre em Zootecnia. Universidade Federal de Minas Gerais Escola de Veterinária. Brasil. p. 32-80.

9. Antunes, E. B., Scapinello, C., Furlan, A. C., Jobim, C. C., Martins, E. N., Moreira, I. y Castelini, T. F. 1999. Valor nutritivo e utilização do feno de *Desmodium ovalifolium* em substituição ao feno de alfalfa para coelhos em crescimento. *Acta Scientiarum*, v. 21(3): 687- 692.
10. Anupama, M y Ravindra, P. 2001. Studies on production of single cell protein by *Aspergillusniger* in solid state fermentation of rice bran. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 44 (1): 79-88.
11. AOAC, 2000. Official Methods of Analysis 17th.Ed. Assoc. Off, Agric. Anal.Chem. Arlington, Virginia. p. 580.
12. Aranda, I. E. M. 2012. Utilización de la caña de azúcar en la alimentación de rumiantes. Tesis de Doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad Autónoma de México. p .90.
13. Arias, F.T. 2010. Efecto de los niveles de VITAFERT y melaza en la pollinaza fermentada aeróbica. Tesis presentada en opción al grado científico de Master en Ciencias de Producción Agroalimentaria en el Trópico. p. 63.
14. Arruda, A.M.V., López, D.C., Ferreira, W.M., Rostagno, H.S., Queiroz, A.C., Pereira, E.S., Albino, L.F.T. y Silva, J.F. 2002. Digestibilidade aparente dos nutrientes de rações contendo diferentes fontes de fibra e níveis de amido com coelhos em crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 31(3): 1166-1175.
15. Arvelo M.A., Delgado T., Maroto S., Rivera J., Higuera I. y Navarro A. 2016. Estado actual sobre la producción y el comercio del cacao en América. ISBN: 978-92-9248-617-4. p. 18.
16. Barazarte, H., Sangronis, E., Unai, E. 2008. La cáscara de cacao (*Theobroma cacao L.*): Una posible fuente comercial de pectinas. Sociedad Latino Americana de Nutrición. 58(1): 64-68.
17. Bartley, B.G. 2005. The genetic diversity of cacao and its utilization. Wallingford. CABI Publishing. p. 341.
18. Bhargav, S., Panda, B., Ali, M., Javed, S. 2008. Solid-state fermentation: an overview. *Chem. Biochem. Eng.Q.* 22(1): 49-70.

19. Becerra, A. 2006. Aprovechamiento de subproductos de Manzana Mediante la Producción de Proteína Microbiana con Fermentación en Estado Sólido para la Alimentación Animal. Disertación Doctoral. Facultad de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua. México.
20. Becerra, A., Rodríguez, C., Jiménez, J., Ruiz, O., Elías, A. y Ramírez, A. 2008. Urea y maíz en la fermentación aeróbica de bagazo de manzana para la producción de proteína. *Tecnociencia Chihuahua* 2(1): 7-14
21. Bermúdez, R., Ramos, I., Donoso, C., García, N. 2002. Fermentación sólida de la cáscara de cacao por *Pleurotus ostreatus*. *Revista Tecnología Química* 22(3): 53.
22. Berrade, M., Mejías, M., Ferrer, J., Chandler, C., Paez, G. 2009. Fermentación en estado sólido del desecho generado en la industria vinícola. *Rev. Agron (Zulia)* 26: p.398-422.
23. Bidot, I. 2015. Variabilidad morfológica, genética y propuesta de colección núcleo de *Theobroma cacao*. L tradicional cubano. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Biológicas. Universidad de La Habana. p 11
24. Blandino, A., Dravilles, K., Cantero, D., Pandiella, S. and Webb, C. 2001. Utilization of whole wheat flour for the production of extracellular pectinases by some fungal straing, *Process Bioche*. Vol 37. p. 497-503.
25. Blardony, K. 2010. Utilización del VITAFERT en corderos de pelo durante la lactancia y su efecto en el postdestete. Tesis presentada en opción al grado científico de Master en ciencias. Colegio Postgraduados. Campus de Tabasco. México. p. 95.
26. Borrás, L.M., Torres, G. 2016. Producción de alimentos para animales a través de fermentación en estado sólido – FESORINOQUIA - Universidad de los Llanos - Villavicencio, Meta. Colombia Vol. 20. No 2.
27. Borrás. L.M., Elias, A., Moyano, M. 2014. Efecto de la Temperatura y el Tiempo sobre los Indicadores de la Papa (*Solanum tuberosum*) Fermentada en Estado Sólido. *Ciencia y Agricultura.*; 11(2): 31- 38.

28. Brea, O. 2015. Obtención de un alimento energético-proteico a partir de la fermentación en estado sólido de la harina de frutos del árbol del pan (*Artocarpus altilis*) y su empleo en dietas para conejos y cerdos. Tesis en opción a grado científico de doctorado. Inst. Ciencia Animal. Cuba.
29. Brenes, O. 1990. Posibilidades de la utilización de los subproductos del beneficio del cacao. IICA.
30. Cabrera, E., León, V., Montano, A. y Dopico, D. 2016. Caracterización de residuos agroindustriales con vistas a su aprovechamiento. Centro Azúcar 43. p.27-35
31. Calavari, A.P, López, D.J., Viana, J.A. 2006. Determinação do valor nutritivo de alimentos energéticos e proteicos utilizados em rações para cães adultos. Revista Brasileira de Zootecnia, v.35, n.5, p.1985-1991.
32. Calderón, J. 2005. Procesos biotecnológicos en residuales avícolas y sus efectos sobre el valor nutritivo y el comportamiento animal. Tesis en Opción al grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias, ICA, La Habana, Cuba. p.100.
33. Calderón, E., Matos, Ch., Rodrigo, A. 2011. Fuentes para la extracción de pectina y su aplicación en la industria. Papiros. Descargado el 19 de noviembre del 2018 de <http://papiros.upeu.edu.pe/handle/123456789/165>.
34. Camps, J. 2006. Cunicultura: Cría de conejos (artículo en línea). Recuperado el 24 de septiembre de 2018, de Cría de conejos.
35. Cándido, M., Neiva, J., Pimentel, J. 1999. Avaliasão do valor nutritivo do bagazo de caña de azúcar amonizado com uréia. Rev. Bras. Zootec., v. 28, n.5.p.928-935.
36. Cannel, E., Moo-Young, M. 1980. Solid state fermentation Process Biochem.15:2-7
37. Cappitelli, F., Sorlini, C. 2010. Paper and Manuscripts. In: Cultural Heritage Microbiology: Fundamental Studies in Conservation Science. Mitchell R,McNamara CJ (ed). ASM Press, Washington, USA. p. 45-59.
38. Carabaño, R., Piquer, J., Menoyo, D. y Badiola, I. 2010. The digestive system of the rabbit. In: Nutrition of the rabbit. De Blas, C. and Wiseman, J. (eds). 2nd Edition.CAB International. p. 1-18.

39. Caro, Y. y Dihigo, L.E. 2012. Comportamiento productivo de conejos alimentados con dietas que incluían harina integral de dólico y mucuna. Revista UNELLEZ de Ciencia y Tecnología, 30 (1): 29-35.
40. Caro, Y. 2014. Uso de la harina de forraje de Moringa (*Moringa oleífera var. Supergenius*) en la alimentación de conejos de ceba Nueva Zelanda Blanco. Tesis en opción al Título de Máster en Ciencias en Producción Animal. ICA. La Habana. Cuba. p. 29-32.
41. Castro, A.C. 2009. Utilização digestiva, metodologias de avaliação “in vitro” de dietas e caracterização da microbiota cecal em coelhos suplementados com *Lithothamnium*. Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutorem Zootecnia. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. p.78
42. Castro, C., Zuluaga, R., Putaux, J., Caro, G., Mondragón, I., Gañán, P. 2011. Structural characterization of bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacters wingsii* sp. from Colombian agroindustrial wastes. Carboh. Polym. 84(1) p. 96-102.
43. Coelho, C.C.G.M., Euler, A.C. y Ferreira, W.M. 2008. Coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca e proteína bruta de dietas com diferentes níveis de inclusão de levedura torula (*Cândida utilis*) para coelhos Nova Zelândia Branco. In: Congresso brasileiro de zootecnia. p. 18.
44. Contreras, F.E., Marsalls, M.A y Laurlault, L.M. 2009. Inoculantes microbiales para ensilaje: Su uso en condiciones de clima cálido. MN State University. Servicio de Extensión Cooperativa. Facultad de Ciencias Agrarias, Ambientales y del consumidor circular: 642. p. 1- 8.
45. Cressente, V. 1999 Libro estudio de los subproductos de los desechos del cacao. Volumen I.
46. Cuevas.R, E., Verdugo.M, N., Angulo.B, P., Milán.C, J., Mora.E, R. 2005. Nutritional properties of tempeh flour from quality protein maize (*Zea mays L.*). Foodscience and technology, 39, 10. p.1072-1079.

47. Chafla, A L. 2016. Fermentación en estado sólido de la cáscara del fruto de cacao y su evaluación en dietas para cuyes. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. Mayabeque. Cuba.
48. Chinchilla, S.E. 2017. Evaluación de la digestibilidad in vivo de en Conejos, utilizando *Thitonia diversifolia* como reemplazo parcial del concentrado. Trabajo de tesis por el título de Médico veterinario zootecnista. Universidad de los Llanos. Villavicencio. p 25.
49. Church, D.C., W.G., Pond, y K.R. Pond. 2002. Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. Editorial Limusa, S. A. de C. V. 2° Edición. p. 472 -475.
50. Dean, D.B., Adegoan, A., Krueger, N y Litell, R. 2005. Effect of fibrolytic enzymes of the fermentation characteristics, aerobic stability and digestibility of Bermuda grass silage. J. Dairy Sci, 88: p.994-1003.
51. De Blas, J.C. y Mateos, G.G. 1998. The nutrition of the rabbit. Cambridge: CAB International. p. 241 - 253.
52. De Blas, J.C. y Mateos G.G. 2010. Feed formulation. In: The Nutrition of the Rabbit. De Blas C., Wiseman J. (Eds.). 2nd Edition. CABI Publishing, CAB International. Wallingford Oxon, UK. p. 222- 232.
53. De Brito, C.B.M., Félix, A.P., de Jesús, R.M. 2010. Digestibility and palatability of dog foods containing different moisture levels, and the inclusion of a mould inhibitor. Animal feed science and technology, v.159, n.3, p.150 -155.
54. Díaz, B. 2014. Evaluación de residuos agrícolas post cosecha en ensilajes inoculados con preparados microbianos nativos para alimentación de vacas lecheras en Ecuador. Tesis presentada para la opción de Doctor en Ciencias Veterinarias. Mayabeque, Cuba. p. 112.
55. Díaz, B. y Plascencia, L., 2010. Fermentación en Estado Sólido del cacao con hongos filamentosos, celulasas, amilasas, pectinasas, xilaninas y glucoamilasas.

56. Díaz, D., Rodríguez, C., Mancillas, P., Angulo, C., Salvador, F., Arzola, C., Jiménez, A., Mena, S. y Elías, A. 2010. Producción de proteína microbiana a partir de manzana de desecho con fermentación en estado sólido a 32°C. Rev. Electrónica Vet. p.11:10.
57. Dihigo, L.E. 2005. Avances en los estudios de fisiología digestiva del conejo en Cuba con el uso de fuentes de alimentos no tradicionales. Consideraciones fisiológicas. VIII Encuentro de Nutrición y Producción de Animales Monogástricos. Guanare. Venezuela.
58. Dihigo, L.E. 2007. Caracterización físico-química de productos tropicales y su impacto en la morfofisiología digestiva del conejo. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba. p.146.
59. Domínguez, H.; Barrios, G.; Pérez, Y. 2008. Fisiología Digestiva y Nutrición en la Especie Cúnícola. <http://monografias.umcc.cu/monos/2008/> Agronomia/m0816.pdf
60. Duncan, B. 1955. Multiple range and multiple F test. Biometrics, 11.
61. Duniérea, J., Sindoub, F., Chaucheyras-Durand, I., Chevallier, D. y Thévenot-Sargenteta. 2013. Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. Animal Feed Science and Technology, 182: p.1-15. DOI: 10.1016/j.anifeedsci. 2013.04.006.
62. Elías, A., Lezcano O., Lezcano P., Cordero J. y Quintana L. 1990. Una reseña descriptiva sobre el desarrollo de una tecnología de enriquecimiento proteico de la caña de azúcar a través de fermentación en estado sólido. Saccharina. Rev. Cubana Ciencias Agrícolas. 24(1): 3-12.
63. Elías, A. y Lezcano, O. 1994. Efecto de la inclusión de niveles de harina maíz en la fermentación de la caña de azúcar. Rev. Cubana Ciencias Agrícolas. 28. p.319
64. Elías, A., y Lezcano, O. 2000. Inclusión de niveles de harina de soya desgrasada y sin desgrasar en la fermentación de la caña de azúcar en estado sólido (Sacchasya). Rev. Cubana Ciencias Agrícolas. 34:143.

65. Elías, A.; Lezcano, O. y Herrera F.R. 2001. Bromatological indicators and final fermentation products for the production of four types of Saccharina inoculated with VITAFERT. Rev. Cubana Ciencias. Agrícolas. 35(1): 145
66. Elías, A. y Herrera, F. R. 2008. Producción de alimentos para animales a través de procesos biotecnológicos sencillos con el empleo de Microorganismos Beneficiosos activados (MEBA). VITAFERT. p. 8-13.
67. Elías, A., Chilibroste, P., Michelena, J.B., Iriñiz, J y Rodríguez, D. 2010. Evaluación de ACTIBIOL y MEBA con ensilaje de sorgo y despuente de caña de azúcar: valor nutritivo, fermentabilidad *in vivo* e *in vitro* y pruebas con animales en crecimiento y vacas lecheras. Informe de avance Proyecto.Uruguay.
68. Enríquez, G. 2001. Manual del Cacao para agricultores. Editorial UNED, México, 2001, 59p. Consultado [16 octubre 2011]. Disponible en :<<http://www.iica.gov.ar>>
69. Espinosa, J.D. 2008. Evaluación de dos procesos para mejorar la calidad nutricional de la harina de yuca (raíces y follaje) como alimento para cerdos en la etapa de ceba. Tesis de grado. Cali: Facultad de Ingeniería, Universidad de San Buenaventur, p.76.
70. Fanchini, C., Temer, B., Teixeira, M., Cano, E. 2010. Production of xylanolytic enzymes by *Penicillium janczewskii*.Biores. Technol. 101(11): 4139-4143.
71. FAO. (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2004. Perspectivas a plazo medio de los productos básicos agrícolas. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y5143s/y5143s00.pdf>.
72. FAO. 2012. Declaración sobre la seguridad alimentaria mundial. Seguridad alimentaria Consultado: 2 febrero 2018.
73. FAO. 2015. Perspectivas alimentarias. El papel de la FAO en la producción animal. Disponible en: <http://faostat3.fao.org>.
74. FAO. 2018. Declaración sobre la seguridad alimentaria mundial. Seguridad alimentaria. Producción de carne de conejo. Consultado: 16 abril 2019.

75. Faria, H.G., Ferreira, W.M., Scapinello, C. y Oliveira, C.E.A. 2008. Efeito da utilização de dietas simplificadas, à base de forragem, sobre a digestibilidade e o desempenho de coelhos Novo Zelândia. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37(10) p.1797-1801.
76. Franco, M., Ramírez, M., García, R., Bernal, M., Espinosa, B., Solís, J., Durán, C. 2010. Reaprovechamiento integral de residuos agroindustriales: cáscara y pulpa de cacao para la producción de pectinas. *Revista latinoamericana el Ambiente y las Ciencias*.
77. Geros, H., Cassio, F. y Leao, C. 2000. Utilization and transport of acetic acid in *Dekkera anomala* and their implications on the survival of the yeast in acidic environments. *J Food Prot* 63: p.96–101.
78. Gidenne, T., Pinhero, A., Falcao, L. y Cunha, C. 2000. A comprehensive approach of the rabbit digestion: consequences of a reduction in dietary fiber supply. *Livestock Production Science*. p.64: 225.
79. Gidenne, T. 2003. Fibres in Rabbit Feeding for Digestive Troubles Prevention: Respective Role of low-Digested and Digestible Fibre. *Livestock Production Science*, 81 (2): 105-117.
80. Gidenne,T., Carabaño, R., García, J., De Blass, C. 2010. Fibre digestión, in: De Blas C., Wiseman J.(Eds) *The nutrition of the rabbit(2nd)* Wallinford Oxon, CAB Internacional.
81. Gonzalvo, S., Nieves, D., Ly J., Macías, M., Carón M. y Martínez, V. 2001. Algunos aspectos del valor nutritivo de alimentos venezolanos destinados a animales monogástricos. *Livestock Research for Rural Development* 13:2.
82. Granda, D., Mejía, A., Jiménez, G. 2005. Utilización de residuos de plátano para la producción de metabolitos secundarios por fermentación en estado sólido con el hongo *Lentinus crinitus*. *Vitae. Rev, Quim. Farm.* 12(2): 13-20.
83. Gualtieri, M.J., Villalta,C., Díaz, LE., Medina, G. 2007. Producción de biomasa *saccharomyces cerevisiae* y *candida utilis* usando residuos de pulpa de *coffea arabica* L. *INHRR. (Caracas)* 28(2): 13.

84. Harmon, D.L., Gross, K.L. 2000. Influence of fiber fermentability on nutrient digestion in the dog. Basic nutritional investigation, v.16, n.4, p.289-295.
85. Hernández, A., Alfaro I. y Arrieta, R. 2003. Microbiología industrial, editorial UNED, San José, Costa Rica.
86. Hernández, A., Ruiz, y., Acebo, y., Miguélez, Y., Heydrich, M. 2014. Antagonistas microbianos para el manejo de la pudrición negra del fruto en *Theobroma cacao* L. Estado actual y perspectivas de uso en Cuba. Rev. Protección Veg. 29(1).
87. Hernández, J. 1978. Fitotecnia del cacao. La Habana, Cuba. Editorial Pueblo y Educación. p. 228.
88. Hernández, Y. Dihigo, L.E., Domínguez, M. y Sarduy, L. 2005. Comparación de tres métodos de incubación/filtración “*in vitro*” para determinar el efecto en la digestibilidad de la MS y PB en la morera (*Morus alba*) con el uso del contenido cecal del conejo. XVI FORUM de Ciencia y Técnica. ICA. La Habana, Cuba, p. 41.
89. Herrera, A.P. 2003. Eficiência produtiva e avaliação nutricional de dietas simplificadas base de forragens para coelhos em crescimento. Tesis de Doctorado. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, pp.104.
90. Henao, J.D., Gutiérrez, N., Oviedo., O.M. 2012. Uso de subproductos agrícolas en la alimentación de conejos en fases de ceba y reproducción. Popayán rev.bio.agro vol.10 no.2.
91. Hristov, A.N., Ropp, J.K., Grandeen, S., Abedi, S., Etter, R.P., Melgar, A. 2005. Effect of carbohydrate source on ammonia utilization in lactating dairy cow.J.Dairy Sci. 83: p.408-421.
92. Jauregui, J. 1992. Incremento del contenido proteico de la guayaba por medio de una fermentación en estado sólido para la elaboración de un alimento para ganado. Revista Investigación y Ciencia 5(1): 32-36.
93. Julliand, V.; De Fombelle, A.; Varlou, M. Starch .2006. digestion in horses: The impact of feed processing. Livestock science, v.100, n.1. p.44-52.

94. Krishna, C. 2005. Critical Solid-State Fermentation Systems-An Overview Reviews in Biotechnology; ProQuest Agriculture Journals.
95. La O, A.L. 2007. Alimentación de conejos (*Oryctolagus cuniculus*) con follajes, caña de azúcar y semillas de girasol. Tesis e Doctorado en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana. Cuba.
96. Lara, P., Itza, M., Sanginés, J. y Magana, M. 2012. *Morus alba* o *Hibiscus rosa-sinensis* como sustituto parcial de soya en dietas integrales para conejos. AIA. 16(2): 9-19. ISSN.0188789-0.
97. Leyva, C. 2010. Caracterización química de harinas de frutos y hojas del árbol del pan (*Artocarpus altilis*) y su empleo en la alimentación de pollos, conejos y ovinos de ceba. Tesis de Doctorado. Instituto de Ciencia Animal. Cuba. p.130.
98. Loures, D.R.S., Nussio, L.G., Paziani, y S. De F. 2005. Composição bromatológica e produção de efluente de silagens de capim-Tanzânia sob efeitos do emurcemento, do tamanho de partícula e do uso de aditivos biológicos. Rev. Bras. Zootec., v.34, n.3. p.726-735.
99. López, B. 2009. Producción y empleo del Hidroforraje de *Leucaena leucocephala* para la alimentación de conejos. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad de Granma. p.146.
100. López, O. Montejo, I. L. 2005. Evolución de indicadores productivos en conejos alimentados con morera y otros forrajes. Rev. Pastos y Forrajes 28:45.
101. Lui, J.F., Andrade, B.R.P., Oliveira, M.C., Santos, E.A. y Caires, D.R. 2005. Valor nutritivo do feno de alfafa e do pé de milho moído para coelhos em crescimento. Ars Veterinaria, v.21 (Supl): 142-146.
102. Martínez, J; Villamizar, R; Ortiz, O. 2015. Caracterización y evaluación de la cáscara de mazorca de cacao (*Theobroma cacao L.*) como fuente de energía renovable. Agrociencia 49(3): 329-345.
103. Meir, H. 1986. Laborpraktike. Tierernährung und futtermittel lkunde fur Tierproduktion. Verlag, Germany. p 35-40.

104. Merencio, C, J.L. 2018. El cacao después de los ciclones. Cuba Debate. Prensa cubana. Consejo Editorial. Red 2.0. wwwcubadebate.cu.
105. Mitchell, D.A., Berovic, M. y Krieger, N. 2002. Overview of solid state bioprocessing. Biotechnology annual Review. Elsevier Science. Animal Feed Science and technology.8:183-200. DOI: 10.1016/S1387-2656(02)08009-2.
106. Molina, E., Novel, G., Sánchez, R. y Rojas, J. 2013. Aceite crudo de *Attalea butyracea* en dietas para conejos y su efecto sobre consumo, digestibilidad de nutrientes y química plástica. Livestock Research for Rural Development. 25(11).
107. Mora, V.H. 2009. Utilización de microsatélites en el estudio de la resistencia de árboles seleccionados de cacao (*Theobroma cacao L.*) a la enfermedad "Mancha de agua" (*Phytophthora megasperma*). Tesis presentada en opción al título de Licenciado en Biología. Departamento de Biología. Universidad de Los Andes. p.117
108. Mora, R. 2011. Aprovechamiento de la cáscara de cacao a través de la máquina de molienda para la elaboración de balanceado para bovinos. Descargado de <http://es.scribd.com/doc/71979536/Cáscara-de-Cacao>.
109. Mora, V.D. 2010. Usos de la morera (*Morus alba*) en la alimentación del conejo. El rol de la fibra y la proteína en el tracto digestivo. Agronomía mesoamericana, 21 (2). 357-366.
110. Morais, F. 2013. Avaliação nutricional da levedura torula (*Candida utilis*) de vinhaçaem dietas para coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) e cutias (*Dasyprocta spp.*). Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestreem Zootecnia. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. Brasil. p. 92.
111. Morales, M.A. 2013. Efecto del aditivo Vitafert en la composición química, degradabilidad ruminal in situ y potencial fermentativo in vitro, en ensilados de *Tithonia diversifolia* y *Penisetum purpureum*. Tesis presentada en opción al grado científico de Master en ciencias. Instituto de Ciencia Animal. Cuba. p. 26-28.

112. Morgan, F. 2003. La pulpa de café enriquecida. Un aporte al desarrollo sostenible en la zona montañosa de Guantánamo. Tesis en opción al grado científico de doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. p. 97.
113. Moyano, M. 2014. Fermentación en estado sólido (FES) de la papa (*Solanum tuberosum*), como alternativa tecnológica para la alimentación animal. Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista. Universidad Nacional (UNAD). Tunja, Colombia. p.115.
114. Nieves, D., López, D. y Cadena, D. 2001. Alimentación de conejos con dietas basadas en materias primas no convencionales. Rev. UNELLEZ de Ciencia y Tecnología. Volumen Especial. p. 60.
115. Nieves, D., Silva, B., Terán, O. y González, C. 2002. Aceptabilidad de dietas con inclusión de *Leucaena leucocephala* y *Arachis pintoi* en conejos de engorde. Segundo Congreso de Cunicultura de las Américas, La Habana, Cuba.
116. Nieves, D., Cordero, J., Terán, O., González, C. 2004. Aceptabilidad de dietas con niveles crecientes de morera (*Morus alba*) en conejos destetados. Zootecnia Tropical, 22 (2):183-190.
117. Nieves, D.; Araque, H. y Terán, O. 2006. Digestibilidad de nutrientes del follaje de morera (*Morus alba*) en conejos de engorde. Revista UNELLEZ de Ciencia y Técnica, 16 (4): 364-370.
118. Nieves, D., Barajas, A., Delgado, G., González, C. y Ly, J. 2008. Digestibilidad fecal de nutrientes en dietas con forrajes tropicales en conejos. Comparación entre métodos directo e indirecto. Bioagro. 20(1): 67-72.
119. Nieves, D., Moncada, I., Terán, O., González, C., Silva, L. y Ly, J. 2009. Parámetros digestivos en conejos de engorde alimentados con dietas basadas en follajes tropicales. Digestibilidad ileal. Bioagro. 21(1): 33-40
120. Nieves, D., Terán, O., Cruz, L., Mena, M., Gutiérrez, F. y Ly, J. 2011. Nutrients digestibility in *Tithonia diversifolia* foliage in fattening rabbits. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 14: 309-314.

121. Nossa, M.O., Moreno, O., Pedraza, C. 1994. Suplementación de vacas en lactancia con cáscara de cacao. CORPOICA. <http://www.corpoica.org.co/SitioWeb/Default.asp>.
122. Núñez, N. 2010. El cacao y el chocolate en Cuba. 2da Edición. La Habana. Fundación Fernando Ortiz. p.336.
123. ONEI (Oficina Nacional de Estadística e Información), 2017. Agricultura, Ganadería, Silvicultura y Pesca, p. 230. Disponible en: www.onei.cu.
124. ONEI (Oficina Nacional de Estadística e Información), 2019. Agricultura, Ganadería, Silvicultura y Pesca, p 230. Disponible en: www.onei.cu.
125. Osorio, E., Giraldo, J., Narváez, W. 2012. Metodologías para determinar la digestibilidad de los alimentos utilizados en la alimentación canina. vet. zootec. 6(1): 87-97.
126. Pandey, A., Soccol, C., Mitchell, M. 2000. New developments in solid state fermentation: I- bioprocesses and products. ProcessBiochemistry, 35. p.1153–1169.
127. Pandey, A., Soccol C.R., Rodríguez-León, J.A. y Nigam, P. 2001. Solid-state fermentation in biotechnology. Fundamentals and applications. Asia tech Publishers. p .56-65.
128. Pandey, A. 2003. Solid state fermentation. Biochemical Engineering Journal, 13, p.81
129. Parra, G. 2005. Origen del cacao en Venezuela. En: I Congreso Venezolano del Cacao y su Industria. Caracas, Venezuela. p. 255.
130. Pastrana, L. 1996. Fundamentos de la fermentación en estado sólido y aplicación a la industria alimentaria. Ciencia y Tecnología Alimentaria (México), 1(3): 4-12.
131. Pedraza, M. 2000. Bagazo rico en proteína (Bagarip). Alimento animal obtenido por fermentación en estado sólido. Revista de Producción Animal 12:8.
132. Pérez, L. M. 1996. Fermentación en estado sólido del Mijo de perla (*Pennisetum americanum* L. Leeke) por *Rhizopus oligosporus* para la obtención de un producto

- rico en proteína. Tesis de maestría. Monterey: Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nueva León. p.78.
133. Pérez, A., Montejo, I., Iglesias, J., López, O., Martín, G; García, D., Milián, I y Hernández, A. 2009. *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. En: Scielo. Vol. 32 (1)
134. Pulido, N.J., Borras, L.M., Rodríguez, C.E. 2016. Elaboración de un alimento energético-proteico para animales, basado en residuos de cosecha de pera (*Pyrus communis*). *CorpoicaCienTecnol Agropecuaria*. 17(1): 7-16.
135. Ramos, J.A. 2005. Obtención de un concentrado energético- proteínico por fermentación en estado sólido de la caña de azúcar para bovinos en ceba. Tesis de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana.
136. Ramos, J., Elías, A., Herrera, F. 2006. Procesos para la producción de un alimento energético - proteico para animales. Efecto de cuatro fuentes energéticas en la fermentación en estado sólido (FES) de la caña de azúcar, *Rev. Cubana Cien. Agric.*; 40(1): 51-58.
137. Ramos, J.A., Aranda, I.E y Elías, A., 2007. Patrones de fermentación ruminal y digestibilidad in situ en bovinos alimentados con forraje y suplementos a base de caña de azúcar fermentada en estado sólido. *Producción animal Tropical en II Congreso Internacional de Producción Animal*, La Habana, Cuba.
138. Reed, G. 1981. Use of microbial cultures: yeast products. *Food Technology*. 35: p. 89.
139. Riverón, S., Ponce, R., Reinaldo, L., Clavijo, A. y Clavijo, Y. 2005. Manejo y explotación del conejo. La Habana. Cuba.
140. Rodríguez, Z., Elías, A., Boucourt, R. y Núñez, O. 2001. Dinámica de fermentación de mezclas de caña (*Saccharum officinarum*) y boniato (*Ipomea batata* Lam.). *Revista. Cubana Ciencias Agrícolas*. 35(2): 147.
141. Rodríguez, Z. 2004. Uso del boniato (*Ipomoea batata*. L) en la tecnología de fermentación en estado sólido de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). Tesis presentada en opción al grado científico de doctor en Ciencias Veterinarias. Inst. Ciencia Animal. Habana. Cuba.

142. Rodríguez. C, Sanromán, A. 2005. Application of solid-state fermentation to ligninolytic enzyme production. *Biochemical Engineering Journal* 22: p.211-219.
143. Rodríguez-Muela, C., D. Díaz, F. Salvador, O., Ruiz, C., Arzola, A., Flores, O., La O. y Elías, A. 2010. Efecto del nivel de urea y pasta de soya en la concentración de proteínas durante la fermentación en estado sólido de la manzana (*Malus domestica*). *Rev. Cubana de Cien. Agríc.*, 44(1): 23-26.
144. Romero, C. 2008. La importancia de la cecotrofia en el conejo. Universidad Politécnica de Madrid Boletín de Cunicultura n153 .
145. Rojas, A., Otazo, E., Bolarín, A., priet, F., Román, A. 2014. Residuos agrícolas: Caracterización y estrategias sustentables para su aprovechamiento. *Revista Iberoamericana de Ciencias* ISSN 2334-2501.
146. Rooke J.A., Lee N.H. y Armstrong D.G. 1987. The effects of intraruminal infusions of urea, casein, glucose syrup and a mixture of casein and glucose syrup on nitrogen digestion in the rumen of cattle receiving grass- silage does. *British J. of Nutr.* 57.p.89.
147. Ruiz, T.E., Febles, G. y Alonso, J. 2003. Potencial para la producción de biomasa en sistemas con leguminosas perenne. En: II foro Latinoamericano de pastos y forrajes. La rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44.p.1768-1776.
148. Salazar, J.A. 2016. Rendimiento de Biomasa y valoración nutrimental de Residuos poscosecha de cacao (*Theobroma cacao L*) Tesis en opción al título de Ingeniero Agropecuario. Cevallos.Ecuador.
149. Saval, S. 2012. Aprovechamiento de residuos agroindustriales: Pasado, Presente y Futuro. *Rev. Mex. Biotecnología.* 16(2): 3-18.
150. Savón, L. 2002. Alimentos altos en fibra para especies monogástricas. Caracterización de la matriz fibrosa y su efecto en la fisiología digestiva. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 36 (2): 91-102.
151. Savón, L. 2010. Harinas de forrajes tropicales. Fuentes potenciales para la alimentación de especies monogástricas. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias. Instituto de Ciencia Animal. p.251.

152. Scapinello, C., Furlan, A.C. y Gidenne, T. 2005. Importância da padronização de metodologias e técnicas experimentais para avaliação de alimentos em coelhos. Anais dos Simpósios da 42^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia.
153. Schneider, B.A.; Flatt, W.P. 1975. The evaluation of feeds through digestibility experiences. Athens: The University of Georgia. p.423.
154. Shirai, K., Malpica, F. 2013. Tecnología de Fermentaciones Alimentarias. Manual de laboratorio. 1 ra ed. Universidad Autónoma Metropolitana, México, DF. p 11
155. Silva. H. 2016. Efecto de la ingestión de residuos pos cosecha de *Theobroma cacao* L. sobre el comportamiento productivo de cerdos en la fase de engorde.
156. Stein, H.H., Fuller, M.F., Moughan, P.J. 2007. Definition of apparent, true, and standardized ileal digestibility of amino acids in pigs. Livestockscience, v.109, p.282-285.
157. Statista. 2019. Volumen de carne de conejo producida en el mundo desde 2012 hasta 2017 en miles de toneladas. Descargado en enero 2019 de: <https://es.statista.com/estadisticas/525924>.
158. TEGUIA. 2004. Anuario de estudio de la sustitución de maíz por la harina de cáscara de cacao en la alimentación de pollos parrilleros.
159. Torres, M. 2012. Influencia de las características y procesado del grano de cacao en la composición físico-química y Propiedades sensoriales del chocolate negro. Universitat Rovira I, Virgili. Cataluña.
160. Urizar, J. 2006. Cifras 2007: Oferta agropecuaria (Mercado internacional de carne de conejo). Ministro de Agricultura y Desarrollo Rural, Corporación Colombia Internacional, Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Disponible en <http://www.minagri.gob.ar/site/index.php> .
161. Van Soest, P.J., Robertson, J.B. y Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and no starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74:3583.

162. Valiño, E., Elías, A., Torres, V., Albelo, N. 2002. Study of the Microbial Contention Fresh Sugar Cane Bagasse as Substrate for Animal Feeding by Solid State Fermentation. Cuban Journal of Agricultural Science. 36(4): 359-364.
163. Vásquez, A., Fabián, E., Juca, J., Paul, H. 2016. Evaluación de la digestibilidad aparente in vivo de dietas isoenergéticas e isoproteicas utilizando palmiste en la alimentación del conejo.
164. Valiño, E., Elías, A., Álvarez, E., Quintana, M. y Montes de Oca, N. 1994. Composición de especies de bacterias aisladas del proceso de la Saccharina. 1. Bacteria Gram negativas. Rev. Cubana Ciencias. Agrícolas. p.28:69.
165. Vasconcelos. C. 2007. Utilização do Farelo de Côco em dietas para coelhos destinados ao abate. Dissertação de Mestrado. Fortaleza-Ceará. Universidade Federal do Ceará Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-graduação em Zootecnia.
166. Viniegra.G., Fanel.E, Aguilar.C, 2003. Advantages of fungal enzyme production in solid state fermentation system Biochemical Engineering Journal 13.p.157-167.
167. Villamizar, Y., Rodríguez, J., León, L. 2017. Characterization physicochemical, microbiological and functional of cacao shell flour (*Theobroma cacao* L.) variety CCN-51 Cuaderno Activa, 9. p.65.
168. Weinberg, Z., Shatz, O., Chem, Y., Yosef, E., Nikbahat, M., Ben-Ghedalia, D. y Minon, J. 2007. Effect of lactic acid bacteria inoculants on *in vitro* digestibility of wheat and corn silages. J. Dairy Sci. 90: p. 47-54.
169. Zanatta, C.P., Félix, A.P., Brito, C.B.M. 2011. Digestibility of dry extruded food in adults dogs and puppies. Arquivo Brasileiro de medicina veterinaria y zootecnia, v.63, n.3. p.784-787.
170. Zhang, T., Yan, S., Li, Z., Wei, S., Qin, G., Kuan, W. 2014. Whole soybean as probiotic lactic acid bacteria carrier food in solid-state fermentation. Food Control. (41): 1-6.