



UNIVERSIDAD DE MATANZAS  
SEDE "CAMILO CIENFUEGOS"  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
CENTRO DE ESTUDIOS BIOTECNOLÓGICOS



TRABAJO DE DIPLOMA: MODALIDAD PROYECTO

OBTENCIÓN DE ALIMENTOS ENERGÉTICOS-PROTEICOS A PARTIR  
DERESIDUOS DE COSECHAS CON LA ADICIÓN DE ADITIVOS  
MICROBIANOS



**Autor:** Joel Ceiro Vera

**Tutoras:** Dr. C. Grethel Milián Florido  
Dr. C. Marlen Rodríguez Oliva

**Consultante:** MSc. Rita Martínez Pichardo  
Especialista en Relaciones Internacionales UM

Matanzas, 2019

**UNIVERSIDAD DE MATANZAS**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**



**Tesis en opción al título de Ingeniero Agrónomo**

**Autor:** Joel Ceiro Vera

**Tutoras:** Dr. C. Grethel Milián Florido

Dr. C. Marlen Rodríguez Oliva

**Consultante:** MSc. Rita Martínez Pichardo

Especialista en Relaciones Internacionales UM

**Matanzas, 2019**

# PENSAMIENTO

"No acabaremos con el hambre en 2030 a menos que abordemos todos los factores que socaban la seguridad alimentaria y la nutrición"....

(FAO, 2017)

# Nota de aceptación

---

---

---

---

---

---

---

---

\_\_\_\_\_  
Presidente del Tribunal Firma

\_\_\_\_\_  
Miembro del Tribunal Firma

\_\_\_\_\_  
Miembro del Tribunal Firma

Dado en Matanzas, el día \_\_\_\_ del mes de \_\_\_\_\_ del año 2019.

“Año del 61 de la Revolución”

# Declaración de autoridad

Declaro que yo: Joel Ceiro Vera soy el único autor de este Trabajo de Diploma, en calidad de lo cual autorizo a la Universidad de Matanzas, hacer uso del mismo con la finalidad que considere pertinente.

-----  
Joel Ceiro Vera

# Dedicatoria

*A mi madre, por darme vida, amor y el firme propósito de alcanzar una carrera digna, por enseñarme a dar aun cuando no tenga recompensa.*

*A mi hermana, por su amor puro y sin límites.*

*A mi padre, por su ilimitada paciencia y su apoyo incondicional durante todo este tiempo.*

# Agradecimientos

- *A mis familiares y amigos por el apoyo brindado durante todos estos años.*
- *A la Universidad de Matanzas, sede “Camilo Cienfuegos” por ser la institución que me apoyo en mi formación como profesional.*
- *A la Dr.C. Grethel Milián Florido, tutora, por compartir su amistad, su confianza, sus conocimientos y brindarme su ayuda en todo momento.*
- *A Dr. C. Marlen Rodríguez Oliva, tutora, por sus conocimientos y brindarme su ayuda cuando más la necesité.*
- *A Dr. C. Ramón Liriano por compartir su amistad y brindarme sus conocimientos.*
- *A mi novia por su apoyo incondicional.*
- *A mis compañeros de aula por los grandes momentos que vivimos durante esta etapa de mi vida.*

# Opinión de los tutores

*Trabajo de Diploma: Modalidad de Proyecto*

*El estudiante Joel Ceiro Vera, trabajó vinculado al Grupo de Aditivos Nutricionales del Centro de Estudios Biotecnológicos, en la confección de un Proyecto Internacional, titulado: Obtención de alimentos energéticos-proteicos a partir de residuos de cosechas con la adición de aditivos microbianos.*

*Consideramos que el tema presentado resulta de una alta novedad científica pues se encuentra en línea con los objetivos de Ciencia y Técnica del Ministerio de Educación Superior, en la búsqueda de nuevas alternativas para incrementar la producción de alimento.*

*El estudiante logró en esta etapa de su formación un nivel de independencia, lo que le permitió realizar con éxito la propuesta de proyecto. El trabajo desarrollado posee una amplia revisión bibliográfica actualizada y presencia de los clásicos en la temática que se aborda, así como, la utilización adecuada del idioma Inglés y de las nuevas técnicas de la informatización.*

*A través de todo el trabajo Joel Ceiro mostró mucho interés y fue receptivo a todas las sugerencias realizadas por las tutoras, elementos que favorecieron en la formación profesional del estudiante.*

*Tutoras de la Tesis:*

*Dr. C. Grethel Milián Florido  
Dr. C. Marlen Rodríguez Oliva*



# ÍNDICE

	Pág.
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>Problema Científico</b> .....	3
<b>Hipótesis</b> .....	3
<b>I. FUNDAMENTACIÓN</b> .....	4
I.1. Situación actual de la producción pecuaria mundial, América Latina y Cuba.....	4
I.2. Categorías pecuarias fundamentales en la cadena productiva y su impacto en la producción de alimento en Cuba.....	10
I.3. Factores antinutricionales en los residuos de cosechas.....	14
I.4. Concepto de fermentación: fermentación en estado sólido.....	17
I.5. Probióticos.....	21
I.5.1. Microorganismo utilizados con fines probióticos: <i>Bacillus</i> spp. y <i>Lactobacillus</i> . spp.....	22
I.5.2. Uso de los probióticos como activador de la Fermentación en estado sólido.....	24
<b>I.OBJETIVOS</b> .....	26
<b>II. RESULTADOS ESPERADOS</b> .....	27
<b>III. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS: CRONOGRAMA</b> .....	28
<b>IV. RECURSOS NECESARIOS Y PRESUPUESTO GLOBAL DEL PROYECTO</b> .....	33
<b>VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	39
<b>VII. ANEXOS</b> .....	49

# INTRODUCCIÓN

## INTRODUCCIÓN

La sociedad actual debe enfrentar uno de sus mayores desafíos, la erradicación del hambre y la desnutrición, lo que está implícito en el primer objetivo de desarrollo del milenio de la *Food and Agriculture Organization* (FAO, 2014), puesto que el número de personas que sufren hambre crónica en el mundo es inaceptablemente elevado. Según los reportes de la FAO (2017b) 795 millones de personas no tienen alimentos para llevar una vida saludable, lo que representa el 13% de la población mundial.

La producción pecuaria mundial deberá aumentar en 60% durante los próximos 40 años para cumplir la creciente demanda global de alimentos que se proyecta en América Latina. De todas las tierras potencialmente aptas para expandir la producción ganadera y agrícola, alrededor del 28% se encuentra en América Latina, más que en ninguna otra región, a excepción de África (FAO, 2017a).

Para darle solución a esta problemática se debe lograr un incremento de la productividad agrícola y los ingresos, así como el fomento de mejores prácticas nutricionales y de programas que incrementen el acceso directo e inmediato de los más necesitados de alimentos. Es necesario impulsar el desarrollo de la ciencia hacia la búsqueda activa de nuevos enfoques de producción que garanticen mayor eficiencia para enfrentar los crecientes problemas de seguridad alimentaria en los países pobres (Brea, 2015).

En la actualidad se utilizan mucho los microorganismos, tanto naturales como obtenidos por vía recombinante, para modificar los patrones de digestión y procesamiento de los alimentos con el fin de mejorar la nutrición y la producción animal (Arteaga *et al.*, 2018).

Dentro de la alimentación animal se encuentran los concentrados, estos constituyen la base fundamental de las dietas. A raíz del uso de estos con otros fines (bioenergéticos), los mismos incrementaron sus costos en más de un 10%, lo que trae consigo la imposibilidad de su compra en el mercado por parte de aquellos países de economías desfavorecidas. Sostener una alimentación a base

de concentrados es muy difícil para las categorías de animales de interés zootécnicos (Brea, 2015).

La existencia en Cuba de una masa ganadera bovina, porcina, acuícola, ovino-caprina y aviar con presencia de sistemas especializados para las mismas, puede hacer de esta actividad una potencia para la obtención de alimentos proteínicos de origen animal (leche, carne, huevos) con alto valor biológico para el consumo humano. Sin embargo, para mantener una producción constante y eficiente de alimentos, es necesario el suministro de dietas bien formuladas con alta proporción de cereales y concentrados de energía y proteína suficientes (Brea, 2015).

Aunque aparentemente en el mercado existe disponibilidad de fuentes de proteína y energía para ser usados en la alimentación animal, estos no siempre están al alcance de los productores debido al costo de los mismos, lo que indica la urgente necesidad del desarrollo de tecnologías para lograr la elaboración de concentrados con recursos naturales locales (Borras, 2017). Para Cuba la adquisición de los concentrados, se agudizó en los últimos años, debido a la pérdida de las relaciones comerciales y el sostenido e incremento bloqueo económico de los Estados Unidos (Milián *et al.*, 2018).

La fermentación en estado sólido (FES), constituye una alternativa viable para la obtención de alimentos. La FES es un proceso muy antiguo y en la actualidad gana un espacio para reutilizar los residuos de cosechas agrícolas e industriales, como una fuente importante de biomasa que se puede utilizar en la alimentación animal (Ajila *et al.*, 2012).

Leuchtenberger *et al.*, (2005), refieren que se utilizan nutrientes obtenidos a través de procesos de fermentación, tales como L-aminoácidos para mejorar la digestibilidad de los pastos, así como, la incorporación de microorganismos con efectos probióticos y prebióticos (Patterson, 2005; Krehbiel, 2003) con el fin de aprovechar los nutrientes e incrementar la digestibilidad de las macromoléculas y disminuir los factores antinutricionales. Todo esto permite el uso de dichos productos en dietas de monogástricos y rumiantes (Deng *et al.*, 2008).

En Cuba, diferentes instituciones trabajan en la búsqueda de fuentes alternativas para la alimentación e incrementar los niveles energéticos - proteicos de los alimentos. Brea (2015) obtuvo un producto biológico a partir de la FES de la harina del fruto del árbol del pan y se lo suministró en la dieta a conejos de ceba y cerdos en pre-ceba con resultados favorable en los indicadores productivos de ambas especies. En el Centro de Estudios Biotecnológicos (CEBIO) de la Universidad de Matanzas se evaluó la incorporación del aditivo nutricional PROBIOLACTIL® con la pulpa de henequén (*Agave fourcroydes* Lem.) para su aplicación en la alimentación de terneros, con mejoras en los indicadores productivos (Del Valle, 2017). Sin embargo, existen otros cultivos que constituyen contaminantes del medio ambiente que pudieran ser reutilizados con ayuda de la FES y la incorporación de los aditivos microbianos probióticos.

**Problema científico:** En los últimos años la producción animal en Cuba y el mundo se ve afectada por los altos costos de los alimentos concentrados y los grandes volúmenes de residuos vegetales que se obtienen producto de la actividad agrícola, los cuales no se utilizan y pueden llegar a contaminar el medio ambiente.

Sobre la base de los antecedentes expuestos y el problema científico, esta investigación se propuso como **hipótesis** la siguiente:

La fermentación en estado sólido (FES) de residuos de cosechas agrícolas, inoculados con aditivos microbianos probióticos, mejorará la calidad nutricional de estos productos y su efecto en los indicadores productivos de animales de interés zootécnico.

# FUNDAMENTACIÓN

## I. FUNDAMENTACIÓN

### I.1. Situación actual de la producción pecuaria mundial, América Latina y Cuba

El 11% de la población mundial padece hambre. Esto significa que 815 millones de personas no tuvieron acceso a una alimentación adecuada en 2016, unos 38 millones más que el año anterior (FAO, 2017c).

Tras casi 10 años de progresiva disminución de la desnutrición mundial, los últimos datos evidencian como este padecimiento va en ascenso a causa de la proliferación de las guerras y el cambio climático. En la última década, el número de conflictos aumentó de forma dramática y se volvieron más complejos e irresolubles por su naturaleza según reportes expuestos por la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO), UNICEF, el Programa Mundial de Alimentos (PMA), el Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola (FIDA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) (FAO, 2017c).

Si bien los conflictos violentos son una de las principales causas del hecho, más de la mitad de los hambrientos en el mundo viven en países en guerra, pero esta no es la única causa. El incremento de la temperatura y los fenómenos naturales contribuyen de manera decisiva a intensificar el hambre en el mundo, lo que afecta sobre todo a los más vulnerables (FAO, 2017c).

La hambruna golpeó durante el último año a Sudán del Sur, Yemen, Somalia y el norte de Nigeria. Los expertos advierten que el riesgo de que el fenómeno se extienda es elevado. El informe denuncia que en las zonas más afectadas de Sudán del Sur los alimentos se utilizan como "arma de guerra". El acceso a la ayuda humanitaria es limitado y la desprotección de los civiles ante la violencia genera que casi dos millones de desplazados internos y más de un millón de refugiados dependan de ayuda externa para sobrevivir (FAO, 2017c).

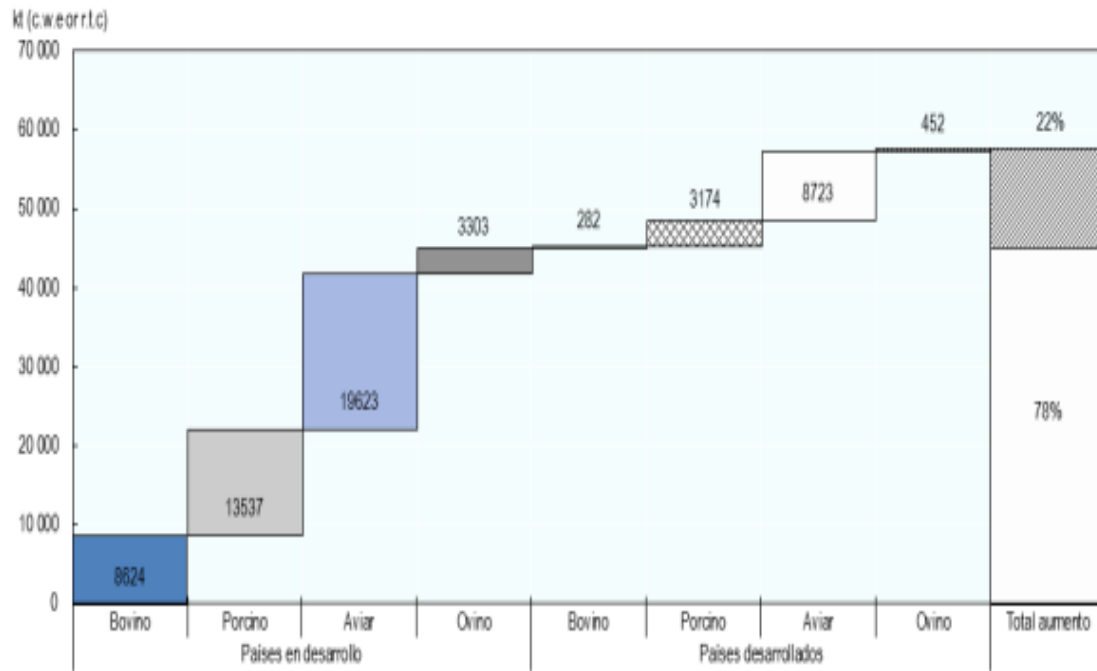
Por otra parte, muchos países, especialmente en las zonas más pobres del planeta, sufren la modificación de su propio territorio debido a las prolongadas

sequías, inundaciones o violentos eventos climatológicos como huracanes. De los más de 800 millones de hambrientos, 520 viven en Asia, 243 en África y 42 en América Latina (FAO, 2017c).

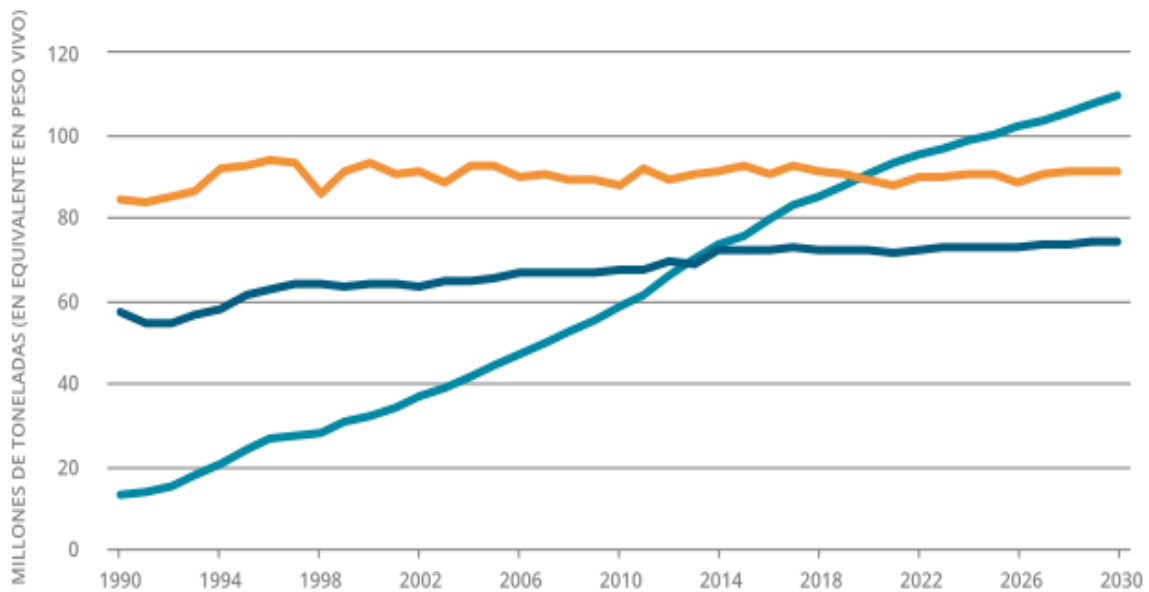
Uno de los datos más alarmantes es el que afecta a la población infantil. Según la FAO, 155 millones de niños menores de cinco años padecen desnutrición crónica, de ellos 122 millones viven en países en conflicto mientras que otros 52 millones sufren desnutrición aguda. La Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible, tiene como objetivo acabar con el hambre y todas las formas de malnutrición. Un ambicioso objetivo que a la luz de los últimos datos, parece lejano (FAO, 2017c).

Según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO), Naciones Unidas (UN COMTRADE) y el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA), se prevé que las diferentes categorías productivas que se explotan mundialmente, generen un incremento de la producción de alimento a nivel mundial: las carnes aumentaran un 19% (57.7 millones de toneladas) en 2023, comparado con el período base (figura 1). De ese aumento, el 78% (45.1 millones de toneladas) corresponde a los países en desarrollo. De las 57.7 millones de toneladas (t) de aumento proyectadas en la producción de carnes para 2023, 28.3 millones corresponden a carne aviar, 16.7 millones a carne porcina, 9 millones a carne bovina, 3.8 millones a carne ovina y 100 millones de toneladas equivalentes en peso vivo de la industria pesquera y la acuicultura (figura 2, FAO, 2018a). Para el final de esta década, se prevé que la producción aviar superará a la producción de carne porcina a nivel mundial (FAO, 2018b).





**Figura 1.** Crecimiento de la producción de diferentes carnes. 2023 vs. 2011.2013 (Fuente: OCDE, 2014)



**Figura 2.** Producción mundial de la pesca de captura y la acuicultura, 1990-2030 (Fuente: FAO, 2018a).

Según la FAO (2017a) y El Estado de la Agricultura y la Alimentación (SOFA, 2018). América Latina y el Caribe, Asia oriental y Sur Oriental fueron las Regiones que más aumentaron su consumo per cápita de productos pecuarios en las últimas cuatro décadas. Los mayores ingresos y el crecimiento de la población mundial impulsan la demanda por carne y otros productos pecuarios hasta niveles record en los países en desarrollo, mientras que la globalización de las cadenas de suministro de piensos, el material genético y otras tecnologías transforman el sector de forma profunda. Se prevé que en el 2018 la producción de alimentos crezca un 75% superior a años anteriores.

Las producciones pecuarias en América Latina y el Caribe fueron las segundas regiones que más crecieron entre 1980 y 2007 (después de Asia), especialmente en el caso de la carne (que pasó de 15,7 a 40,3 millones de toneladas) y la leche (que pasó de 35,0 a 68,7 millones de toneladas). Se destaca el dato de Brasil en el caso de la carne, cuya producción casi se multiplicó por cuatro y actualmente representa el 7 % del total mundial (FAO, 2019).

El crecimiento logrado deja en evidencia que el sector ganadero es una de las ramas más dinámicas de la economía agrícola, y que realiza contribuciones notables a la seguridad alimentaria y a la reducción de la pobreza en la Región. Sin embargo, se deben tomar acciones decididas para que el crecimiento del sector se lleve a cabo de modo ambientalmente sostenible y que contribuya al mismo tiempo, a la mitigación del cambio climático, de la pobreza y a la mejora de la salud humana (FAO, 2019).

Toda la cadena alimentaria, la ganadería en su conjunto (bovina, ovina, caprina, porcina, avícola) a nivel mundial responde por el 18% de las emisiones de gases de efecto invernadero. Por lo que se avizora la necesidad urgente de mejorar la eficiencia del uso de los recursos de la producción pecuaria, así como reducir las externalidades ambientales negativas generadas por el sector (FAO, 2019)

Según los reportes de la Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL), Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y el Instituto Interamericano de Cooperación para la

Agricultura (IICA). En el año 2017 la deforestación provocada por el aumento de los sistemas extensivos de pastoreo en ciertas zonas es una característica común en países de América Central y del Sur, sin embargo, hay estrategias tecnológicas y de manejo para hacer una intensificación sostenible de la producción pecuaria y evitar la deforestación y ampliación de la frontera ganadera. Es decir, el sector puede desempeñar un papel clave en la mitigación del cambio climático (FAO, CEPAL y IICA, 2017).

Las investigaciones hechas en América Latina reportan que los sistemas silvopastoriles (mejora de las prácticas de alimentación animal con árboles y arbustos) incrementan la biodiversidad y mejoran la producción. Además aumentan el almacenamiento de carbono y reduce las emisiones de metano y óxido nitroso en 21 % y 36 %, respectivamente. También se constató el incremento de los ingresos de los ganaderos en 55.5 % en Costa Rica y del 66.9 % en Nicaragua gracias a los cambios del uso de la tierra por sistemas silvopastoriles (FAO, 2019).

Según el SOFA (2018), el pastoreo del ganado ocupa el 26% de la superficie terrestre que no está cubierta por hielo, y la producción de forrajes para el ganado emplea el 33% de las tierras de cultivo agrícola. Por otra parte, la degradación de pasturas afecta, con niveles diferentes de intensidad, al 75% de las tierras ganaderas de América Latina, lo que disminuye su productividad y aumenta el impacto ambiental de la ganadería.

El objetivo hoy de la FAO, CEPAL e IICA en América Latina es mejorar la disponibilidad y el consumo de proteína animal en todas las comunidades, para contribuir a reducir los niveles de desnutrición y aumentar los ingresos de las familias (SOFA, 2018).

Según el Ministro de Agricultura (Rodríguez, 2018), Cuba cuenta aproximadamente con 11 millones de hectáreas de tierras disponibles; de ellas, unos 6 millones dedicadas sobre todo a cultivos varios y ganadería y otros 3.5 millones pertenecen al desarrollo forestal. En nuestro país, el 80% de la tierra

es propiedad del Estado, sin embargo, el 70 % lo trabajan las cooperativas y los campesinos.

Los propósitos principales del sector agropecuario, se centran en producir comida para el pueblo, suministrar a la industria y al turismo, sustituir exportaciones y generar fondos exportables que sirvan como fuente financiera para el desarrollo. Las principales producciones pecuarias obtenidas en el periodo enero-septiembre 2018, se presentan en la tabla 1 (ONEI, 2018). Sin embargo estas producciones no logran satisfacer las demandas de alimentación.

**Tabla 1.** Principales producciones pecuarias (Fuente: ONEI, 2018)

**2. 1 - Principales producciones pecuarias**  
**Enero - Septiembre de 2018**

INDICADORES	UM	Total Producción	Por ciento respecto a igual periodo del año anterior					
			Total	Estatal	No Estatal			CCS y Privado
					Total	UBPC	CPA	
Carne bovina	Mt	127,4	107,9	101,7	121,3	97,5	114,7	128,8
Carne de cerdo	Mt	248,1	83,6	92,3	69,0	98,8	81,1	68,4
Carne de ave	Mt	27,3	101,3	111,4	95,4	88,4	115,6	95,4
Carne de ovino - caprino	Mt	24,4	99,9	68,1	104,5	94,9	137,1	104,3
Leche fresca	MMI	463,5	114,3	103,8	116,7	114,4	104,1	118,3
Huevos	MMU	2 145,2	102,3	104,9	89,0	73,2	106,7	93,2

**2. 2 - Participación por sectores de propiedad**  
**Enero - Septiembre de 2018**

CONCEPTO	UM	Producción	Por ciento de participación				
			Estatal	Total	No Estatal		CCS y Privado
					UBPC	CPA	
Carne bovina	Mt	127,4	64,1	35,9	6,1	2,0	27,8
Carne de cerdo	Mt	248,1	69,3	30,7	0,7	0,3	29,7
Carne de ave	Mt	27,3	40,7	59,3	0,2	0,2	58,9
Carne de ovino - caprino	Mt	24,4	8,6	91,4	2,1	1,7	87,6
Leche fresca	MMI	463,5	17,2	82,8	13,2	3,8	65,8
Huevos	MMU	2 145,2	85,5	14,5	2,5	0,1	11,9

**Producción de alimentos en Cuba: perspectiva para el año 2019**

Según explicó Díaz-Canel, presidente de los Consejos de Estado y de Ministros de Cuba (2019) las prioridades son el consumo social. Nuestro país requiere producir diariamente 5.7 millones de huevos, hasta la fecha solo se logra 4.8 millones. A pesar de que se estabiliza en la nación la entrega de la materia prima necesaria.

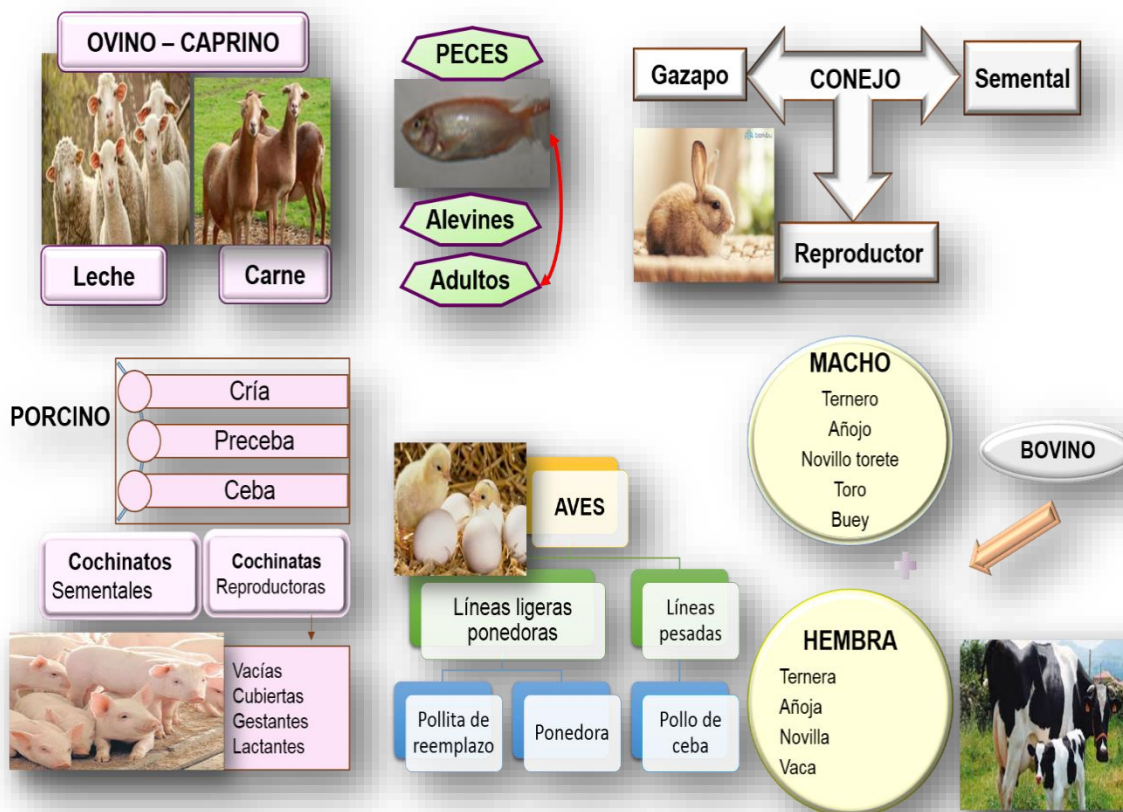
Sin embargo la producción de carne porcina expone un déficit de unas 120 mil toneladas de maíz, harina de soya u otros productos, por lo que no se logra toda la alimentación necesaria de esta especie, de ahí, que existan mil 200 toneladas de carne por debajo para este año con respecto al año anterior. Así mismo insistió en la necesidad de producir pollos de ceba, conejos e incrementar la producción ovino-caprina.

## **I.2. Categorías pecuarias fundamentales en la cadena productiva y su impacto en la producción de alimento en Cuba**

Hoy el reto que afronta el desarrollo de la producción pecuaria en las actuales condiciones de deterioro en que se encuentran los principales recursos naturales, precisa de la consideración particularizada de las características y el estado de estos recursos en cada territorio, a fin de seleccionar y aplicar casuísticamente las medidas y tecnologías necesarias para un desarrollo sostenible de los sistemas productivos y de las categorías pecuarias que se explotan. El desarrollo y mantenimiento de las mismas, constituye una política priorizada en todos los países, tanto en el sector estatal como en el privado (Acosta *et al.*, 2018; Figueredo, 2018).

En Cuba se generan importantes cambios desde la aprobación de los lineamientos económicos y sociales en el VII Congreso del Partido Comunista de Cuba, pues estos marcan las pautas esenciales en las estrategias para el desarrollo del país y ofrecen nuevas opciones para la producción de alimentos, la diversificación de las formas productivas y la promoción de nuevas formas de gestión no estatal como la cooperativa y el trabajo por cuenta propia, con el fin de impactar positivamente en el incremento acelerado de alimentos para satisfacer las necesidades crecientes de la población (Antúnez y Ferrer, 2016; Cabrera *et al.*, 2018). Actualmente se trabaja en ambos sistemas productivos, con las siguientes categorías como

eslabón imprescindible para el incremento de la producción de alimentos (figura 3).



**Figura 3.** Categorías pecuarias que se explotan en Cuba (Fuente: Elaboración propia).

Diéguez (2010), definió que la carne de cerdo es una de las principales fuentes de proteína animal para la población cubana. En Cuba hasta 1989, la mayor producción era estatal especializada, aunque se producía carne de cerdo de patio y traspatio por el campesino, con el objetivo de cubrir las necesidades proteicas y de contar con una fuente de ingresos rápida y eficiente.

Se avizora un incremento de la producción porcina a 350 000 toneladas por año y con ello contribuir a la seguridad alimentaria de la población cubana,

existe un Programa Nacional hasta el 2030, donde se prevé que aproximadamente el 80% de las reproductoras (100 000) y los lechones hasta 20 kg de peso vivo (1 650 000) permanezcan en el sector estatal y el 20% pasaría al sector privado (GEGAN-División porcina, 2018).

Reportes de la División Avícola, expone que Cuba logró los mayores niveles de producción de huevos en el año 1991, cuando se registraron 2 millones 717 mil unidades, cifra que decreció, hasta niveles muy bajos, debido a los embates del período especial, estas apenas rebasaban los mil millones, ya en el 2016 la cifra se elevó a 2020 millones de huevos (Rodríguez, 2017).

En la actualidad tiene una gran connotación el desarrollo de la categoría de ovinos (*Ovis aries*) y caprinos (*Capra aegagrus hircus*), las que pertenecen al grupo de ganado menor y son de la familia de los rumiantes, por lo que una dieta rica en nutrientes a base de pastos y forrajes o la inclusión de nuevos productos biológicos obtenidos por FES pueden contribuir a su rápido desarrollo, como una vía inmediata para incorporar alimentos a la demanda de la población (Aréchiga *et al.*, 2008).

Según Aréchiga *et al.*, (2008), en los últimos años esta especie con un gran potencial productivo y reproductivo es relegada, a pesar de que ofrece enormes perspectivas de desarrollo principalmente por su potencial productivo de leche, las características organolépticas de su carne y las altas tasas de desarrollo, de fertilidad, de eficiencia alimenticia y utilización de forrajes toscos, además de su gran demanda de carne.

Su propósito es disímil, sin embargo en Cuba, el ovino-caprino solo se utiliza para obtener carne y leche y preferentemente se desarrollan en el sector cooperativista (Gómez, 2019). En el 2018 nuestro país produjo 24.4 millones de toneladas (MT) de carne para el consumo nacional y el sector turístico (ONEI, 2018).

Otra de las categorías explotadas en el mundo para incrementar la producción de alimento, es la industria pesquera. A nivel mundial alcanzó, aproximadamente, un máximo de 171 millones de toneladas en 2016, de las cuales la acuicultura representó un 47% del total y un 53% si se excluyen los usos no alimentarios

(incluida la reducción para la preparación de harina y aceite de pescado). Ante la estabilidad de la producción de la pesca de captura desde finales de la década de 1980, la acuicultura es la desencadenante del impresionante crecimiento continuo del suministro de pescado para el consumo humano (FAO, 2018).

En Cuba existe en la actualidad una disminución de las capturas de peces en las plataformas marinas como resultado de la sobreexplotación pesquera, la obsolescencia tecnológica y el cambio climático. Hoy se trabaja en la recuperación de granjas de ostiones en los municipios de Puerto Padre, Manatí y Guayabal, la cual abarca, además, la introducción de tecnología para el aprovechamiento del calcio de la concha en la elaboración de alimento animal (Segura, 2018).

La acuicultura tiene planificado en el 2023 entregar a la industria más de mil 500 toneladas de producciones. Los espejos de agua de Gramal, en Manatí y Las Mercedes en "Colombia", hoy se rehabilitan para el incremento de los cultivos de claria, carpas y tencas (Segura, 2018).

Según el Ministro de Agricultura, la ganadería en Cuba se encuentra en un franco proceso de recuperación. En la actualidad, más del 70% de la producción de leche está en manos de cooperativas y campesinos, lo que se traduce en un crecimiento de la eficiencia. En estos últimos años no se logró satisfacer la demanda ni de leche ni carne (Rodríguez, 2018),

En todo el mundo crece la demanda de alimentos y sobre todo, de proteína animal. Es urgente producir alimentos en el menor espacio, a la mayor brevedad, al costo más bajo y con el mayor rendimiento; todo esto lo consigue el conejo, poseedor de una carne blanca, de rico sabor y alto valor proteínico, textura fina, alta digestibilidad, sabor agradable poco definido y disponibilidad durante todo el año. La cunicultura puede desarrollarse en el campo o en los alrededores de las grandes ciudades, sin olvidar que una cría pequeña se puede mantener en los patios, jardines y azoteas de las casas de ciudad donde se intensifique la limpieza, pues el conejo es un animal que ocupa poco espacio, no es ruidoso y con pocos cuidados, es muy limpio y sano (González y Guevara, 2013).



La producción de conejos constituye una importante alternativa en la obtención de proteína para consumo humano, debido a su alta prolificidad, bajo intervalo generacional y el alto rendimiento de carne. Sin embargo, la alimentación de los conejos se enfrenta a diversas situaciones problemáticas, entre las que se destaca la poca disponibilidad de insumos baratos (Palma y Hurtado, 2012).

La FAO (2015) estima que a nivel global la producción mundial anual de conejos es superior a 1 millón de toneladas métricas. El mayor productor mundial es China, en segundo lugar los países mediterráneos de Europa (Italia, España y Francia). La perspectiva regional presenta a Europa como el mayor productor con el 49% de la producción mundial de carne de conejo, seguido por Asia (41%), África (8%) y Suramérica (1.50%). En Norte y Centroamérica la producción de esta carne es aún impopular y su consumo se mantiene bajo (FAO, 2009). En Cuba las producciones se localizan en el sector cooperativista con una producción aproximada de 132 toneladas/año (FAO, 2019).

Para Cuba, actualmente una de las tareas de primer orden (Agenda 2030) es recuperar la infraestructura creada por la Revolución y que durante el Periodo Especial se perdió una gran parte. Igualmente, cada vez más debemos buscar la base alimentaria de la ganadería sobre la producción nacional. Años atrás, solo el 20% de los alimentos para la ganadería bovina, porcina y avícola provenía de la producción nacional. En la actualidad, la cifra se incrementa hasta el 43%, porque se siembra más pasto, más forraje, existe una política para impulsar la producción de plantas proteicas. A esto se suma los aportes del Grupo Empresarial AZCUBA desde la agroindustria azucarera y la gestión que hacen los productores en las fincas donde intentan superar los baches del balance nacional de alimentos (Rodríguez, 2018).

### **I.3. Factores antinutricionales en los residuos de cosechas**

Las áreas tropicales son ricas en recursos con potencial nutricional, lo cual puede representar una alternativa ante las grandes introducciones de granos y oleaginosas provenientes de las áreas agrícolas industrializadas en las regiones templadas del mundo, consustancial con el actual modelo de producción animal

intensivo. Sin embargo, esa aparente alta disponibilidad de alimentos de origen vegetal para consumo humano y de ingredientes para alimento animal, principalmente leguminosas, con un buen contenido y balance de proteína y energía, no pueden ser utilizados en todo su potencial por el efecto limitante que imponen los denominados factores antinutricionales (FAN). Particularmente en el caso de los animales no rumiantes, por carecer de la acción protectora que brinda la degradación bacteriana, el problema que representa su utilización es mayor aunque no exclusivo (Cano, 2018).

La acción de los FAN no sólo consiste en interferir con el aprovechamiento de los nutrientes sino que en varios casos promueve pérdidas importantes de proteína endógena y en algunos casos produce daños al organismo del animal que lo consume. En la alimentación convencional de animales y desde una perspectiva puramente biológica, se señala que el desperdicio de proteína potencialmente utilizable, que produce su uso, atenta contra la sustentabilidad de la producción debido a las considerables pérdidas de Nitrógeno y en consecuencia, al negativo impacto ambiental que causan los desechos animales. Sin embargo, debiera considerarse que este fenómeno tiene su origen en la intensidad del modelo de producción al que se les pretende incorporar y sólo en una menor proporción, en su cualidad natural (Belmar y Nava, 2015; Herrera *et al.*, 2016).

Los FAN son sustancias naturales no fibrosas generadas por el metabolismo secundario de las plantas, como un mecanismo de defensa ante el ataque de mohos, bacterias, insectos y pájaros, o en algunos casos, productos del metabolismo de las plantas sometidas a condiciones de estrés, que al estar contenidos en ingredientes utilizados en la alimentación animal, ejercen efectos contrarios a su óptima nutrición, lo que reduce el consumo e impide la digestión, la absorción y la utilización de nutrientes por los animales (D'Mello, 1995).

Su naturaleza, mecanismos de acción y potencia de sus efectos son muy variados y tienen una amplia distribución en el reino vegetal (D'Mello, 1995). Sin embargo, no debe perderse de vista que la denominación que caracteriza su naturaleza antinutricional es adoptada a partir del enfoque que los ve como recursos

alimenticios para herbívoros y no de las funciones que cumplen en los tejidos de los vegetales que lo contienen. Por ello, una denominación más acorde a su papel integral es el de compuestos secundarios, lo que de acuerdo a Ramos *et al.*, (1998), se les puede conceptualizar como sustancias ecológicamente eficaces, para diferenciarlas de los compuestos derivados del metabolismo primario en los vegetales, cuya eficacia es fisiológica.

Según Cano (2018) desde un punto de vista práctico es necesario determinar su presencia en las materias primas y coproductos para limitar su incorporación en la dieta final. Sin embargo en los últimos años el desarrollo de avanzados sistemas de *screening metabólico* aporta nuevos conocimientos sobre los FAN. Diversos estudios demuestran que algunos FAN administrados en cantidades adecuadas pueden tener efectos beneficiosos como antioxidantes, inmunopotenciadores, inmunomoduladores, mejoradores de la digestibilidad de las proteínas en rumiantes, efectos antimicrobianos, etc.

Existen más de 1200 compuestos químicos del metabolismo secundario de las plantas. Estos tienen funciones de almacenamiento y defensa, entre otras. Se conocen cerca de 8 000 polifenoles, 270 aminoácidos no-proteicos, 32 cianógenos, 10 000 alcaloides, varias saponinas y esteroides totales. Los taninos son los compuestos más comunes, pero sus consecuencias en la alimentación animal no están totalmente definidas, con posibles efectos tanto dañinos como beneficiosos (Semmar *et al.*, 2011). Estos metabolitos actúan principalmente en la digestión y absorción de las proteínas, también influyen en la digestión de carbohidratos, utilización de minerales y en la biodisponibilidad de vitaminas (Carmona, 2007; Kumar *et al.*, 2010; Karolewski *et al.*, 2011).

Aun cuando algunos de estos compuestos (taninos condensados, fenoles, alcaloides, oligosacáridos y saponinas, entre otros) son capaces de producir una reacción violenta e inmediata, en la mayoría de los casos tienen un efecto sutil que se manifiesta con la ingestión prolongada. Entre estos últimos se destaca la disminución del consumo y la eficiencia digestiva, lo que repercute negativamente en el crecimiento y productividad del animal. Por eso tales sustancias son

conocidas como compuestos anticalidad, factores antinutricionales o metabolitos secundarios. No obstante, en algunos casos la presencia de estas sustancias podría ser beneficiosa para el animal, especialmente en los rumiantes (Ryan *et al.*, 2010; Verdecia, 2014).

Estos metabolitos secundarios se consideran factores antinutricionales cuando su presencia o acción disminuye el valor nutritivo del alimento que los contiene. Se consideran compuestos no nutritivos o factores nutricionalmente bioactivos en determinadas dosis, también tienen efectos beneficiosos en la digestión de la dieta, la salud y la productividad de los animales (Patra *et al.*, 2006; Alexander *et al.*, 2008; De Dios Elizalde *et al.*, 2009).

Los efectos perjudiciales o beneficiosos de los metabolitos secundarios en la producción animal dependen de varios aspectos, en su mayoría estrechamente interrelacionados: el tipo específico de sustancia química y su concentración: composición y tipo de dieta: especie, categoría, adaptabilidad y manejo animal entre otros (Ryan *et al.*, 2010).

Los alimentos que poseen factores antinutricionales se someten a procesos donde ocurren modificaciones bioquímicas o estructurales, estos posibilitan el incremento del valor biológico de la proteína dietética y disminución del FAN (Gutiérrez, 2015).

#### **I.4. Concepto de fermentación: fermentación en estado sólido**

Como antecedentes de la FES, se anota que es un proceso muy antiguo que se utilizó especialmente en la obtención de productos alimentarios (panes, quesos), otros productos como kojí, shoyu, miso y bebidas como el Sake. Además, Pastrana (1996) reporta aplicaciones industriales de los cultivos en estado sólido entre las que se encuentran la producción de enzimas, ácidos orgánicos, toxinas, antibióticos y otros metabolitos de interés. Ajila *et al.* (2012) presentan los residuos agrícolas e industriales, como una fuente importante de biomasa que se puede utilizar en la alimentación animal, por procesos como la fermentación en estado sólido, la cual enriquece estos residuos y los hace más digeribles para los animales.

Autores como Onteru *et al.* (2010) mencionan a los procesos biotecnológicos desarrollados en los países en desarrollo como la “Revolución Ganadera”, dentro de ellos, resaltan la fermentación en estado sólido, en este caso refieren la producción de enzimas fibrolíticas, que se utilizan en la elaboración de alimentos para la producción animal.

Echavarría *et al.* (2003) definen que la FES consiste, en hacer crecer un microorganismo sobre un sustrato, donde se emplea una fuente de nitrógeno y sales, bajo ciertas condiciones de humedad, pH, aireación y temperatura. La FES no presenta agua libre en su estructura, aunque conlleva determinados requerimientos de humedad.

Pandey *et al.* (2000) y Singhaniana *et al.* (2009) manifiestan que estos procesos fermentativos se contemplaban, décadas atrás, como de baja tecnología, hoy se contemplan como una alternativa muy prometedora, no solo para la producción de alimento animal sino con muchos otros usos, farmacéuticos, biorremediación, biodegradación de compuestos peligrosos, etc.

Definiciones más reciente, fue la que informó Brea (2015); la fermentación es un proceso metabólico de oxidación y puede ser aeróbico cuando tiene lugar en presencia de oxígeno y anaeróbico si se produce fuera del contacto con el oxígeno. Según la autora, durante la fermentación los microorganismos oxidan los hidratos de carbono de la materia orgánica, lo que le proporciona esqueletos carbonados y energía en forma de ATP para su crecimiento. Además liberan principalmente dióxido de carbono, amonio, nitrógeno y agua cuando es aeróbico y metano, dióxido de carbono, amoníaco, ácido sulfúrico, nitrógeno e hidrógeno cuando es anaeróbico.

Borrás y Torres (2016), definieron que la fermentación en estado sólido (FES), 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, lo que hace cada vez

menos rentables las explotaciones pecuarias, es por esto que la FES, se convierte no solo en una alternativa económicamente viable, sino ambientalmente sostenible, a partir del manejo de residuos de alto potencial contaminante.

La FES puede clasificarse en:

- ∞ Fermentación líquida sumergida (FLS)
- ∞ Fermentación en estado sólido (FES)

### **Factores que intervienen en el proceso de la FES (Brea, 2015)**

Existen factores físicos, químicos y ambientales, que pueden afectar el proceso de FES. Estos pueden ser: actividad del agua, temperatura, pH, tipo de sustrato, tamaño de partícula, aireación, entre otros.

Fuente de carbono y la relación carbono/nitrógeno: la fuente de carbono representa la fuente de energía que puede estar disponible para el crecimiento de los microorganismos y puede ser un monosacárido simple o un polisacárido complejo. La selección de la fuente de carbono está en función de los microorganismos a emplear y el producto a obtener. 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.

Temperatura: probablemente es el más importante de todas las variables físicas, que afectan la FES, porque el crecimiento y la producción de enzimas o metabolitos son sensibles a la temperatura. La temperatura se eleva debido a las características exotérmicas de los procesos de fermentación y es uno de los indicadores más difíciles 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 con un máximo de 50 °C.

Actividad del agua: se considera como un indicador fundamental para la transferencia de masa, de agua y los solutos, a través de la membrana celular.

pH: cada microorganismo posee un rango óptimo de crecimiento. La liberación de amonio por la desaminación de la urea u otras aminas durante el proceso de fermentación puede incrementar el pH. La magnitud del cambio de pH, dependerá

de la actividad metabólica de los microorganismos y la capacidad amortiguadora del sustrato.

Aireación: resulta un factor básico para el desarrollo del proceso. Se utiliza para suministrar el oxígeno necesario, para extraer el dióxido de carbono que se forma, así como, para extraer el calor metabólico que evoluciona, de manera que para el flujo óptimo de aire se 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.

Tamaño de partículas: generalmente, un sustrato de pequeño tamaño de partículas puede proporcionar mayor superficie para el ataque microbiano, porque existe mayor superficie de contacto entre microorganismos y el sustrato y por consiguiente, mejor aprovechamiento de los nutrientes y mejor transferencia de oxígeno.

### **Ventajas de la FES**

- ✎ Los medios de cultivos son simples.
- ✎ 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 de bacterias y levaduras.
- ✎ Facilidad para el escalado.
- ✎ Bajo nivel de contaminación.
- ✎ El proceso de recobrado es simple, algunos de los productos se obtienen completos para la alimentación animal.
- ✎ Bajos requerimientos energéticos.

### **Desventajas de la FES**

- ✎ Su aplicación se limita a microorganismos que crecen en bajos contenidos de humedad.
- ✎ Dificultad para mantener los niveles óptimos de humedad durante la fermentación.

- ∞ El tiempo de fermentación es mayor debido a que generalmente se utilizan microorganismos.
- ∞ Dificultad para la agitación.
- ∞ Frecuente necesidad de inocular.

En este tipo de fermentación se utilizan muchos microorganismos que se conoce su efecto probiótico en animales de interés zootécnico.

## **I.5. Probióticos**

A principios del siglo XX, el Científico ruso Elie Metchnikoff (1907) describió los efectos beneficiosos de la ingestión de bacterias ácido-lácticas en la comunidad microbiana del tracto gastrointestinal (TGI). Este microbiólogo ucraniano atribuyó la longevidad de ciertas poblaciones balcánicas al consumo habitual de lácteos fermentados, portadores de lactobacilos que “promovían la salud y prolongaban la vida”.

Sin embargo, no fue hasta 1989 que Fuller (1989) postuló que los probióticos eran “suplementos microbianos que influyen beneficiosamente en el animal huésped al mejorar su balance microbiano”. En el año 2002 la FAO y la WHO crearon una comisión de expertos para esclarecer dicho término, debido a la rápida incorporación de este tipo de productos en el mercado y su distribución en el ámbito internacional, sin la existencia previa de una normativa comúnmente aceptada. En esta ocasión se redefinió el concepto como: microorganismos vivos que cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren un efecto beneficioso en la salud del hospedero (Sanz *et al.*, 2003).

El concepto evolucionó a través de los años y fue en el 2012 cuando Barrios y un grupo de investigadores definieron que un probiótico funcional o percedero se refiere a “un microorganismo o mezclas de microorganismos viables, que al ser administrados al huésped en cantidades adecuadas, pueden sobrepasar las barreras gastrointestinales, sobrevivir, adaptarse, colonizar, multiplicarse y a su vez, intervenir en el equilibrio existente del *microbioma*, modificándolo o estabilizándolo, en beneficio de la salud". Aquellas cepas con potencialidad probiótica que sean inocuas y a su vez produzcan beneficios, pero que no tengan



la capacidad de sobrevivir y multiplicarse en el hospedador, quedarían englobadas bajo la denominación de probióticos de tipo transitorio o no perecedero. Recientemente la FAO (2016) definió de forma sencilla y sin perder la esencia del concepto anterior: **probiótico** es un “microorganismo vivo que al aplicarse en la cantidad adecuada, le genera un efecto benéfico al huésped”.

Los aditivos probióticos se introducen hoy en los sistemas intensivos de manejo y alimentación animal, como una alternativa a la nulidad de los antibióticos promotores del crecimiento (Kadaikunnan *et al.*, 2015; Kizerwetter-ŚwidayBinek, 2016). Estos biopreparados naturales fortalecen el equilibrio de la *microbiota* intestinal, estimulan el sistema inmune e incrementan los rendimientos productivos lo cual contribuye a fomentar una ganadería sostenible y ecológica (Milián *et al.*, 2017a).

#### **I.5.1. Microorganismo utilizados con fines probióticos: *Bacillus* spp. y *Lactobacillus* spp.**

Actualmente se trabaja por obtener nuevas cepas microbianas o sus mezclas para utilizarlas en biopreparados para el consumo humano y con destino a la producción animal. La FAO y WHO (2002) definieron un grupo de requisitos y metodologías a seguir para obtener cepas de microorganismos que fueran reconocidas como seguras (*Generally Recognized As Safe*, GRAS) y que pudieran ser usadas en la elaboración de probióticos. Las especies más usadas en las preparaciones probióticas se muestran en la tabla 2.

Por su composición microbiológica, el contenido del tracto gastrointestinal de diferentes especies animales y las heces fecales, son las principales fuentes de obtención de microorganismos para la elaboración de preparados probióticos (García, 2011; Nguyen *et al.*, 2015). En este sentido, se reconocen otros ecosistemas (jugo de tomate alterado y suelo con sangre de matadero) para el aislamiento y selección de especies microbianas (*Bacillus* spp.) con fines probióticos para ser empleadas en la elaboración de aditivos zootécnicos destinados a mejorar la salud animal e incrementar los rendimientos productivos (Milián *et al.*, 2017b).

En los últimos años se reconoce el género *Bacillus* spp. por el potencial que posee para sintetizar metabolitos con actividad antifúngica y antibacteriana. Estas sustancias antimicrobianas son biopéptidos con diferente estructura química, que se utilizan como agentes terapéuticos contra bacterias y hongos patógenos, capaces de actuar sobre microorganismos de diversa etiología. El efecto biocontrolador que ejerce *Bacillus* spp., es el resultado de diversos mecanismos, entre los que se encuentra la antibiosis, que se produce debido a la producción de péptidos, lipopéptidos y fosfolípidos (Kadaikunnan *et al.*, 2015).

Los *Lactobacillus* spp. son reconocido dentro del grupo de microorganismos autóctonos del tracto gastrointestinal (TGI), por sus propiedades es uno de los que más se utilizan para elaborar los biopreparados probióticos (Quiles y Hevia 2016; Arteaga *et al.*, 2018).

**Tabla 2.** Especies de microorganismos comúnmente usados como probióticos (Mesa, 2018).

ORGANISMOS	
<b>Lactobacillus</b>	<b>Streptococcus otros cocos Gram positivos</b>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactococcuslactis</i> subsp. <i>cremoris</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>
<i>Lactobacillus del brueckii</i> sub sp. <i>Bulgaricus</i>	<i>Streptococcus diaacetylactis</i>
<i>Lactobacillus reuterii</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Lactobacillus cellobiosus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Lactobacillus curvatus</i>	
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<b>Bifidobacterias</b>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Bifidobacterium animalis</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Bifidobacterium thermophilum</i>
<i>Bifidobacterium pseudolongum</i>	
<i>Bifidobacterium choerinum</i>	
<b>Bacillus</b>	<b>Levaduras</b>
<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisia</i> evar. <i>Boulardii</i>
<i>Bacillus breve</i>	

Según (Powthong y Suntornthiticharo, 2015) los lactobacilos en los productos biológicos garantizan la seguridad y estabilidad para su uso en la alimentación animal. Estos microorganismos tienen diversas aplicaciones y una de las más importantes lo constituye la fermentación de alimentos, como leche, carnes y vegetales, para obtener productos como yogurt, quesos, encurtidos, embutidos y ensilajes, etc. De esta forma se contribuye a la biopreservación y a la calidad de las características sensoriales de los alimentos.

Estos microorganismos cuando fermentan carbohidratos producen una mezcla de compuestos con acción antimicrobiana como: ácido láctico, ácido acético, ácido butírico, peróxido de hidrógeno, diacetilo y péptidos de bajo peso molecular llamados bacteriocinas, que inhiben la proliferación de otros grupos microbianos que no toleran la presencia de estos compuestos (Rodríguez *et al.*, 2013; Rendón *et al.*, 2015).

### **I.5.2. Uso de los probióticos como activador de las FES**

Desde los años 90 se aplica satisfactoriamente la fermentación en estado sólido para la obtención de alimento animal. Sin embargo, debe señalarse que cada sistema microorganismo-sustrato y las interacciones que se producen durante el proceso fermentativo posibilitan el desarrollo de nuevos productos (Brea, 2015).

En los últimos años, la fermentación en estado sólido (FES), mostró ser muy prometedora en el desarrollo de algunos bioprocesos y productos y se evaluó el potencial que tienen los productos obtenidos a través de este proceso. El mismo consiste en hacer crecer microorganismos sobre un sustrato, con el uso de una fuente de nitrógeno y sales nutritivas, bajo ciertas condiciones de humedad, pH, aireación y temperatura (Brea, 2015).

Se conocen de la existencia de varios preparados biológicos obtenidos a través de la FES con resultados satisfactorios en indicadores productivos en animales de interés zootécnicos. En el Instituto de Ciencia Animal (ICA) desde el año 2000 se trabaja en la reutilización de residuos de cosechas o cultivos y microorganismos a través de la fermentación en estado sólido (FES), para obtener nuevos alimentos

energéticos-proteicos para la alimentación animal, tales como: Sacchayuca: (Rodríguez, 2005), Manzarina (Becerra *et al.*, 2008), y otros.

Arias (2010), adicionó VITAFERT y melaza en la fermentación en estado sólido de la pollinaza, con el objetivo de incrementar el contenido de proteína bruta (PB) y proteína verdadera (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 horas. Así mismo, Morales (2013), utilizó el VITAFERT como aditivo en la obtención de un ensilaje de *Tithonia: Kingrass*, donde encontró que las mezclas del ensilaje con niveles de VITAFERT 4.5 y 6.0 mL/kg, presentaron mayor valor nutritivo, en términos de superior contenido de PB, ceniza y menor Fibra Detergente Neutra (FDN).

Estudios más reciente por Borrás (2017), muestra el efecto positivo de la FES+ la inclusión de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum*) con el objetivo de obtener un alimento para uso animal. A pesar de no encontrar diferencias en la producción de leche con respecto al grupo control, se pudo aseverar que es un alimento de gran valor nutricional y aceptabilidad por parte de los animales.

Martínez *et al.*, (2018) utilizaron 30 conejos machos de la raza Pardo Cubano con el objetivo de determinar indicadores productivos, en animales alimentados durante 35 días con sustrato remanente de setas (SRS) incluido en las dietas y obtenido a partir de la FES. Los resultados concebidos mostraron una mejora para los indicadores productivos: peso vivo final, ganancia media diaria, consumo de alimento y la conversión alimenticia.

# OBJETIVOS

## II.OBJETIVOS

**Objetivo general:** Obtener alimentos energéticos-proteicos a partir de residuos de cosechas con la adición de aditivos microbianos.

**Objetivos específicos:**

1. Obtener bioinoculantes probióticos a partir de *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp, levaduras y bacterias celulolíticas.
2. Optimizar el proceso de fermentación en estado sólido de residuos de cacao y cachaza.
3. Evaluar el efecto *in vitro* e *in vivo* del nuevo bioproducto.
4. Determinar el costo/beneficio del nuevo bioproducto.

# **RESULTADOS ESPERADOS**

### III. RESULTADOS ESPERADOS

- ∞ Obtención de un nuevo bioproducto energético - proteico para la alimentación animal.
- ∞ Se informa el impacto económico del nuevo producto biológico en condiciones de producción.
- ∞ Se contará con una metodología para la obtención de bioproductos a partir de la FES de residuos de cosechas (cachaza y cacao).
- ∞ Participación en eventos nacionales e internacionales, producción de artículos científicos, defensas de trabajos de diploma, capacitación de conjunto con los especialistas y fortalecer el vínculo entre universidades nacionales, internacionales y empresas.



**MÉTODOS Y  
PROCEDIMIENTOS:  
CRONOGRAMA DE TRABAJO**



determinan en las plantas, fermentación en fase sólida. Probióticos, principales microorganismo y uso como activadores de la FES.

**2<sup>da</sup> Etapa: Obtención de bioinoculantes probióticos a partir de *Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp., levaduras y bacterias celulolíticas.**

Para darle cumplimiento a esta etapa, se subdivide en dos sub etapas:

**Sub etapa I:** Aislamiento, caracterización e identificación de microorganismos con posible efecto probiótico.

Para darle cumplimiento a esta sub etapa se trabajaran según las metodologías de:

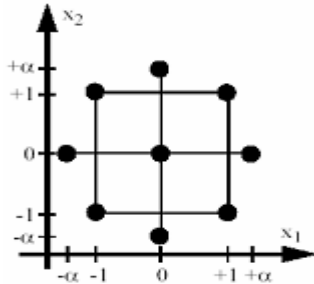
Rondón (2009), Milián *et al.*, (2017), Pérez *et al.*, (2006) y Hungate (1970) específicamente para las bacterias celulolíticas de productos fibrosos de baja calidad (anexo 1, 2 y 3).

**Sub etapa II:** Diseño y optimización de un nuevo medio de cultivo con componentes nacionales, para el crecimiento de los microorganismos aislados.

Normalmente, a nivel industrial se utilizan componentes naturales que contienen los nutrientes necesarios para el buen desarrollo de los cultivos. Sin embargo, en ocasiones, éstos aumentan los costos de producción del proceso. La búsqueda de materias primas baratas que a la vez proporcionen los alimentos indispensables para las bacterias, es fuente de investigación de científicos y productores (Rondón, 2009).

Para realizar la optimización del medio de cultivo, se utilizaran las cepas seleccionadas de la sub etapa 1. La preparación del inóculo se efectuará a partir de un cultivo en caldo Mann, Rogosa, Sharper (MRS) (De Mann *et al.*, 1960) (CONDO, España) por 12 h a 37 °C en condiciones estáticas, para los *Lactobacillus* spp. Para *Bacillus* spp. se trabajará con el caldo nutriente (BIOCEN) por 24 horas a 37°C en condiciones de zaranda. Ambos microorganismos tendrán una concentración microbiana de 10<sup>9</sup> UFC. mL<sup>-1</sup>. Las bacterias celulolíticas crecerán en medio base caldo NRF (Non Rumen Fluid) para bacterias anaerobias totales.

Para el diseño experimental se empleará el método de superficie respuesta (Box *et al.*, 1978) con un diseño experimental compuesto central rotativo  $2^2$  (figura5) y tres repeticiones en el centro del plan.



**Figura 5.** Diseño compuesto central para dos factores ( $k = 2$ ). Los valores de +1, 0, -1 corresponden al nivel alto, centro y bajo, respectivamente, y los puntos  $+\alpha$  y  $-\alpha$  corresponden a los puntos axiales o estrellas.

A partir de la definición de los niveles de las variables independientes, se empleará el programa *Statgraphics Plus* versión 5.1 (2002) para crear el diseño de la matriz codificada, que mostrará las combinaciones que debían ejecutarse. El programa también desarrolla un análisis de regresión múltiple para obtener una ecuación polinomial de segundo orden:  $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{12}X_1X_2$ .

El número de experimentos, que se deben hacer se determinará según la siguiente expresión:

$$N_{exp} = 2^k + 2k + N_0$$

Donde  $N_{exp}$  = Número de experimentos,

$k$  = Número de variables independientes,

$2k$  = Número de puntos estrellas del experimento (son los experimentos que se desarrollan en una zona alejada del centro de éste) y

$N_0$  = Número de puntos en el centro del plan.

El análisis estadístico y decodificación de las variables, se harán teniendo en cuenta los resultados del conteo de las UFC.mL<sup>-1</sup> se transformaran a logaritmo

neperiano(LN). Se evaluará la significación de cada uno de los parámetros del modelo y se determinará la superficie de respuesta con el uso del programa *Statgraphics Plus* versión 5.1 (2002). A partir del modelo se determinará los valores óptimos de las variables independientes. Para realizar la decodificación de las variables se empleará la siguiente fórmula (Bacon y Henson, 1971):

$$X_C = \frac{X_D - \frac{1}{2} (X_{\text{alta}} + X_{\text{baja}})}{\frac{1}{2} (X_{\text{alta}} - X_{\text{baja}})}$$

Donde  $X_C$  = variable codificada y  $X_D$  = variable decodificada

### **3<sup>era</sup> Etapa: Optimización del proceso de FES a partir de los residuos de cosechas del cacao y de la industria azucarera la cachaza.**

En esta etapa se trabaja con la metodología descrita en la 2<sup>da</sup> Etapa: Sub etapa II. Se tendrá en cuenta para la optimización, los diferentes niveles de componentes que se adicionan en el proceso de FES: urea [0; 0.5; 1.0 y 1.5% (Brea 2015)], tiempo de fermentación (0, 12, 24 y 48 horas), carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) (0; 0.25; 0.50 y 0.75% (Borras, 2017) y bioproducto (según dosis recomendada por Pérez, 2006; Milián, 2017; Rondón, 2009).

### **4<sup>ta</sup> Etapa: Evaluación *in vitro* e *in vivo* del nuevo bioproducto.**

**Evaluación *in vivo*:** Para evaluar el nuevo bioproducto se tendrán en cuenta los siguientes elementos:

- ✂ Obtención del producto energético-proteico,
- ✂ Localización: la investigación se realizará en Cuba y en Ecuador
- ✂ Categoría de animales a trabajar:
  - ✂ Cuba: terneros
  - ✂ Ecuador: cuyes
- ✂ Condiciones de manejo y alimentación,
- ✂ Esquema de vacunación,
- ✂ Para evaluar la actividad biológica se valuarán los siguientes indicadores:
  - ✂ Indicadores microbiológicos
  - ✂ Indicadores inmunológicos
  - ✂ indicadores fermentativos
  - ✂ indicadores morfométricos
  - ✂ indicadores hematológicos

∞ indicadores productivos

∞ indicadores de salud

En todos los casos se procederá según el Instructivo técnico para la categoría en estudio: terneros y cuyes.

### Evaluación *in vitro*

Parámetros	Pruebas	Metodologías
Químicos	pH	pHmetro
	Cinética de crecimiento microbiano	Rondón (2009)
	Producción de Ácido láctico	Madrid <i>et al.</i> , (1999)
	Producción de gas	Hungate (1966)
	Ácidos grasos volátiles	Erwin <i>et al.</i> , (1961)
	Temperatura optima de crecimiento	Rondón (2009)
	Contenido de taninos	Price <i>et al.</i> , (1978)
	Contenido de saponinas	Hiai <i>et al.</i> , (1976).
	Materia Seca	A.O.A.C. (2010)
	Nitrógeno amínico y total	
	Azúcares reductores	
	Proteínas	
	Vitaminas y minerales	
	Fibra neutra detergente (FND), ácida (FA) y fibra bruta (FB)	Van Soest <i>et al.</i> , (1991)
	Propiedades antioxidantes	
	∞ Contenido de taninos	Price <i>et al.</i> , (1978)
∞ Contenido de saponinas	Hiai <i>et al.</i> , (1976).	
Microbiológicos	Bacteria ácido lácticas y levaduras	Beruvides (2019)

**5<sup>ta</sup> Etapa:** Determinación del costo/beneficio del nuevo bioproducto.

Para la realización del análisis económico se tendrán cuenta los datos de consumo de cada uno de los alimentos que componen las dietas en estudio y su precio en Moneda Nacional (MN), para luego determinar los indicadores de gastos siguientes:

- ∞ Costo de la dieta para terneros y cuyes.
- ∞ Costo de la dieta por tonelada de peso vivo adquirido en ambas categorías.
- ∞ Costo de la dieta por tonelada de canal en cuyes.

**RECURSOS NECESARIOS Y  
PRESUPUESTO GLOBAL DEL  
PROYECTO**

## **V.RECURSOS NECESARIOS Y PRESUPUESTO GLOBAL DEL PROYECTO**

Los estudios de factibilidad son una parte del proceso inversionista y constituye la culminación de los estudios de pre inversión y por lo tanto de la formulación y preparación de un proyecto, lo que constituyen la base de la decisión respecto a su ejecución. Los estudios de pre inversión, pueden pasar por las etapas previas de ideas, perfil (oportunidades) y prefactibilidad con independencia de la complejidad y características del proyecto y de los estudios que requiera. En el año 2006 el Ministerio de Economía y Planificación (MEP) dictó la Resolución 91, que establece las indicaciones para el proceso inversionista con enfoque a la Dirección Integrada de Proyecto (DIP) (Monet, 2018). Dando respuesta a lo establecido en esta resolución se logrará con este proyecto demostrar la factibilidad económica y la viabilidad de la obtención de alimentos energéticos - proteicos a partir de la FES de residuos de cosechas con la adición de aditivos microbianos, de ahí que se prosigue a exponer la factibilidad de realizar el proyecto.

### **Viabilidad del proyecto**

*Viabilidad política:* El proyecto es viable está en la línea con la Producción de Alimentos por vías biotecnológicas del MES y con la política del país respaldado por los Lineamientos aprobado en el séptimo Congreso del PCC: V- Política de Ciencia, Tecnología, Innovación y Medio Ambiente (Lineamientos: 98, 99, 102 y 115).

*Viabilidad institucional y de gestión:* Se cuenta con el apoyo de las direcciones institucionales Universidad de Matanzas (UM) y Universidad Estatal Amazónica (UEA). El coordinador del proyecto por la UEA y el grupo de Aditivos Nutricionales del Centro de Estudios Biotecnológico (CEBIO) de la UM designado para su ejecución tienen una amplia experiencia en la coordinación y ejecución de proyectos y en general en actividades de gestión.

*Viabilidad financiera:* CEBIO tiene creado una línea que tiene como una de las misiones potenciar las investigaciones dirigidas a la obtención y evaluación de



aditivos zootécnicos como mejoradores por excelencia de los indicadores productivos y de salud en animales de interés zootécnicos.

El proyecto de investigación que tributa a la presente propuesta será financiado por la UEA. Los profesores del CEBIO/UM realizarán las actividades sin dejar de cumplir con los objetivos de trabajo de la UM.

### **Sostenibilidad del proyecto**

#### *Desarrollo de colaboraciones de investigaciones nuevas y duraderas:*

Este proyecto aprovecha las colaboraciones de investigación productiva y el acceso recíproco para profesores- investigadores y estudiantes de ambas instituciones, el uso de las instalaciones, así como, conocimientos que no están disponibles en los diferentes países participantes. Se espera que este proyecto permita abrir nuevas colaboraciones y encontrar nuevas oportunidades de financiación. Varios miembros del personal clave de este proyecto han estado trabajando juntos y han producido publicaciones conjuntas.

#### *Autosustentabilidad de la asociación después del final del proyecto:*

Se trabajará por lograr una cooperación duradera entre las dos instituciones. Se realizarán acciones para explorar nuevas oportunidades de financiamiento. La UM/CEBIO está abierta para la apertura de otras nuevas relaciones y fortalecer las ya existentes. Se explorarán las oportunidades de financiamiento en cada país y se ampliarán las colaboraciones establecidas en este proyecto creando puestos de doctorado y postdoctorado.



En la tabla 3, se presentan los recursos humanos para llevar a cabo el proyecto; en la tabla 4, los recursos materiales; en la tabla 5, el presupuesto global del proyecto y en la tabla 6, la planificación de los resultados.

**Tabla 3.** Recurso humanos principales para llevar a cabo el proyecto.

Nombre y apellidos	J de resultado	Grado científico	Categoría docente	Entidad	% de participación
Grethel Milián Florido	x	Dr. C.	Titular	UM	15
Ana J. Rondón Castillo	x	Dr. C.	Titular	UM	15
Marlen Rodríguez Oliva		Dr. C.	Titular	UM	10
Agustín Beruvides Rodríguez		MSc.	Auxiliar	UM	5
Aymara Valdivia Ávila		Dr. C.	Titular	UM	5
Leysi Gómez Brisuela		Dr. C.	Titular	UM	5
Madyu Matos Trujillo		MSc.	Auxiliar	UM	5
Odelin Brea Maure		Dr. C.	Titular	UM	5
Amalia Domínguez Suárez		Dr. C.	Titular	UM	5
Yohanka Lezcano Más		Dr. C	Titular	UM	5
Manuel Pérez Quintana	x	Dr. C	Titular	UEA	10
Yusleidys Cortés Martínez		MSc.	-	UM	5
Joel Ceiro Vera*		-	-	UM	3

**UM:** Universidad de Matanzas, Cuba; **UEA:** Universidad Estatal Amazónica, Puyo, Ecuador y \* estudiante de 5<sup>º</sup> año de la Carrera de Agronomía.

**Tabla 4.** Recursos materiales que aportan las instituciones involucradas

Aporte institucional	Materiales
Universidad de Matanzas Universidad Internacional	Medios de cultivo
	Cristalería y miscelánea
	Agua destilada y corriente
	Balanza digital
	Autoclave
	Refrigerador
	Incubadora
	Flujo laminar
	Zaranda termostatada
	pH digital
	Microscopio óptico
	Erlenmeyer de diferentes capacidades
	Frascos de cristal
Placas petri	
Especialistas pertenecientes al país donde se monte la investigación	Garantizar las áreas donde se aislarán los microorganismos, los animales y las áreas de experimentación.
	Participar en la: <ul style="list-style-type: none"> <li> capacitación</li> <li> aplicación de los productos</li> </ul>
Conjuntos	Medir el Impacto económico - ambiental

**Tabla 5.**Presupuesto global del proyecto

<b>Recursos</b>	<b>1<sup>er</sup> año</b>	<b>2<sup>do</sup> año</b>	<b>3<sup>er</sup> año</b>	<b>4<sup>to</sup> año</b>	<b>Total</b>
Medios de cultivo y reactivos	3500.00	2500.00	2300.00	2500.00	<b>10800.00</b>
Animales de experimentación	500.00	200.00	-	3000.00	<b>3700.00</b>
Cristalería de Laboratorio y misceláneos	1500.00	1500.00	1000.00	500.00	<b>4500.00</b>
Alimento para animales	-	-	-	4500.00	<b>4500.00</b>
Materiales de oficina	200.00	500.00	-	-	<b>700.00</b>
Computadora con accesorios	1080.00	-	-	-	<b>1080.00</b>
Materiales gastables	500.00	800.00	500.00	500.00	<b>2300.00</b>
Asesoría técnica a Ecuador	16630.00	8100.00	9600.00	5200.00	<b>39530.00</b>
Asesoría técnica a Cuba	-	2500.00	2700.00	2700.00	<b>7900.00</b>
Eventos en Ecuador	900.00	-	-	2500.00	<b>3400.00</b>
Eventos en Cuba	-	-	1000.00	1000.00	<b>2000.00</b>
Equipos de laboratorio	29820.00	5800.00	-	1200.00	<b>36820.00</b>
Monto total del proyecto/año	<b>54630.00</b>	<b>21900.00</b>	<b>17100.00</b>	<b>23600.00</b>	<b>117230.00</b>
<b>Monto total del proyecto</b>	<b>234460.00 USD</b>				

**Tabla 6.** Resultados y planificación de las actividades principales.

Resultados Planificados		Actividades Principales	Inicio	Término
Obtención de bioinoculantes probióticos a partir de <i>Bacillus</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp, levaduras y bacterias celulolíticas.		Aislamiento, selección e identificación de microorganismos con posible efecto probiótico. Diseño y optimización de un nuevo medio de cultivo para el crecimiento de los microorganismos aislados.	Febrero 2020	Enero 2021
Optimización del proceso de FES a partir de los residuos de cosechas del cacao y de la industria azucarera la cachaza.		Se optimizarán los niveles de inclusión de los componentes del proceso de FES: urea, tiempo de fermentación, CaCO <sub>3</sub> y bioproducto.	Febrero 2021	Julio 2021
Evaluación <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> del nuevo bioproducto.	<i>in vitro</i>	<u>Químicos:</u> pH, cinética de crecimiento microbiano, Producción de ácido láctico, Producción de gas, ácidos grasos volátiles, Temperatura optima, azúcares reductores, proteínas, vitaminas y minerales y el contenido de taninos y saponinas <u>Microbiológicos:</u> BAL y levaduras	Septiembre 2021	Julio 2022
	<i>in vivo</i> (Cuba: terneros) (Ecuador: cuyes)	<u>Evaluación de indicadores:</u> <u>productivos:</u> incremento de peso vivo, consumo, conversión, ganancia media diaria <u>hematológicos e inmunológicos:</u> hematocrito, hemoglobina, globulinas, albúminas, proteínas totales, Ig, población linfocitaria <u>indicadores de salud:</u> viabilidad y mortalidad	Enero 2022	Enero 2024
Estudio de factibilidad económica		Estudio económico	Febrero 2024	Julio 2024
Informe final		Elaboración del informe	Septiembre 2024	Diciembre 2024

**REFERENCIAS  
BIBLIOGRÁFICAS**

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, Z. G., Gutiérrez, J. P. M., Josefa, P. F., Grisel Reyes Artilles y Madelín Cruz Cruz. 2018. Arrangement of Livestock Potential for Climate Change Adjustment in Jimaguayú, Camagüey, Cuba. *Rev. Prod. Anim.* 30 (2). ISSN 2224-7920.
- Ajila, C., Brar, S., Verma, M., Tyagi, RD., Godbout, S. & Valéro J. 2012. Bio-processing of agro-byproducts to animal feed, *Crit Rev Biotechnol.* 32(4):382-400. doi: 10.3109/07388551.2012.659172.
- Alexander. G., Singh, B., Sahoo, A, & Bhat, T.K. 2008. In vitro screening of plant extracts to enhance the efficiency of utilization of energy and nitrogen in ruminant diets. *Anim. Feed Sci. Technology.* 145: 229-244.
- Antúnez, V. I. & Ferrer, M.C. 2016. El Enfoque de cadenas productivas y la planificación estratégica como herramientas para el desarrollo sostenible en Cuba. *Revista de Investigaciones Políticas y Sociológicas*, 15 (2):99-130.
- Anupama, M. & Ravindra, P. (2001). Studies on production of single cell protein by *Aspergillus niger* in solid-state fermentation of rice bran. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 44 (1):79-88.
- AOAC. 2010. Official methods of analysis.15th ed. AOAC, Washington, D. C p. 935-955.
- Aréchiga, C.F., Aguilera, J. I., Rincón, R. M., Méndez de Lara, S., Bañuelos, V. R.& Herrera, M. C.A. 2008. Role and perspectives of goat production in a global World. *Tropical and Subtropical Agroecosystems.* 9:1-14.
- Arias, F.T.L. 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
- Arteaga, F., Laurencio, M., Rondón, A., Milián, G. & Boucourt, R. 2018. Isolation, selection and identification of *Lactobacillus* spp. with probiotic and technological potential, from digestive tract of backyard chickens. *Revista de la Sociedad Venezolana De Microbiología.* 38(1): 15-20.
- Bacon, D.W. & Henson, T. L. 1971. Statistical Design and model Building. Dept of Chemical Engineering Queen's University. Kingston, Ontario, Canada. p.57.
- Barrios, V.; Carvajal, A.; Rubio, P. 2012. Los probióticos en la ganadería porcina. Importancia de su utilización eficiente. Disponible en: <[http://www.axoncomunicacion.net/criaysalud/revistas/46/cys\\_46\\_probiotico\\_s.pdf](http://www.axoncomunicacion.net/criaysalud/revistas/46/cys_46_probiotico_s.pdf)> [Consultado: 2 de abril 2019].
- Becerra, A., Rodríguez, C., Jiménez, J., Ruiz, O., Elías A. & 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.
- Bernstein, J. 1983. Análisis de alimentos. Ed. Wintra, A.L. & Wintra, K.B. Tomo I. Ed. Pueblo y Educación. 84 p.

- Beruvides, R.A. 2019. Efecto del aditivo zootécnico VITAFERT en la respuesta biológica de crías y precebas porcinas. Tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba. p.169.
- Borrás, S. L. & Torres, G. V. 2016. Produção De Alimentos Para Animais A través De Fermentação Em Estado Sólido – FES. Revista ORINOQUIA - Universidad de los Llanos - Villavicencio, Meta. Colombia. 20(2):47– 54.
- Borrás, S.L. M. 2017. Obtención de un alimento por fermentación en estado sólido de residuos de poscosecha de *Solanum tuberosum* para la suplementación de rumiante. Ph.D. Thesis, Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba, 100 p.
- Box, G.E.P., Hunter, W.G. & Hunter, J.S. 1978. Statistics for experimenters: an introduction to design, data analysis, and model building. John Wiley & Sons, New York, USA.
- Brea, O. 2015. Obtención de un alimento energético- proteico a partir de la fermentación en estado sólido de la harina del árbol del fruto del pan (*Artocarpus altilis*) y su empleo en dietas para conejos y cerdos. Ph.D. Thesis, Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba, 100 p.
- Cabrera, L. C., Vecino, U. R.& Cánova, A. Herrandiz. 2018. Plan of agrarian extension: successful experience in the agricultural community with the species ovino-caprinas. Revista Cooperativismo y Desarrollo. 6(2): 257-267.
- Cano, M. J. L. 2018. Factores antinutricionales en materias primas para nutrición animal. Revista: nutriNews. Disponible:<<http://www.Nutricionanimal.info>> [Consultado: 25 de abril 2019].
- Carmona, J.C. 2007. Efecto de la utilización de arbóreas y arbustivas forrajeras sobre la dinámica digestiva en bovinos. Revista Lasallista de Investigación. 4:40-50.
- Correa, H. (2005), Aspectos fundamentales de las fermentaciones en estado sólido (FES). Recuperado de: <http://www.monografias.com/trabajos26/fermentaciones/fermentaciones.sh> ml. [consultado. abril de 2013].
- D' Mello, J. P. & Devendra, C. 1995. Antinutritional Factors in Forage Legumes. En:
- De Dios Elizalde, A., Porrilla, Y.P., Carolina, D. & Chaparro, C. 2009. Factores antinutricionales en semillas. Revista Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial, 7:45-54.
- De Mann, J.C., Rogosa, M. & Sharpe, M.E. 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. J. Bacteriol. 23:130-135.
- Del Valle, P. 2017. Obtención de un biopreparado simbiótico, a partir de la mezcla de pulpa de *Agave fourcroydes* Lem. y PROBIOLACTIL<sup>®</sup>, para su aplicación



- en terneros. Graduated Thesis, Universidad de Matanzas, Matanzas, Cuba, 50 p.
- Deng, D., Chen, Y. J. & Deng, Y. L. 2008. Exploitation and utilization of enzyme and microecological products. *Jiangxi Feed*; 1:15-26.
- Díaz- Canel, M. 2019. Producción de alimentos en Cuba: Rescatar y emplear todas las alternativas posibles. Disponible: <<http://www.cubadebate.cu/noticias/2019/04/11/produccion-de-alimentos-en-cuba-rescatar-y-emplear-todas-las-alternativas-possibles/#.XNmJw2623Mw>> [Consultado: 13 de mayo 2019].
- Diéguez, F. 2010. Situación actual y proyección de la Porcicultura Cubana. *Memorias Porcicultura Tropical 2010*. La Habana, Cuba. Soporte Electrónico. p. 7
- Dierick, M.A., Decuyper, J. & Henderichx, H. 1985. Protein digestion in pig measured in vivo. *Proc. 3rd International Seminar on Digestive Physiology in the Pig*. Eds. A. Just, H. Jorgensen and J. Fernández. p. 229.
- Duniérea, J., Sindoub, F., Chaucheyras-Durand, I., Chevallier, D. & Thévenot-Sergenteta. (2013). Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. *Animal Feed Science and Technology*, 182: 1–15. DOI: 10.1016/j.anifeedsci. 2013.04.006.
- Erwin, E., Marco, G. & Emery, E. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44:1768.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) & WHO (World Health Organization) 2002. *Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food*. Ontario, Canadá: FAO - WHO, 11. Disponible: <[http://www.who.int/foodsafety/fs\\_management/en/probiotic\\_guidelines.pdf](http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf)> , [Consultado: 3 de abril 2019].
- FAO, CEPAL, IICA. 2017. *Perspectivas de la agricultura y del desarrollo rural en las Américas: una mirada hacia América Latina y el Caribe: 2017-2018*. Disponible: <<https://www.refworld.org/es/páfid/5afob58b4.pdf>> [Consultado: 30 de abril 2019].
- FAO. 2009. *El derecho a la alimentación y el acceso a los recursos naturales*. Depósito de documentos de la FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma.
- FAO. 2014. *Producción y sanidad animal*. Disponible: <<http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/background.html>> [Consultado: 2 de abril de 2019]
- FAO. 2015. *El estado de la inseguridad alimentaria en el mundo. Cumplimiento de los objetivos internacionales para 2015 en relación con el hambre: balance de los desiguales progresos*. Depósito de documentos de la FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma.

- FAO. 2016. Producción de alimentos. Disponible <[www.fao.org/3/a-i6747s.pdf](http://www.fao.org/3/a-i6747s.pdf)>[Consultado: 30 de abril de 2019].
- FAO. 2017a. El futuro de la alimentación y la agricultura: Tendencias y desafíos. Disponible <<http://www.fao.org/3/a-i6583e>> [Consultado: 2 de abril de 2019].
- FAO. 2017b. Datos del hambre/WFP/Programa Mundial de Alimentos. Disponible <<http://es.wfp.org/hambre/datos-del-hambre>>[Consultado: 4 de abril de 2019].
- FAO. 2017c. La FAO denuncia que 815 millones de personas pasan hambre en el mundo. <<http://es.wfp.org/hambre/datos-del-hambre>>[Consultado: 4 de abril de 2019].
- FAO. 2018a. El Estado Mundial de la pesca y la acuicultura. Disponible <<http://www.fao.org/state-of-fisheries-aquaculture/es/>>[Consultado: 30 de abril de 2019].
- FAO. 2018b. El futuro de las tendencias Alimentación y desafío de la Agricultura. Disponible <<http://www.fao.org/3/a-i6181e>> [Consultado: 4 de abril de 2019].
- FAO. 2019. Aumentan consumo y producción de productos pecuarios en América Latina y el Caribe. Disponible <[www.fao.org/americas/prioridades/producción-pecuaria](http://www.fao.org/americas/prioridades/producción-pecuaria)>[Consultado: 30 de abril de 2019].
- Figueredo, O. R. & Concepción, J. R. 2018. Producción de alimentos en Cuba: Desde el cultivo hasta la industria. CUBADEBATE. Disponible <http://www.cubadebate.cu/especiales/2018/12/11/produccion-de-alimentos-en-cuba-desde-el-cultivo-hasta-la-industria-video/#.XKNzQ2623Mw>[Consultado: 2 de abril de 2019].
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animal. J. Appl. Bacteriol. 66 (5): 365-378
- García, Y. 2011. Obtención de microorganismos con actividad probiótica a partir excretas de pollos de ceba fermentadas. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencia. Instituto de Ciencia Animal. Mayabeque Cuba, 100p
- GEGAN-División Porcino. 2018. Boletín anual de indicadores económico-productivos. Enero del 2019. Disponible: <[https://www.google.com/cu/search?q=GEGAN-Divisi%C3%B3n+Porcino.+2018.+Bolet%C3%ADn+anual+de+indicadores+econ%C3%B3micoproducidos.+Enero+del+2019&tbm=isch&source=univ&sa=X&ved=2ahUKewjA1dLE9v\\_gAhXHxHkKHVkjCiMQsAR6BAgAEAE&biw=1366&bih=654](https://www.google.com/cu/search?q=GEGAN-Divisi%C3%B3n+Porcino.+2018.+Bolet%C3%ADn+anual+de+indicadores+econ%C3%B3micoproducidos.+Enero+del+2019&tbm=isch&source=univ&sa=X&ved=2ahUKewjA1dLE9v_gAhXHxHkKHVkjCiMQsAR6BAgAEAE&biw=1366&bih=654)> [Consultado: 3 abril de 2019].
- Gómez, M. T. 2019. Saldo positivo para el ganado menor. Semanario Económico y Financiero de Cuba. ISSN 1563-8340. [Consultado: 9 abril de 2019].
- González, W; Guevara, J. 2013. Estudio de Pre Factibilidad de la Producción y Comercialización de la Carne de Conejo. Disponible.

<<https://www.rcta.unah.edu.cu/index.php/ACUNAH/article/view/980/0>>[Consultado: 30 abril de 2019].

- Hiai S., Oura H. & Nakajima T. 1976. Reaction of some sapogenins and saponins with vanillin and sulfuric acid. *Planta Med.* 29:116-122.
- Hungate R.E. 1967. Hydrogen as an intermediate in the rumen fermentation. *Archiv für Mikrobiologie* 59: 158-164.
- Kadaikunnan, S.; Rejiniemon, T. S.; Khaled, J. M.; Alharbi, N. S.; Mothana, R. 2015. "In-vitro antibacterial, antifungal, antioxidant and functional properties of *Bacillus amyloliquefaciens*". *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 14: 9, ISSN: 1476-0711, DOI: 10.1186/s12941-015-0069-1.
- Karolewski, P., Jagodziński, A.M. & Grzebyta, J. 2011. Influence of tree age, needle age and location in the crown on the phenolic compounds content in needles of young Scots pines. *Sylwan* 155:797–807.
- Kizerwetter, M.; Binek, M. 2016. Assessment of potentially probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from chickens. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19(1): 15–20, ISSN: 2300-2557, DOI: 10.1515/pjvs-2016-0003.
- Krehbiel, C. R., Rust, S. R., Zhang, G. & Gilliland, S. E. 2003. Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. *J Anim Sci.* 81(2): 120-132.
- Krishna, C. (2005). Critical Solid-State Fermentation Systems-An Overview Reviews in Biotechnology; Pro Quest Agriculture Journals. p.13.
- Kumar, A., Lingadurai, S., Jain, A. & Barman, N.R. 2010. *Erythrina variegata* Linn: A review on morphology, phytochemistry, and pharmacological aspects. *Phcog Rev.*4:147-52.
- Kumar, R. & D'Mello, J.P.F. 1995. Antinutritional factors in forage legumes. En: *Tropical legumes in animal nutrition*. D'Mello, J.P.F. y Devendra, C. (Eds.). Wallingford. CAB International, p.95-133.
- Leuchtenberger, W., Huthmacher, K. & Drauz K. 2005. Biotechnological production of amino acids and derivatives: current status and prospects. *Appl Microbiol Biotechnol.* 69:1-8.
- Lilley, D.M.; Stillwell, R.H. 1965. Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. *Sci.* 147:747-748.
- Madrid, J., Martínez. Teruel, A.M., Hernández, F. & Megias, M., D. 1999. Comparative study on the determination of lactic acid in silage juice by colorimetric, high performance liquid chromatography and enzymatic methods. *Journal of the Science of food and agriculture.* 79; 1722-172.
- Martínez, O. R., Rosa C. Bermúdez Savón., Rodríguez, R. B. & Nora García Oduardo. 2018. Comportamiento productivo de conejos alimentados con dietas que incluyen sustrato remanente de la producción de setas. *Rev. prod. anim.*30 (2): 25-31.

- Mesa, J. A. 2018. Empleo del aditivo zotécnico SULTILPROBIO® en la prevención y control de la mastitis bovina. Trabajo de Diploma de Culminación de Estudios de la Carrera de Agronomía, Universidad de Matanzas, Cuba. 82p
- Metchnikoff, E. 1907. The prolongation of life. En: Optimistic studies. Heinemann, William (ed). G. P. Putnam & Sons, London, UK: 1-100.
- Milián, G. F., Quintero, M. M., Martínez, M. & Portilla, Y. T. 2018. Obtención de biopreparados a partir de microorganismos con actividad biorremediadora. Monografía UM. ISBN: 978-959-16-4235-6.
- Milián, G. F., Rondón, A. J., Pérez, M., Arteaga, F., Boucourt, R., Portilla, Y., Rodríguez, M., Pérez, Y. & Laurencio, M. 2017a. Efecto de aditivos zotéctnicos sobre indicadores productivos y de salud en pollos. Revista Pastos y Forrajes 40 (4): 315 – 322.
- Milián, G.F., Ana J. Rondón, M. Pérez, Fátima Arteaga, R. Boucourt, Yadileiny Portilla, Marlen Rodríguez, Y. Pérez, A. Beruvides. & M. Laurencio. 2017b. Methodology for the isolation, identification and selection of *Bacillus spp.* strains for the preparation of animal additives. Cuban Journal of Agricultural Science, 51, (2):197-207.
- Mitchell, A., Berovic, M. & 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.
- Monet, M. I. Q. 2018. Obtención de biopreparados a partir de microorganismos con actividad biorremediadora. Trabajo de Diploma de Culminación de Estudios de la Carrera de Agronomía, Universidad de Matanzas, Cuba. 66p.
- 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 en producción animal para la zona tropical. Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba. p. 26-28.
- Nguyen, A. T.; Nguyen, D. V.; Tran, M. T.; Nguyen, L. T.; Nguyen, A. H.; Phan, T. N. 2015. Isolation and characterization of *Bacillus subtilis* CH16 strain from chicken gastrointestinal tracts for use as a feed supplement to promote weight gain in broilers. Lett. Appl. Microbiol. 60(6):580-588.
- OECD/Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2014. Disponible: < [http://dx.doi.org/10.1787/agr\\_outlook-2014-en](http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2014-en) > [Consultado: 2 de abril de 2019].
- ONEI. 2018. Oficina Nacional de Estadísticas e Información de Cuba. Sector Agropecuario. Indicadores Seleccionados Enero - septiembre 2018. Disponible <http://www.onei.cu> [Consultado: 9 de abril de 2019].

- Onteru, S., Ampaire, A. & Rothschild, M. (2010), Biotechnology developments in the livestock sector in developing countries. *Biotechnol Genet Eng Rev.* 2010; 27:217-28.
- Palma, O. & Hurtado, E. 2012. Comportamiento productivo de conejos durante el período de crecimiento-engorde alimentados con frutos de mango en sustitución parcial del alimento balanceado comercial. Disponible: <<http://www.researchgate.net/>> [Consultado: 25 de abril 2019].
- Pandey, A., Soccol, R., Rodríguez-León, A. & Nigam, P. 2001. Solid-state fermentation in biotechnology. Fundamentals and applications. Asiatech Publishers, Inc. New Delhi. 221p.
- Pandey, A.; Soccol, C.; & Mitchell, D. 2000. New Developments in Solid State Fermentation: I. Bioprocesses and Products *Biochemical Journal Ingeniería.* Volumen 35, Issue 10, Pages 1153–1169.
- 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.
- Patra, A, K., Kamra. D.N. & Agarwal. N, 2006. Effect of plant extracts on in vitro methanogens, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 128: 276-291.
- Patra, A.H. & Saxena, J. 2009. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 96: 363-375.
- Patterson, J. A. 2005. Prebiotic Feed Additives: Rationale and Use in Pigs. *Adv Pork Prod.* 16:149.
- Powthong, P. & Suntornthiticharoen, P. 2015. Isolation, identification and analysis of probiotic properties of lactic acid bacteria from selective various traditional thai fermented food and kefir. *Pakistan Journal of Nutrition.* 14 (2): 67.
- Price, L., Van S.S. & Butler L. 1978. A Critical Evaluation of the Vanillin Reaction as an Assay for Tannin in Sorghum Grain. *J. Agric. Food Chem.*, 26:492.
- Quiles, A. & Hevia, M. 2016. Características de la flora intestinal del lechón: efecto de los probióticos. Disponible: <[www.edicionestecnicasreunidas.com](http://www.edicionestecnicasreunidas.com)> [Consultado: 2 de abril de 2019].
- Ramos, G, P. Frutos, Giradles, F.J. & Mantecón, A.R. 1998. Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros. *Archivos de zootecnia*, 47(180):601-620.
- Rendón, L., Añez, M., Salvatierra, A., Meneses, R., Heredia, M & Rodríguez, M. 2015. Probióticos generalidades. *Arch. Venez. Puer.* [on line]. 74 (8): 123-128
- Roberto Belmar Casso y Rutilio Nava Montero. 2015. Factores antinutricionales en la alimentación de animales monogástricos. Libro Alimentación no

convencional para monogástricos en el Trópico 51-61. Disponible: <[www.avpa.ula.ve/eventos/viii\\_encuentro\\_monogastricos/...alimentacion.../index.htm](http://www.avpa.ula.ve/eventos/viii_encuentro_monogastricos/...alimentacion.../index.htm)> [Consultado 29 de mayo de 2019].

Rodríguez, A. T. 2017. Se recupera la producción de huevos en Cuba. Disponible: <[web@radiorebelde.icrt.cu/](mailto:web@radiorebelde.icrt.cu/)> [Consultado: 25 abril de 2019].

Rodríguez, R., Lores, J., Gutiérrez, D., Ramírez, A., Gómez, S., Elías, A., Aldana, A.I., Moreira, O., Sarduy, L. & Jay, O. 2013. Inclusión del aditivo microbiano VITAFERT en la fermentación ruminal *in vitro* de una dieta para cabras. Revista Cubana de Ciencias Agrícolas 47 (2): 171-178.

Rodríguez, R.G. 2018. Producción de alimentos en Cuba. Entrevista al Ministro de Agricultura. Disponible: CUBADEBATE [Consultado: 3 abril de 2019].

Rodríguez, Y. 2005. Obtención de un alimento energético proteico a través de la FES de la caña de azúcar y el tubérculo de yuca. Tesis de Master en Ciencias Veterinarias. Universidad Agraria de la Habana. Instituto de Ciencia Animal. Habana, Cuba.

Rondón, A.J. 2009. Obtención de biopreparados a partir de lactobacilos autóctonos del tracto digestivo de pollos y evaluación de su efecto probiótico en estos animales. Tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba. p. 131.

Ryan, G.D., Rasmussen, S. & Newman, J.A. 2010. Global atmospheric change and trophic interactions: are there any general responses? En: Plant communication from an ecological perspective. Baluška, F. y Ninkovic, V. (Eds). Springer-Verlag, Berlin. p. 179–214.

Sanz, Y.; Collado, M.; Dalmau, J. 2003. Probióticos: criterios de calidad y orientaciones para el consumo. Acta Pediátrica Española. 61:476-482.

Segura, L. 2018. La pesca en provincia cubana diversifica producciones. Disponible: <<http://www.periodico26.cu/index.php/es/especiales/item/8726-empresa-de-la-pesca-en-las-tunas-diversifica-producciones>> [Consultado: 30 de abril de 2019].

Semmar, N., Nouira, S. & Farman, M. 2011. Variability and ecological significances of secondary metabolites in terrestrial biosystems. Environ. Res. J. 5 (2): 213-302.

Singhania, R., Patel, A., Soccol, C. & Pandeya, A. 2009. Recent advances in solidstate fermentation, Biochemical Engineering Journal, 44 (1): 13–18.

SOFA. 2018. El Estado Mundial de la Agricultura y la Alimentación. Disponible: <[www.fao.org/state-of-food-agriculture/es](http://www.fao.org/state-of-food-agriculture/es)> [Consultado: 30 de abril de 2019].

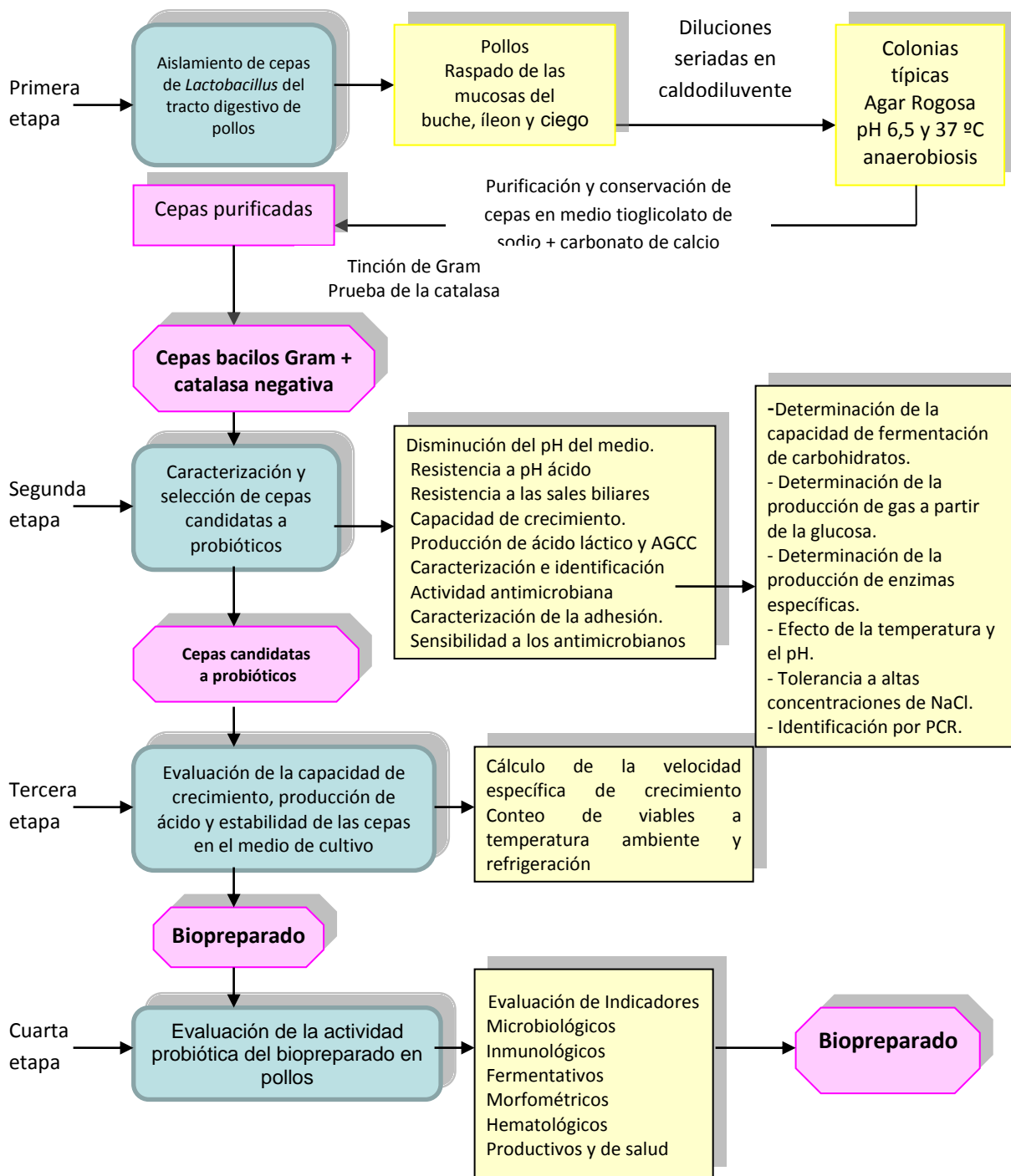
Statgraphics. 2002. Statgraphics Plus version 5.1. Statgraphic Technical Support Center. Manugistics, Inc., Rockville, Maryland, USA.

- TRADEMAP. 2014. Trade statistics for international business development. Disponible:<<http://www.trademap.org/Index.aspx>>[Consultado: 2 de abril de 2019].
- Tronconi, G. 2003. Fermentaciones aplicadas a la industria de alimentos. Universidad del Valle Contribución a la II Muestra Agroindustrial, Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Popayán. Tropical Legumes in Animal Nutrition. Ed. JPF D´ Mello and Devendra CAB.Intenational Development Research Center, Singapore. p.118.
- United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service – USDA. Production, Supply and Distribution Online. Disponible: <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/>>[Consultado: 2 de abril de 2019].
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. & 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.
- Verdecia. D.M. 2014. Composición química y metabolitos secundarios en seis variedades de árboles, arbustos y leguminosas volubles en el Valle del Cauto. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. ICA. La Habana. Cuba. p.72.

**ANEXOS**

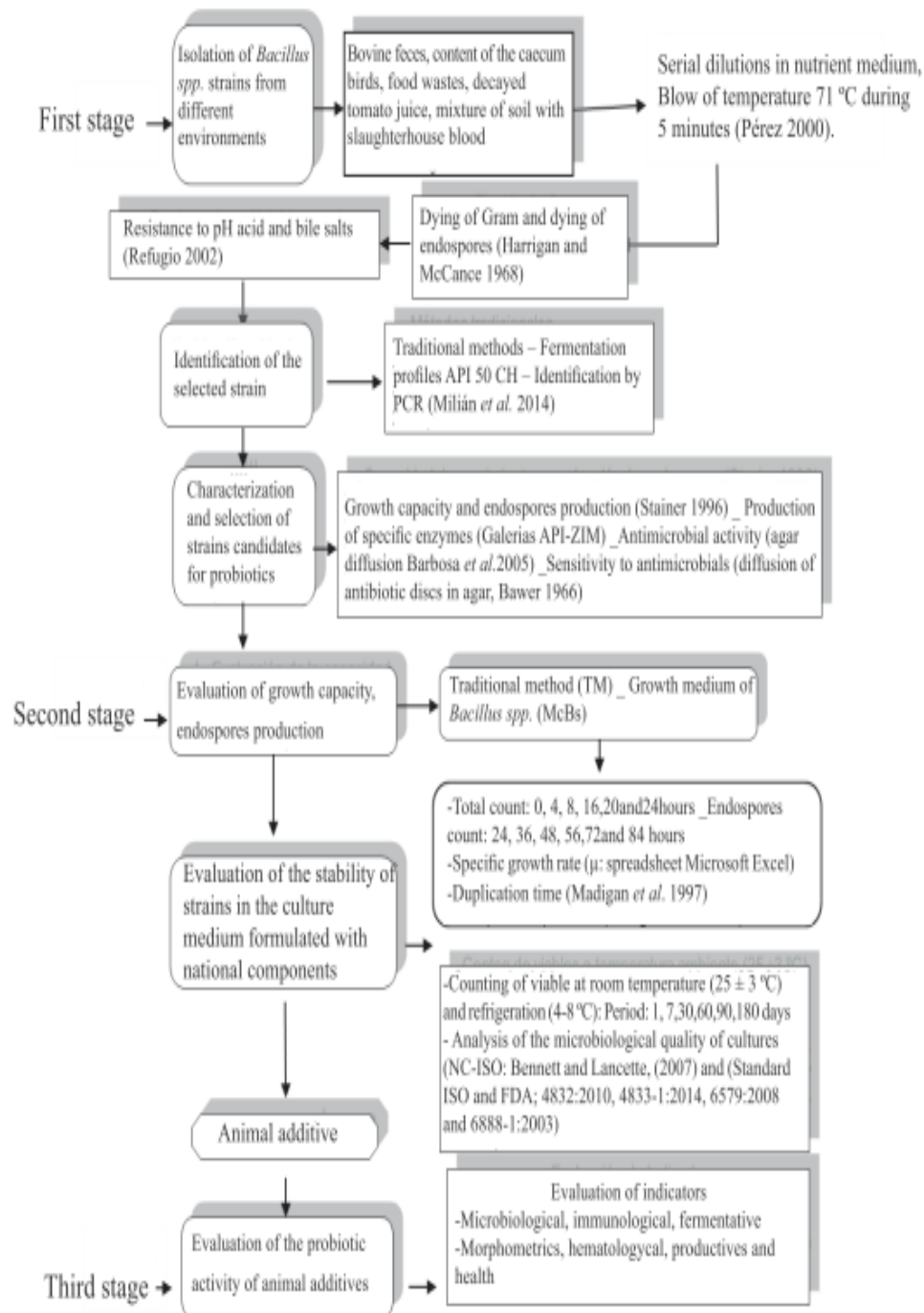


# ANEXO 1



**Figura 6.** Metodología para la obtención de biopreparados probióticos, a partir de *Lactobacillus* autóctonos del tracto digestivo de pollos.

## Anexo 2



**Figura 7.** Metodología para la obtención de aditivos zootecnios a partir de *Bacillus* spp.

### Anexo 3

Metodología de elaboración del PROBIOLEV® por Pérez *et al.* (2006).

#### Componente del PROBIOLEV®:

- ∞ crema de destilería de alcohol (*Saccharomyces cerevisiae*) al 20% de materia seca y
- ∞ cultivo de *Bacillus subtilis* E-44 para la obtención del crudo enzimático.

**Obtención del crudo enzimático:** El crudo enzimático se prepara en medio para el crecimiento de *Bacillus subtilis* E-44 (Pérez, 2000), que contiene miel final; autolizado de levadura torula, dihidrógeno fosfato de potasio (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) y cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>). El pH de este medio se ajusta entre 7 y 8 con hidróxido de sodio (NaOH) al 1% y se esteriliza en autoclave a 121°C por 15 min. Posteriormente se inocula la cepa *B. subtilis* y se desarrolla su crecimiento en condiciones de aerobiosis mediante agitación a 125 rpm en zaranda termostatada, durante un período de 12 horas a 37°C.

**Obtención del hidrolizado enzimático de crema de levadura:** El crudo enzimático se mezcla con la crema de *Saccharomyces cerevisiae* (20% de MS) y se adiciona cloruro de sodio (NaCl). Se ajusta nuevamente el pH entre 5 y 6 con hidróxido de sodio (NaOH) al 10%. A partir de ahí, comienza la hidrólisis por 15 horas, a una temperatura entre 40 y 50°C con agitación. El proceso finaliza con un tratamiento térmico al producto, al mantenerlo a 71°C de temperatura por 15 min. Por último se agrega 0,01% de fenol como conservante.