



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“EFECTO DE NIVELES DE VITAFERT EN LA FERMENTACIÓN
EN ESTADO SÓLIDO DE LA PULPA DE CAFÉ (*Coffea
arábiga*) PARA USO EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES”.

Tesis de grado previa a la
obtención del “Título de Médico
Veterinario Zootecnista”.

Autor:

Yesmani José Celi Poma

Director:

Dr. Luis Aguirre Mendoza Mg. Sc.

Loja – Ecuador

2018

CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

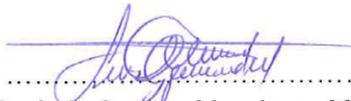
Dr. Luis Aguirre Mendoza, Mg. Sc.
DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICA:

Que se ha revisado prolijamente el informe final de la tesis titulada: “EFECTO DE NIVELES DE VITAFERT EN LA FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE LA PULPA DE CAFÉ (*Coffea arabica*) PARA USO EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES”, realizada por el Señor Egresado: YESMANI JOSÉ CELI POMA, la misma que **CULMINÓ DENTRO DEL CRONOGRAMA APROBADO**, cumpliendo con los lineamientos establecidos en la reglamentación vigente de la Universidad Nacional de Loja; por lo tanto, se autoriza su presentación para los fines legales pertinentes.

Loja, 04 de Octubre del 2018

Atentamente,


.....
Dr. Luis Aguirre Mendoza, Mg. Sc.
DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICACIÓN DE TRIBUNAL DE GRADO

“EFECTO DE NIVELES DE VITAFERT EN LA FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE LA PULPA DE CAFÉ (*Coffea arábica*) PARA USO EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES”

Tesis presentada al tribunal de grado como requisito, previo a la obtención del título:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA

Loja, noviembre del 2018

Dr. Víctor Rolando Sisalima Jara Mg. Sc.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg. Sc.

VOCAL DEL TRIBUNAL

Dr. Edwin Geovanny Mizhquero Rivera Mg. Sc.

VOCAL DEL TRIBUNAL

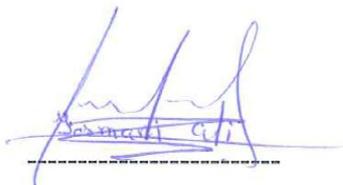
AUTORÍA

Yo, **YESMANI JOSÉ CELI POMA** declaro ser autor del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posible reclamo o acciones legales por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autor: Yesmani José Celi Poma

Firma:



Cédula: 0705623502

Fecha: Loja, 12 de noviembre del 2018.

**CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL
AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O
TOTAL Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO
COMPLETO.**

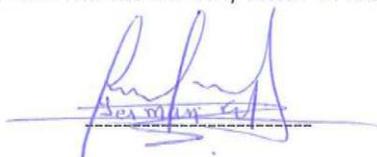
Yo, Yesmani José Celi Poma, declaro ser el autor de la tesis titulada: “EFECTO DE NIVELES DE VITAFERT EN LA FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO DE LA PULPA DE CAFÉ (*Coffea arábica*) PARA USO EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES”, como requisito para optar al grado de: **Médico Veterinario Zootecnista**; autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja, para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera, en el Repositorio Digital Institucional (RDI):

Los usuarios podrán consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tengan convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los doce días del mes de noviembre del dos mil dieciocho, firma el autor.

Firma:



Autor:

Yesmani José Celi Poma

C.I.:

0705623502

Dirección:

Av. Pio Jaramillo y Brasil

Correo Electrónico:

yesmaniceli_@hotmail.es

Celular:

0979920091

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de Tesis:

Dr. Luis Antonio Aguirre Mendoza, Mg. Sc.

Tribunal de Grado:

Dr. Víctor Rolando Sisalima Jara Mg. Sc. (PRESIDENTE)

Dr. Galo Vinicio Escudero Sánchez Mg. Sc. (VOCAL)

Dr. Edwin Geovanny Mizhquero Rivera Mg. Sc. (VOCAL)

AGRADECIMIENTO

Mi agradecimiento a Dios, por haberme puesto en las mejores manos y en el mejor lugar para formarme como persona y profesional, a mis padres que son los principales responsables de mis logros, a mi novia y hermanos por la compañía y el apoyo incondicional que siempre me brindaron.

A la Universidad Nacional de Loja, y muy efusivamente a la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por abrirme un espacio dentro de sus aulas, y hacer de esta academia mi segunda casa.

Al Dr. Luis Aguirre Mendoza Mg. Sc., a quién le guardo un infinito respeto y admiración por ser un excelentísimo profesional y sobre todo una gran persona, que en calidad de director de tesis y gracias a sus conocimientos ha sido un eje fundamental en la ejecución de este trabajo de investigación.

Al Ing. Vicente Apolo, por su enseñanza y contribución en el trabajo de laboratorio.

En fin, agradezco a todos los docentes y amigos quienes estuvieron a mi lado brindando su amistad y apoyo sincero.

Yesmani Celi

Autor

DEDICATORIA

Con infinito amor y con el corazón lleno de emoción, como símbolo de un fraterno agradecimiento, dedico este trabajo de tesis primeramente a Dios por brindarme sabiduría y el don de la vida. A mis queridísimos padres, Ángel y María, quienes son el pilar fundamental en mi vida y por hacer de este mi sueño, una realidad y sobre todo por la educación y el sin número de consejos brindados que me han permitido ser una mejor persona.

De igual forma, a mi novia por el amor, la paciencia y el apoyo brindado en cada uno de los momentos que lo he necesitado.

Y no puedo dejar de lado a las personas con quien emprendí este viaje lleno de sueños, que con sacrificio y esfuerzo está llegando a su fin, a ustedes queridos hermanos Jaime, Doris y Mayela Celi Poma.

Yesmani Celi

Autor

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO:	PAG.
CERTIFICACIÓN	II
CERTIFICACIÓN DE TRIBUNAL DE GRADO.....	III
AUTORÍA.....	IV
CARTA DE AUTORIZACIÓN.	V
AGRADECIMIENTO	VI
DEDICATORIA	VII
ÍNDICE GENERAL	VIII
ÍNDICE DE CUADROS	XI
ÍNDICE DE FIGURAS	XII
TÍTULO	XIII
RESUMEN.....	XIV
SUMARY.....	XV
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA NUTRICIÓN ANIMAL	3
2.2. FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO (FES)	4
2.2.1. Características de las FES.....	6
2.2.2. Ventajas	7
2.2.3. Desventajas	8
2.2.4. Factores que Afectan los Procesos de FES	8
2.2.4.1. Humedad y Actividad del Agua	8
2.2.4.2. Temperatura.....	9
2.2.4.3. pH	10
2.2.4.4. Aireación	10
2.2.4.5. Tamaño de Partículas	11
2.2.4.6. Tipos de Microorganismos Empleados en FES	11
2.3. LA PULPA DE CAFÉ EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES ..	13
2.3.1. Características y Valor Nutritivo	13
2.3.2. Sustancias Anti – Nutricionales.....	15
2.4. OTROS INSUMOS UTILIZADOS	16
2.4.1. Vitafert.....	16
2.4.2. Urea	18
2.5. TRABAJOS RELACIONADOS	19

3.	MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1.	MATERIALES	21
3.1.1.	Materiales de Campo	21
3.1.2.	Materiales de Laboratorio.....	21
3.1.3.	Materiales de Oficina.....	21
3.2.	MÉTODOS	22
3.2.1.	Ubicación del Experimento.....	22
3.2.1.1.	Ubicación Política.....	22
3.2.1.2.	Ubicación Geográfica	22
3.2.2.	Obtención del Material	22
3.2.3.	Unidades Experimentales	23
3.2.4.	Diseño Experimental	23
3.2.5.	Descripción de los Tratamientos	23
3.2.6.	Preparación del Inóculo (VITAFERT).....	24
3.2.7.	Procedimiento Experimental	24
3.2.8.	Variables en Estudio	25
3.2.9.	Toma y Registro de Datos.....	25
3.2.10.	Análisis Estadísticos.....	26
4.	RESULTADOS	27
4.1.	COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PULPA DE CAFÉ FRESCA.....	27
4.2.	INDICADORES DE FERMENTACIÓN	27
4.2.1.	pH.....	28
4.2.2.	Amoníaco (NH ₃)	29
4.3.	COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PULPA BIOFERMENTADA	30
4.3.1.	Materia Seca	30
4.3.2.	Cenizas	32
4.3.3.	Proteína Cruda.....	33
4.3.4.	Proteína Verdadera.....	34
4.3.5.	Relación PV/PC	35
4.3.6.	Fibra Cruda	36
5.	DISCUSIÓN	38
5.1.	COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PULPA FRESCA.....	38
5.2.	INDICADORES DE FERMENTACIÓN	38
5.2.1.	pH.....	38
5.2.2.	Amoníaco (NH ₃)	39
5.3.	COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PULPA BIOFERMENTADA	39
5.3.1.	Materia Seca	39
5.3.2.	Cenizas	40
5.3.3.	Proteína Cruda.....	40
5.3.4.	Proteína Verdadera.....	41
5.3.5.	Relación PV/PC	41
5.3.6.	Fibra Bruta	42

6.	CONCLUSIONES	43
7.	RECOMENDACIONES	45
8.	BIBLIOGRAFÍA	46
9.	ANEXOS	53

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	CONTENIDO	PAG.
CUADRO 1	Composición de la pulpa de café en diferentes estados (%).....	14
CUADRO 2	Conformación de los tratamientos evaluados.....	23
CUADRO 3	Fórmula para la obtención del VITAFERT.....	24
CUADRO 4	Composición química de la pulpa de café fresca (%).....	27
CUADRO 5	Efecto del vitafert en el pH durante la dinámica de FES de la pulpa de café.....	28
CUADRO 6	Efecto del vitafert en el contenido de amoníaco durante la dinámica de FES de la pulpa de café.....	29
CUADRO 7	Efecto del vitafert en el contenido de materia seca en la FES de la pulpa de café hasta las 72 horas.....	30
CUADRO 8	Efecto del vitafert en el contenido de cenizas en la FES de la pulpa de café hasta las 72 horas.....	32
CUADRO 9	Efecto del vitafert en el contenido de proteína cruda en la FES de la pulpa de café hasta las 72 horas.....	33
CUADRO 10	Efecto del vitafert en el contenido de proteína verdadera en la FES de la pulpa de café hasta las 72 horas.....	34
CUADRO 11	Relación PV/PC en la FES de la pulpa de café hasta las 72 horas.....	35
CUADRO 12	Efecto del vitafert en el contenido de fibra cruda en la FES de la pulpa de café hasta las 72 horas.....	37

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	CONTENIDO	PAG.
FIGURA 1	Ubicación del ensayo	22
FIGURA 2	Variación de pH en la FES de la pulpa de café en diferentes tiempos de fermentación.....	28
FIGURA 3	Variación de pH en la FES de la pulpa de café con la inclusión de diferentes niveles de vitafert.....	29
FIGURA 4	Variación de amoníaco en la FES de la pulpa de café con diferentes niveles de vitafert y tiempo de fermentación.....	30
FIGURA 5	Variación en el contenido de materia seca en la FES de pulpa de café en diferentes tiempos de fermentación.....	31
FIGURA 6	Variación en el contenido de materia seca en la FES de pulpa de café con diferentes niveles de vitafert hasta las 72 horas.....	31
FIGURA 7	Variación en el contenido de cenizas en la FES de pulpa de café con diferentes niveles de vitafert hasta las 72 horas.....	33
FIGURA 8	Variación en el contenido de proteína cruda en la FES de pulpa de café con diferentes niveles de vitafert hasta las 72 horas.....	34
FIGURA 9	Variación en el contenido de proteína verdadera en la FES de pulpa de café con diferentes niveles de vitafert hasta las 72 horas.....	35
FIGURA 10	Relación PV/PC en la FES de la pulpa de café con diferentes niveles de vitafert hasta las 72 horas.....	36
FIGURA 11	Variación en el contenido de fibra cruda en la FES de pulpa de café con diferentes niveles de vitafert hasta las 72 horas.....	37

**“EFECTO DE NIVELES DE VITAFERT EN LA FERMENTACIÓN
EN ESTADO SÓLIDO DE LA PULPA DE CAFÉ (*Coffea
arábica*) PARA USO EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES”.**

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Bromatología de la Universidad Nacional de Loja, con el propósito de contribuir al mejoramiento del valor nutritivo de la pulpa de café, mediante procesos de fermentación en estado sólido (FES) para facilitar su uso en la alimentación animal. Se evaluaron cuatro niveles de vitafert (0; 5; 10 y 15 %), en cuatro periodos de tiempo (0, 24, 48 y 72 horas) mediante diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 4 x 4, resultando 16 tratamientos, con tres repeticiones cada uno, es decir 48 unidades experimentales. La fermentación se realizó en frascos Erlenmeyer que fueron colocados en estufa a 26°C, durante los periodos de tiempo establecidos; en todos los tratamientos se adicionó 1,5% de urea y 0,5 % de sales minerales para completar 100 g. Las variables estudiadas fueron: composición bromatológica de la pulpa de café fresca, indicadores fermentativos (pH y amoníaco) y composición bromatológica de la pulpa fermentada. Los resultados demuestran una apreciable composición química de la pulpa fresca con 15,58% de MS; 10,54 % de PC; 18,75 % de FC y 10,70 % de Cz. Los indicadores fermentativos revelaron que la inclusión de vitafert (5,10 y 15%) provocó mayor actividad microbiana, con valores de pH cercanos a 7, lo que se relaciona con la concentración de amoníaco, que alcanzó su mayor pico (3,58 meq/L) a las 72 horas con el 15 % de vitafert. La composición bromatológica de la pulpa fermentada mostró disminución de la MS en relación al tiempo de fermentación y al nivel de inclusión del inóculo; el contenido de Cz fue mayor con la inclusión de 5 % de vitafert hasta las 72 horas; los tenores PC fueron elevados (mayores a 32%) en todos los tratamientos, con su mayor pico (36,66%) con el 15 % de vitafert hasta las 24 horas; mientras que la proteína verdadera experimentó un incremento de 4 puntos (de 9,59 a 13,78%); la FC se incrementó ligeramente (19,5 a 22,24 %) en el proceso de fermentación.

Palabras Clave: pulpa de café, fermentación, vitafert, valor nutritivo, rumiantes.

SUMARY

The present research work was carried out in the laboratory of Bromatology of the National University of Loja, with the purpose of contributing to the improvement of the nutritive value of the coffee pulp, by means of solid state fermentation processes (FES) to facilitate its use in animal feed. Four levels of vitafert (0, 5, 10 and 15%) were evaluated in four time periods (0, 24, 48 and 72 hours) by completely randomized design with 4 x 4 factorial arrangement, resulting in 16 treatments, with three repetitions each one, that is 48 experimental units. The fermentation was carried out in Erlenmeyer flasks that were placed in an oven at 26°C, during the established periods of time; in all the treatments, 1.5% of urea and 0.5% of mineral salts were added to complete 100 g. The variables studied were: bromatological composition of the pulp of fresh coffee, fermentative indicators (pH and ammonia) and bromatological composition of the fermented pulp. The results show an appreciable chemical composition of the fresh pulp with 15.58% dry matter (DM); 10.54% crude protein (PC); 18.75% crude fiber (FC) and 10.70% Ash. The fermentative indicators revealed that the inclusion of vitafert (5.10 and 15%) caused greater microbial activity, with pH values close to 7, which is related to the concentration of ammonia, which reached its highest peak (3.58 meq/L) at 72 hours with 15% vitafert. The bromatological composition of the fermented pulp showed a decrease in DM in relation to the time of fermentation and the level of inclusion of the inoculum; the ash content was higher with the inclusion of 5% vitafert until 72 hours; PC tenors were elevated (greater than 32%) in all treatments, with their highest peak (36.66%) with 15% vitafert until 24 hours; while the true protein experienced an increase of 4 points (from 9.59 to 13.78%); FC increased slightly (19.5 to 22.24%) in the fermentation process.

Keywords: coffee pulp, fermentation, vitafert, nutritional value, ruminants.

1. INTRODUCCIÓN

La situación de la ganadería mundial exige máxima eficiencia para garantizar un buen retorno económico. En este contexto, la optimización de la alimentación con el uso de suplementos no tradicionales, elaborados a base de residuos agrícolas, es una alternativa que puede contribuir para mejorar la eficiencia productiva y la rentabilidad de las empresas ganaderas. La alimentación es uno de los factores más importantes, debido a su alto costo y a la creciente demanda de fuentes de alimento para animales; por lo tanto, es necesario diversificar el uso de recursos disponibles y de bajo costo (Suárez, 2011).

En Ecuador, la ganadería constituye una de las principales actividades agropecuarias que genera trabajo y recursos económicos para la población. Sin embargo, la estacionalidad climática es un factor que condiciona la producción bovina, siendo crítica en la época seca, ya que afecta considerablemente la disponibilidad y calidad de pastos con bajos rendimientos en la producción de leche y carne (Quichimbo, 2017).

Por otro lado, las actividades agrícolas, como el cultivo de café, generan grandes volúmenes de residuos como es el caso de la pulpa; la cual ha sido señalada por muchos autores, como de alta potencialidad para la alimentación de rumiantes, debido que su contenido de nutrientes es superior al de otros residuos agrícolas (Vargas, *et al.*, 1997). La pulpa de café es un residuo que generalmente se desecha en suelos y ríos, generando contaminación ambiental, por ello es importante darle un uso alternativo, mediante procesos de transformación, como es la fermentación en estado sólido, pues según, De Souza, *et al.*, (2005) la pulpa de café puede ser utilizada en dietas para rumiantes, puesto que los taninos pueden modificar positivamente la fermentación ruminal y proteger la proteína de la dieta de la degradación ruminal.

Desde el punto de vista nutricional, la pulpa de café se presenta como un alimento interesante, ya que contiene 14,3 % de proteína cruda; 1,57 % de

extracto etéreo; 26,43 % de fibra cruda; 43,22 % de extracto libre de nitrógeno y 14,65 % de cenizas; sin embargo, pese a estas características en su composición química, en el Ecuador y particularmente en la provincia de Loja, no ha sido utilizada en la alimentación animal (Zambrano, 2004). Varios estudios han demostrado que no es posible utilizar la pulpa fresca como alimento para animales, debido a su alto contenido de fibra y sustancias anti nutricionales, siendo necesario su procesamiento previo. La aplicación de procesos de fermentación en estado sólido (FES) permiten mejorar su valor nutritivo, reduciendo a niveles tolerables los contenidos de sustancias anti nutricionales (Noriega, *et al.*, 2009).

Con estos antecedentes el presente trabajo de investigación se orientó a evaluar el efecto de niveles de vitafert en la fermentación en estado sólido de la pulpa de café (*coffea arábica*) para uso en la alimentación de rumiantes, con la finalidad de mejorar el valor nutritivo de este residuo agrícola y facilitar su uso en la elaboración de raciones suplementarias para la alimentación de rumiantes. Para lograr este propósito se plantearon los siguientes objetivos:

- Evaluar el efecto de cuatro niveles de inóculo (VITAFERT) y cuatro periodos de tiempo en la FES de la pulpa de café sobre algunos indicadores fermentativos.
- Conocer el efecto de cuatro niveles de inóculo (VITAFERT) y cuatro periodos de tiempo en la FES de la pulpa de café sobre la composición bromatológica.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA NUTRICIÓN ANIMAL

Durante la Convención de Diversidad Biológica, se definió la biotecnología como, “cualquier aplicación tecnológica que utiliza sistemas biológicos, organismos vivos o derivados para hacer o modificar productos o procesos para un uso específico” (Uffo, 2011). De igual forma, Romero (2008), señala que la biotecnología es la serie de procesos industriales que implican el uso de organismos vivos, bien sean plantas, animales o microorganismos.

Por su parte Obispo (2008), asegura que la biotecnología es un término de desarrollo científico moderno, difícil de conceptualizar por el arreglo multidisciplinario que tiene. Pero lo que más entusiasma, es saber que es una tecnología de avanzada, no sólo para las ciencias médicas, sino para el desarrollo agrícola, que va a permitir por ejemplo aumentar, a pasos más rápidos, el rendimiento y la calidad nutricional de los productos biológicos. Con estas herramientas, los cambios científicos y tecnológicos se hacen con menor grado de incertidumbre y con lo que se podrá incrementar la cantidad y calidad de los alimentos que requieren los pueblos.

Diferentes grados de biotecnología se han venido descubriendo y desarrollando a través de los años, muchas veces por eventos fortuitos, al observarse los procesos y fenómenos que ocurren en la naturaleza. Desde la antigüedad, el hombre ha utilizado a seres vivos (levaduras) y a sus subproductos, para la transformación y obtención de productos y alimentos fermentados. La utilización de organismos vivos como las levaduras y bacterias amigas para la fabricación de pan, pastas y yogurt, entre otros son ejemplos sencillos de la aplicabilidad de la biotecnología (Obispo, 2008).

Y es así que la mayoría de las biotecnologías utilizadas en el área de la nutrición y producción animal se basan en el uso de microorganismos, tanto naturales como obtenidos por vía recombinante, para modificar los patrones

de digestión y procesamiento de los alimentos, fundamentalmente de los rumiantes (Uffo, 2011).

La biotecnología ya es ampliamente utilizada en la producción animal, la cual se aplica para mejorar su funcionamiento proporcionándoles una mejor nutrición, logrando un mayor potencial de producción y un estado de salud mejorado. Para ello se utiliza un elevado número de productos procesados a través de biotecnologías, mismas que se adicionan con frecuencia al alimento, tal es el caso de los aminoácidos que pueden ser utilizados como nutrientes, dando como resultado una mejor formulación de dietas que satisfagan con mayor precisión las necesidades específicas de las funciones productivas. Las enzimas por su parte pueden mejorar la disponibilidad de nutrientes de los piensos, reducir los costos de alimentación y disminuir la producción de residuos en el medio ambiente (Bonneau y Laarveld, 1999).

Una de las biotecnologías, que ha tenido gran auge, es la denominada “Fermentación en Estado Sólido – FES”, usada a nivel comercial para la producción de diferentes alimentos fermentados, obtención de enzimas, metabolitos secundarios y para la bioconservación de residuos orgánicos en productos útiles.

2.2. FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO (FES)

La fermentación fue descubierta por Louis Pasteur, que la describió como la *vie sans l'air* (la vida sin el aire). Es un proceso catabólico de oxidación incompleta, totalmente anaeróbico, siendo el producto final un compuesto orgánico. Estos productos finales son los que caracterizan los diversos tipos de fermentaciones. La fermentación típica es llevada a cabo por las levaduras, sin embargo, algunos metazoos y protistas son capaces de realizarla (Mena, 2013).

La fermentación sólida puede ser definida como un cultivo de microorganismos adheridos a un soporte sólido poroso y humedecido en el cual el medio líquido está extendido en una capa muy fina en contacto con

una interface aérea. Las bacterias, levaduras y hongos son los microorganismos que pueden crecer en fermentación sólida, pero la mayoría de las investigaciones se llevan a cabo con hongos filamentosos. El crecimiento en forma de micelio y su tolerancia a bajas actividades de agua y condiciones de alta osmolaridad hacen que los hongos sean la microflora natural más adecuada para la fermentación sólida (Díaz, 2009).

Por su parte, Echavarría *et al.*, (2003), afirma que la fermentación en estado sólido (FES) consiste en hacer crecer un microorganismo sobre un sustrato, empleando una fuente de nitrógeno y sales mineralizadas (ricas en macro y micronutrientes), bajo ciertas condiciones de humedad, pH, aireación y temperatura. La FES no presenta agua libre en su estructura, aunque conlleva determinados requerimientos de humedad.

La fermentación es un proceso metabólico de oxidación y puede ser aeróbico cuando tiene lugar en presencia de oxígeno y anaeróbico si se producen fuera del contacto con el oxígeno. Durante la fermentación, los microorganismos oxidan los hidratos de carbono de la materia orgánica, proporcionando esqueletos carbonados y energía en forma de ATP para el crecimiento de los mismos y liberando principalmente dióxido de carbono (CO_2), amonio (NH_4), nitrógeno (N_2) y agua (H_2O) cuando es aeróbico y, metano (CH_4), bióxido de carbono (CO_2), amoniaco (NH_3), ácido sulfhídrico (SH_2) y nitrógeno (N_2) e hidrógeno (H_2) cuando es anaeróbico (Ramírez, 2003).

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, haciendo 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 (Borras y Torres, 2016).

A nivel mundial se han empleado desechos de cultivos como la caña de azúcar, el bagacillo de arroz, pulpa de café, el garbanzo, los frutales, el cacao, la yuca, entre otros, que, por contener una cantidad importante de carbohidratos, se convierten en sustratos adecuados para el desarrollo de procesos FES (Moyano, *et al.*, 2014).

2.2.1. Características de las FES

Raimbault (1998), caracteriza la FES de la siguiente forma:

- Es una matriz porosa sólida que puede ser biodegradable o no, pero con una gran área superficial por unidad de volumen, para un crecimiento microbiano listo en la interfaz sólido/gas.
- La matriz debe absorber agua equivalente a una o varias veces su peso seco con una actividad de agua relativamente alta en la interfaz sólido/gas para permitir altas tasas de procesos bioquímicos.
- La mezcla del aire de oxígeno con otros gases y aerosoles debe fluir bajo una presión relativamente baja y mezclar el puré de fermentación.
- La interfaz sólido/gas debe ser un buen hábitat para el desarrollo rápido de cultivos específicos de mohos, levaduras o bacterias, ya sea en cultivos puros o mixtos.
- Las propiedades mecánicas de la matriz sólida deben soportar compresión o agitación suave, según se requiera para un proceso de fermentación dado. Esto requiere pequeñas partículas granulares o fibrosas, que no tienden a romperse o pegarse entre sí.
- La matriz sólida no debe estar contaminada por inhibidores de las actividades microbianas y debe ser capaz de absorber o contener

alimentos microbianos disponibles, tales como carbohidratos (celulosa, almidón, azúcares), fuentes de nitrógeno (amoníaco, urea, péptidos) y sales minerales.

2.2.2. Ventajas

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

- Los medios de cultivo son simples, generalmente subproductos agrícolas que presentan un alto contenido de los nutrientes necesarios para el proceso fermentativo.
- Fermentadores con menores requerimientos espaciales, ya que los sustratos se utilizan más concentrados y no se utilizan grandes volúmenes de agua.
- La baja actividad del agua es de gran ayuda para evitar las contaminaciones, especialmente de bacterias y levaduras.
- Mayor simplicidad en el diseño de los fermentadores y en los sistemas de control.
- Facilidad para el escalado de los procesos.
- Necesidades reducidas de disolventes para la extracción de los productos.
- Reducido riesgo de contaminación bacteriana, menos aptas para soportar la baja actividad de agua que caracteriza a estos sistemas. Posibilidad en ocasiones, de trabajar incluso en condiciones no asépticas.
- Elevada aireación del sistema, lo que hace a esta modalidad de cultivo especialmente adecuada a aquellos procesos que impliquen un metabolismo oxidativo intenso.

- Bajos requerimientos energéticos. A menudo no es preciso esterilizar, airear ni agitar.
- Ambiente similar al de los hábitats naturales de los microorganismos utilizados.
- Los procesos se consideran generalmente como tecnologías limpias.

2.2.3. Desventajas

En cuanto a las desventajas de la fermentación en estado sólido (FES), Pastrana (1996), menciona lo siguiente:

- Frecuente necesidad de pretratamiento de los sustratos (molienda y prehidrólisis parciales).
- Su aplicación se limita a microorganismos que crecen en bajos contenidos de humedad.
- Dificultad para mantener los niveles óptimos de humedad durante la fermentación.
- Ausencia de métodos analíticos simples para determinar el crecimiento microbiano.
- Dificultad para la agitación en aquellos procesos que así lo requieran.
- Frecuente necesidad de inóculo voluminoso.
- Los procesos de transferencia de masa son limitados por la difusión.

2.2.4. Factores que Afectan los Procesos de Fermentación en Estado Sólido

2.2.4.1. Humedad y Actividad del Agua

El papel del agua en los procesos de FES es múltiple. Es un componente dominante en la composición de la biomasa, el agua sirve además de

vehículo para las enzimas y los nutrientes, además de facilitar los intercambios gaseosos. Una humedad elevada en el sustrato causa una disminución de la porosidad del mismo, una baja difusión de oxígeno y una alta contaminación. Al contrario, una baja humedad conduce a un crecimiento limitado y disminuye la disponibilidad del sustrato.

Varios autores han demostrado la importancia que tiene el agua en los procesos de FES, la cual ayuda a controlar el crecimiento y el metabolismo de microorganismos. El aumento de la humedad y de la disponibilidad del agua causa un aumento de la tasa del crecimiento, de la producción de biomasa y de la biosíntesis de enzimas (Roussos y Perraud-Gaime, 1996).

2.2.4.2. Temperatura

Es frecuente que, como consecuencia de la actividad metabólica de los microorganismos, se produzca una elevación de la temperatura en los fermentadores, especialmente en las zonas internas del sustrato. Este incremento térmico afecta directamente al crecimiento, germinación de las esporas y/o formación del producto. Por ello, es conveniente dotar a los fermentadores de mecanismos que permitan disipar el calor, siendo los más frecuentes la circulación de aire en el interior del reactor, inmersión en baños de agua o su instalación en habitaciones de temperatura controlada. En algunos casos, en laboratorio, los cultivos poseen alta porosidad, pequeño espesor de la capa de sustrato y partículas de granulometría adecuada para no provocar compactaciones elevadas. En estas condiciones el calor generado durante la fermentación se disipa sin dificultad, siendo necesario, por el contrario, un aporte externo de energía para mantener una temperatura adecuada en los cultivos (Pastrana, 1996).

Roussos y Perraud-Gaime (1996), proponen utilizar la aireación y la evaporación del agua para controlar automáticamente la humedad y la temperatura en los procesos de FES. Otra estrategia consiste en utilizar microorganismos termófilos o termoresistentes.

2.2.4.3. pH

El pH es uno de los factores críticos en algunos procesos fermentativo en estado sólido su seguimiento y control durante el transcurso de los cultivos es particularmente dificultoso. No obstante, los sistemas de fermentación en estado sólido suelen poseer una relativa estabilidad frente al pH. Ello es debido a la elevada capacidad tampón de los sustratos usuales, por lo que mediante el ajuste inicial del pH del sustrato es posible eliminar la necesidad de su control reduciendo la incidencia real de esta variable. Sin embargo, en ocasiones resulta conveniente realizar la humectación de los sustratos con soluciones tampón para evitar cambios de pH en áreas localizadas. Esta estrategia resulta adecuada en los casos en los que los cultivos no se someten a agitación y la fuente de nitrógeno se suministra como sales de amonio, circunstancias que promueven bruscos descensos del pH (Pastrana, 1996).

Sin embargo, Roussos y Perraud-Gaime (1996), señalan que, para evitar una disminución importante del pH, se ha utilizado con éxito una mezcla de sulfato de amonio y de urea en el medio de cultivo como fuente de nitrógeno. De igual forma Rodríguez (2004) menciona que existe una relación directa entre el pH y el contenido de amoniacado, lo que se explica porque el amoniacado es retenido en el sustrato, ya que puede ser utilizado por los microorganismos para la síntesis de proteína microbiana, como resultado se tiene un considerable incremento de la biomasa microbiana en el sustrato fermentado. Por su parte, Pandey et al., (2001) y Elías et al., (2001) señalan que los valores de pH adecuados para el crecimiento de microorganismos en procesos de FES, deben mantenerse entre 3.5 y 6.

2.2.4.4. Aireación

Por lo general, en los procesos de FES se utilizan microorganismos aerobios por lo que la aireación de los medios de cultivo es de sumo interés para el desarrollo de los microorganismos, ya que permite realizar diferentes funciones:

- Abastecimiento en oxígeno para los cultivos.
- Regulación de la humedad.
- Regulación de la temperatura.
- Eliminación de metabolitos volátiles (CO₂, alcoholes) (Roussos y Perraud-Gaime, 1996).

2.2.4.5. Tamaño de Partículas

El tamaño de las partículas del sustrato es importante ya que está relacionado con la caracterización del mismo y la capacidad del sistema para intercambiar con el crecimiento microbiano, calor y transferencia de masa durante el proceso de FES.

El tamaño del sustrato determina el espacio vacío, que es ocupado por aire. Dado que la tasa de transferencia de oxígeno, en el espacio vacío, afecta el crecimiento, el sustrato debe contener partículas de tamaño adecuado para mejorar la transferencia de masa. Generalmente pequeñas partículas de sustrato proporcionarían mayor superficie para la acción microbiana, pero partículas demasiado pequeñas pueden formar aglomeraciones de sustrato, lo cual puede interferir en la respiración microbiana y aireación, lo que daría como resultado un crecimiento deficiente. Partículas de menor tamaño también son ventajosas para la transferencia de calor e intercambio de oxígeno y dióxido de carbono entre el aire y la superficie sólida. Al mismo tiempo las partículas más grandes también proporcionan mejor eficiencia de respiración y aireación, pero proporcionan una superficie limitada para la acción microbiana. En relación al tamaño de las partículas debe recordarse que, en el proceso de FES, estas no permanecen constantes y tienden a disminuir de tamaño (Krishna, 2005).

2.2.4.6. Tipos de Microorganismos Empleados en FES

Las bacterias, levaduras y hongos son los microorganismos que pueden crecer en fermentación sólida (Díaz, 2009).

a. Levaduras y bacterias

Las fermentaciones son procesos metabólicos de las levaduras y varias bacterias que transforman compuestos químicos orgánicos, principalmente azúcares, en otras sustancias orgánicas más simples como etanol, ácido láctico y ácido butírico. Los principales microorganismos fermentadores son las levaduras, las bacterias lácticas, *Lactobacillus spp.*, y *Streptococcus spp.*, las *Enterobacteriaceae*, algunas especies de *Clostridium* y las bacterias propiónicas y metánicas.

Las levaduras son anaerobias facultativas, crecen en presencia de oxígeno, y es así que en medios anaerobios fermentan los azúcares. Por su parte, las bacterias lácticas son aerobias microaerofilas, es decir, viven en ambientes con concentración de oxígeno inferior a la del aire, y sin oxígeno fermentan los carbohidratos para producir ácido láctico. Las bacterias entéricas son anaerobias facultativas y producen fermentaciones lácticas, fórmicas y de otras mezclas de ácidos. En tanto que las especies *Clostridium* producen diversas neurotóxicas, incluso *C. butyricum*, que por fermentación producen ácido butírico (Puerta, 2010).

b. Hongos filamentosos

Los hongos filamentosos son el grupo más importante de microorganismos utilizados en el proceso FES debido a sus propiedades fisiológicas, enzimológicas y bioquímicas.

El crecimiento fúngico en modo de hifas, su buena tolerancia a la baja actividad hídrica (A_w) y alta presión osmótica hacen que los hongos sean eficientes y competitivos en la microflora natural para la bioconversión de sustratos sólidos.

El modo hifico de crecimiento da una gran ventaja a los hongos filamentosos sobre microorganismos unicelulares en la colonización de sustratos sólidos y para la utilización de nutrientes disponibles. El modo básico de crecimiento

de hongos es una combinación de extensión apical de las puntas de hifas y la generación de nuevas puntas de hifas a través de la ramificación.

El modo de hifa de crecimiento da a los hongos filamentosos el poder de penetrar en los sustratos sólidos. La estructura de la pared celular unida a la punta y la ramificación del micelio aseguran una estructura firme y sólida. Las enzimas hidrolíticas se excretan en la punta de la hifa, sin dilución grande como en el caso de FEL, lo que hace que la acción de las enzimas hidrolíticas sea muy eficiente y permita la penetración en la mayoría de los sustratos sólidos. La penetración aumenta la accesibilidad de todos los nutrientes disponibles dentro de las partículas (Raimbault, 1998).

2.3. LA PULPA DE CAFÉ EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES

2.3.1. Características y Valor Nutritivo

El fruto del café, químicamente se compone de agua y materia seca. La materia seca de los granos del café está constituida por minerales y por sustancias orgánicas que son los carbohidratos, lípidos, proteínas, alcaloides, como la cafeína y la trigonelina, así como, por ácidos carboxílicos y fenólicos, y por compuestos volátiles que dan el aroma del fruto (Puerta, 2011).

La pulpa de café está formada por el epicarpio y una parte del mesocarpio del fruto del cafeto, constituye alrededor del 40 % del peso total del fruto en base húmeda; su humedad es de aproximadamente 85 % y representa una de las mayores desventajas ya que dificulta el transporte, manejo, procesamiento y uso directo en la alimentación animal; pero de igual forma, su composición química favorece su uso como ingrediente en la dieta de los animales (Noriega *et al.*, 2008). Esto concuerda con Bressani, *et al* 1972, quienes señalan que la pulpa de café contiene de 80 a 88% de agua, pero se ha encontrado que una operación de prensado puede reducir la humedad a 55 - 60 %. El residuo de esta operación podrá entonces utilizarse como alimento para animales tal cual o ya sea ensilado o secado y, a la vez, el

jugo extraído podría convertirse en otros productos o ser utilizado para otros propósitos (Braham y Bressani, 1978).

Zambrano, (2004) determinó la siguiente composición química: 14,3 % de proteína cruda; 1,57 % de extracto etéreo; 26,43 % de fibra cruda; 43,22 % de extracto libre de nitrógeno y 14,65% de cenizas; valores que no difieren de manera significativa con los reportados Ramírez *et al.*, (1999). Sin embargo, Ferrer *et al.*, (1995) en sus estudios realizados determino la siguiente composición química de la pulpa de café, en base seca: 11,58 % de proteína, 15,26 % de fibra cruda y 61,46 % de extracto libre de nitrógeno.

Se debe considerar que la composición química, puede variar, en función de algunos factores como: clima, características del suelo, época de cosecha, método de procesamiento, etc., (Zambrano, 2004).

Tal es el caso que Braham y Bressani, (1978) afirman que el material ya deshidratado contiene cerca de 10 % de proteína cruda, 21 % de fibra cruda, 8 % de cenizas y 4 % de extracto libre de nitrógeno. Es de interés indicar también que la composición química de la pulpa de café fermentada y deshidratada es muy similar a la de la pulpa de café deshidratada no fermentada.

Cuadro 1: Composición de la pulpa de café en diferentes estados (%).

Componente	Pulpa Fresca	Pulpa Deshidratada	Pulpa Fermentada Naturalmente y Deshidratada
Humedad	76,7	12,6	7,9
Materia Seca	23,3	87,4	92,1
Proteína Cruda	2,1	11,2	10,7
Fibra Cruda	3,4	21,0	20,8
Extracto Libre de Nitrógeno	15,8	44,4	49,2
Extracto Etéreo	0,48	2,5	2,6
Cenizas	1,5	8,3	8,8

Fuente: Braham y Bressani, (1978).

2.3.2. Sustancias Anti – Nutricionales

a. Cafeína

El efecto fisiológico de este alcaloide del tipo purina metilada puede causar en rumiantes y ratas un aumento en la actividad motora. El resultado de esta actividad anormal podría ser un aumento en el uso de la energía que tendría como efecto final el descenso en la ganancia de peso y en la eficiencia de conversión. Tanto la cafeína como el ácido clorogénico actúan de manera conjunta (Braham y Bressani, 1978; Ferrer *et al.*, 1995). Entre los efectos que causan los elevados tenores de cafeína, de manera general, se puede citar el aumento de la sed del animal, así como también se incrementa la micción, que trae como consecuencia la excreción de nitrógeno (Braham y Bressani, 1978).

En la literatura existe discrepancia en cuanto a los valores de cafeína presentes en la pulpa de café. Ferrer *et al.*, (1995) señalan valores de 0,85 % de cafeína en pulpa fresca; sin embargo, Ferreira *et al.*, (2001) señalan valores de 11,7 % de cafeína en la pulpa de café ensilada, superior a la que presenta la pulpa de café fresca, por lo que esos niveles afectarían la nutrición de los rumiantes cuando es suministrada en grandes cantidades.

b. Polifenoles libres

La acción de los fenoles libres está asociada a la propia bioquímica de la pulpa de café, así como también el efecto que puede tener sobre la utilización de los nutrientes y sus consecuencias fisiológicas. Los polifenoles libres pueden interferir con la utilización de proteínas, ligándola y formando complejos no aprovechables, pero también pueden combinarse con las enzimas digestivas y afectar su catabolismo.

Con respecto a la bioquímica de la pulpa, se considera que el cambio de color de rojo sangre a marrón oscuro se deba a reacciones de pardeamiento enzimático causada por la oxidación de los polifenoles o quinonas, las que a su vez se combinan con aminoácidos libres y proteínas para dar complejos

de coloración oscura. La unión de las proteínas con estos productos tiene un efecto sobre la digestibilidad de las proteínas y por lo tanto en la absorción de este nutriente para satisfacer las necesidades fisiológicas (Braham y Bressani, 1978; Ferrer *et al.*, 1995). La cantidad de fenoles libres en la pulpa es alrededor del 2,6 % (Braham y Bressani, 1978).

c. Taninos

Químicamente, los taninos se pueden agrupar en dos clases, los taninos que se hidrolizan en ácido gálico y azúcares, y los taninos condensados que se derivan de flavonoides monoméricos. Quizás una de las características más importantes de los taninos es probablemente su capacidad de ligar proteínas, evitando el aprovechamiento de éstas por el organismo. La proteína dietética al unirse con los taninos puede ser protegida de la hidrólisis proteolítica enzimática en el rumen. Estos compuestos poliméricos pueden, por lo tanto, interferir con el comportamiento de los animales al disminuir la disponibilidad biológica de la proteína consumida, o a través de un proceso de inactivación de la acción enzimática, o como una fuente de componentes fenólicos libres.

No se dispone de evidencia en lo que respecta a este efecto particular, excepto que la pulpa de café deshidratada contiene alrededor de 50 % de su proteína en forma lignificada (Braham y Bressani, 1978). Según Ferreira *et al.*, (2001) los niveles encontrados de tanino en la pulpa de café varían de 1,70 % a 2,77 % según el almacenamiento del producto. En el caso particular de los rumiantes en crecimiento, estos pueden tolerar un consumo máximo de taninos de 28 g/100kg de peso por día sin manifestar síntomas (Vargas *et al.*, 1977).

2.4. OTROS INSUMOS UTILIZADOS

2.4.1. Vitafert

El VITAFERT es un producto de actividad biológica, desarrollado en el Instituto de Ciencia Animal (Cuba) que se considera un activador de la

fermentación porque estimula la producción de ácidos orgánicos y disminuye el pH. Este aditivo microbiano, es rico en lactobacilos, levaduras, ácidos orgánicos de cadenas carbonadas cortas y pH bajo. En cuanto a su composición química este posee 15,05 % de MS, 8,01 % de PB y 4,2 de pH (Elías y Herrera 2008). De igual forma el VITAFERT contribuye en la estabilización de la flora microbiana presente en el ecosistema ruminal, a la vez que incrementa la digestibilidad de la MS y de la pared celular (Elías *et al.*, 2010).

Elías *et al.*, 2010, señala que la utilización del VITAFERT como aditivo microbiano en vacunos de ceba y vacas lecheras muestra resultados positivos en el consumo voluntario, degradabilidad de alimentos fibrosos, ganancia de peso corporal, producción y composición de la leche.

Varios autores han utilizado el VITAFERT en diferentes estudios: Elías *et al.*, (2001), estudiaron el efecto que producía la harina de maíz, de soya desgrasada, o ambas, en la FES de la caña inoculada con VITAFERT. Con la inclusión de este inóculo en el proceso se obtuvieron valores de 22,19 % de PB; 15,93 % de PV y 95,39 % de MO y disminuyó la FB en la caña (testigo). Por su parte Calderón (2005), utilizó este producto para mejorar las condiciones sanitarias de las camas avícolas, al inocular con 10 % de VITAFERT, y así incrementar los indicadores productivos de las aves que se criaron sobre ellas. Estas camas mejoraron su composición bromatológica, digestibilidad de la MO y MS, al ser utilizadas en la alimentación de ovinos Pelibuey en pastoreo, a razón de 12; 20 y 24 g/kg PV más 6 g/kg PV de miel final; con 20 g/kg PV, se mejoró los indicadores productivos de los ovinos en crecimiento y ceba.

Algo similar realizó Arias (2010), quien adicionó VITAFERT y melaza en la fermentación en estado sólido de la pollinaza, con el objetivo de incrementar el contenido de PB y PV en el proceso fermentativo. En este estudio encontró que en los tratamientos con mayores niveles de melaza y VITAFERT hubo mayor retención de PB y PV en el sistema a las 24 h.

2.4.2. Urea

La urea es un producto sintético formado a partir de amoníaco y anhídrido carbónico, sometidos a alta temperatura y presión. Posee un 45 % de nitrógeno, tiene alta solubilidad en agua, y resulta más conveniente que otras fuentes de Nitrógeno No Proteico en la alimentación de rumiantes, desde el punto de vista nutricional, económico y de disponibilidad en el comercio.

La utilización de la urea por los rumiantes es un proceso complejo, ya que una vez consumida y localizada en el rumen o panza, sufre un proceso llamado hidrolización, transformándose en elementos más simples, cuyo producto final es la formación de amoníaco (NH_3). Esto ocurre por acción de la enzima ureasa, producida por microorganismos que viven en el rumen. Parte del amoníaco producido es usado por estos microorganismos para formar sus propios aminoácidos, logrando así su propio crecimiento y desarrollo. No obstante, y a medida que los microorganismos van muriendo, son arrastrados a las secciones post-ruminales del tracto digestivo, abomaso e intestinos, donde las proteínas constituyentes de sus cuerpos son digeridas, satisfaciendo de esta forma el animal hospedador sus propias necesidades proteicas.

La urea debería racionarse en dos o más parcialidades diarias para una asimilación más eficiente del NH_3 ruminal; sin embargo, esta práctica dependerá en buena medida de la forma en que se proporcione. La urea no debe agregarse más allá de 1,5 - 2 % de la ración total (base materia seca). En terneros cuyo rumen aún no es 100 % funcional, la inclusión de urea no debe superar el 1 % del consumo total. Considérese que un bovino debe tener un consumo total diario de aproximadamente el 3 % de su peso vivo en materia seca. En relación al concentrado, éste no debe llevar más de un 2-3 % de urea; el nivel máximo es aconsejable sólo en novillos y/o toretes con rumen funcional. Por otra parte, se ha visto que raciones de engorda que contienen entre 25 y 33 % del nitrógeno total en forma de urea, presentan un

buen comportamiento animal, y no se registran efectos secundarios como disminución del consumo o toxicidad (Gonzalez, 1990).

2.5. TRABAJOS RELACIONADOS

Granda y Aguirre, (2006). Realizan una investigación con el propósito de establecer un protocolo para la biofermentación de la pulpa de café que permita mejorar su valor nutritivo y facilitar su uso en la alimentación animal. Evaluaron cuatro niveles de urea (0 - 0,5 - 1,0 y 1,5 %), en cuatro periodos de tiempo (0, 24, 48 y 72 horas), cuyas variables estudiadas fueron: composición química de la pulpa fresca, indicador de fermentación (pH) y la composición química de la pulpa biofermentada. Los resultados demostraron un contenido de 26,53 % de materia seca, 9,12 % de proteína cruda, 16,28 % de fibra cruda, cenizas 11,9 %, extracto etéreo 2,30 % y E.L.N 60.39 % datos en base a materia seca de pulpa de café procedente del cantón Quilanga; El pH logrado con el mayor valor fue a las 72 horas con 1 y 1,5 % de urea. La materia seca disminuye levemente con el tiempo de fermentación debido a pérdidas de productos de la hidrólisis que ocurre durante el proceso de fermentación y que son volátiles; la fibra cruda no se vio afectada por los factores en estudio; mientras que la proteína cruda fue mayor a las 72 horas de fermentación, incluso con valores de 0 % de urea que son muy similares con inclusión de 1,5 % de urea llegando hasta 27,98 % valor superior en 18,86 % más que el obtenido por pulpa fresca.

Benítez y Aguirre, (2016); con el objetivo de encontrar el nivel de urea adecuado, desde el punto de vista biológico y económico, que incremente la proteína verdadera (PV) en la fermentación en estado sólido (FES) de la pulpa de café, realizaron una investigación experimental con diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento de tipo aleatorio con arreglo factorial 4 x 4, el primer factor consistió en niveles de urea (0, 0.5, 1.0 y 1.5 % para T1, T2, T3 y T4, respectivamente), y el segundo factor consistió en tiempos de fermentación (0, 24, 48 y 72 horas). La pulpa de café se recolectó 12 h antes de iniciar la fermentación, luego se le adicionó a cada unidad experimental 5 g de sales minerales, 10 cm de jugo de caña y

los diferentes porcentajes de urea y se fermento durante los tiempos establecidos en el experimento y a 26 °C; luego, las muestras se secaron y se molieron para determinar su composición bromatológica, que en resumen consistió en MS, misma que disminuyó con el tiempo de fermentación y llegó hasta valores de 86,4 % con 0,5 % de urea a las 72 horas, la PC se incrementó proporcionalmente a los niveles de urea y el tiempo de fermentación alcanzando un valor máximo de 27,16 con 1,5 % de urea en 72 horas de fermentación, la ceniza subió proporcionalmente con el contenido de urea; sin embargo, con el tiempo de fermentación disminuyó alcanzando un valor máximo de 10,89 con 1,5 % de urea en 0 horas; en lo que respecta a FC los valores similares con pequeñas variaciones que fluctúan entre 14,75 % y 16,85%. El pH fue afectado por el tiempo de fermentación y los niveles de urea, alcanzando los mayores valores con la adición del 1.0 y 1.5 % de urea y estabilizándose entre las 24 y 72 horas (5.27, 5.3).

Aguirre *et al.*, (2018). Realiza una investigación para evaluar el efecto de la inclusión de diferentes niveles de suero de leche en la fermentación en estado sólido de la pulpa de café, para ello realizó un experimento mediante diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 4 x 4, con tres repeticiones. El factor A correspondió a los niveles de suero de leche (0, 5, 10 y 15 %) y el B, al tiempo de fermentación (0, 24, 48 y 72 horas). Se midieron los indicadores fermentativos (pH y NH₃) y se realizó el análisis bromatológico: materia seca, cenizas, proteína cruda, fibra cruda y proteína verdadera. Los resultados mostraron interacción entre los factores en estudio para el contenido de NH₃, materia seca, proteína cruda, fibra cruda, fibra detergente neutro y contenido celular. No fue así para el pH, proteína verdadera y ceniza. Se destacó el alto contenido de proteína cruda (28.2 %, P<0.001), proteína verdadera (17.21 %, P<0.001) y la relación proteína cruda/proteína verdadera (64.7 %, P < 0.001) en el tratamiento con 10 % de suero de leche hasta las 48 h de fermentación.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. Materiales de Campo

- Pulpa de café (4 Kg)
- Recipientes para toma de muestras
- Balanza Digital
- Registros
- Cámara fotográfica

3.1.2. Materiales de Laboratorio

- Matraz de Erlenmeyer (48)
- Peachímetro digital portátil
- Estufa
- Equipos para análisis químico proximal
- Urea
- VITAFERT
- Sales minerales
- Reactivos para análisis bromatológico
- Espectrofotómetro (Biotek ELx800).

3.1.3. Materiales de Oficina

- Computadora
- Impresora
- Material de escritorio
- Base de datos

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Ubicación del Experimento

3.2.1.1. Ubicación Política

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Bromatología de la Universidad Nacional de Loja, ubicada en el barrio la Argelia, parroquia San Sebastián, cantón y provincia de Loja.

3.2.1.2. Ubicación Geográfica

La Argelia, se encuentra ubicada en las siguientes coordenadas:

- Latitud: 04° 02' 47" S
- Longitud: 79° 12' 59" W
- Altitud: 2 135 m.s.n.m.
- Temperatura: 9 a 28 °C

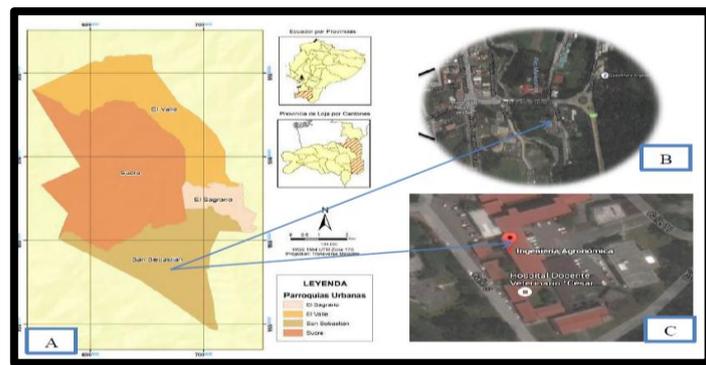


Figura 1: Ubicación del ensayo; **A:** Mapa del Ecuador, provincia de Loja, parroquia San Sebastián; **B:** Barrio la Argelia; **C:** Laboratorio de Bromatología de la Facultad Agropecuaria de Recursos Naturales Renovables, Universidad Nacional de Loja.

3.2.2. Obtención del Material

El material (pulpa de café fresca) se obtuvo mediante un muestreo estratificado, es decir, de la parte superior, media e inferior de la pila, luego se mezcló para obtener una muestra homogénea.

3.2.3. Unidades Experimentales

Se trabajó con 48 unidades experimentales, teniendo en cuenta que cada frasco Erlenmeyer constituyó una unidad experimental.

3.2.4. Diseño Experimental

Se utilizó un diseño anidado, con arreglo factorial 4 x 4 (niveles de VITAFERT x tiempo de fermentación) con 16 tratamientos y tres repeticiones por cada tratamiento.

3.2.5. Descripción de los Tratamientos

Se evaluó dos factores: niveles de VITAFERT (0; 5; 10 y 15 %) y tiempo de fermentación (0; 24; 48 y 72 h) de manera que resultaron 16 tratamientos conformados de la siguiente manera:

Cuadro 2: Conformación de los tratamientos evaluados.

FACTOR 1 Niveles de VITAFERT	FACTOR 2 (Tiempo de fermentación)	TRATAMIENTOS	REPETICIONES (Según el origen)
0 % de VITAFERT	0 Horas	T ₁ 0 % de Vitafert a 0 horas	3
	24 Horas	T ₂ 0 % de Vitafert a 24 horas	3
	48 Horas	T ₃ 0 % de Vitafert a 48 horas	3
	72 Horas	T ₄ 0 % de Vitafert a 72 horas	3
5 % de VITAFERT	0 Horas	T ₅ 5 % de Vitafert a 0 horas	3
	24 Horas	T ₆ 5 % de Vitafert a 24 horas	3
	48 Horas	T ₇ 5 % de Vitafert a 48 horas	3
	72 Horas	T ₈ 5 % de Vitafert a 72 horas	3
10 % de VITAFERT	0 Horas	T ₉ 10 % de Vitafert a 0 horas	3
	24 Horas	T ₁₀ 10 % de Vitafert a 24 horas	3
	48 Horas	T ₁₁ 10 % de Vitafert a 48 horas	3
	72 Horas	T ₁₂ 10 % de Vitafert a 72 horas	3
15 % de VITAFERT	0 Horas	T ₁₃ 15 % de Vitafert a 0 horas	3
	24 Horas	T ₁₄ 15 % de Vitafert a 24 horas	3
	48 Horas	T ₁₅ 15 % de Vitafert a 48 horas	3
	72 Horas	T ₁₆ 15 % de Vitafert a 72 horas	3
TOTAL			48

Fuente: Autor.

3.2.6. Preparación del Inóculo (VITAFERT)

Para la preparación del Vitafert se utilizó, un recipiente de plástico con capacidad para 3 L., las materias primas fueron: harina de maíz, harina de soya, urea, sales minerales (Premix), sulfato de amonio, melaza y yogurt natural.

Se pesó los ingredientes y se mezclaron con agua hasta los 2 L. Se adicionó 20 ml de yogurt, luego se agitó a intervalos de dos horas y se dejó fermentar por 48 h. Después de este tiempo el producto estuvo listo para su utilización.

Cuadro 3: Fórmula para la obtención del VITAFERT.

COMPONENTES	%
Harina de maíz	0,08
Harina de soya	0,08
Urea	0,01
Sulfato de amonio	0,005
Sales minerales	0,01
Melaza	0,3
Agua	2 L
Yogurt natural	20 ml

Fuente: Los Autores.

3.2.7. Procedimiento Experimental

En función de los tratamientos definidos, se procedió a pesar la pulpa de café y a medir el inóculo (VITAFERT); a todos los tratamientos se adicionó 0,5 g de sales minerales y 1,5 g de urea para completar 100 g. Se mezcló y colocó en los frascos Erlenmeyer, que se incubaron a 26 °C durante los periodos de tiempo establecidos. Transcurrido el tiempo de fermentación correspondiente, se procedió a extraer de la estufa, todos los frascos Erlenmeyer de cada tratamiento y se obtuvieron sub-muestras de 5 g, las cuales se embebieron en 45 ml de agua destilada estéril y se agitaron a 150 rpm durante 30 minutos, luego se procedió a filtrar con gasa en vasos de

precipitación. El pH se midió inmediatamente con peachímetro digital portátil; mientras que para el amoníaco se preservaron en refrigeración, con 5 ml de ácido clorhídrico (0,1 N). El contenido de amoníaco se lo determinó con espectrofotómetro (Biotek ELx800). El resto de material de los frascos Erlenmeyer se utilizó para análisis bromatológico.

3.2.8. Variables en Estudio

a. Indicadores fermentativos

- pH
- Amoníaco (NH₃)

b. Composición bromatológica de la pulpa de café fresca y fermentada.

- Materia Seca (MS)
- Cenizas (CZ)
- Fibra cruda (FC)
- Proteína Cruda (PC)
- Proteína Verdadera (PV)
- Relación PV/PV

3.2.9. Toma y Registro de Datos

a. Indicadores fermentativos

- **pH**

Transcurrido el tiempo de fermentación correspondiente a cada tratamiento, se procedió a extraer los frascos Erlenmeyer de la estufa, luego se tomó una muestra de 5 g la cual se diluyó en 45 ml de agua destilada estéril, se llevó a la centrífuga a 150 rpm, durante 30 minutos, una vez transcurrido este tiempo se filtró con gasa en un vaso de precipitación luego de lo cual se

procedió a determinar el pH con la ayuda de un peachímetro en el líquido sobrenadante.

- **Amoníaco (NH₃)**

El contenido de amoníaco se lo determinó mediante la utilización de un espectrofotómetro (Biotek ELx800).

b. Composición química de la pulpa de café fresca y fermentada

Se realizó el análisis bromatológico de la pulpa de café fresca y fermentada para determinar el contenido de Materia Seca (MS), Cenizas (Cz), Fibra cruda (FC), Proteína Cruda (PC) y Proteína Verdadera (PV) siguiendo la metodología de la AOAC (2005).

3.2.10. Análisis Estadísticos

Los resultados de cada una de las variables, debidamente procesados se sometieron al análisis de varianza utilizando un modelo mixto, en el que los efectos fijos principales fueron los niveles del inóculo, los tiempos de fermentación y su interacción. Mientras que el efecto aleatorio fue la muestra anidada a la interacción. Las medias fueron comparadas utilizando el test de Duncan. Los resultados fueron analizados con la ayuda del programa estadístico Infostat (Balzarini 2012)

4. RESULTADOS

4.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PULPA DE CAFÉ FRESCA

La composición química de la pulpa de café fresca, se detalla en el siguiente cuadro.

Cuadro 4: Composición química de la pulpa de café fresca (%).

Tipo de muestra	Base de calculo	Materia seca	Cenizas	Fibra cruda	Proteína cruda
Pulpa de café fresca	TCO	15.85	1.73	2.97	1.67
	BS	100.00	10.90	18.75	10.54

Fuente: Laboratorio de Bromatología FARNR – UNL (2018).

El contenido de materia seca de la pulpa de café fresca fue de 15,85 %. En base seca se determinó un contenido de cenizas del 10,90 %; la proteína cruda estuvo por el orden del 10,54 %; mientras que la fibra cruda alcanzó 18,75 %.

4.2. INDICADORES DE FERMENTACIÓN

En el líquido sobrenadante, producto de la dilución mediante agitación y filtrado de la pulpa de café biofermentada, en cada tratamiento, se determinó los valores de pH y amoníaco como indicadores del proceso de fermentación. Los resultados se detallan en el cuadro cinco y seis.

4.2.1. pH

Cuadro 5: Efecto del vitafert en el pH durante la dinámica de FES de la pulpa de café.

Indicadores	Tiempo de fermentación (horas)				EE(±) Signif.
	0	24	48	72	
Ph	6.47 ^a	6.45 ^a	6.30 ^a	6.48 ^a	0.10
	Niveles de Vitafert				P=0.5183
	0	5	10	15	0.10
	4.39 ^b	6.96 ^a	7.24 ^a	7.11 ^a	P<0.0001

^{ab} Superíndices distintos indican diferencias significativas ($P<0.05$), Duncan (1955)

El cuadro cinco muestra que el pH no presentó interacción ($p=0,5385$) entre los factores en estudio. De acuerdo al tiempo de fermentación, se mantuvo estable con valores que no superan el 6,5. De acuerdo a los niveles de inclusión de vitafert, se pudo observar un incremento notable en los niveles 5, 10 y 15 % con respecto al tratamiento sin vitafert; lo que podría explicarse por el incremento de NH_3 producto de la desaminación de la urea y otros aminoácidos presentes en el vitafert.

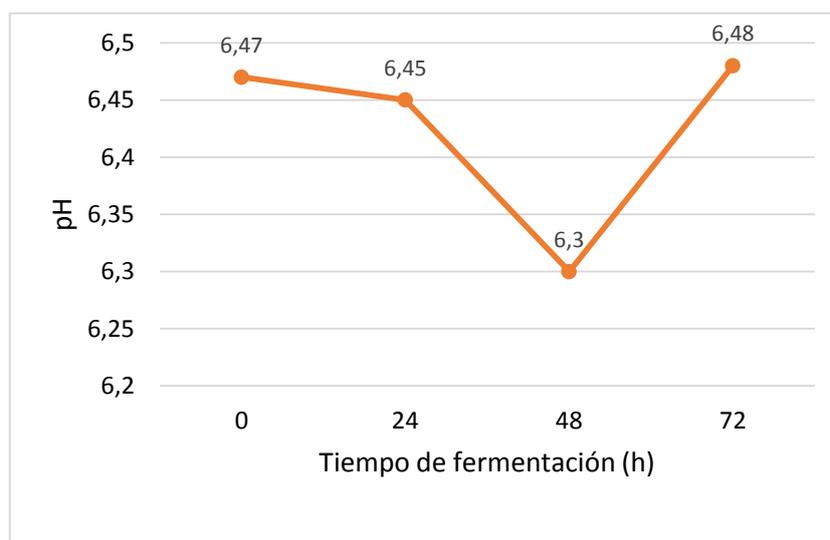


Figura 2: Variación de pH en la FES de la pulpa de café en diferentes tiempos de fermentación.

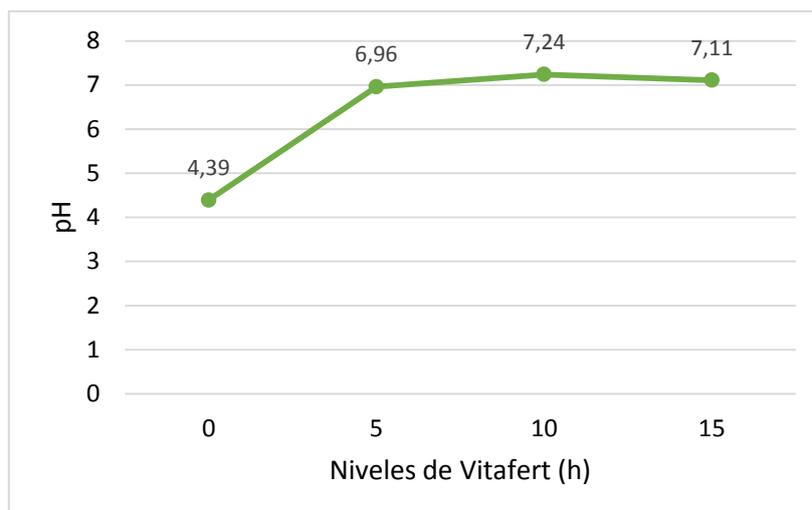


Figura 3: Variación de pH en la FES de la pulpa de café con la inclusión de diferentes niveles de vitafert.

4.2.2. Amoníaco (NH₃)

Cuadro 6: Efecto del vitafert en el contenido de amoníaco durante la dinámica de FES de la pulpa de café.

Indicador	Vitafert (%)	Tiempo de fermentación (horas)				EE(±) Signif.
		0	24	48	72	
NH ₃ (meq/L)	0	1.32 ^{bc}	0.75 ^c	1.02 ^c	1.35 ^{bc}	P=0.0041
	5	0.53 ^c	0.89 ^c	0.98 ^c	1.40 ^{bc}	
	10	0.86 ^c	1.36 ^{bc}	0.83 ^c	1.18 ^{bc}	
	15	1.96 ^b	0.92 ^c	1.09 ^c	3.05 ^a	

^{abc} Superíndices distintos indican diferencias significativas ($P < 0.05$), Duncan (1955)

En el cuadro seis se observa que el contenido de NH₃ fue más bajo (0,53 meq/L) a la hora cero con la adición de 5 % de vitafert; mientras que a las 72 h y con la adición de 15 % de vitafert se registró el mayor contenido con 3,05 meq/L. Los tratamientos con 0, 5 y 15 % de inclusión de vitafert alcanzaron su mayor pico de NH₃ a las 72 h, mientras que el tratamiento con 10 % de vitafert lo hizo a las 24 h. Así mismo, los tratamientos con 0 y 15 % de inclusión de vitafert alcanzaron su menor pico de NH₃ a las 24 h, mientras que los tratamientos con 5 y 10 % de inclusión de vitafert lo hicieron a la 0 y 48 h respectivamente.

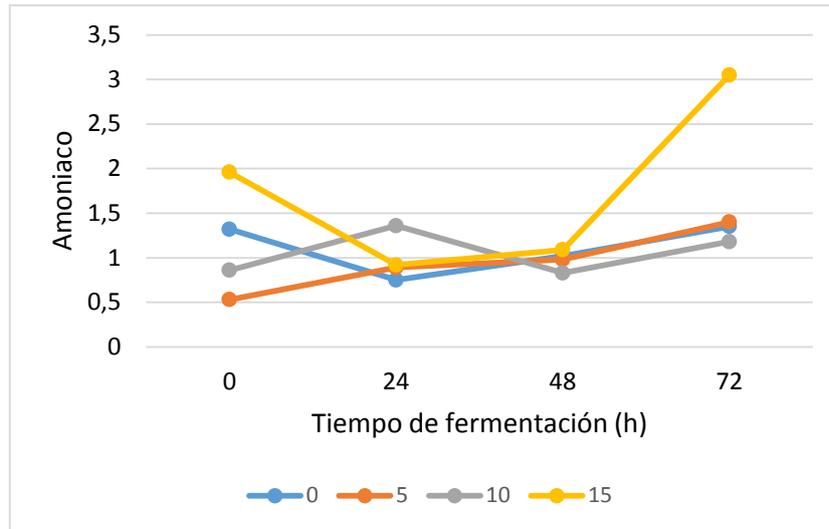


Figura 4: Variación del contenido de amoníaco en la FES de la pulpa de café con diferentes niveles de vitafert y tiempo de fermentación.

4.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PULPA BIOFERMENTADA

En la pulpa biofermentada se realizó el análisis bromatológico para determinar el contenido de materia seca, cenizas, fibra cruda, proteína cruda y proteína verdadera. Los resultados se presentan a continuación.

4.3.1. Materia Seca

El contenido de materia seca de la pulpa de café biofermentada se explica en el cuadro siete.

Cuadro 7: Efecto del vitafert en el contenido de materia seca en la FES de la pulpa de café hasta las 72 horas.

Indicadores	Tiempo de fermentación (horas)				EE(±) Signif.
	0	24	48	72	
Materia seca	10.91 ^a	10.76 ^{ab}	10.49 ^b	10.51 ^b	0.10
	Niveles de Vitafert				P=0.0081
	0	5	10	15	0.10
	11.20 ^a	10.46 ^b	10.52 ^b	10.48 ^b	P<0.0001

^{ab} Superíndices distintos indican diferencias significativas ($P < 0.05$), Duncan (1955)

En el cuadro siete se muestran las variaciones en el contenido de MS, que de acuerdo al análisis estadístico no presenta interacción entre los factores en estudio. De acuerdo al tiempo de fermentación disminuye ligeramente a las 24 h y luego se mantiene constante con valores que no llegan al 11%; lo mismo ocurre con los niveles de inclusión de vitafert. Este comportamiento puede deberse a procesos de hidrólisis que ocurre durante la fermentación, cuyos productos son de carácter volátil.

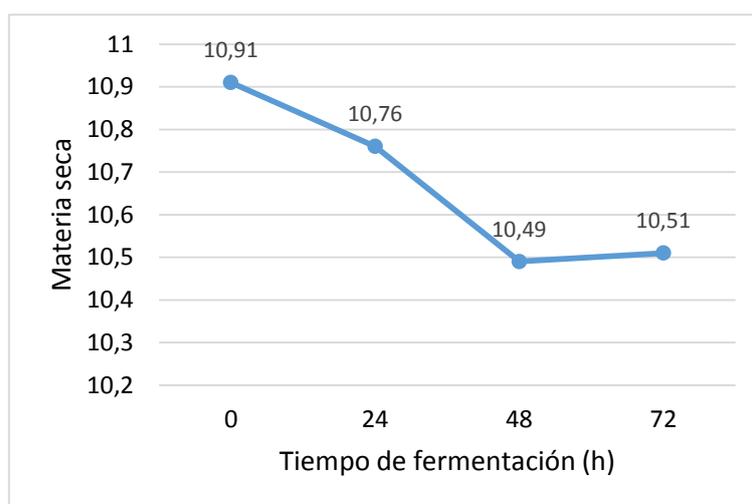


Figura 5: Variación en el contenido de materia seca en la FES de pulpa de café en diferentes tiempos de fermentación.

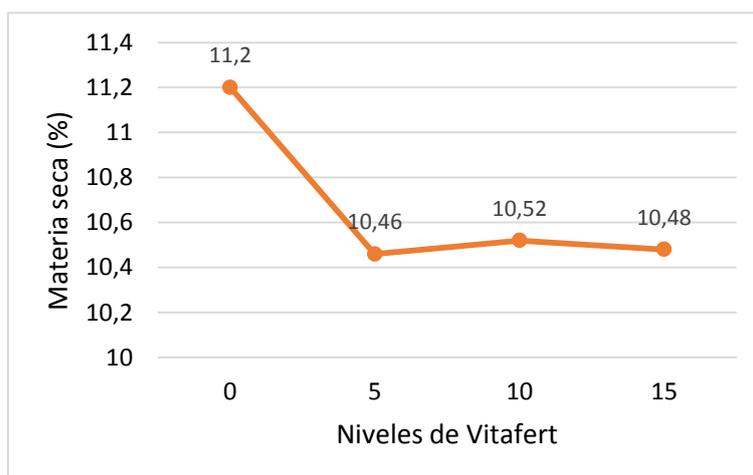


Figura 6: Variación en el contenido de materia seca en la FES de pulpa de café con diferentes niveles de vitafert hasta las 72 horas.

4.3.2. Cenizas

El contenido de cenizas de la pulpa de café biofermentada se detalla en el cuadro ocho.

Cuadro 8: Efecto del vitafert en el contenido de cenizas en la FES de la pulpa de café hasta las 72 horas.

Indicador	Vitafert (%)	Tiempo de fermentación (horas)				EE(±) Signif.
		0	24	48	72	
Cenizas	0	13.69 ^{cd}	12.06 ^g	12.15 ^g	11.78 ^g	0.21 P<0,0001
	5	13.09 ^{def}	13.30 ^{cdef}	13.75 ^{cd}	14.68 ^a	
	10	14.46 ^{ab}	13.78 ^c	13.62 ^{cde}	13.90 ^{bc}	
	15	12.94 ^f	12.82 ^f	13.00 ^{ef}	13.80 ^c	

^{abcdefg} Superíndices distintos indican diferencias significativas ($P<0.05$), Duncan (1955)

El contenido de cenizas muestra interacción entre el tiempo de fermentación y los niveles de inclusión de vitafert. Los tratamientos con 0, y 10 % de inclusión de vitafert alcanzaron el mayor porcentaje de cenizas a las cero horas y tiende a disminuir su contenido a medida que avanza el tiempo de fermentación; sin embargo, en los tratamientos con 5 y 15 % de inclusión de vitafert ocurre todo lo contrario, puesto que alcanzaron su menor porcentaje a las 0 y 24 h respectivamente y aumenta progresivamente su contenido a medida que avanza el tiempo de fermentación.

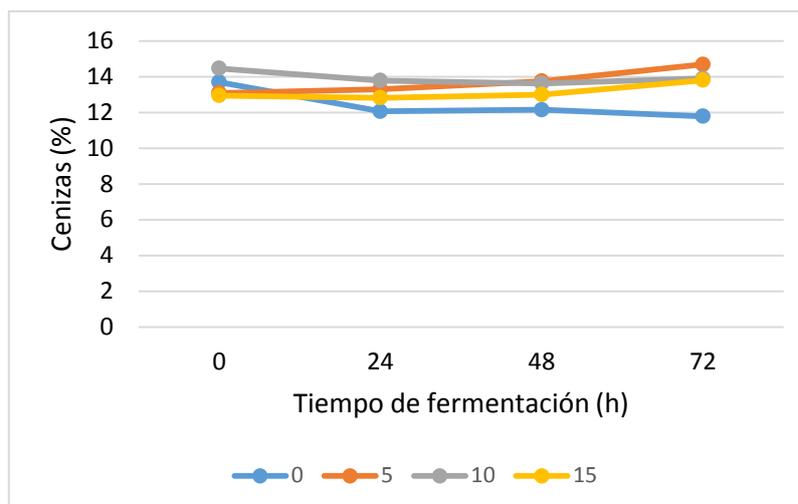


Figura 7: Variación en el contenido de cenizas en la FES de pulpa de café con diferentes niveles de vitafert hasta las 72 horas.

4.3.3. Proteína Cruda

El contenido de proteína cruda de la pulpa de café biofermentada, de acuerdo a los factores en estudio, se resumen en el cuadro nueve.

Cuadro 9: Efecto del vitafert en el contenido de PC en la FES de la pulpa de café hasta las 72 horas.

Indicador	Vitafert (%)	Tiempo de fermentación (horas)				EE(±) Signif.
		0	24	48	72	
Proteína Cruda	0	35.04 ^{cd}	32.08 ^e	35.52 ^{abcd}	34.84 ^d	0.39 P=0,0002
	5	35.81 ^{abcd}	36.36 ^{ab}	36.30 ^{abc}	36.39 ^{ab}	
	10	35.50 ^{abcd}	35.65 ^{abcd}	36.09 ^{abcd}	36.65 ^a	
	15	35.32 ^{bcd}	36.66 ^a	36.33 ^{abc}	35.79 ^{abcd}	

^{abcde} Superíndices distintos indican diferencias significativas ($P < 0.05$), Duncan (1955)

El cuadro nueve, muestra que existe interacción entre los niveles de vitafert y tiempo de fermentación. En ausencia de vitafert el contenido de proteína disminuye a las 24 h, luego se incrementa y se mantiene constante hasta las 72 h; mientras que con el 5 % se mantiene constante durante todo el proceso. Por su parte, con los niveles de 10 % y 15% el porcentaje de proteína se incrementa progresivamente a medida que avanza el tiempo de

fermentación, llegando a los valores máximos (36,66 y 36,65%) con el 15% de inclusión a las 24 h y con el 10% de vitafert a las 72 h respectivamente. Los valores elevados de proteína, se explican en gran parte por el crecimiento bacteriano y el nitrógeno no proteico procedente de la urea.

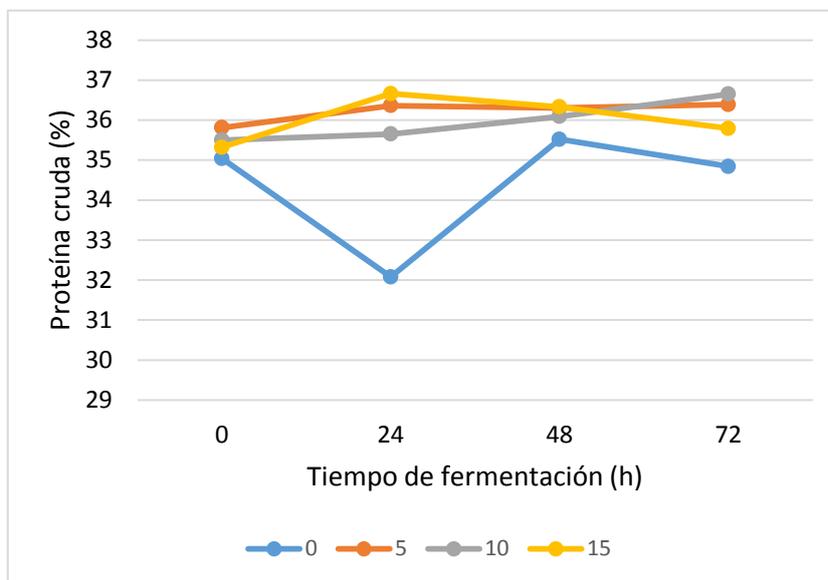


Figura 8: Variación en el contenido de proteína cruda en la FES de pulpa de café con diferentes niveles de vitafert hasta las 72 horas.

4.3.4. Proteína Verdadera

El contenido de proteína verdadera de la pulpa de café biofermentada se presenta en el cuadro diez.

Cuadro 10: Efecto del vitafert en el contenido de PV en la FES de la pulpa de café hasta las 72 horas.

Indicador	Vitafert (%)	Tiempo de fermentación (horas)			
		0	24	48	72
Proteína Verdadera	0	10.86	9.71	9.86	9.59
	5	11.83	12.45	12.93	12.91
	10	12.82	12.67	12.75	13.13
	15	12.99	13.62	13.57	13.78

La síntesis de proteína verdadera se resume en el cuadro diez; observándose los valores más bajos en el nivel 0 % de vitafert durante todo el proceso de fermentación; mientras que los valores más altos se registraron en el nivel 15 % de inclusión de vitafert, con el mayor pico (13,78 %) a las 72 h. Así mismo se observa que con los niveles del 5 y 10 % el contenido de proteína verdadera es muy similar, con un ligero incremento conforme aumenta el tiempo de fermentación.

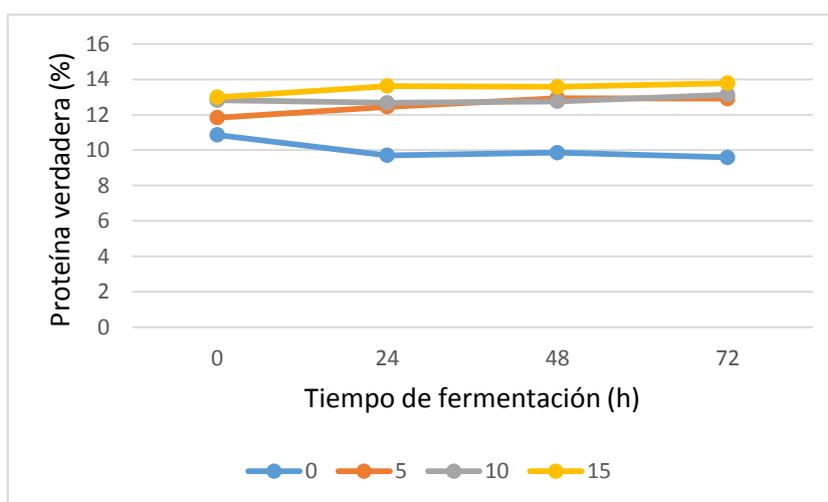


Figura 9: Variación en el contenido de proteína verdadera en la FES de pulpa de café con diferentes niveles de vitafert hasta las 72 horas.

4.3.5. Relación PV/PC

La relación PV/PC de la pulpa de café biofermentada, de acuerdo a los factores en estudio, se resumen en el cuadro 11.

Cuadro 11: Relación PV/PC en la FES de la pulpa de café hasta las 72 horas.

Indicador	Vitafert (%)	Tiempo de fermentación (horas)			
		0	24	48	72
Relación PV/PC	0	31	30.3	27.8	27.5
	5	33	34.2	35.6	35.5
	10	36.1	35.5	35.3	35.8
	15	36.8	37.2	37.4	38.5

En el cuadro 11 se observa que la relación PV/PC, se incrementa progresivamente en función de los niveles de inclusión de vitafert y el tiempo de fermentación. El nivel más alto (38.5 %) se registra con el 15 % de vitafert a las 72 h. Por su parte los niveles 5 % y 10 % de inclusión presentan valores medios que aumentan progresivamente hasta las 48 h, luego se mantienen estables hasta las 72 h.

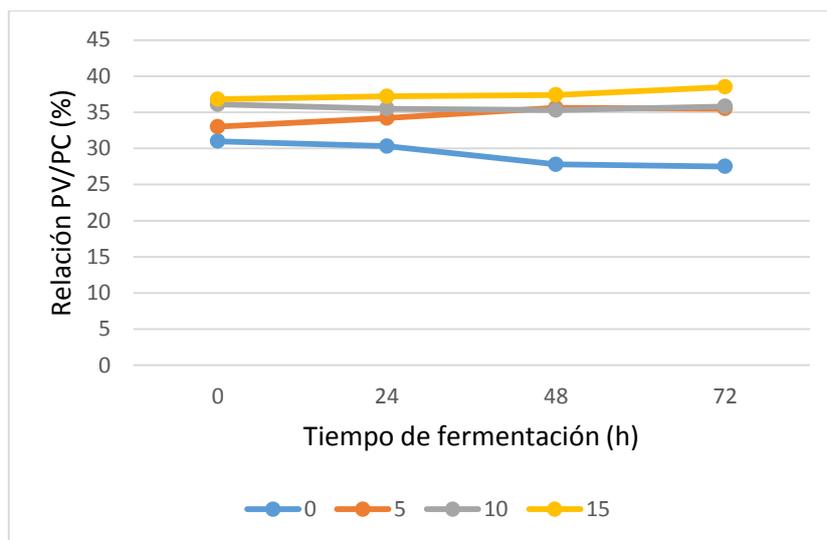


Figura 10: Relación PV/PC en la FES de la pulpa de café con diferentes niveles de vitafert hasta las 72 horas.

4.3.6. Fibra Cruda

En el cuadro 12 se expone el contenido de fibra cruda de la pulpa de café biofermentada, en función del tiempo de fermentación y niveles de inclusión de vitafert.

Cuadro 12: Efecto del vitafert en el contenido de fibra cruda en la FES de la pulpa de café hasta las 72 horas.

Indicador	Vitafert (%)	Tiempo de fermentación (horas)				EE(±) Signif.
		0	24	48	72	
Fibra Cruda	0	22.16 ^a	20.99 ^{bcd}	19.89 ^{ef}	19.50 ^f	0.29 P<0,0001
	5	20.12 ^{def}	20.03 ^{ef}	20.63 ^{cde}	20.00 ^{ef}	
	10	20.12 ^{def}	20.43 ^{cdef}	20.17 ^{def}	21.81 ^{ab}	
	15	21.07 ^{bcd}	21.01 ^{bcd}	21.27 ^{bc}	22.24 ^a	

^{abcdef} Superíndices distintos indican diferencias significativas ($P<0.05$), Duncan (1955)

El contenido de fibra bruta muestra interacción significativa entre el tiempo de fermentación y los niveles de inclusión de vitafert (cuadro 12). El tratamiento sin vitafert a las 72 h registra el menor contenido de fibra (19,50 %), que puede deberse a la concentración de MS producto de la fermentación; de igual forma, a las 72 h y con la adición de 15 % de vitafert se registró el mayor contenido fibra (22,24 %). Así mismo, se puede observar que el tratamiento con 15 % de inclusión de vitafert presenta porcentajes más elevados de fibra en todos los tiempos de fermentación en relación a los otros tratamientos.

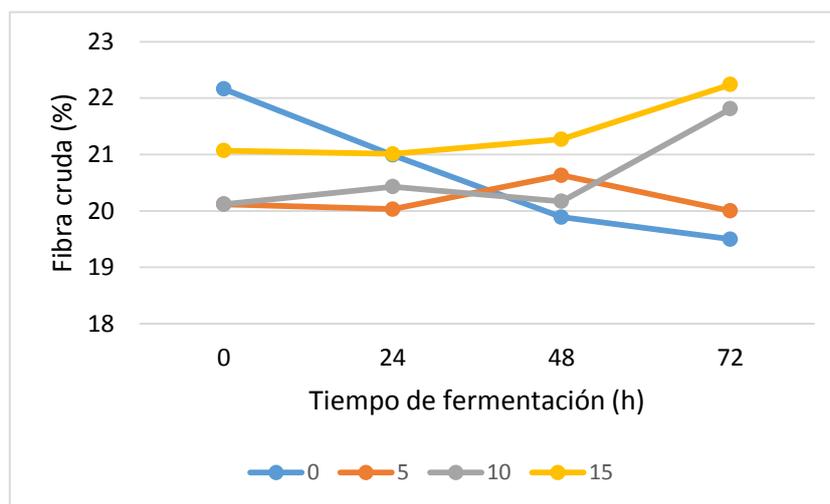


Figura 11: Variación en el contenido de fibra cruda en la FES de pulpa de café con diferentes niveles de vitafert hasta las 72 horas.

5. DISCUSIÓN

5.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PULPA FRESCA

La pulpa de café fresca, procedente de la planta despulpadora ubicada en la parroquia San Pedro de la Bendita, cantón Loja, presentó un contenido medio de materia seca de 15,85 %; resultado inferior al 26,53 % reportado por Granda y Aguirre (2016) y al 22,38 % obtenido por Aguirre *et al.*, (2018). El contenido de proteína cruda estuvo por el orden del 10,54 %, similar a lo obtenido por Granda y Aguirre (2016) y Aguirre *et al.*, (2018), quienes reportaron datos de 9,12 %, 10,18 % de PC respectivamente; pero inferior al 14,3 % informado por Zambrano (2004). La fibra cruda alcanzó un valor medio de 18,75 %; mientras que las cenizas un valor de 10,9 %; estos resultados son muy similares con los obtenidos por Aguirre *et al.*, (2018) quien reportó valores de 18,5 % de FC y 10,3 % de Cz; por su parte Granda y Aguirre (2016) reportaron valores de 16,28 % de FC y 11,91 % de Cz, los cuales no difieren de manera significativa con los obtenidos en esta investigación, sin embargo, ciertas variaciones en la composición química posiblemente se deban a las condiciones agroecológicas de las zonas de producción, variedad y manejo del cultivo.

5.2. INDICADORES DE FERMENTACIÓN

5.2.1. pH

Los valores del pH se mantuvieron estables durante el tiempo de fermentación; pero se vieron afectados por los niveles de inclusión de vitafert, con tendencia a aumentar a medida que se adiciona este inóculo; lo cual puede deberse al incremento de NH_3 que es de carácter alcalino, producto de la desaminación de la urea y otros aminoácidos presentes en el vitafert; lo que se corrobora con los estudios realizados por Rodríguez (2004) donde menciona que existe una relación directa entre el pH y el contenido de amoníaco, lo que se explica porque el amoníaco es retenido en el sustrato. Sin embargo, se puede decir que los valores de pH observados en este

estudio, se encuentran ligeramente elevados a los rangos adecuados para el crecimiento de microorganismos en procesos de FES, que según Pandey *et al.*, (2001) y Elías *et al.*, (2001) deben mantenerse entre 3.5 y 6.

5.2.2. Amoníaco (NH₃)

El mayor contenido de NH₃ (1,35; 1,40; 3,05 meq/L) se observó a las 72 h en los niveles con 0, 5 y 15 % de inclusión de vitafert respectivamente, por su parte el nivel con la inclusión de 10 % de vitafert, con un mínimo rango de diferencia, alcanzó el mayor valor (1,36 meq/L) a las 24 h, salvo esto, podríamos decir que, si hay una relación directa entre el pH y la concentración de NH₃, tal como se afirma en varios estudios de FES realizados en caña de azúcar y bagazo de caña (Elías *et al.*, 1990, Valiño *et al.*, 1997). Por su parte Rodríguez (2004) argumenta que, el amoníaco puede ser utilizado por los microorganismos para la síntesis de proteína microbiana, como resultado se tiene un considerable incremento de la biomasa microbiana en el sustrato fermentado.

5.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PULPA BIOFERMENTADA

5.3.1. Materia Seca

De manera general se observó disminución en el contenido de materia seca a medida que avanzó el tiempo de fermentación y se aumentó el nivel de inclusión de vitafert, probablemente se asocie a la transformación de los carbohidratos solubles en ácidos grasos de cadena corta (AGCC) que son utilizados como fuente de energía para el mantenimiento y crecimiento de la población microbiana (Rodríguez 2004). Así mismo, Valiño *et al.*, (1997), Morgan (2003) y Rodríguez (2004) afirman que la fermentación microbiana aeróbica de los carbohidratos solubles da lugar a CO₂ y H₂O que incrementa la humedad y en consecuencia ocasiona la disminución de la MS. Otra consideración a tener en cuenta estaría dada por el hecho de que la inclusión de vitafert, incrementa la humedad lo que también genera disminución de la MS.

5.3.2. Cenizas

El contenido de cenizas experimentó un ligero incremento con respecto a la pulpa fresca, lo cual, podría estar relacionado con el aporte de minerales del vitafert y por la concentración relativa que se produce por disminución de la MS como se argumentó anteriormente. Comportamientos similares fueron notificados por Morgan (2003), en la FES de pulpa de café, pues al incluir niveles crecientes de miel final se incrementó el contenido mineral pero no varió en el tiempo. Sin embargo, esto difiere con lo reportado por Puertas (2012), quien menciona que el contenido de cenizas del mucilago no cambia durante la fermentación, aunque algunas variaciones se deben al consumo de minerales, como el azufre y el fósforo, por parte de los microorganismos

Elías y Lezcano (1993), demostraron la importancia de los elementos traza y vitaminas del complejo B para el crecimiento acelerado de las levaduras que se establecen durante la FES de la caña de azúcar. Por tales razones resulta necesario destacar la apreciable presencia de cenizas (12 a 14 %) en la pulpa de café, lo que pudo favorecer la síntesis de proteína microbiana.

5.3.3. Proteína Cruda

La inclusión de diferentes niveles de vitafert (5, 10, 15 %) generó un aumento en el contenido de proteína cruda durante el proceso de fermentación; no obstante, en ausencia de vitafert el contenido de proteína cruda también fue elevado en relación a la pulpa fresca (10,54 %); lo que se explica por la adición de urea en todos los tratamientos. En el presente estudio, el contenido de proteína cruda alcanzó un máximo de 36,66 % en el nivel 15% a las 24 h; resultando muy superior a los valores obtenidos por Granda y Aguirre (2016), Benítez y Aguirre (2016) y Aguirre *et al.*, (2018), quienes reportaron porcentajes de proteína cruda de 27,98 %; 27,16 % y 28,59% respectivamente, en la FES de pulpa de café con otros aditivos (jugo de caña, suero de leche).

El incremento en el contenido de proteína se atribuye al crecimiento de los microorganismos que toman los carbohidratos solubles que el vitafert con sus distintos componentes proporcionan y son utilizados para la retención de amoníaco y posterior conversión de NNP en nitrógeno proteico a través de procesos físico – biológicos (Valiño *et al.*, 1997). Ramos *et al.*, (2005) indican que la eficiencia de conversión de los carbohidratos solubles a proteína puede llegar a valores de 61 %, debido al desarrollo de la microbiota que se establece en el sistema cuando este le proporciona las condiciones adecuadas.

5.3.4. Proteína Verdadera

Se observó mayor síntesis de PV en el nivel 15 % de vitafert durante todo el proceso de fermentación, con el mayor pico (13,78 %) a las 72 h. Los niveles 5 y 10 % de vitafert generaron un incremento progresivo de la de PV conforme avanzó el tiempo de fermentación. Los valores de PV obtenidos en este estudio son inferiores a los registrados por Aguirre *et al.*, (2018) en la FES de pulpa de café con diferentes niveles de suero de leche, donde se reportan valores que van desde 15,11 % a 17,21 %.

La PV se relaciona directamente con los procesos de síntesis de proteína a nivel del citoplasma celular de los microorganismos que participan en la FES y constituye uno de los nutrientes de mayor valor en la alimentación animal (Aguirre *et al.*, 2018). Por su parte Pandey *et al.*, (2001), asegura que la PV puede ser una vía indirecta para medir el crecimiento microbiano en los procesos de FES, ya que la microbiota mixta que se establece en el sistema, transforma el nitrógeno no proteico (NNP) de la urea en nitrógeno proteico (NP).

5.3.5. Relación PV/PC

Los índices de conversión de PC a PV expresados en porcentaje, tienen relación con los valores de PV alcanzados en cada tratamiento. En ausencia de vitafert se observó valores muy inferiores; mientras que con nivel 15 % se

registraron los valores más altos, con un pico mayor (38.5 %) a las 72 h. Por su parte los niveles 5 y 10 % de vitafert presentaron valores medios con variaciones entre los distintos tiempos de fermentación. Un comportamiento similar de la síntesis de proteína en el tiempo fue reportado por Aguirre *et al.*, (2018), aunque con valores superiores que van desde 57,78 % a 64,49% que puede deberse a diferencias en el sustrato utilizado para la fermentación.

Relacionando los resultados de este estudio con los de Aguirre *et al.*, (2018), se puede asumir que la adición de vitafert pudo haber favorecido una mayor sincronización entre la presencia de energía (AGCC) producto de la fermentación de los carbohidratos del sustrato y el nitrógeno amoniacal procedente de la hidrólisis de la urea; aunque no se descarta la presencia de aminoácidos libres, péptidos y otros factores de crecimiento aportados por el vitafert. Todo ello contribuyó, posiblemente, a una mayor síntesis de proteína microbiana.

5.3.6. Fibra Bruta

El mayor contenido fibra cruda (22,24 %) se presentó a las 72 h, con la adición de 15 % de vitafert. Los otros tratamientos generaron pequeñas variaciones que podrían deberse a errores en el proceso de determinación. Los resultados de este estudio son superiores al 16,74% obtenido por Granda y Aguirre (2016) y al 20,33% reportado por Aguirre *et al.*, (2018) en la fermentación de la pulpa de café con suero de leche.

Varios autores (Rodríguez *et al.*, 2001, Ramos 2005, Berradre *et al.*, 2009 y Aranda *et al.*, 2012) sostienen que la FC tiende a incrementarse con el tiempo, debido a que los microorganismos que están presentes en el sistema usan los azúcares de fácil fermentación del contenido celular, lo que incrementa significativamente el contenido de paredes celulares en el sustrato.

6. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en cada una de las variables analizadas se llega a las siguientes conclusiones:

- La pulpa de café fresca presentó una apreciable composición química con un contenido del 15,85 % de materia seca, 10,54% de proteína cruda y 18,75% de fibra cruda; lo que la convierte en un residuo agrícola interesante para la alimentación animal.
- Los indicadores de la fermentación (pH y NH_3) revelaron mayor actividad microbiana con la inclusión de vitafert, con valores de pH cercanos a 7; lo que se relaciona con la concentración de amoníaco, que alcanzó su mayor pico a las 72 horas con el 15 % de vitafert.
- El contenido de materia seca disminuyó progresivamente con el tiempo de fermentación y el nivel de inclusión de vitafert, posiblemente debido a pérdidas de los productos finales de la fermentación que son de carácter volátil.
- La inclusión vitafert en la FES de la pulpa de café, generó un incremento significativo (3 puntos) en el contenido de cenizas, con un mayor pico (14,68%) a las 72 h con el 5% de vitafert.
- Los tenores de proteína cruda resultaron elevados (mayores a 32%) en todos los tratamientos, debido a la inclusión de 1,5% de urea; observándose una clara tendencia a incrementarse con el tiempo de fermentación y los niveles de inclusión de vitafert. El mayor pico (36,66%) se registró en el tratamiento con el 15 % de vitafert hasta las 24 horas.

- La síntesis de proteína verdadera tuvo una mejor respuesta con el 15% de vitafert a las 72 h; mientras que en ausencia de vitafert, los porcentajes de PV fueron significativamente menores.
- La FES no modificó de manera significativa el contenido fibra cruda, con una ligera tendencia a incrementarse con el tiempo de fermentación y los niveles de inclusión de vitafert; lo que permite deducir que este componente es el menos degradado por los microorganismos durante la fermentación.
- De manera general se concluye que la inclusión de vitafert (5,10 y 15%) en la FES de la pulpa de café hasta 72 h, mejora el proceso fermentativo, con un marcado incremento de proteína cruda y proteína verdadera; y, aunque los componentes fibrosos se mantienen elevados, se podría propiciar su uso en la elaboración de raciones para alimentación de rumiantes.

7. RECOMENDACIONES

Los resultados y conclusiones del presente trabajo de investigación, permiten formular las siguientes recomendaciones:

- Utilizar 15% de vitafert, 1,5% de urea y 0,5% de sales minerales en la FES de pulpa de café, durante 72 horas a 26 °C; ya que presenta buenos indicadores fermentativos y mejora el contenido de nutrientes del sustrato.
- Aplicar procesos de FES de la pulpa de café a nivel de campo, utilizando aditivos de bajo costo como vitafert, urea y sales minerales; ya que permite mejorar el valor nutritivo de este residuo agrícola y posibilita su uso en la alimentación animal.
- Continuar con nuevos trabajos de investigación, orientados a identificar y controlar de mejor manera los factores que intervienen en la FES para mejorar la eficiencia del proceso.
- Difundir los resultados a sectores interesados con el fin de contribuir con tecnologías limpias que permita el reciclaje de residuos agrícolas y el mejoramiento de la alimentación animal.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, L., Rodríguez, Z., Boucourt, R., Saca, V., Salazar, R., y Jiménez, M. 2018. Efecto del suero de leche en la fermentación en estado sólido de la pulpa de café (*Coffea arabica* L.) para uso en la alimentación de rumiantes. Cuban Journal of Agricultural Science, Volume 52, Number 3. Cuba.
- Aguirre, L., Rodríguez, Z., Saca, V. y Apolo, V. 2018. Caracterización bromatológica de la pulpa de café (*Coffea arabica* L.) con fines de en la alimentación animal. Cuban Journal of Agricultural Science, Volume 52, Number 2. Cuba.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis 16va Edition Association of Official Analytical Chemists Washington, EUA.
- Aranda, E.M., Georgana, L.E., Ramos, J.A. y Salgado, S. 2012. Elaboración de un alimento basado en caña de azúcar a partir de la fermentación en estado sólido y con diferentes niveles de zeolitas. Rev Cubana Cienc Agric. 46 (2):159-163.
- 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.
- Benítez, A. y Aguirre, L. 2016. Utilización de diferentes niveles de urea en la dinámica de fermentación de la pulpa de café para uso en la alimentación de rumiantes en la provincia de Loja. Tesis de grado previa a la obtención del Título de Médico Veterinario Zootecnista. Loja, Ecuador.
- Bonneau, M. y Laarveld, B. 1999. Biotechnology in animal nutrition, physiology and health. Livestock Production Science 59, 223–241.

- Berradre, M., Mejías, M., Ferrer, J., Chandler, C., Páez, G., Mármol, Z., Ramones, E. y Fernández, V. 2009. Fermentación en estado sólido del desecho generado en la industria vinícola. *Rev Fac Agron.* 26(3): 398-422.
- Borrás, L.M. y Torres, G. 2016. Producción de alimentos para animales a través de fermentación en estado sólido – FES. Artículo de revisión/Review article.
- Braham, J. y Bressani, R. 1978. Pulpa de café. Composición tecnología y utilización. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, INCAP. Guatemala.
- Calderón, J. 2005. Procesos biotecnológicos en residuales avícolas y sus efectos sobre el valor nutritivo y el comportamiento animal. Tesis en Opción al grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias, ICA, La Habana, Cuba.
- Conway, E.J. 1957. *Microdiffusion analysis and volumetric error* 4th ed. Crosby Lockwood and Sons, Ltd. London.
- De Souza, L.A. *et al.*, 2005. *R. Bras. Zootec*: 2496-2504.
- Díaz, D. 2009. Desarrollo de un inóculo con diferentes sustratos mediante fermentación sólida sumergida. Universidad Autónoma de Chihuahua, Chih., México.
- Echeverría, J., López, P. y Mato, S. 2003. Alternativas para la alimentación animal utilizando fermentación en estado sólido. *Revista Avanzada Científica*.
- Elías, A. y Herrera, F.R. 2008. Producción de alimentos para animales a través de procesos biotecnológicos sencillos con el empleo de microorganismos beneficiosos activados (MEBA).

- Elías, A., Chilbroste, P., Michelena, J.B., Iriñiz, J. y Rodríguez, D. 2010. Evaluación de ACTIVIOL y MEBA con ensilaje de sorgo y despunte de caña de azúcar: valor nutritivo, fermentabilidad in vivo e in vitro y pruebas con animales en crecimiento y vacas lecheras. Informe de Proyecto. República de Uruguay.
- Elías, A. Lezcano, O. y Herrera, F.R. 2001. Algunos indicadores bromatológicos y productos finales de la fermentación para la obtención de cuatro tipos de Saccharina inoculados con Vitafert. Rev Cubana Cienc Agríc. 35(2):153-158.
- Elías, A., Lezcano, O., Lezcano, P., Cordero, J. y Quintana, L. 1990. Reseña descriptiva sobre el desarrollo de una tecnología de enriquecimiento proteínico en la caña de azúcar mediante fermentación solida (Saccharina). Rev. Cubana Cienc. Agríc, 24 (1):3-12.
- Erwin, E.S., Marco, G.J. y Emery, E.M. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. J. Dairy Sci.
- Ferrer J., G. Páez, M. Chirino y Z. Mármol. 1995. Ensilaje de la pulpa de café. Rev. Fac. Agron. LUZ, 12: 417-428.
- Ferreira A., C. Aguiar, J. Olalquiaga, V. Dos Santos y R. Cardoso. 2001. Factores antinutricionais da casca e da polpa desidratada do café (Coffea arabica L.) armazenadas em diferentes períodos. Rev. Bras. Zootec., 30(4): 1331-1352.
- González, J. 1990. Uso de la urea en alimentación de bovinos productores de carne. Programa Producción de Carne Bovina. IPA QUILAMAPU N.- 45.
- Granda, D. y Aguirre, L. 2016. Estudio de la dinámica de fermentación de la pulpa de café con diferentes niveles de urea y suero de leche para uso en la alimentación de rumiantes en la provincia de Loja. Tesis de

grado previa a la obtención del Título de Médico Veterinario Zootecnista. Loja, Ecuador.

Krishna, C. 2005. Solid-State Fermentation Systems-An Overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25:1–30.

Madrid, J., Martínez. Teruel, A.M., Hernández, F. y Megias, M., D. 1999. Comparative study of 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*.

Mena, C. 2013. Procesos fermentativos, disponible en: <http://es.scribd.com/15762395/Procesos-Fermentativos>, consultado marzo de 2013.

Moyano, M., Borrás, L. y Carreño, N. 2014. “Fermentación en estado sólido (fes) de la papa (*solanum tuberosum*), como alternativa tecnológica para la alimentación animal”. Tesis presentada en opción al grado de Especialización en nutrición animal sostenible. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD).

Morgan, S. F. 2003. “La Pulpa de café enriquecida. Un aporte al desarrollo sostenible en la zona montañosa de Guantánamo”. Tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias Veterinarias. Centro Universitario de Guantánamo. Instituto de Ciencia Animal. Cuba.

Noriega, A., Silva, R. y García de Salcedo, M. 2008. Utilización de la pulpa de café en la alimentación animal. *Zootecnia Tropical*.

Noriega, A., Silva, R. y García de Salcedo, M. 2009. Composición química de la pulpa de café a diferentes tiempos de ensilaje para su uso potencial en la alimentación animal. *Zootecnia Tropical*.

Obispo, N. 2008. La biotecnología en la nutrición del rumiante y sus implicaciones para la soberanía alimentaria. Instituto de Nacional de Investigaciones Agrícolas.

- Pandey, A., Soccol, C.R., Rodríguez-León, J.A. y Nigam P. 2001. Solid-state fermentation in biotechnology. Fundamentals and applications. Nueva Delhi: Asia tech Publishers.
- 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.
- Puerta, G. 2011. Composición química de una taza de café. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Colombia.
- Puerta, G. 2010. Fundamentos del proceso de fermentación en el beneficio del café. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Colombia.
- Puerta, G. 2012. Factores, procesos y controles en la fermentación del café (en línea). Avances Técnicos Cenicafe No. 422. 12 p disponible en: <http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/327/1/avt0422.pdf>
- Quichimbo, A. 2017. “Ensilaje de pulpa de café con la aplicación de aditivos, en el Cantón Loja”. Tesis de grado previa a la obtención del título de Ingeniera Agrónomo. UNL. Ecuador.
- Raimbault, M. 1998. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. Elect. J. Biotech. 1: 1–15.
- Ramírez, C. 2003. Fermentaciones aplicadas a la industria de alimentos. Contribución a la II Muestra Agroindustrial. Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Popayán.
- Ramos, J.A., Elías, A., Herrera, F., Aranda, E. & Mendoza, G. 2005. Processes for the production of an energetic-proteinic animal feed. Effect of final molasses levels on the solid state fermentation of Saccha-sorghum and Saccha-polishing. Cuban J. Agric. Sci 41:131.

- Rodríguez Z., López A., Boucourt R., Savón L. y Madera M. 2001. Nivel y fuente de fibra de la dieta en la concentración y la actividad celulolítica de la microbiota intestinal del cerdo. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 35: 269.
- Rodríguez, A. Z. 2004. Uso del boniato (*Ipomoea batata lam*) en la tecnología de fermentación en estado sólido de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). Tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias Veterinarias. Universidad Agraria de la Habana. Instituto de Ciencia Animal. Cuba.
- Romero, G. 2008. Biotecnología, generalidades, riesgos y beneficios. Curso experto universitario en Biotecnología aplicada a los Alimentos.
- Roussos, S. y Perraud-Gaime, I. 1996. Fisiología y Bioquímica de Microorganismos Utilizados en Procesos de Fermentación en Medio Sólido. Laboratoire de Biotechnologie PMC, Centre ORSTOM, BP 5045, 34034 Montpellier cedex, FRANCE.
- Suárez, P. 2011. "Ensilaje de banano (Rechazo) como suplemento alimenticio para ganado bovino en el segundo tercio de lactancia". Tesis de grado previa a la obtención del título de Ingeniero Zootécnico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador.
- Uffo, O. 2011. Producción animal y biotecnologías pecuarias: nuevos retos. *Rev. Salud Animal.* Vol. 33 No. 1.
- Valiño, E., Elías, A. y Albelo, N. 1997. Interacciones entre la microbiota del bagazo de caña de azúcar y cultivos de *Cephalosporium sp* y *Acinetobacter calcoaceticus* mediante fermentación en estado sólido. *Rev. Cubana Cienc. Agríc.* 31: 293.
- Vargas, J., Cabezas, M., y Bressani, R. 1977. Pulpa de café en la alimentación de rumiantes. II. Absorción y retención de nitrógeno en

novillos alimentados. Guatemala: Instituto de Nutricion de Centro America y Panama (INAC).

Zambrano, G. D. 2004. "Contribución al estudio de los subproductos agroindustriales del trópico húmedo ecuatoriano para la alimentación de rumiantes" Tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal.

9. ANEXOS

ANEXO 1. Análisis estadístico de las variables en estudio mediante arreglo factorial 4x4 (Niveles de vitafert por tiempo de fermentación) con la ayuda del programa estadístico Infostat versión 2012.

pH

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
pH	48	0,95	0,93	5,16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	67,75	15	4,52	41,13	<0,0001
Vitafert	66,61	3	22,20	202,16	<0,0001
Tiempo	0,25	3	0,08	0,77	0,5183
Vitafert*Tiempo	0,89	9	0,10	0,90	0,5385
Error	3,51	32	0,11		
Total	71,27	47			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,1098 gl: 32

Vitafert	Medias	n	E.E.	
10,00	7,24	12	0,10	A
15,00	7,11	12	0,10	A
5,00	6,96	12	0,10	A
0,00	4,39	12	0,10	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,1098 gl: 32

Tiempo	Medias	n	E.E.	
72,00	6,48	12	0,10	A
0,00	6,47	12	0,10	A
24,00	6,45	12	0,10	A
48,00	6,30	12	0,10	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,1098 gl: 32

Vitafert	Tiempo	Medias	n	E.E.	
10,00	72,00	7,47	3	0,19	A
10,00	24,00	7,43	3	0,19	A
15,00	0,00	7,43	3	0,19	A
10,00	0,00	7,13	3	0,19	A
15,00	48,00	7,07	3	0,19	A
15,00	24,00	7,00	3	0,19	A
5,00	24,00	7,00	3	0,19	A
5,00	72,00	6,99	3	0,19	A
15,00	72,00	6,93	3	0,19	A
10,00	48,00	6,93	3	0,19	A
5,00	0,00	6,93	3	0,19	A
5,00	48,00	6,90	3	0,19	A
0,00	72,00	4,53	3	0,19	B
0,00	0,00	4,37	3	0,19	B
0,00	24,00	4,37	3	0,19	B

0,00 48,00 4,30 3 0,19 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Amoniaco

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Amoniaco	48	0,71	0,58	36,69

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	15,79	15	1,05	5,26	<0,0001
Vitafert	4,75	3	1,58	7,92	0,0004
Tiempo	4,74	3	1,58	7,91	0,0004
Vitafert*Tiempo	6,29	9	0,70	3,50	0,0041
Error	6,40	32	0,20		
Total	22,18	47			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,1999 gl: 32

Vitafert	Medias	n	E.E.	
15,00	1,75	12	0,13	A
0,00	1,11	12	0,13	B
10,00	1,06	12	0,13	B
5,00	0,95	12	0,13	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,1999 gl: 32

Tiempo	Medias	n	E.E.	
72,00	1,75	12	0,13	A
0,00	1,17	12	0,13	B
24,00	0,98	12	0,13	B
48,00	0,98	12	0,13	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,1999 gl: 32

Vitafert	Tiempo	Medias	n	E.E.	
15,00	72,00	3,05	3	0,26	A
15,00	0,00	1,96	3	0,26	B
5,00	72,00	1,40	3	0,26	B C
10,00	24,00	1,36	3	0,26	B C
0,00	72,00	1,35	3	0,26	B C
0,00	0,00	1,32	3	0,26	B C
10,00	72,00	1,18	3	0,26	B C
15,00	48,00	1,09	3	0,26	C
0,00	48,00	1,02	3	0,26	C
5,00	48,00	0,98	3	0,26	C
15,00	24,00	0,92	3	0,26	C
5,00	24,00	0,89	3	0,26	C
10,00	0,00	0,86	3	0,26	C
10,00	48,00	0,83	3	0,26	C
0,00	24,00	0,75	3	0,26	C
5,00	0,00	0,53	3	0,26	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Materia Seca

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
MS	48	0,68	0,53	3,10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	7,54	15	0,50	4,58	0,0001
Vitafert	4,65	3	1,55	14,14	<0,0001
Tiempo	1,54	3	0,51	4,68	0,0081
Vitafert*Tiempo	1,35	9	0,15	1,37	0,2440
Error	3,51	32	0,11		
Total	11,05	47			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,1097 gl: 32

Vitafert	Medias	n	E.E.	
0,00	11,20	12	0,10	A
10,00	10,52	12	0,10	B
15,00	10,48	12	0,10	B
5,00	10,46	12	0,10	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,1097 gl: 32

Tiempo	Medias	n	E.E.	
0,00	10,91	12	0,10	A
24,00	10,76	12	0,10	A B
72,00	10,51	12	0,10	B
48,00	10,49	12	0,10	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,1097 gl: 32

Vitafert	Tiempo	Medias	n	E.E.	
0,00	0,00	11,44	3	0,19	A
0,00	24,00	11,22	3	0,19	A B
0,00	48,00	11,11	3	0,19	A B C
0,00	72,00	11,05	3	0,19	A B C D
10,00	0,00	10,79	3	0,19	B C D E
15,00	24,00	10,77	3	0,19	B C D E
15,00	0,00	10,73	3	0,19	B C D E
5,00	0,00	10,69	3	0,19	B C D E F
5,00	24,00	10,64	3	0,19	B C D E F
10,00	72,00	10,60	3	0,19	B C D E F
15,00	48,00	10,51	3	0,19	C D E F G
5,00	72,00	10,46	3	0,19	C D E F G
10,00	24,00	10,42	3	0,19	D E F G
10,00	48,00	10,27	3	0,19	E F G
5,00	48,00	10,06	3	0,19	F G
15,00	72,00	9,91	3	0,19	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Cenizas

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cz	48	0,88	0,83	2,67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	30,69	15	2,05	16,17	<0,0001
Vitafert	16,50	3	5,50	43,48	<0,0001
Tiempo	2,94	3	0,98	7,74	0,0005
Vitafert*Tiempo	11,25	9	1,25	9,88	<0,0001
Error	4,05	32	0,13		
Total	34,74	47			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,1265 gl: 32

Vitafert	Medias	n	E.E.	
10,00	13,94	12	0,10	A
5,00	13,71	12	0,10	A
15,00	13,14	12	0,10	B
0,00	12,42	12	0,10	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,1265 gl: 32

Tiempo	Medias	n	E.E.	
0,00	13,55	12	0,10	A
72,00	13,54	12	0,10	A
48,00	13,13	12	0,10	B
24,00	12,99	12	0,10	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,1265 gl: 32

Vitafert	Tiempo	Medias	n	E.E.	
5,00	72,00	14,68	3	0,21	A
10,00	0,00	14,46	3	0,21	A B
10,00	72,00	13,90	3	0,21	B C
15,00	72,00	13,80	3	0,21	C
10,00	24,00	13,78	3	0,21	C
5,00	48,00	13,75	3	0,21	C D
0,00	0,00	13,69	3	0,21	C D
10,00	48,00	13,62	3	0,21	C D E
5,00	24,00	13,30	3	0,21	C D E F
5,00	0,00	13,09	3	0,21	D E F
15,00	48,00	13,00	3	0,21	E F
15,00	0,00	12,94	3	0,21	F
15,00	24,00	12,82	3	0,21	F
0,00	48,00	12,15	3	0,21	G
0,00	24,00	12,06	3	0,21	G
0,00	72,00	11,78	3	0,21	G

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Proteína Cruda

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PC	48	0,79	0,69	1,88

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	54,35	15	3,62	8,08	<0,0001
Vitafert	26,38	3	8,79	19,60	<0,0001
Tiempo	6,11	3	2,04	4,54	0,0092
Vitafert*Tiempo	21,87	9	2,43	5,42	0,0002
Error	14,35	32	0,45		
Total	68,70	47			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,4486 gl: 32

Vitafert	Medias	n	E.E.	
5,00	36,21	12	0,19	A
15,00	36,03	12	0,19	A
10,00	35,97	12	0,19	A
0,00	34,37	12	0,19	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,4486 gl: 32

Tiempo	Medias	n	E.E.	
48,00	36,06	12	0,19	A
72,00	35,92	12	0,19	A B
0,00	35,42	12	0,19	B C
24,00	35,19	12	0,19	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,4486 gl: 32

Vitafert	Tiempo	Medias	n	E.E.	
15,00	24,00	36,66	3	0,39	A
10,00	72,00	36,65	3	0,39	A
5,00	72,00	36,39	3	0,39	A B
5,00	24,00	36,36	3	0,39	A B
15,00	48,00	36,33	3	0,39	A B C
5,00	48,00	36,30	3	0,39	A B C
10,00	48,00	36,09	3	0,39	A B C D
5,00	0,00	35,81	3	0,39	A B C D
15,00	72,00	35,79	3	0,39	A B C D
10,00	24,00	35,65	3	0,39	A B C D
0,00	48,00	35,52	3	0,39	A B C D
10,00	0,00	35,50	3	0,39	A B C D
15,00	0,00	35,32	3	0,39	B C D
0,00	0,00	35,04	3	0,39	C D
0,00	72,00	34,84	3	0,39	D
0,00	24,00	32,08	3	0,39	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Fibra Cruda

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
FC	48	0,80	0,70	2,41

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	31,31	15	2,09	8,34	<0,0001
Vitafert	8,96	3	2,99	11,94	<0,0001
Tiempo	1,36	3	0,45	1,81	0,1660
Vitafert*Tiempo	20,99	9	2,33	9,32	<0,0001
Error	8,01	32	0,25		
Total	39,31	47			

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,2502 gl: 32

Vitafert	Medias	n	E.E.	
15,00	21,40	12	0,14	A
0,00	20,64	12	0,14	B
10,00	20,63	12	0,14	B
5,00	20,20	12	0,14	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,2502 gl: 32

Tiempo	Medias	n	E.E.	
72,00	20,89	12	0,14	A
0,00	20,87	12	0,14	A
24,00	20,61	12	0,14	A
48,00	20,49	12	0,14	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

Test:Duncan Alfa=0,05

Error: 0,2502 gl: 32

Vitafert	Tiempo	Medias	n	E.E.				
15,00	72,00	22,24	3	0,29	A			
0,00	0,00	22,16	3	0,29	A			
10,00	72,00	21,81	3	0,29	A	B		
15,00	48,00	21,27	3	0,29		B	C	
15,00	0,00	21,07	3	0,29		B	C	D
15,00	24,00	21,01	3	0,29		B	C	D
0,00	24,00	20,99	3	0,29		B	C	D
5,00	48,00	20,63	3	0,29			C	D E
10,00	24,00	20,43	3	0,29			C	D E F
10,00	48,00	20,17	3	0,29				D E F
10,00	0,00	20,12	3	0,29				D E F
5,00	0,00	20,12	3	0,29				D E F
5,00	24,00	20,03	3	0,29				E F
5,00	72,00	20,00	3	0,29				E F
0,00	48,00	19,89	3	0,29				E F
0,00	72,00	19,50	3	0,29				F

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p<= 0,05)

ANEXO 2. FOTOGRAFÍAS DEL TRABAJO DE CAMPO Y LABORATORIO



Figura 1. Obtención de la pulpa de café fresca



Figura 2. Preparación del inóculo (VITAFERT).



Figura 3. Identificación de las unidades experimentales y preparación del material.



Figura 4. Montaje del Experimento.

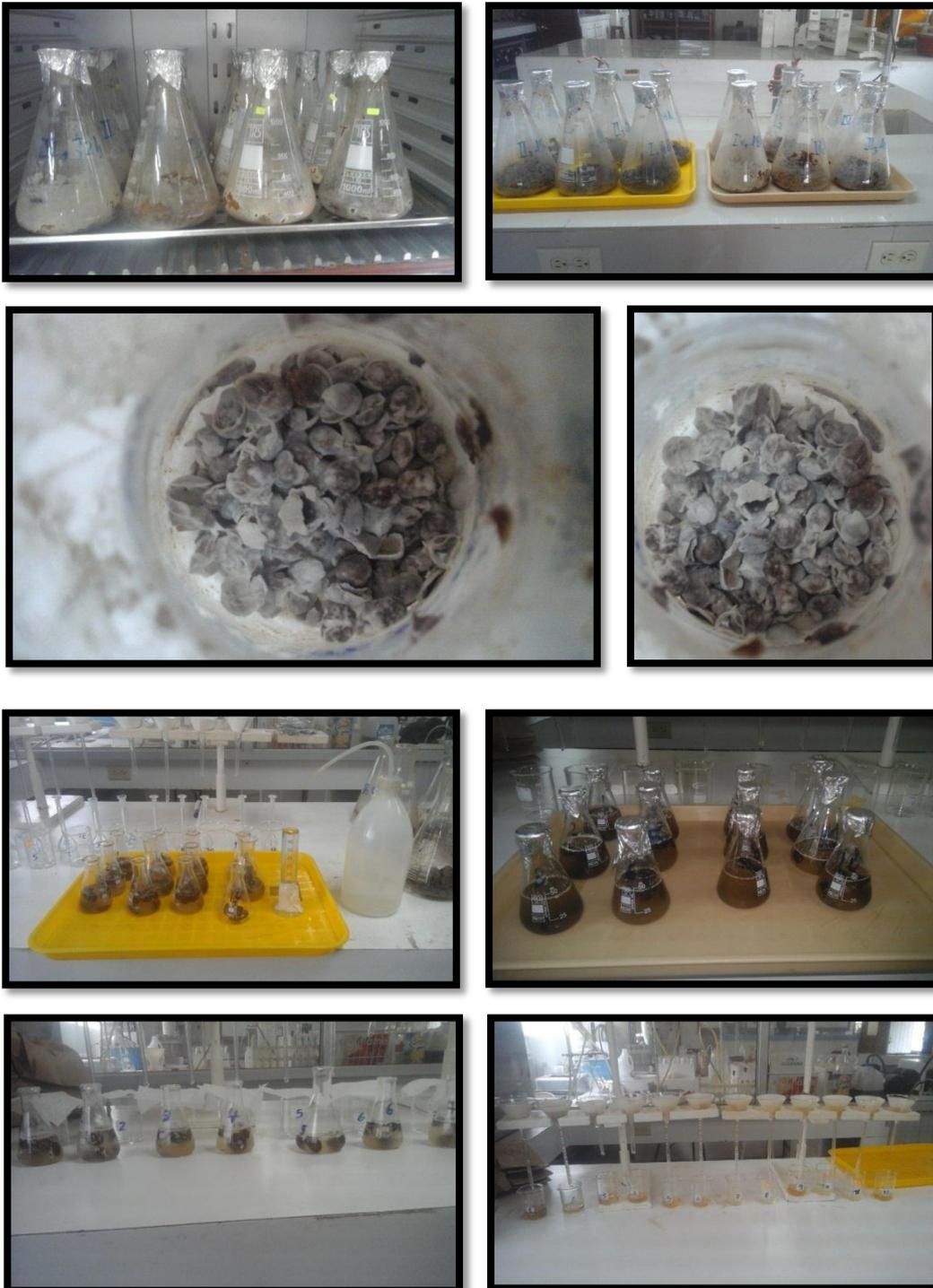


Figura 5. Desmontaje del Experimento.

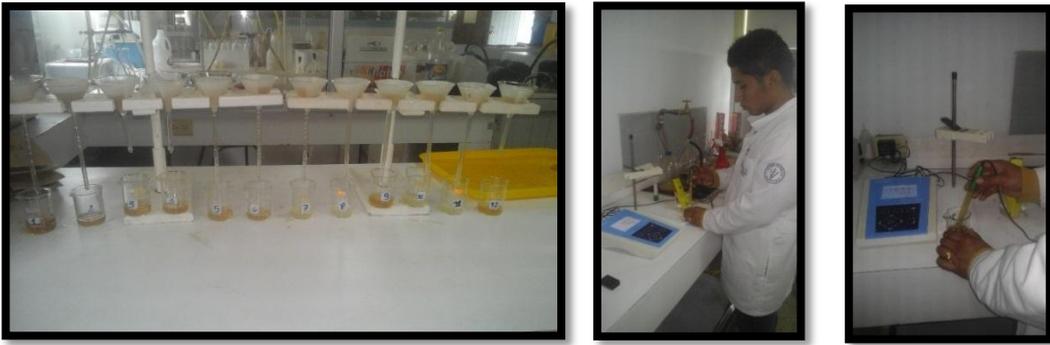


Figura 6. Medición de pH.

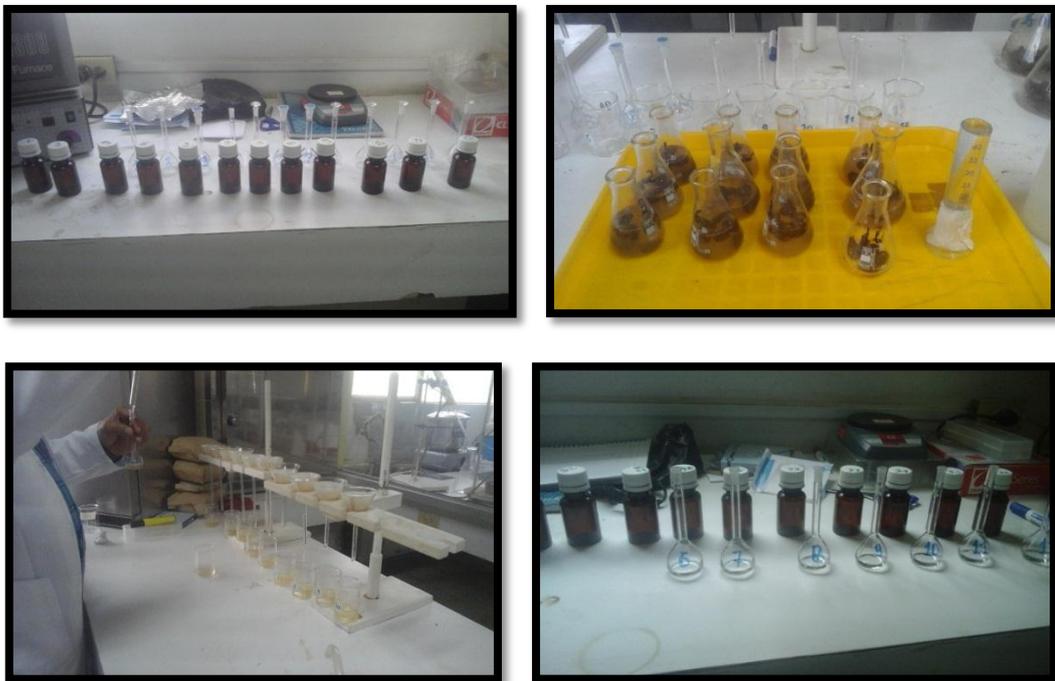


Figura 7. Preparación de muestras para la determinación de amoníaco (NH_3).



Figura 8. Determinación del contenido de humedad higroscópica.



Figura 9. Determinación del contenido de cenizas.



Figura 10. Determinación del contenido de proteína cruda.



Figura 11. Determinación del contenido de fibra cruda.



Figura 12. Determinación del contenido de proteína verdadera.



Figura 13. Determinación del contenido de amoníaco.