

Determinación de la Capacidad de *Aspergillus oryzae* en el Aumento del Contenido Proteico de la Cáscara de Yuca Mediante Fermentación en Estado Sólido (SSF) en un Biorreactor a Escala Laboratorio

Juliana Andrea Benitez Rosero¹, Howard Diego Ramírez Malule¹, Yineth Sofía Viáfara Mina²

¹ Escuela de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

² Escuela de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

2026

1. RESUMEN

El aprovechamiento de los subproductos agroindustriales se ha convertido en una oportunidad para transformar materiales poco utilizados en productos o recursos de alto valor. En Colombia, la producción de almidón de yuca, genera grandes cantidades de cáscara y bagazo, subproductos que suelen desecharse a pesar de su potencial nutricional. En este estudio, se empleó la fermentación en estado sólido (SSF) con *Aspergillus oryzae* sobre cáscara de yuca, se evaluó el efecto del pH y el porcentaje de fuente de carbono (bagazo de yuca) sobre el contenido de proteína soluble y los fenoles totales.

El análisis ANOVA ($p < 0.05$), mostró que la interacción de ambos factores afectó de manera positiva el contenido de proteína soluble, logrando un incremento de 122.4%, con un pH 5.5 y 50% de bagazo (20.30 mg/g), comparado con una muestra control. Mientras que para los fenoles totales, la interacción entre factores no tuvo efecto significativo. Sin embargo, se presentó un aumento del 106% en el contenido de fenoles a pH 5.5. Estos resultados demuestran el potencial que tiene la SSF para la biotransformación y valorización de subproductos agroindustriales.

Palabras clave: Fermentación en estado sólido, Cáscara de yuca, *Aspergillus oryzae*.

2. INTRODUCCIÓN

En Colombia se producen cerca de 2 millones de toneladas de yuca al año; en el 2019 se registró una producción de 2.44 millones de toneladas de yuca, siendo la región Caribe la principal zona productora, con cerca del 50% del total nacional. Este volumen representa una alta producción de subproductos generados por este tubérculo, especialmente la cáscara, la cual puede representar entre el 10 y el 20% del peso húmedo de las raíces (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural et al., 2022).

En concordancia, estos subproductos son ricos en macronutrientes, aminoácidos esenciales, vitaminas y minerales, lo que los convierte en un candidato potencial para ser utilizados como alimento animal (Fatimah I. Jumare et al., 2024, 2). Sin embargo, la yuca tiene algunas desventajas, puesto que sus tejidos tienen un contenido proteico muy bajo (Mohamed Hawashi et al., 2019, 1).

Con el fin de incrementar el valor agregado de estos subproductos, se han implementado diversas estrategias tecnológicas, entre las cuales se destaca la fermentación en estado sólido (SSF, por sus siglas en inglés). Este método surge como una alternativa sostenible para el enriquecimiento de productos, permitiendo el crecimiento de microorganismos como *Aspergillus Oryzae* sobre sustratos orgánicos húmedos, sólidos y no solubles (Yafetto L et al., 2019); promoviendo la producción de enzimas y biomasa microbiana que incrementan el contenido proteico y reducen compuestos tóxicos.

Esta técnica ha mostrado resultados prometedores en otros países como Nigeria, donde se ha aplicado exitosamente para la valorización de subproductos de yuca destinados a la alimentación animal (Ikponmwosa Ojo et al., 2022). Mientras que en Colombia, la aplicación de la SSF en la valorización de la cáscara de yuca aún presenta escasos estudios, a pesar de su potencial para contribuir a la sostenibilidad ambiental y la reducción de los

costos en la alimentación animal (Fatimah I. Jumare et al., 2024). Por tanto, este estudio busca aportar al conocimiento aplicado sobre el enriquecimiento nutricional de la cáscara de yuca mediante SSF, aprovechando los subproductos agroindustriales generados en el país.

Así mismo, en esta investigación se busca establecer las mejores condiciones para la SSF de la cáscara de yuca, con el fin de favorecer el crecimiento del micelio del hongo *Aspergillus oryzae* y la obtención de compuestos de interés como lo son las proteínas solubles. Para ello, se evaluó el efecto del pH inicial del sustrato y el nivel de suplementación con una fuente adicional de carbono (bagazo de yuca) sobre el incremento del contenido proteico de la cáscara durante el proceso fermentativo.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materia prima

La cáscara y el bagazo se obtuvieron del proceso industrial de producción de almidón. Posteriormente, estos subproductos fueron transportados al laboratorio de Microbiología y Biotecnología Aplicada (MIBIA) de la Universidad del Valle, bajo condiciones controladas de temperatura, con el fin de evitar la contaminación y el crecimiento de microorganismos indeseados.

Una vez en el laboratorio, se realizó una selección manual para descartar las cáscaras con signos visibles de deterioro, asegurando así la calidad del sustrato y la homogeneidad del material. A continuación, las cáscaras seleccionadas se lavaron con agua para eliminar impurezas como tierra y restos de corteza.

De manera paralela, el bagazo también fue sometido a un proceso de limpieza: primero se lavó con agua, luego se pasó por un cernidor fino y, finalmente, se retiró el exceso de agua para facilitar el secado.

3.2. Caracterización fisicoquímica de la cáscara y el bagazo de yuca sin fermentar

3.2.1. Determinación del contenido de humedad inicial y final (NORMA AOAC 934.01)

Las cáscaras y el bagazo de yuca se secaron en un horno de convección natural empleando bandejas de acero inoxidable y una temperatura de 55°C para evitar la degradación de compuestos activos presentes en el sustrato (Figura 1). El secado se llevó a cabo durante 24 horas hasta alcanzar un contenido de humedad del 6%, obteniendo un sustrato uniforme y estable para el proceso de fermentación (Figura 2).



Figura 1. Secado de la cáscara y bagazo de yuca en un horno de convección forzada.

Nota. Fotografía tomada por la autora, elaboración propia.

El porcentaje de humedad se determinó por el método convencional mediante la ecuación 1:

$$\% \text{ humedad} = \frac{m_i - m_f}{m_f} * 100 \quad (1)$$

donde:

m_i = Peso inicial de la muestra (g)

m_f = Peso final de la muestra (g)

Una vez seco el sustrato (cáscaras y bagazo de yuca), cada material se trituro de manera individual en un molino de cuchillas, con el objetivo de reducir el tamaño de partícula y favorecer la interacción entre el sustrato y el microorganismo durante la fermentación.

Posteriormente, las muestras se tamizaron utilizando un tamiz de malla de acero inoxidable, obteniendo un tamaño de partícula uniforme en el rango de 0.6 a 2.0 mm.

A continuación, tanto las cáscaras como el bagazo de yuca, ya secos y molidos, se empaclaron en bolsas de polietileno de alta densidad selladas al vacío. Finalmente, se almacenaron a temperatura ambiente hasta el momento de su uso, garantizando la conservación del material para el proceso experimental.



Figura 2. *Materia prima seca sin moler ni tamizar.*

Nota. (A) Cáscara de yuca. (B) Bagazo de yuca. Fotografía tomada por la autora, elaboración propia.

3.2.2. Determinación de la actividad de agua y el pH

La actividad de agua se determinó utilizando 1 g de muestra de cáscara de yuca fresca en el equipo AquaLab Series 4TE (METER Group, Pullman, WA, EE. UU.).

En cuanto al pH, se empleó un pH-metro marca Apera Instruments (Apera Instruments, Columbus, OH, EE. UU.). Para la medición, se suspendió 1 g de muestra en 10 mL de agua destilada, se dejó reposar durante 10 minutos y, posteriormente, se registró el valor de pH sumergiendo el electrodo en la solución.

3.2.3. Determinación de la capacidad de retención de agua

Para la determinación de la retención de agua del sustrato se siguió la metodología descrita en (Londoño, 2018), en la cual se tomaron 1.25 g de muestra seca y se suspendió en 15 mL de agua destilada. Posteriormente, se centrifugó durante 10 minutos a 3000 rpm, se descartó el sobrenadante y se pesó el material contenido en el fondo del tubo falcón (López-Silva, J. et al., 2025). El valor de la capacidad de retención de agua (WAI) se calculó mediante la ecuación (2):

$$WAI = \frac{PESO\ DEL\ GEL}{PESO\ DE\ LA\ MUESTRA\ SECA} \quad (2)$$

Este procedimiento se aplicó de manera independiente a ambos sustratos, es decir, tanto a la cáscara como al bagazo de yuca.

3.3. Reactivación y preparación del inóculo

3.3.1. Siembra y verificación del hongo filamentoso *Aspergillus Oryzae*

Se empleó la cepa *Aspergillus oryzae* (266) obtenida del cepario del grupo de investigación MIBIA. *Aspergillus oryzae* se sembró en cajas petri y tubos de ensayo inclinados con medio de cultivo PDA (potato agar dextrosa) y 3% de salvado de trigo como fuente mineral. Las muestras se incubaron a 30°C durante 72 horas o hasta la esporulación completa del hongo. La pureza se verificó empleando un estereoscopio y la morfología a través de una tinción con azul de lactofenol, observada en un microscopio a 40X.

3.3.2. Preparación del inóculo

El inóculo se preparó siguiendo la técnica “Tane Koji” descrita por (Londoño, 2018). El procedimiento consistió en la inoculación de arroz integral, dispuesto en bandejas de aluminio perforadas, con una suspensión de esporas del hongo con una concentración de 7 x

10⁷ esporas/ml. Dichas esporas se obtuvieron de tubos inclinados previamente sembrados y se extrajeron mediante una solución acuosa estéril. La mezcla se incubó durante 72 horas a 30 °C.

Una vez el sustrato estuvo completamente esporulado, se secó en un horno de convección natural durante 24 horas a 50°C y, seguidamente, se redujo el tamaño de partícula utilizando un molino de cuchillas. El material se almacenó a temperatura ambiente en un recipiente de vidrio hermético hasta su uso. La concentración de esporas en el inóculo se determinó empleando una cámara de Neubauer, mediante la ecuación 3:

$$\frac{\text{No. Esporas}}{\text{mL}} = (25) * (1 \times 10^4) * (\text{Factor de dilución}) \quad (3)$$

3.4 Prueba de crecimiento longitudinal

Con el fin de evaluar la afinidad del microorganismo por el sustrato, se llevó a cabo una prueba de crecimiento longitudinal. Para ello, se utilizaron tubos de cultivo en U con medio PDA (Potato Dextrose Agar) suplementado con los porcentajes de cáscara y bagazo de yuca definidos en el diseño experimental. En cada tubo se adicionaron 0.5 g de inóculo en los bordes, y la longitud del crecimiento micelial se registró a intervalos de 12 horas.

3.5. Diseño Experimental

Se realizó un diseño factorial 3² para determinar las condiciones óptimas del proceso, evaluando el efecto del pH y el porcentaje de fuente de carbono (bagazo de yuca) sobre el contenido de proteína soluble y fenoles totales (Tabla 1). Cada corrida experimental se realizó por triplicado, para un total de 27 corridas experimentales (Anexo 6.1) (Montgomery, 2004).

Tabla 1. Factores, niveles y variables de respuesta para el diseño factorial factorial 3^2 para determinar las condiciones óptimas del proceso.

Factores	Niveles	Variable de respuesta
pH	4.5, 5.5, 6.5	Proteína soluble y fenoles totales
Fuente de carbono (%)	25, 50, 75	

Nota. El diseño factorial 3^2 incluye dos factores con tres niveles cada uno. Tabla de elaboración propia.

El análisis estadístico se efectuó a partir del software Minitab 19 mediante un análisis ANOVA y la prueba de significancia de Tukey.

3.6. Proceso de Fermentación

El proceso de fermentación en estado sólido se llevó a cabo en bandejas de aluminio perforadas, empleando 55 g de sustrato. La humedad inicial se ajustó al 60% con agua destilada y el pH se modificó mediante soluciones alcalinas (NaHCO_3 al 40%) o ácidas ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), verificando con un pH-metro. Tanto el pH como el porcentaje de fuente de carbono se ajustaron de acuerdo con las condiciones definidas en el diseño experimental (Figura 3 y Anexo 6.1).

Las muestras fueron inoculadas con un 1% del inóculo preparado y posteriormente incubadas a 30 °C, bajo una humedad relativa controlada entre el 70 y el 90% (Figura 4).



Figura 3. *Sustrato fermentación enriquecido con fuente de carbono (bagazo de yuca) antes de la fermentación. Nota.* (1) 30% bagazo de yuca, 70% cáscara de yuca. (2) 50% bagazo de yuca, 50% cáscara de yuca, (3) 70% bagazo de yuca, 30% cáscara de yuca. Fotografía tomada por la autora, elaboración propia.



Figura 4. *Montaje experimental fermentación en estado sólido. Nota.* (A) Bandejas listas para fermentación. (B) Bandejas listas para iniciar el proceso de fermentación. Fotografía tomada por la autora, elaboración propia.

3.7. Cuantificación de proteína soluble y fenoles

La cuantificación de proteína soluble y fenoles totales se realizó a partir de soluciones acuosas obtenidas de las muestras fermentadas de cáscara de yuca. Para ello, se pesó 1 g de cada muestra y se adicionaron 9 mL de agua destilada. La mezcla fue sometida a extracción por ultrasonido y posteriormente centrifugada durante 15 minutos a 3000 rpm. El sobrenadante se filtró y se almacenó a 4 °C hasta su análisis.

La proteína soluble se determinó mediante el método de Lowry modificado, el cual se basa en la reacción de las proteínas con el reactivo de Folin–Ciocalteu en medio alcalino. En este proceso, los enlaces peptídicos reaccionan con el cobre (Cu^{2+}) presente en el reactivo, formando un complejo proteína- Cu^+ . Dicho complejo reduce los compuestos de fosfomolibdato y fosfotungstato, generando óxidos de molibdeno y tungsteno responsables de un color azul proporcional a la concentración de proteína (OIV).

Para la cuantificación, se tomó 1 mL del extracto y se mezcló con 0.9 mL de solución A ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Na_2CO_3 , NaOH y agua). La mezcla se incubó en baño maría a 50 °C durante 10 minutos, se enfrió en baño de hielo y se adicionaron 0.1 mL de solución B ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, CuSO_4 y NaOH). Tras un reposo en oscuridad de 10 minutos, se agregaron 3 mL de una solución 1:14 del reactivo de Folin–Ciocalteu disuelto en agua.

La mezcla se incubó nuevamente en baño maría a 50 °C durante 10 minutos y se enfrió en hielo. Finalmente, la absorbancia se midió a 750 nm en un espectrofotómetro UNICO 2100 (UNICO, Dayton, NJ, EE. UU.), utilizando agua destilada como blanco (Hartree, 1972). La curva de calibración se construyó con seroalbúmina bovina en concentraciones de 0 a 300 mg/L (Anexo 6.3).

Por otro lado, los fenoles totales se cuantificaron siguiendo la metodología descrita por Londoño (2018). En tubos de ensayo se mezclaron 0.8 mL de extracto diluido con 0.8 mL de reactivo de Folin–Ciocalteu y se dejaron reposar durante 5 minutos. Posteriormente, se añadieron 0.8 mL de carbonato de sodio (0.01 M) y se mantuvo en reposo otros 5 minutos.

La solución se diluyó con 5 mL de agua destilada y la absorbancia se midió a 760 nm en espectrofotómetro. La curva de calibración se elaboró con una disolución patrón de ácido fólico (1 mg/mL), variando las concentraciones entre 0 y 10 mg/mL (Anexo 6.4).

El análisis se realizó por duplicado en cada corrida experimental, tanto para la cuantificación de proteínas como de fenoles, y los resultados se compararon con sus respectivos controles (muestras sin fermentar).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Reactivación y preparación del inóculo

4.1.2. Siembra y verificación del hongo filamentoso *Aspergillus Oryzae*

La verificación de la morfología y pureza del hongo se realizó empleando un microscopio OLYMPUS CX21. A partir de la observación microscópica se identificó la cepa *Aspergillus oryzae* 266, caracterizada por la presencia de hifas septadas y ramificadas, así como por cabezas conidiales bien definidas (Figura 5).

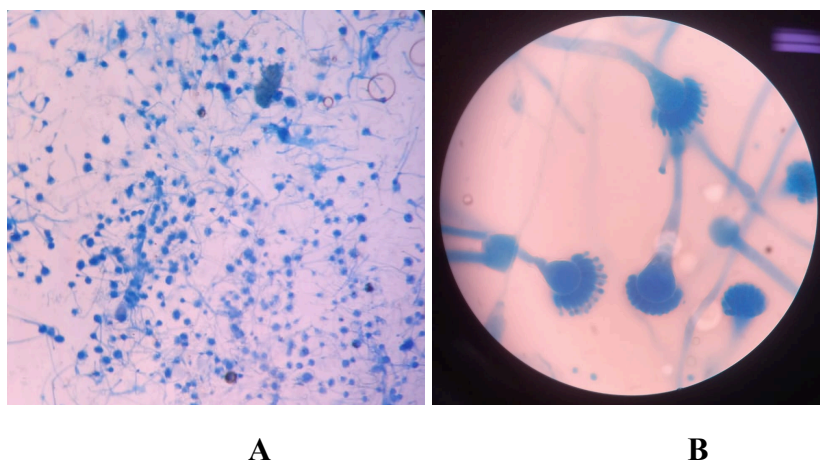


Figura 5. Estructuras microscópicas de *Aspergillus oryzae* observadas a partir de una tinción con azul de lactofenol. **Nota.** (A) Dispersión de esporas, aumento 10X. (B) Identificación de cabezas conidiales típicas de *Aspergillus oryzae*. Fotografía tomada por la autora, elaboración propia.

De acuerdo con las características descritas para este género, *Aspergillus oryzae* presenta una cabeza conidial que consiste en una vesícula hinchada de la cual emergen células especializadas llamadas fiálides, estas contienen esporas asexuales (conidios). Además un conidióforo biseriado, pues existe una capa intermedia llamada metulas entre la vesícula y las fiálides (Figura 6) (Batt & Tortorello, 2014).

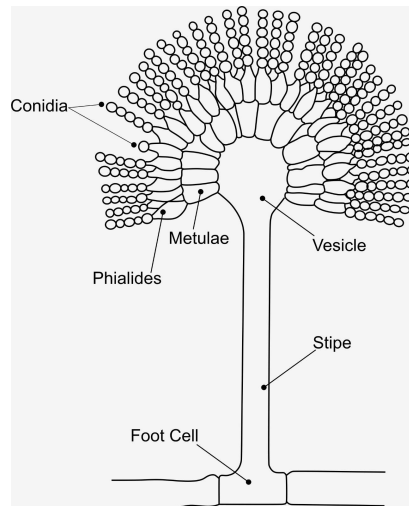


Figura 6. Estructura morfológica de *Aspergillus oryzae* . **Nota.** Adaptado de Encyclopedia of Food Microbiology (Batt & Tortorello, 2014). Copyright 2014 by Elsevier.

Esta especie se diferencia de los otras del género *Aspergillus* debido a que no produce aflatoxinas, las cuales son micotoxinas producidas en pequeñas cantidades por las otras especies de hongos de este género, estas son compuestos tóxicos y cancerígenos que pueden causar problemas para la salud. Debido a esto, el hongo *Aspergillus oryzae* se considera seguro para su uso en la industria alimentaria y puede emplearse para procesos de SSF (*Aspergillus oryzae.*, 2019).

4.1.3. Preparación del inóculo

Mediante la técnica “Tane Koji”, se logró obtener un inóculo con una concentración de 4.8×10^9 esporas/mL (Figura 7 y 8). Este valor asegura la viabilidad del microorganismo durante el proceso de fermentación y favorece su dominio sobre posibles contaminantes, lo que reduce el riesgo de crecimiento competitivo de otros microorganismos. En SSF se ha reportado que concentraciones de inóculo de al menos 1×10^6 esporas/mL son necesarias para iniciar un crecimiento fúngico eficiente y minimizar la contaminación indeseada, lo que respalda la suficiencia de la concentración obtenida en este estudio (Puspitasari et al., 2024).

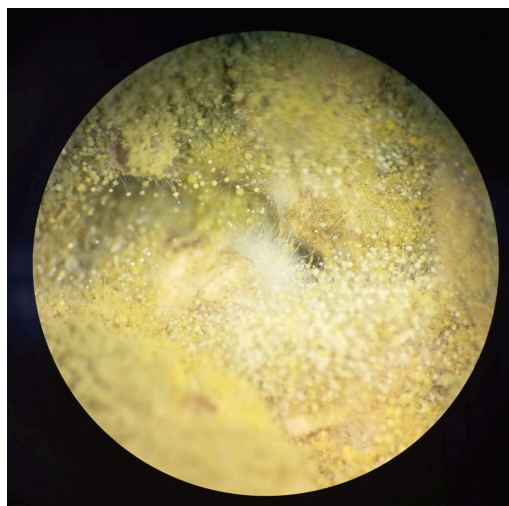


Figura 7. Observación macroscópica del inóculo de *Aspergillus oryzae* bajo estereoscopio. **Nota.** Fotografía tomada por la autora, elaboración propia.



Figura 8. Inóculo fermentado y seco “Tane koji” sin moler. **Nota.** Fotografía tomada por la autora, elaboración propia.

4.2.Caracterización fisicoquímica de la cáscara de yuca

En la Tabla 2 se muestra la composición de la cáscara de yuca, más precisamente la parte llamada parénquima cortical (Figura 9). Este es el subproducto que queda después de retirar la periderma o cascarilla, descrito por (Alarcón, F & Dufour, D, 1998).

Tabla 2. Resultados de los análisis fisicoquímicos iniciales y finales de la cáscara de yuca.

Análisis	Metodología	Resultado
Húmedad inicial	AOAC - 934.01	75 %

Húmedad final	AOAC - 934.01	6 %
pH	Londoño (2015)	4.84
Actividad de agua inicial (AW)	López-Silva, J. et al. (2025)	0.969

Nota. La humedad se determinó mediante el método AOAC - 934.01. Elaboración propia.

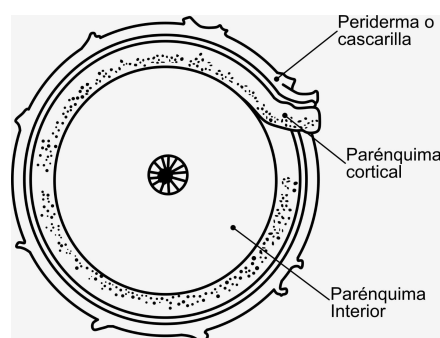


Figura 9. Corte transversal de la raíz de yuca. **Nota.** Adaptado de Alarcón, F, & Dufour, D. (1998). *Almidón agrio de yuca en Colombia: producción y recomendaciones.*

Se encontró que la humedad inicial de la cáscara de yuca es del 75%, un valor que se encuentra dentro del rango reportado por (Padonou, W et al., 2005), quienes determinaron que la yuca presenta un contenido de humedad entre 61.3 - 87.1% tras analizar 20 muestras de diferentes especies de yuca cultivadas en Benin (África). Esta variabilidad puede deberse a factores como condiciones edafoclimáticas del cultivo, el tiempo de cosecha y las prácticas de manejo poscosecha.

Sin embargo, el alto contenido de humedad resulta desfavorable para la conservación de la materia prima, y la estandarización del proceso, ya que las muestras pueden sufrir cambios enzimáticos y/o contaminación microbiana, lo que puede alterar la composición nutricional y organoléptica del producto. Es por ello que, al reducir la humedad a valores inferiores al 10%, se asegura la estabilidad microbiológica y enzimática de la materia prima, lo que extiende su tiempo de vida útil.

Además, se encontró que la cáscara de yuca presenta un pH ligeramente ácido, menor al reportado por Albis Arrieta et al. (2018) y Dieudonne et al. (2021), quienes reportaron valores de pH de 6,37 y 5,70, respectivamente. Esta variabilidad puede atribuirse a la presencia de diversos ácidos y al procesamiento y origen de la yuca (Martínez-Hernández & Brito-Castillo, 2019).

4.3. Prueba de crecimiento longitudinal

En la Figura 10 se observa la variación del crecimiento longitudinal del hongo en función del tiempo para los diferentes porcentajes de fuente de carbono evaluados en el sustrato. Se observa que durante las primeras 24 horas el microorganismo presenta un crecimiento lento que puede representar la fase de adaptación del hongo al sustrato.

Posteriormente, pasadas las 24 horas y llegadas las 40 horas, el microorganismo aumenta de manera notable la velocidad de crecimiento y la longitud micelial, siendo esta una fase de crecimiento exponencial, y finalmente, pasadas las 40 horas, el hongo tendió a estabilizar su crecimiento, entrando a una fase estacionaria lo que puede evidenciar un agotamiento de los nutrientes disponibles para el desarrollo del mismo.

Se observó que las muestras sembradas en PDA (control) presentaron un crecimiento menor en comparación con los demás tratamientos, alcanzando una longitud aproximada de 4 cm en 60 horas. Este comportamiento podría explicarse por el bajo contenido de minerales del medio PDA, los cuales, según (Papagianni, M., 2004), son esenciales para el desarrollo de *Aspergillus oryzae*.

En contraste, el tratamiento con 75% de fuente de carbono mostró el mayor crecimiento, alcanzando cerca de 7 cm en 64 horas. Le siguió el tratamiento con 50%, con un crecimiento de aproximadamente 6.5 cm, y finalmente el de 25%, con 5.5 cm. Estos resultados evidencian

que el incremento en el porcentaje de fuente de carbono favorece el crecimiento del micelio y demuestra la capacidad del microorganismo para adaptarse de manera óptima a las condiciones establecidas en los tratamientos.

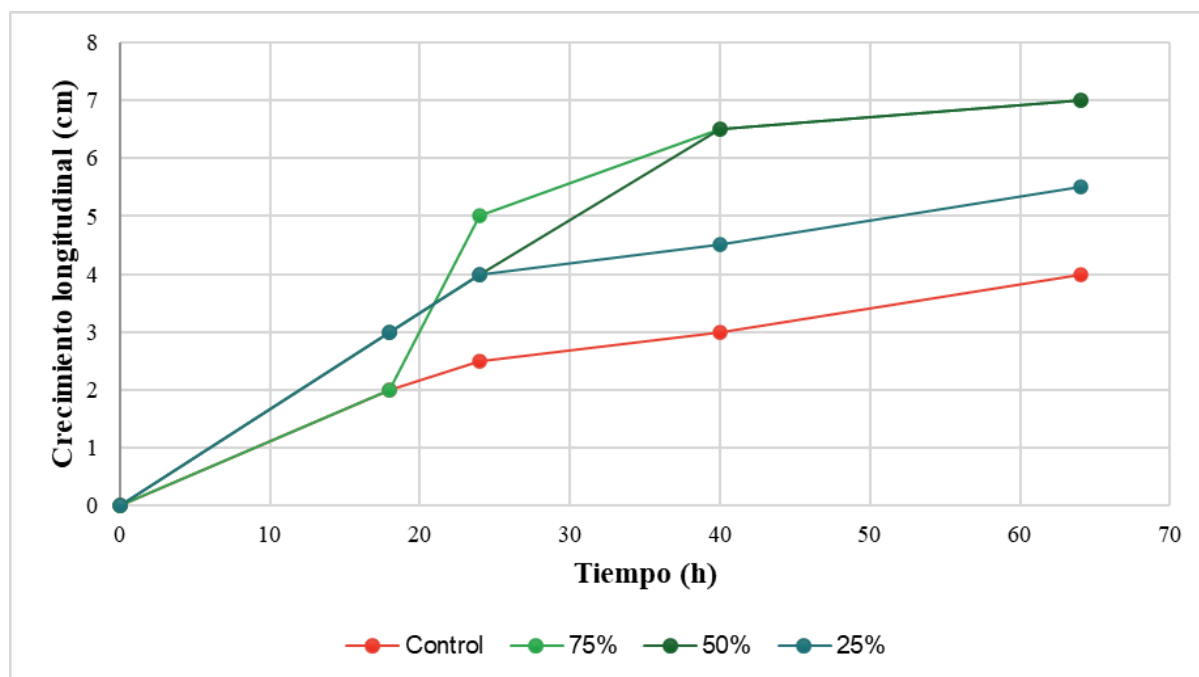


Figura 10. Variación del crecimiento longitudinal de *Aspergillus oryzae* en función del tiempo para los diferentes porcentajes de fuente de carbono. **Nota.** Valores expresados en centímetros (cm). Las curvas representan el crecimiento longitudinal en el control (0 %) y en las muestras con 25, 50 y 75 % de bagazo como fuente de carbono. Elaboración propia.

4.4. SSF

Con base en la caracterización fisicoquímica realizada, se encontró que la cáscara es un sustrato ideal para el crecimiento del hongo *Aspergillus oryzae*. Bajo las condiciones establecidas, humedad del sustrato 60%, humedad relativa 70 - 90 % y temperatura 30 °C, se observó un crecimiento óptimo del hongo.

Para un pH de 4.5, el tiempo de fermentación fue de aproximadamente 16 - 18 horas, a pH 5.5 entre 18 - 20 horas, mientras que a pH 6.5 el tiempo de fermentación aumentó significativamente a 38 - 40 horas. Esta variación en los tiempos de fermentación se debe a la influencia que tiene el pH sobre la actividad metabólica del hongo, ya que este afecta

directamente el crecimiento y metabolismo, así como la actividad de las enzimas necesarias para la degradación de compuestos (Figura 11).

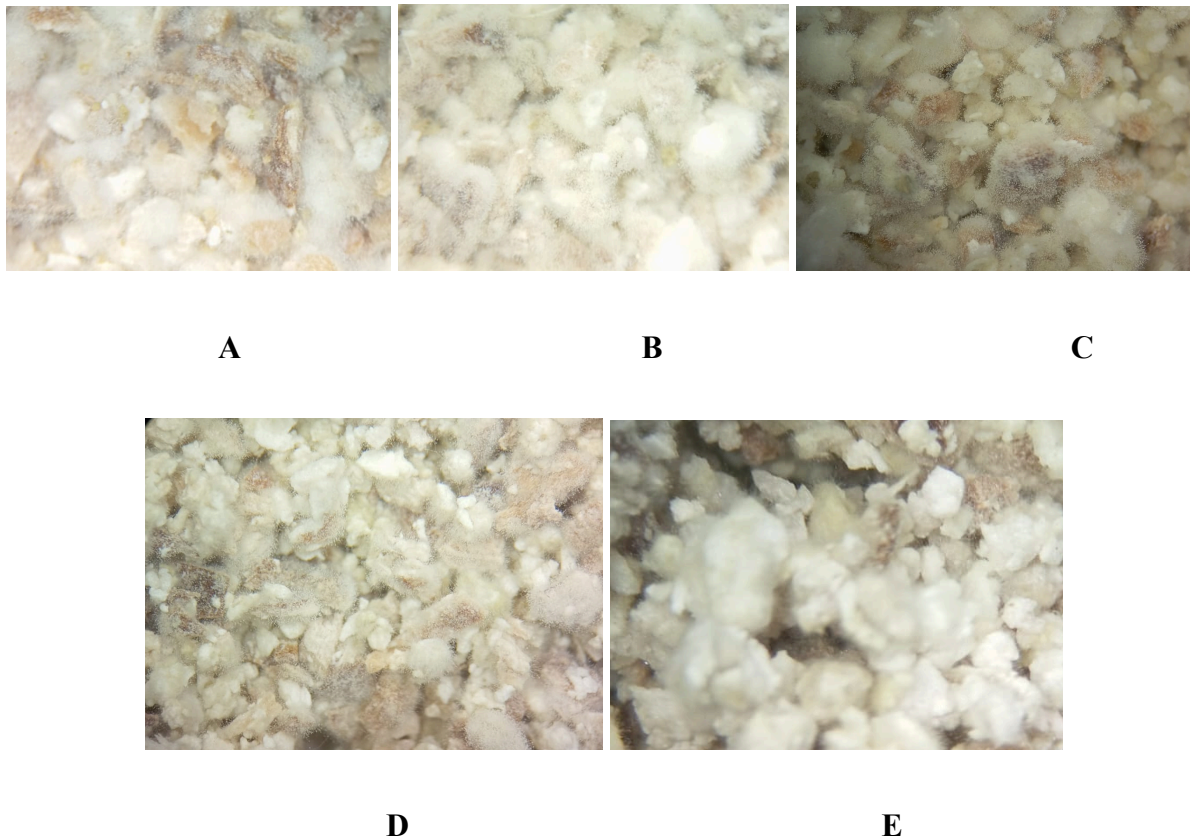


Figura 11. Crecimiento del micelio de *Aspergillus oryzae* bajo estereoscopio bajo diferentes condiciones iniciales. **Nota.** (A) 25 % fuente de carbono y pH 4.5. (B) 50 % fuente de carbono y pH 4.5. (C) 75 % fuente de carbono y pH 4.5. (D) 50 % fuente de carbono y pH 5.5. (E) 75 % fuente de carbono y pH 5.5. Fotografía tomada por la autora, elaboración propia.

Una vez finalizado el tiempo de fermentación se observó un aumento notable en el valor del pH, pasando de 4.5 a 5.08, de 5.5 a 8.27 y 6.5 a 8.88. Esto pudo deberse a la asimilación de ácidos orgánicos presentes en ciertos sustratos que conlleva un aumento del pH, y la hidrólisis de la urea por parte del microorganismo lo que produce una alcalinización del medio (Raimbault, M. et al., 1998, 12).

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Raimbault (1981), quien observó un aumento del pH durante la primera etapa del cultivo de *Aspergillus niger* en sustratos ricos en

almidón, asociado a cambios metabólicos del microorganismo y a la modificación de la composición del medio durante el crecimiento.

Asimismo, otros autores han indicado que este incremento del pH puede estar relacionado con la hidrólisis de la urea y la liberación de amoníaco; sin embargo, en el presente estudio no se adicionó urea, por lo que el aumento del pH se atribuye principalmente al consumo de ácidos orgánicos y a la generación de compuestos alcalinos durante el proceso (Alazard & Raimbault, 1981).

Por otro lado, se evidenció una reducción significativa en los tiempos de fermentación. En un estudio realizado por Tuan Anh Pham et al. (2022), la fermentación tuvo una duración de 5 a 6 días, en un co-cultivo de *Aspergillus oryzae* VSI y *Sporidiobolus pararoseus* O1 a una humedad relativa del 70 %, utilizando como sustrato bagazo de yuca autoclavado; mientras que en este estudio el tiempo óptimo para el crecimiento del micelio del hongo con un aumento considerable en el contenido de proteínas es de 18 horas.

4.5. Cuantificación de proteína solubles

El análisis de varianza realizado en el software MINITAB 19, evidenció que la interacción entre el pH inicial y el porcentaje de fuente de carbono tienen un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre la concentración final de la proteína soluble (Anexo 6.2-Figura 15). Este comportamiento no depende de manera aislada de cada factor, si no del efecto combinado de ambos, lo que significa que la disponibilidad de carbono y la acidez del sustrato, influyen simultáneamente en la actividad metabólica del microorganismo durante la fermentación.

De acuerdo con la prueba de comparación por parejas de Tukey, con una confianza del 95%, se evidenció que a un pH de 5.5 y un porcentaje de fuente de carbono del 50%, se presenta la mayor media estadística de proteína soluble (20.3029 mg/g). Sin embargo, este valor no

mostró diferencias significativas frente a la condición con pH de 5.5 y 25 % de fuente de carbono (19.4648 mg/g), lo que indicaría que, incluso concentraciones intermedias de carbono pueden mantener un rendimiento proteico favorable.

Por otro lado, el tratamiento con un pH 6.5 y 75% de fuente de carbono registró el valor más bajo (9.3886 mg/g), evidenciado que un pH menos ácido y una mayor concentración de carbono, no favorece el aumento del contenido proteína soluble, pues esto limita la actividad del hongo y el aprovechamiento del sustrato.

Al comparar el tratamiento más favorable con la muestra control, se pudo evidenciar un incremento de 9.3171 mg/g a 20.303 mg/g, equivalente a un aumento del 122.4 % , es decir, aproximadamente 2.2 el valor inicial (Figura 12). Este aumento sugiere que las condiciones evaluadas promovieron un proceso eficiente de conversión, asociado al evidente crecimiento del micelio del hongo (Figura 11, D) bajo estas condiciones y la posible producción de enzimas hidrolíticas capaces de liberar compuestos proteicos a partir del sustrato.

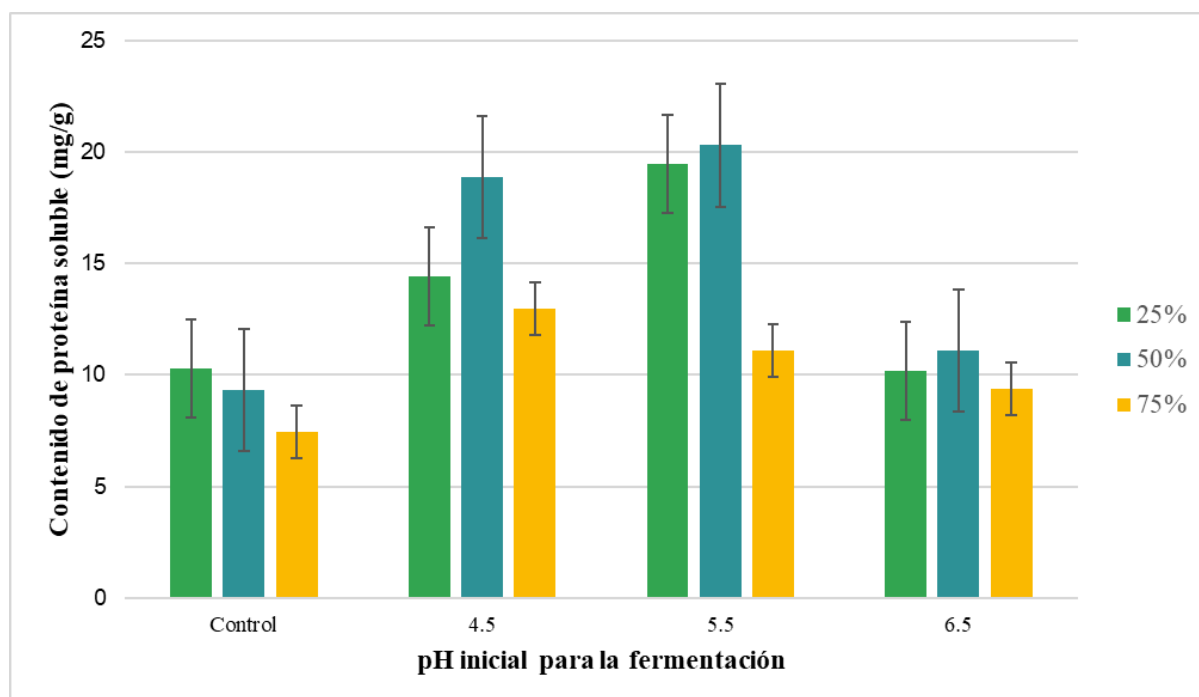


Figura 12. *Contenido de proteína soluble (mg/g) en base seca de la cáscara de yuca fermentada en estado sólido y enriquecida con un porcentaje de fuente de carbono adicional (bagazo de yuca) a*

diferentes pH iniciales a partir de Aspergillus oryzae. **Nota.** Los valores corresponden a la media estadística de réplicas experimentales $\pm$ desviación estándar. La fermentación se realizó utilizando 25, 50 y 75 de bagazo de yuca como fuente adicional de carbono. Elaboración propia.

Los resultados de este estudio, concuerdan con lo reportado en la literatura para SSF, no solo de la cáscara de yuca, pues de este sustrato no se han realizado un número significativo de investigaciones, pero sí de otras partes de este tubérculo como lo son el bagazo y los tallos. Fatimah I. Jumare et al. (2024) describen que la SSF puede incrementar el contenido proteico en residuos de yuca; aunque resaltan que la presencia de compuestos tóxicos como el cianuro, representan un reto para investigaciones posteriores.

Asimismo, los autores enfatizan en la comparación de diferentes técnicas biotecnológicas empleadas en los residuos de yuca a partir de diferentes microorganismos como lo son *Aspergillus niger* y *Trichoderma harzianum*. Entre las técnicas mencionadas están el pretratamiento físico, el pretratamiento microbiano y la SSF.

La SSF resulta ser la más eficiente, esta eficiencia se basa en la selección y optimización de diferentes parámetros como el contenido de humedad, el tamaño de partícula, la temperatura, el pH, la composición del medio, la elección del inóculo microbiano y la densidad del inóculo para aumentar el contenido de proteínas, mejorar la digestibilidad, los aminoácidos, las enzimas y las vitaminas, siendo la SSF una de las más rentables para estudios posteriores. Esto respalda el haber identificado condiciones experimentales favorables en este estudio.

Teniendo esto en cuenta, Tuan Anh Pham et al. (2022) aplicaron SSF sobre el bagazo de yuca mediante un co-cultivo de *Aspergillus oryzae* VS1 y *Sporidiobolus pararoseus* O1, evaluando la influencia del pH y el tiempo de fermentación. Los autores reportaron un aumento de proteína desde 1.81 al 8.98 % con *Aspergillus Oryzae*, en condiciones de humedad relativa del 70 %.

Este comportamiento se atribuyó a la secreción de enzimas capaces de la convertir del almidón y la celulosa residuales del bagazo de yuca en glucosa, esto permitió el crecimiento de ambas cepas y el enriquecimiento de proteínas, lípidos y β -caroteno, mejorando así el valor nutricional y la digestibilidad del bagazo de yuca (Tuan Anh Pham et al., 2022), coincidiendo con el aumento proteico observado en este estudio, lo que refuerza el potencial de los hongos filamentosos como biocatalizadores en procesos de valorización de residuos agroindustriales.

De manera complementaria, Mohamed Hawashi et al. (2019) encontraron que la fermentación en estado sólido aplicada a raíces de yuca permitió aumentar el contenido de proteína cruda entre un 7% y un 20%. Además, lograron reducir en más del 60% la presencia de cianuro en los productos derivados. Estos resultados son importantes porque muestran que la SSF no solo enriquece el perfil nutricional del sustrato, sino que también ayuda a disminuir compuestos antinutricionales. Este doble beneficio resulta clave para una posterior aplicación en la alimentación animal.

Por último, un estudio realizado por Yafetto et al. (2019) con *Aspergillus niger* y *Trichoderma viride* demostró que las cáscaras de yuca estériles incrementaron su contenido proteico en 71.02% y 71.64%, respectivamente. Mientras que las cáscaras no estériles presentaron incrementos superiores de 126.8% y 168.34%, respectivamente.

Al comparar con los resultados obtenidos en este estudio, se evidencia que el aumento reportado se encuentra dentro del rango del material no esterilizado. Sin embargo, las diferencias observadas pueden atribuirse a la variedad de yuca utilizada, las condiciones específicas de fermentación y a las diferencias metabólicas entre las especies fúngicas empleadas (*A. niger* vs *A. oryzae*), las cuales presentan perfiles enzimáticos distintos que influyen directamente en la capacidad de bioconversión del sustrato.

En conjunto, los resultados obtenidos en este estudio son consistentes con el principio de bioconversión microbiana descrito por Anupama P & Ravindra P. (2000), Ikpesu TO et al. (2016) y Pandey A & Soccol CR (2000), quienes resaltan que la fermentación, particularmente la llevada a cabo por hongos filamentosos, puede duplicar o incluso triplicar el contenido proteico mediante la biosíntesis de proteínas microbianas, aminoácidos esenciales y enzimas que mejoran la digestibilidad de la fibra (Yafetto L et al., 2019).

4.5.1 Contenido de fenoles totales

Para los compuestos fenólicos, se evidenció que tanto el pH como el porcentaje de fuente de carbono tienen un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre la concentración final de fenoles totales; sin embargo, la interacción entre ambos factores no representa una significancia por lo que se realizó el análisis posterior de forma individual (Anexo 6.2 y Figura 17).

Posteriormente, se realizó por separado la comparación de Tukey con una confianza del 95%, tanto para el pH como para el porcentaje de fuente de carbono, con el fin de conocer qué condiciones iniciales permiten obtener un mayor contenido de fenoles totales.

Se encontró que a un pH de 5.5 se obtuvo una media estadística de 2.4812 mg/g de fenoles totales (Figura 13). Por otro lado, para el porcentaje de fuente de carbono, el 25 % obtuvo una media estadística de 2.0280 mg/g (Figura 14), sin presentar diferencia con una fuente de carbono del 50 % (1.8760 mg/g). Dado esto, a pH ácidos y una fuente moderada de carbono, se tiene que el hongo tiene una mayor capacidad de liberar compuestos fenólicos.

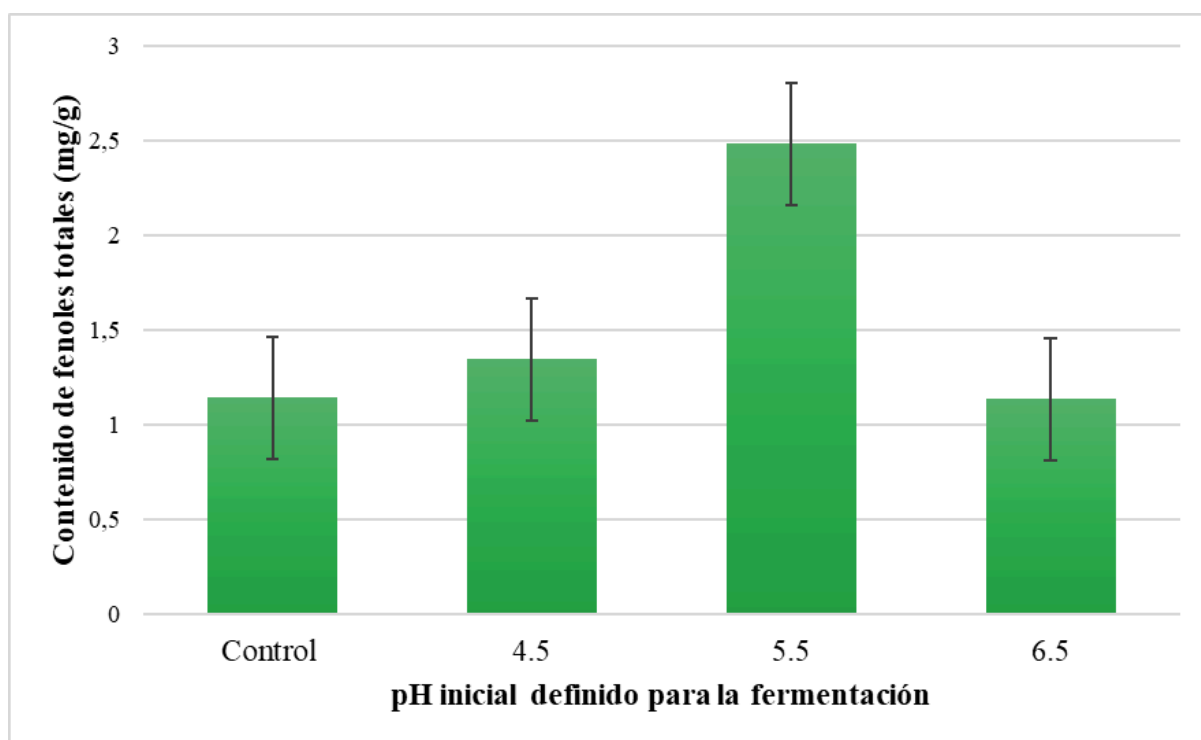


Figura 13. *Contenido de fenoles totales (mg/g) en cáscara de yuca fermentada en estado sólido bajo diferentes pH iniciales a partir de *Aspergillus oryzae*. Nota.* Los valores corresponden a la media estadística de réplicas experimentales $\pm$ desviación estándar. Elaboración propia.

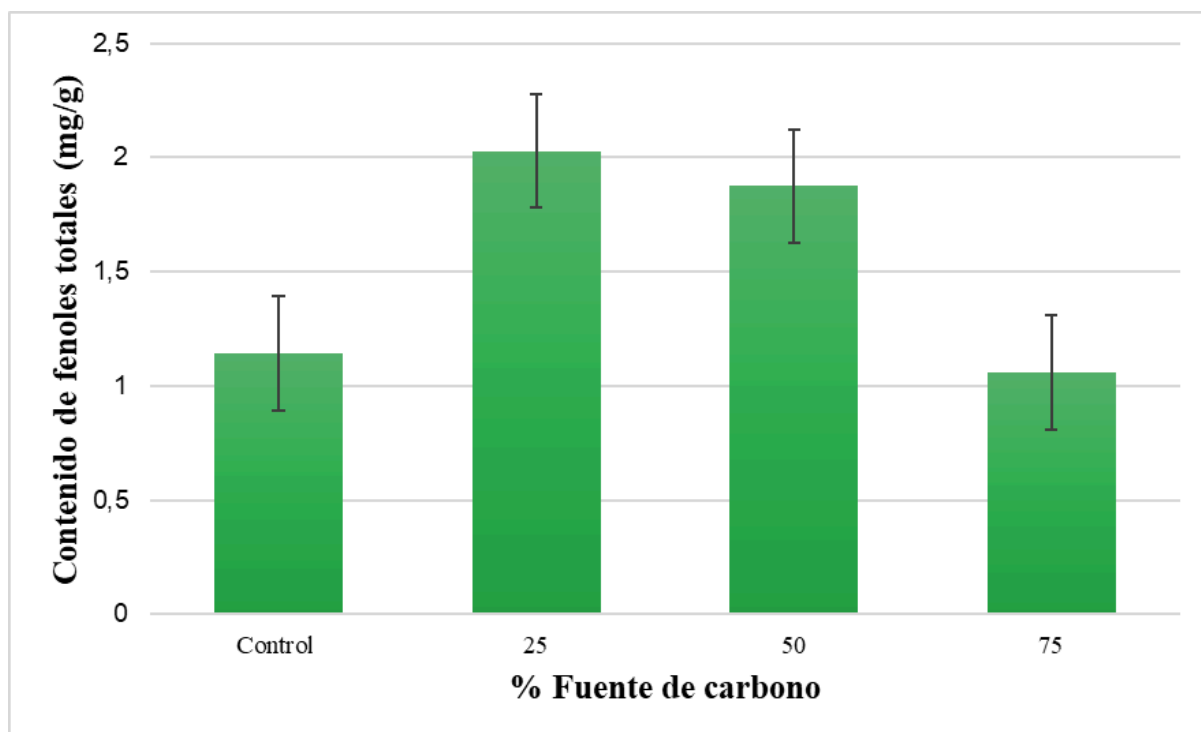


Figura 14. *Contenido de fenoles totales (mg/g) en cáscara de yuca fermentada en estado sólido bajo diferentes porcentajes de fuente de carbono a partir de *Aspergillus oryzae*. Nota.* Los valores

corresponden a la media estadística de réplicas experimentales $\pm$ desviación estándar. Elaboración propia.

De acuerdo con Londoño (2018), el pH juega un papel determinante en la secreción de enzimas durante SSF. Valores de pH entre 5 y 6 favorecieron la producción de enzimas como xilanasa, α -amilasa y β -glucosidasa, las cuales hidrolizan polisacáridos estructurales y liberan fenoles que se encuentran ligados a la pared celular vegetal. En su estudio con pulpa de café fermentada con *Rhizopus oryzae* se observó un aumento de hasta 189 % en fenoles totales a pH 6, atribuido precisamente a esta mayor actividad enzimática.

Asimismo, los estudios realizados por Díaz, F. et al. (2018) y Palomino, L. et al. (2015) evidencian que la SSF puede aumentar significativamente el contenido de compuestos fenólicos debido a transformaciones bioquímicas inducidas por hongos, entre ellas la liberación de fenoles conjugados y la síntesis microbiana de metabolitos antioxidantes.

A nivel estructural, los compuestos fenólicos presentes en matrices lignocelulósicas suelen encontrarse formando complejos con hemicelulosa, lignina y pectinas, por lo que la acción enzimática de los hongos filamentosos es clave para romper estas uniones y aumentar la fracción soluble de fenoles (López-Silva, J. et al., 2025).

Por otro lado, la fuente de carbono con 25 y 50%, presentaron un efecto positivo en el aumento de los fenoles totales. Esto concuerda con estudios donde una mayor disponibilidad de fuente de carbono en el sustrato y un pH ligeramente ácido, facilita la actividad microbiana y la producción de enzimas hidrolíticas.

Finalmente, Ikponmwosa Ojo et al. (2022), empleando *Rhizopus oligosporus*, en tallos de la yuca encontró que con un 10% de inóculo se presentó un aumento significativo en la actividad antioxidante de las muestras. Además, al implementarlo en la alimentación de los pollos, obtuvieron una ganancia de peso en comparación con los alimentos comunes.

En conjunto, estos resultados demuestran que la SSF aplicada a la cáscara de yuca enriquecida con bagazo de yuca no solo favorece la acumulación de proteína, sino que también promueve un aumento en la concentración de fenoles totales bajo condiciones óptimas de pH y porcentaje de fuente de carbono. Esto posiciona a la SSF como un método de biotecnológico eficiente para incrementar el valor funcional y antioxidante de subproductos agroindustriales, lo cual es coherente con los hallazgos de investigaciones previas en matrices como pulpa de café, cascarilla, cereales y otros residuos lignocelulósicos.

5. CONCLUSIONES

Este estudio evidencia el elevado potencial de la cáscara de yuca para su valorización mediante métodos biotecnológicos, particularmente a través de la SSF. Sus propiedades intrínsecas y la presencia de compuestos bioactivos se ven significativamente potenciadas durante el proceso fermentativo con *Aspergillus oryzae*.

La caracterización fisicoquímica inicial mostró que la cáscara de yuca presenta condiciones favorables para el desarrollo fúngico, como un pH ligeramente ácido y una alta capacidad de retención de agua que favoreció el crecimiento micelial y la bioconversión de los nutrientes disponibles.

Las mejores condiciones para maximizar el contenido de proteína soluble y fenoles totales son un porcentaje de fuente de carbono de 50% y un pH de 5.5, temperatura de 30°C, humedad del sustrato 60%, y un tiempo de 18 horas para un resultado de 3.0485 y 20.3029 mg/g, respectivamente.

Estos resultados indican que niveles intermedios de suplementación de carbono favorecen la síntesis de biomasa microbiana y la producción de proteína soluble, mientras que porcentajes excesivos de bagazo o un pH más alto disminuyen el rendimiento fermentativo. Además, se

encontró que a pH de 5.5 se presenta un aumento superior al 100% en comparación con el material sin fermentar. Esto es atribuible a la mayor actividad de las enzimas hidrolíticas capaces de romper los enlaces entre los fenoles y la matriz lignocelulósica de la cáscara de yuca.

Los resultados obtenidos indican que la fermentación en estado sólido utilizando *Aspergillus oryzae* incrementa tanto el enriquecimiento proteico como el aumento de compuestos fenólicos, lo que le confiere un valor nutricional y funcional a la cáscara de yuca en un corto tiempo de procesamiento. Por lo tanto, el producto fermentado podría considerarse un ingrediente funcional o una materia prima útil en la formulación de alimentos para animales, favoreciendo el aprovechamiento sostenible de los residuos agroindustriales.

Finalmente, las condiciones definidas en este estudio y el uso de un biorreactor de bandejas a escala de laboratorio demuestran que el proceso es técnicamente factible. Los resultados presentados respaldan trabajos futuros que apunten a reducir los compuestos antinutricionales, evaluar la digestibilidad o la escalabilidad del sistema, de modo que la SSF es, en efecto, una alternativa biotecnológica factible para enriquecer los subproductos agroindustriales de la yuca.

6. ANEXOS

6.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Este diseño experimental se compone de dos factores, cada factor con tres niveles. Los factores del diseño son pH y porcentaje de bagazo. Se decidió variar el porcentaje de bagazo en la mezcla con cáscara de yuca con el objetivo de evaluar su influencia en el proceso de fermentación y mejorar el aprovechamiento de estos subproductos industriales de la yuca.

Se tienen tres niveles para el pH y los porcentajes de bagazo en el sustrato, estos niveles son 4.5, 5.5 y 6.5 para pH; 75, 50 y 25 % para el bagazo. Todas las corridas se realizaron por triplicado. El diseño experimental se muestra en la Tabla 3:

Tabla 3. *Corridas para el diseño factorial factorial 3² y resultados del experimento.*

Secuencia de prueba	Número de corrida	pH	% Fuente de carbono (Bagazo de yuca)	Resultados (mg/g)	
				Proteína	Fenoles
1	5	5.5	50	22.589	3.239
2	26	6.5	50	13.089	1.467
3	7	6.5	25	10.874	1.765
4	1	4.5	25	17.103	3.239
5	14	5.5	50	19.731	3.054
6	13	5.5	25	18.503	2.353
7	24	5.5	75	12.446	1.186
8	9	6.5	75	7.760	0.449
9	21	4.5	75	11.160	0.353
10	11	4.5	50	16.646	0.353
11	18	6.5	75	8.360	0.782
12	3	4.5	75	16.231	1.186
13	16	6.5	25	10.303	0.870
14	4	5.5	25	18.660	2.940
15	15	5.5	75	10.674	1.554
16	20	4.5	50	20.146	1.888
17	6	5.5	75	10.203	1.844
18	22	5.5	25	21.231	3.309
19	19	4.5	25	15.974	1.300
20	2	4.5	50	19.831	1.686

21	17	6.5	50	9.117	0.975
22	23	5.5	50	18.589	2.853
23	25	6.5	25	9.374	1.458
24	8	6.5	50	11.060	1.370
25	27	6.5	75	12.046	1.089
26	10	4.5	25	10.303	1.019
27	12	4.5	75	11.531	1.089

Nota. El diseño experimental se realizó en el software MINITAB 19. Tabla de elaboración propia.

6.2. DIAGRAMAS DISEÑO EXPERIMENTAL

A continuación se presentan los diagramas de los resultados estadísticos obtenidos a partir del software MINITAB 19. Estos se obtuvieron a partir del diseño experimental planteado.

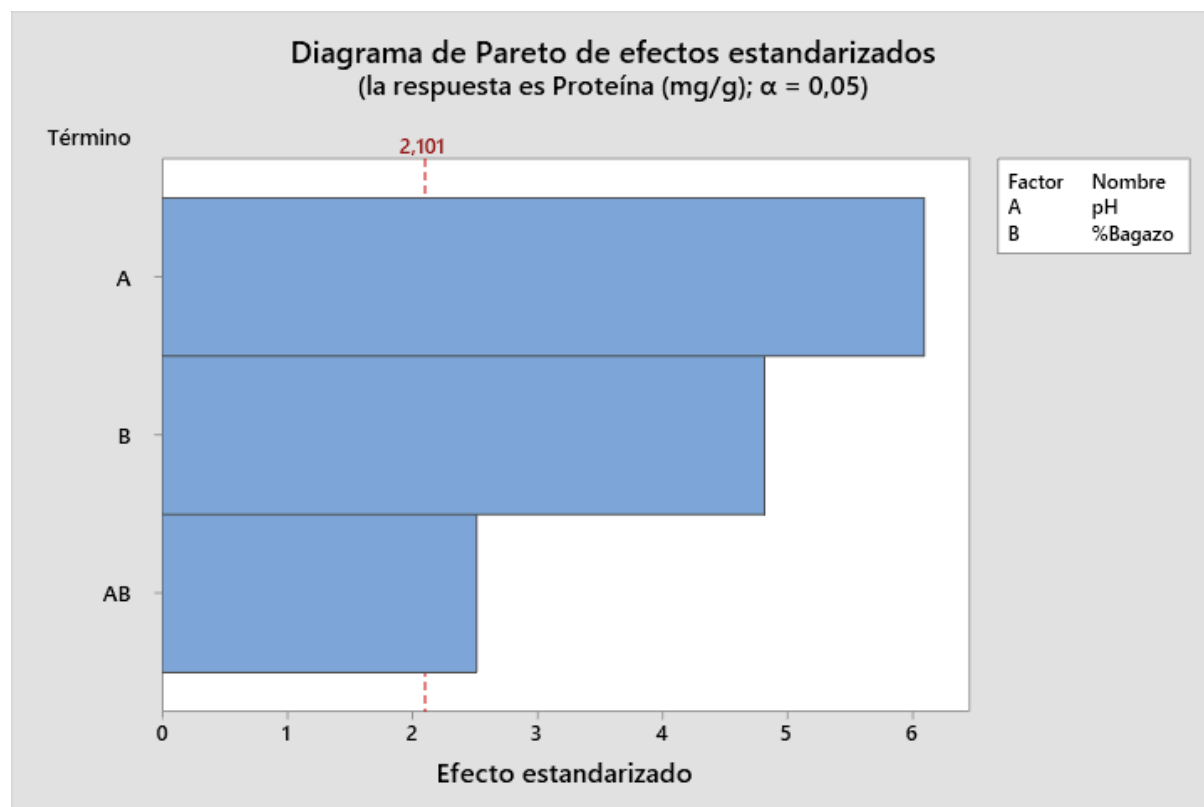


Figura 15. Diagrama de pareto de efectos estandarizados para proteínas. **Nota.** Diagrama realizado a partir del software MINITAB 19. Elaboración propia.

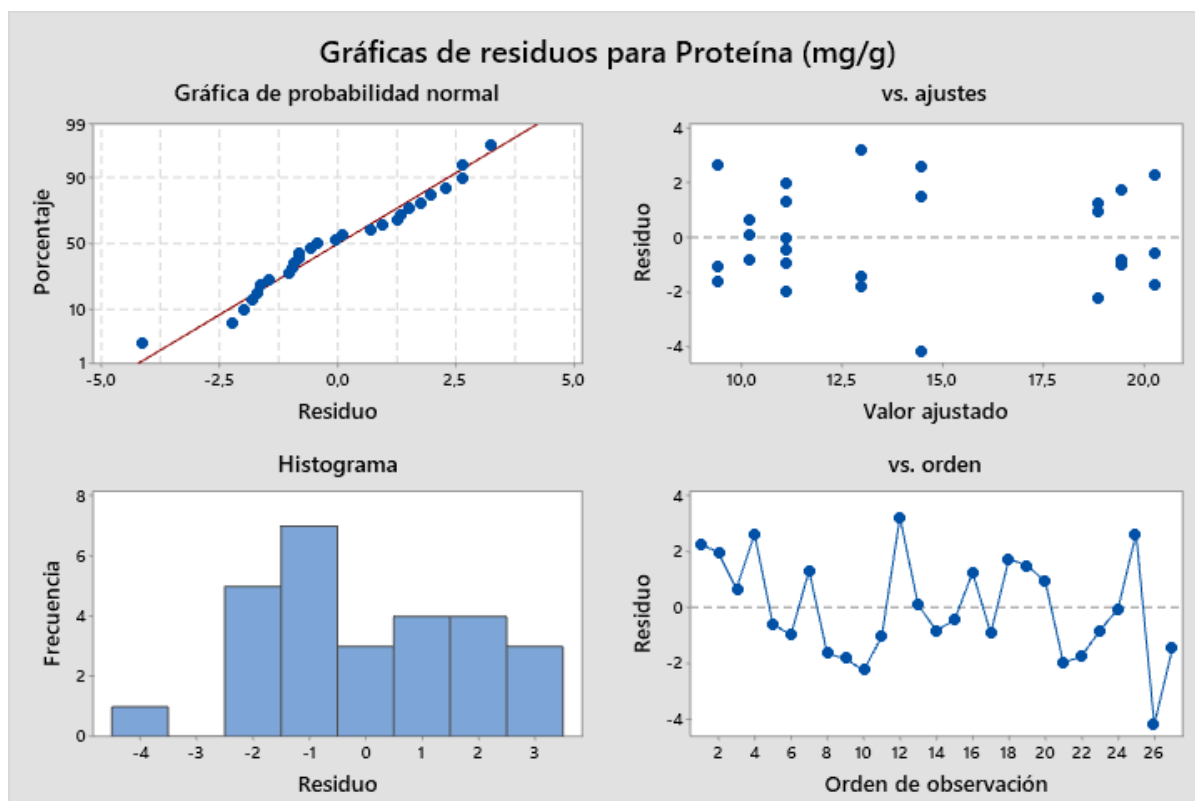


Figura 16. Gráfica de residuos para proteína. **Nota.** Diagrama realizado a partir del software MINITAB 19. Elaboración propia.

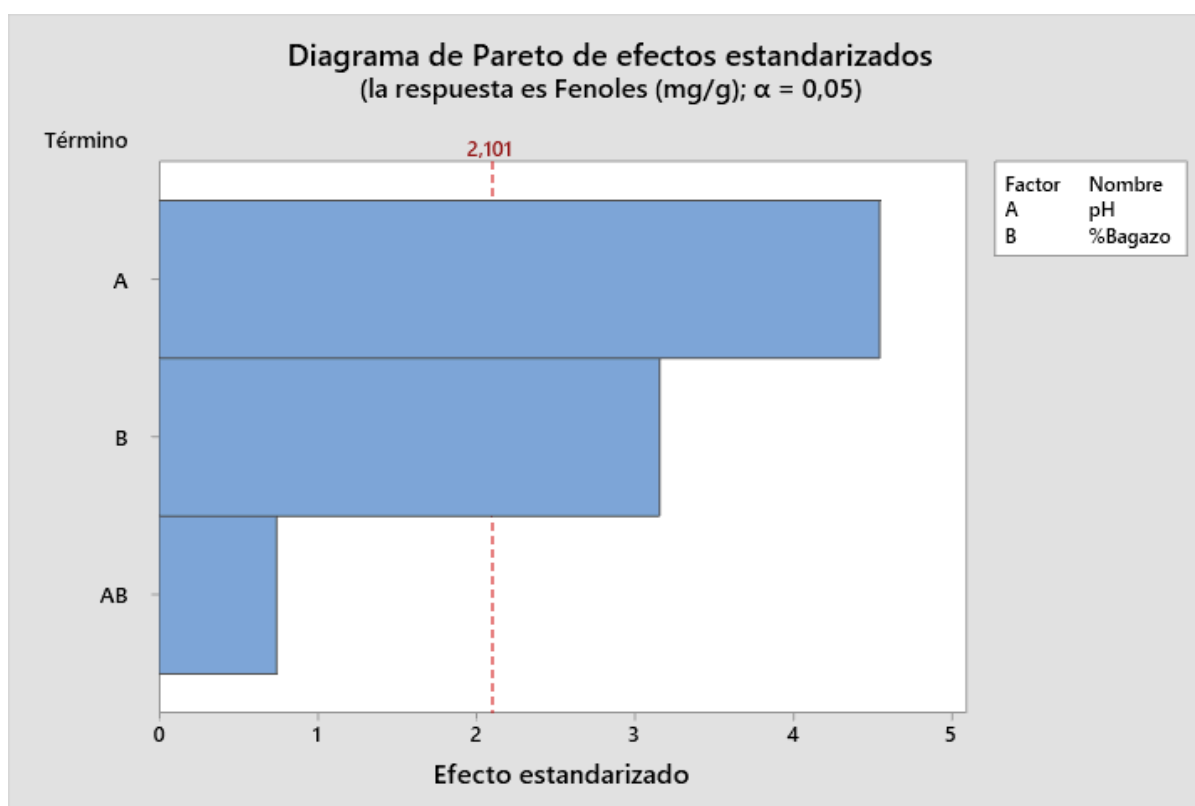


Figura 17. Diagrama de pareto de efectos estandarizados para fenoles totales. **Nota.** Diagrama realizado a partir del software MINITAB 19. Elaboración propia.

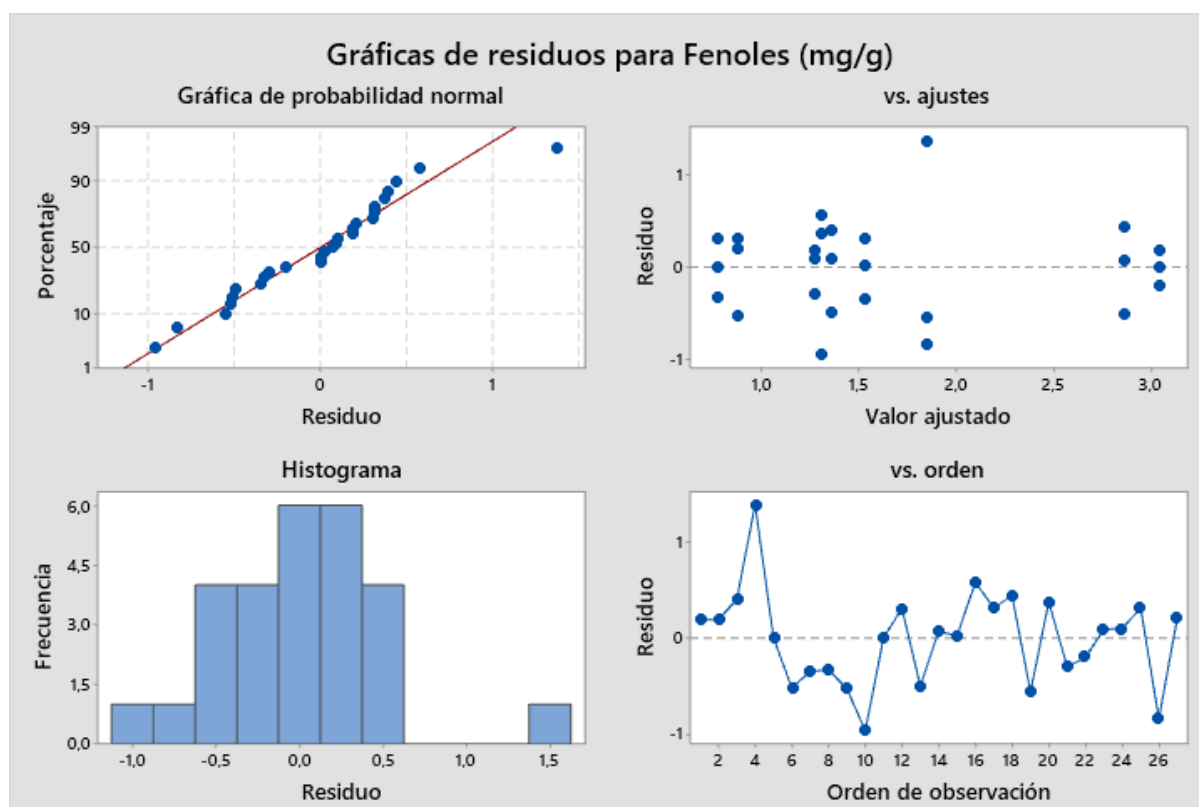


Figura 18. Gráfica de residuos para fenoles totales. **Nota.** Diagrama realizado a partir del software MINTAB 19. Elaboración propia.

6.3. CURVA DE CALIBRACIÓN PROTEÍNAS

En este anexo se presenta la curva de calibración empleada para la cuantificación de proteína soluble mediante el método de Lowry modificado (Hartree, E.F., 1972, 422 - 427), obtenida a partir de las soluciones patrón y utilizada para el análisis de las muestras del estudio. La absorbancia a la cual se realizó la curva de calibración y el análisis de las muestras fué de 750 nm.

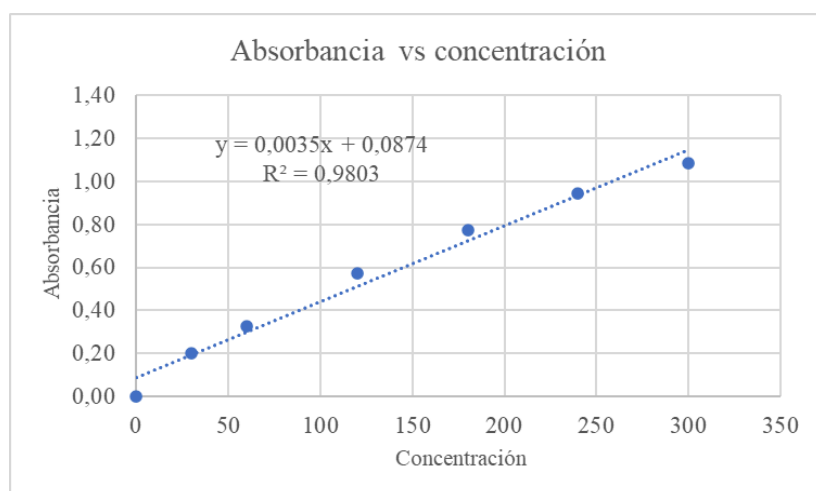


Figura 19. Curva de calibración de proteínas solubles. **Nota.** Gráfica de elaboración propia.

6.4. CURVA DE CALIBRACIÓN FENOLES TOTALES

En este anexo se presenta la curva de calibración empleada para la cuantificación de fenoles totales mediante la técnica presentada en la tesis doctoral de (Londoño 2018), obtenida a partir de las soluciones patrón y utilizada para el análisis de las muestras del estudio. La absorbancia a la cual se realizó la curva de calibración y el análisis de las muestras fué de 760 nm.

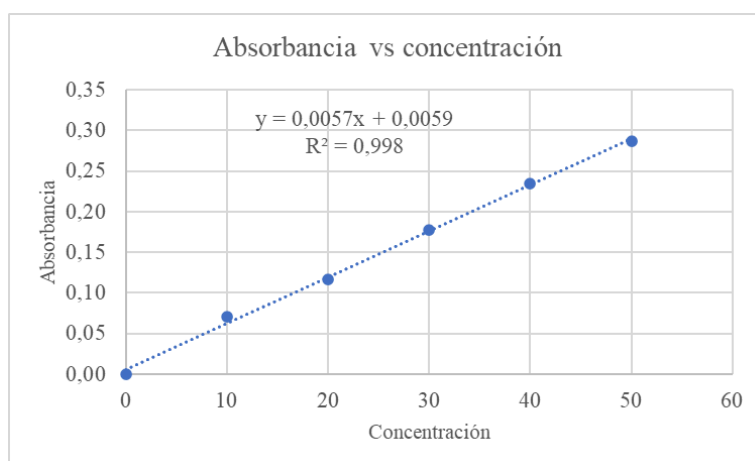


Figura 20. Curva de calibración fenoles totales **Nota.** Gráfica de elaboración propia.

7. REFERENCIAS

- Alarcón, F., & Dufour, D. (1998). *Almidón agrio de yuca en Colombia: producción y recomendaciones*. CIAT – Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Alazard, D., & Rimbault, M. (1981). Comparative study of amylolytic enzymes production by *Aspergillus niger* in liquid and solid state cultivation. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 12, 113 - 117.
- Albis Arrieta, A., Llanos Reales, H., Galeano Gil, J., & García Moreno, D. (2018). Adsorción de azul de metileno utilizando cáscara de yuca (*Manihot esculenta*) modificada químicamente con ácido oxálico. <https://doi.org/10.18273/revion.v31n2-2018007>
- Anupama P., & Ravindra P. (2000). Value-added food: single cell protein. *Biotechnology Advances*, 18(6), 459 - 479.
- Aspergillus oryzae*. (2019). iNaturalist. <https://www.inaturalist.org/taxa/1148191-Aspergillus-oryzae>
- Batt, C. A., & Tortorello, M. L. (Eds.). (2014). *Encyclopedia of Food Microbiology*. Elsevier Science.
- COMPENDIUM OF INTERNATIONAL METHODS OF ANALYSIS - OIV. (n.d.). *Folin-Ciocalteu Index* [Method OIV-MA-AS2-10].
- Díaz, F., Ormaza, A., & Rojano, B. (2018). Efecto de la tostión del café (*Coffea arabica* L. var. Castillo) sobre el perfil de taza, contenido de compuestos antioxidantes y la actividad antioxidante. *Información Tecnológica*, 29(4), 31 – 42. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642018000400031>
- Dieudonne, O., Nguefack, J., Dongmo Lekagne, J. B., Dakole Daboy, C., & Ndonkeu Mangoumou, G. (2021). The Potential of Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Peels as an Organic Fertilizer. *International Annals of Science*. 10.21467/ias.10.1.107-117

Fatimah I. Jumare, Madihah Md. Salleh, Nurashikin Ihsan, & Huszalina Hussin. (2024, Agosto 21). *Cassava waste as an animal feed treatment: past and future*. Springer. <https://doi.org/10.1007/s11157-024-09701-7>

Hartree, E.F. (1972). Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. In *Analytical Biochemistry* (pp. 422-427).

Ikpesu TO, Ariyo AB, & Ogbomida ET. (2016). Optimization of crude protein production and reduction in cyanide content of cassava peels by pretreatment with *Aspergillus niger* ANL301. *Journal of Industrial Pollution Control*, 32(2), 633 - 637.

Ikponmwosa Ojo, Augustine Apiamu, Egoamaka O. Egbune, & Nyerhovwo J. Tonukari. (2022). Biochemical Characterization of Solid-State Fermented Cassava Stem (*Manihot esculenta* Crantz-MEC) and Its Application in Poultry Feed Formulation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03871-2>

Londoño, L. (2018). Solid State fermentation as technology for antiphenological compound reduction in sorghum, and coffee pulp to generate an enriched food.

López-Silva, J., Viafara, Y. S., Cristina Ramírez-Toro, Cristina Ramírez-Toro, & Germán Bolívar. (2025, January - March). Effect of solid fermentation with *Rhizopus oryzae* on coffee pulp to obtain a food product. *DYNA*, 92(235), 66 - 75. <https://doi.org/10.15446/dyna.v92n235.116626>

Martínez-Hernández, C. M., & Brito-Castillo, I. (2019). Caracterización de algunas propiedades físico-mecánicas y químicas de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz). *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*.

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, AGROSAVIA, & Suárez Paternina. (2022). *Yuca para la alimentación animal en la región Caribe: manejo, conservación y uso eficiente*.

- Mohamed Hawashi, Tri Widjaja, & Setiyo Gunawan. (2019). Solid-State Fermentation of Cassava Products for Degradation of Anti-Nutritional Value and Enrichment of Nutritional Value. In *New Advances on Fermentation Processes* (p. 1). <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.87160>
- Montgomery, D. C. (2004). *Diseño y análisis de experimentos* (2nd ed.).
- Padonou, W, Mestres, C, & Nago, M. (2005). The quality of boiled cassava roots: instrumental characterization and relationship with physicochemical properties and sensorial properties. *Food Chemistry*, 89, 261 - 270.
- Palomino, L., Rabal, C., Araujo, A., & Del Bianchi, V. (2015). Enhanced extraction of phenolic compounds from coffee industry's residues through solid state fermentation by *Penicillium purpurogenum*. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 35(4), 704 – 711.
- Pandey A, & Soccol CR. (2000). New developments in solid state fermentation: I Bioprocesses and products. *Process Biochemistry*, 35, 1153 – 1169.
- Papagianni, M. (2004). *Fungal morphology and metabolite production in submerged fermentations: A review. Biotechnology Advances* (Vol. 22). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2003.09.005>
- Puspitasari, C., Pinsirodom, P., & Wattanachaisaereekul, S. (2024, Agosto). Effect of solid-state fermentation using *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus niger* on bitter and bioactive compounds of *Moringa oleifera* seed flour. *LWT-Food Science and Technology*. Elsevier Science. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116616>
- Raimbault, M. (1998). General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *EJB Electronic Journal of Biotechnology*, 1(3).
- Raimbault, M. (1981). *Fermentation en milieu solide: croissance de champignons filamenteux sur substrats amylacés* (Série Travaux et Documents, número 127). ORSTOM – París.

Raimbault, M., Soccol, C. R., & Chuzel, G. (1998). *International training course on solid state fermentation*. ORSTOM (Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer).

Tuan Anh Pham, Luong Nguyen Tran, Thuy Hang Dam, & Kim Anh To. (2022). Valorization of Cassava Bagasse Using Co-culture of *Aspergillus oryzae* VS1 and *Sporidiobolus pararoseus* O1 in Solid-State Fermentation. *Waste and Biomass Valorization*. <https://doi.org/10.1007/s12649-022-01724-x>

Yafetto L, Odamtten GT, Adu SK, & Ekloh E. (2019). The biotechnological potential of using mono– and co–cultures of *Aspergillus niger* van Tieghem and *Trichoderma viride* Pers ex Fr. to enhance the protein content of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) peels by solid substrate fermentation. *Studies in Fungi*. 10.5943/sif/4/1/14