

**DETERMINACIÓN DEL VALOR NUTRICIONAL DE LA CÁSCARA DE YUCA
VALORIZADA MEDIANTE FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO (FES) CON
*RHIZOPUS OLIGOSPORUS***

**MARIA JULIANA HENAO ARBOLEDA
MICHELLE JULIANA RUIZ COSME**

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
CALI, COLOMBIA**

2025

**DETERMINACIÓN DEL VALOR NUTRICIONAL DE LA CÁSCARA DE YUCA
VALORIZADA MEDIANTE FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO (FES) CON
*RHIZOPUS OLIGOSPORUS***

**MARIA JULIANA HENAO ARBOLEDA
MICHELLE JULIANA RUIZ COSME**

**TRABAJO DE GRADO PRESENTADO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
INGENIERO QUÍMICO**

**DIRECTOR:
HOWARD DIEGO RAMIREZ MALULE, Ph.D.
CODIRECTOR:
DAVID ANDRÉS GÓMEZ RÍOS, Ph.D.**

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
CALI, COLOMBIA
2025**

DEDICATORIA

Este trabajo lo quiero dedicar, de manera muy especial, a mis padres, Milton y Claudia, por y para ellos es cada esfuerzo, cada logro y cada paso que doy. Gracias por su amor infinito, por su apoyo incondicional; por creer en mí incluso cuando yo misma dudaba, por darme todas las herramientas necesarias y por esforzarse siempre en hacer mi camino lo más recto posible. Gracias por inculcarme la fe, por enseñarme a confiar en Dios y por darme la certeza de que nunca camino sola.

A mi hermana Manuela, por motivarme a ser siempre mejor, por inspirarme a ser un ejemplo, por darme propósito; por ser mi compañera de vida.

Finalmente, a mi mamita Graciela, por ser la fortaleza y la bondad hecha persona. Por estar siempre presente y ser un faro que me inspira a seguir adelante.

Michelle Ruiz C.

Quiero dedicar este trabajo de grado, en primer lugar, a mis padres, Pilar y Diego, quienes me han hecho quien soy y a quienes dedico cada uno de mis logros. Nada de esto sería posible sin su amor y apoyo incondicional, siempre a mi lado sin importar las circunstancias. Gracias por confiar en mí incluso en los momentos más difíciles. Los amo muchísimo; este logro también es de ustedes.

A mi familia, Felipe, Diana, Fernando, Nathalia, Juan Pablo, a mi Mami Sonia y a todos aquellos que me han acompañado con tanto cariño y han hecho parte de mi proceso de formación tanto profesional como personal.

A mis amadas mascotas, Vainilla, Lean, Abby y Cappuccina, quienes con una mirada llena de bondad y su compañía en todo momento, me dan fuerza para seguir adelante.

Finalmente, pero nunca menos importante, a Laura, a quien no me alcanzan las palabras ni las vidas para dedicárselas. Este logro le pertenece tanto a ella como a mí. Más que nadie, sabe todo lo que este trabajo conlleva; de forma incondicional e incansable estuvo ahí conmigo, en los mejores y peores momentos, no solo durante este trabajo, sino también a lo largo estos años de esfuerzo y dedicación. Se convirtió en mi motivación de cada día. Gracias por escucharme, alentarme y convencerme de que puedo lograrlo todo. Gracias por darme un lugar en el mundo y por permitirme ser un lugar en el tuyo. Con todo mi corazón te dedico este logro, sabiendo que no será el último. Te amo de forma inmensurable.

Juliana Henao A.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos profundamente a la Universidad del Valle, institución que encarna el valor y la trascendencia de la educación pública en Colombia. Gracias a su compromiso con la formación integral y con el acceso al conocimiento, hoy podemos ver materializado este proyecto que representa no solo un logro académico, sino también personal.

Al Grupo de Investigación MIBIA, espacio que nos abrió sus puertas y nos permitió crecer en lo académico y en lo humano. Agradecemos a quienes lo conforman, pues cada interacción fue valiosa para nuestro aprendizaje. De manera especial, reconocemos al Dr. Germán Bolívar por su liderazgo y visión, a la Dra. Cristina Ramírez por su guía y experiencia, y a Paula Cuatín por su disposición y apoyo constante, que hicieron que el camino fuera más llevadero.

A la ingeniera Sofía Viafara, por su paciencia infinita, su orientación permanente y por habernos acogido con generosidad, convirtiéndose en un pilar fundamental durante todo el proceso.

A nuestro director de tesis, Dr. Howard Ramírez, por su exigencia, dedicación y acompañamiento, que no sólo fortalecieron nuestro trabajo, sino también nuestra formación como ingenieros.

A la Escuela de Ingeniería Química, por brindarnos un espacio de excelencia académica y profesional en el cual pudimos desarrollarnos y proyectarnos.

Finalmente, a Laura Villalba, por su apoyo y compañía, que nos dieron aliento y motivación en los momentos de mayor desafío, recordándonos la importancia de caminar acompañados.

RESUMEN

La cáscara de yuca constituye un subproducto agroindustrial de alta disponibilidad en Colombia, caracterizado por su elevado contenido de humedad, compuestos cianogénicos y bajo aprovechamiento en alimentación animal. Estos factores limitan su uso directo y plantean la necesidad de procesos de valorización que mejoren sus propiedades nutricionales y reduzcan su toxicidad. En este contexto, la fermentación en estado sólido (FES) surge como una alternativa biotecnológica prometedora, capaz de transformar residuos agroindustriales mediante la acción de microorganismos como *R. oligosporus*.

En este estudio se evaluó la fermentación de cáscara de yuca enriquecida con diferentes proporciones de bagazo de yuca, bajo condiciones controladas (30 °C, humedad del sustrato del 60 % y humedad relativa >70 %). Previamente, se caracterizó la materia prima a través de sus propiedades fisicoquímicas, evidenciando su susceptibilidad al deterioro y la necesidad de estabilización.

Durante la fermentación, se observó un crecimiento micelial homogéneo y un incremento significativo en el contenido de proteína soluble. El análisis estadístico (ANOVA, Minitab 22) evidenció que tanto el porcentaje de bagazo como el tiempo de fermentación influyen de forma significativa en el enriquecimiento proteico, mientras que la interacción entre ambos factores no fue relevante. La prueba de comparaciones múltiples de Tukey mostró que el mejor rendimiento se obtuvo en la condición sin bagazo, alcanzando hasta 30.25 mg/g de proteína soluble al segundo intervalo de muestreo. Este comportamiento sugiere que la cáscara, por su mayor riqueza en nutrientes disponibles, constituye un sustrato más favorable para la síntesis de proteína fúngica.

Si bien no fue posible cuantificar experimentalmente los compuestos cianogénicos, diversos estudios han demostrado que *R. oligosporus* contribuye a su degradación durante la FES, reduciendo significativamente los niveles de linamarina y lotaustralina presentes en la yuca. Esta evidencia respalda el potencial del proceso no solo para enriquecer el valor proteico del residuo, sino también para disminuir su toxicidad, ampliando así sus posibilidades de aplicación como insumo en alimentación animal.

Palabras clave: *Fermentación en estado sólido, cáscara de yuca, Rhizopus Oligosporus, Valorización de residuos.*

CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN.....	10
2. OBJETIVOS.....	11
2.1 Objetivo General.....	11
2.2 Objetivos Específicos.....	11
3. MARCO TEÓRICO.....	11
3.1 Yuca.....	12
3.2 Cáscara de yuca.....	13
3.2.1 Composición.....	13
3.2.3 Impacto ambiental.....	14
3.2.4 Alternativas actuales de uso de la cáscara de yuca.....	15
3.3 Bagazo de yuca.....	15
3.4 Compuestos cianogénicos.....	16
3.5 Fermentación en estado sólido.....	16
3.6 Rhizopus Oligosporus.....	17
3.6.1 Características del género Rhizopus.....	18
3.6.2 Morfología Rhizopus Oligosporus.....	18
4. ANTECEDENTES.....	19
5. METODOLOGÍA.....	23
5.1 Recolección de Materia Prima.....	23
5.2 Pretratamiento de la Materia Prima.....	23
5.3 Caracterización de la Materia Prima.....	23
5.3.1 Determinación de la Humedad.....	24
5.3.2 Determinación de pH.....	24
5.3.3 Determinación de la Capacidad de Retención de Agua.....	24
5.3.4 Determinación de la Actividad de agua.....	25
5.4 Preparación del microorganismo.....	25
5.4.1 Siembra y verificación de pureza del hongo Rhizopus Oligosporus.....	25
5.4.2 Preparación del inóculo.....	25
5.5 Diseño experimental.....	26
5.6 Fermentación en Estado Sólido.....	26
5.7 Cuantificación de Compuestos de interés.....	27
5.7.1 Cuantificación de Proteína Soluble.....	27
5.8 Desarrollo estadístico.....	28
6. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	29
6.1 Pretratamiento de la Materia Prima.....	29
6.2 Caracterización de la Materia Prima.....	29
6.2.1 Determinación de la Humedad.....	29

6.2.2 Determinación de la Actividad de agua.....	30
6.2.3 Determinación del pH.....	30
6.2.4 Determinación de la Capacidad de Retención de Agua.....	31
6.3.1 Siembra y verificación de pureza del hongo Rhizopus Oligosporus.....	31
6.3.2 Preparación del inóculo.....	32
6.4 Fermentación en Estado Sólido.....	32
6.5 Cuantificación de Compuestos de interés.....	34
6.5.1 Cuantificación de Proteína Soluble.....	34
6.5.2 Discusión Sobre Compuestos Cianogénicos.....	38
6.5.3 Medición de pH en el proceso de fermentación.....	40
7. CONCLUSIONES.....	42
8. REFERENCIAS.....	44

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición relevante de la cáscara de yuca dulce	13
Tabla 2. Antecedentes de investigaciones relevantes	19
Tabla 3. Diseño factorial del experimento	26
Tabla 4. Porcentaje de humedad inicial y final de la cáscara de yuca	29
Tabla 5. Caracterización fisicoquímica de la cáscara de yuca pretratada	30
Tabla 6. Comparaciones por parejas de Tukey según adición de bagazo	35
Tabla 7. Comparaciones por parejas de Tukey según tiempo de fermentación	36
Tabla 8. Contenido proteico inicial de las diferentes formulaciones de sustrato	37
Tabla 9. Reducción de compuestos cianogénicos en subproductos de yuca mediante fermentación sólida con <i>R. oligosporus</i> : comparación de estudios recientes	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Corte transversal de una raíz tuberosa de yuca	12
Figura 2. Estructura de los compuestos cianogénicos presentes en las hojas y raíces de la yuca	16
Figura 3. Curva de calibración para la determinación de proteína soluble	27
Figura 4. Microscopía de <i>R. oligosporus</i> (40X)	30
Figura 5. Micrografía estereoscópica de la muestra A en el tiempo 1	32
Figura 6. Micrografía estereoscópica de la muestra A en el tiempo 2	32
Figura 7. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados de las variables estudiadas	34
Figura 8. Variación del contenido de proteína y pH durante la FES de la muestra A	40

1. INTRODUCCIÓN

La yuca (*Manihot esculenta*) es uno de los cultivos de mayor relevancia en América Latina y constituye un recurso fundamental para la seguridad alimentaria global. En Colombia, este tubérculo representa un pilar agrícola, con millones de toneladas producidas anualmente. Sin embargo, el reaprovechamiento de residuos como la cáscara y el bagazo está limitado por los glucósidos cianogénicos contenidos que liberan cianuro de hidrógeno.

Frente a este escenario, surge la necesidad de explorar alternativas biotecnológicas que permitan transformar estos residuos en productos de valor agregado. La fermentación en estado sólido (FES) se ha posicionado como una estrategia prometedora, capaz de mejorar la calidad nutricional y reducir compuestos antinutricionales en diferentes subproductos agroindustriales. Diversos estudios han demostrado la capacidad de hongos filamentosos, como *Rhizopus oligosporus*, de incrementar el contenido proteico y mejorar la digestibilidad en sustratos como la soya y otros residuos vegetales. No obstante, la aplicación de esta tecnología sobre la cáscara y el bagazo de yuca aún es incipiente y requiere mayor investigación para validar su viabilidad.

Las investigaciones previas enfocadas en la detoxificación de residuos de yuca mediante métodos tradicionales, como el secado o la lixiviación, han mostrado limitaciones en cuanto a eficiencia, reproducibilidad y aporte nutricional. Asimismo, muchos estudios con FES se han concentrado en otros cultivos, dejando un vacío en el conocimiento aplicado a la yuca, particularmente en la combinación de sus residuos. Este panorama evidencia la necesidad de evaluar enfoques innovadores que aborden de manera integral tanto la reducción de la toxicidad como el aumento de su valor proteico.

En este contexto, la presente investigación tiene como objetivo determinar el valor nutricional de la cáscara de yuca valorizada mediante FES empleando el hongo *R. oligosporus*, considerando como factores el tiempo de fermentación y la adición de bagazo. De esta manera, se busca aportar al desarrollo de soluciones sostenibles que fortalezcan la agroindustria de la yuca, contribuyan a la economía circular y ofrezcan alternativas viables para la formulación de suplementos alimenticios para animales.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Determinar el valor nutricional de la cáscara de yuca valorizada mediante fermentación en estado sólido (FES) empleando el hongo *Rhizopus oligosporus*.

2.2 Objetivos Específicos

- Establecer el efecto del tiempo de fermentación en el valor nutricional de la cáscara de yuca tratada mediante FES con *Rhizopus oligosporus*.
- Determinar el efecto de la adición de bagazo de yuca como sustrato en el valor nutricional de la cáscara de yuca tratada mediante FES con *Rhizopus oligosporus*.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Yuca

La yuca (*Manihot esculenta* Crantz) es un arbusto perenne perteneciente a la familia Euphorbiaceae, cuya altura varía entre 1 y 5 m, donde generalmente no excede los 3 m. Es de origen sudamericano y es ampliamente cultivado en zonas tropicales y subtropicales del mundo. Actualmente se posiciona como la cuarta fuente de energía alimentaria, debido a sus raíces tuberosas ricas en carbohidratos. Su cultivo es altamente apreciado por su alta tolerancia a condiciones adversas, como la sequía y los suelos pobres en nutrientes.

El principal producto económico son sus raíces, que hacen parte de la dieta básica de millones de personas. La principal característica de estas raíces es la capacidad de almacenar almidón. Estas raíces al desarrollarse forman fibras, de las cuales algunas de ellas se engrosan al almacenar almidón y se convierten en raíces tuberosas.

Los tejidos que componen estas raíces tuberosas desde el exterior hasta el interior son, la cáscara, la pulpa y las fibras centrales (Figura 1).

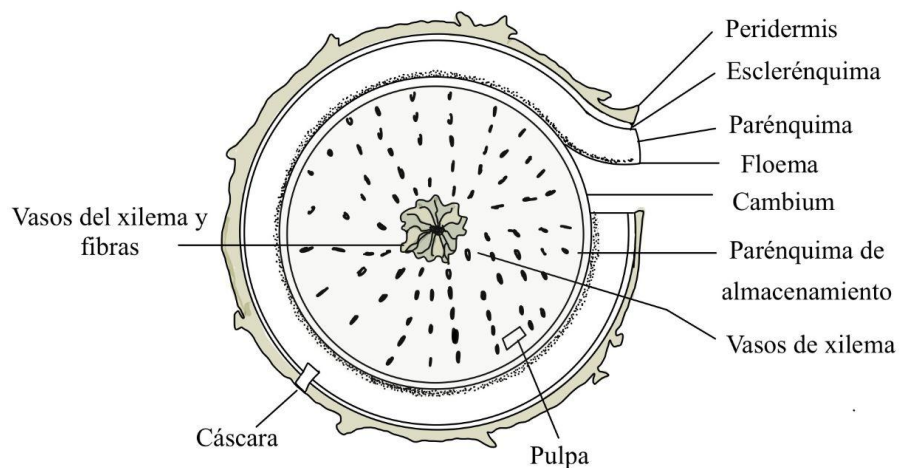


Figura 1. Corte transversal de una raíz tuberosa de yuca.

Fuente: Elaboración propia basada en Dominguez et. al, 1983.

3.2 Cáscara de yuca

La cáscara de yuca es un subproducto agroindustrial rico en carbohidratos, particularmente en almidón, su tejido está conformado por la corteza y la peridermis que a su vez está compuesta por células de corcho o súber muertas que recubren la superficie de la raíz (Figura 1).

De las características más notables de la yuca en general es la presencia del glucósido cianogénico, linamarina, el cual se hidroliza enzimáticamente, produciendo ácido cianhídrico, tóxico para el consumo. La producción de este ácido es particularmente alta en la cáscara de la yuca y donde la variedad de yuca amarga contiene mayor concentración de compuestos cianogénicos en comparación de la yuca dulce.

3.2.1 Composición

Tabla 1. Composición relevante de la cáscara de yuca dulce

Componente	Contenido	Unidad / Base
Proteína cruda	5.32	% peso seco
Fibra cruda	16.84	% peso seco
Calcio (Ca)	0.17	% peso seco
Fósforo (P)	0.08	% peso seco
Potasio (K)	0.03	% peso seco
Sodio (Na)	0.05	% peso seco
Magnesio (Mg)	0.12	% peso seco
Zinc (Zn)	340	ppm
Hierro (Fe)	130	ppm
Cianuro de hidrógeno (HCN)	38.62	mg/kg

Fuente: Basado en Lamidi y Ogunkunle, 2015.

Según el estudio de Lamidi y Ogunkunle (2015) y como podemos observar en la Tabla 1, la cáscara de yuca dulce presenta un bajo contenido de proteína cruda (5.32 %) y un nivel elevado de fibra cruda (16.84 %), características que la clasifican principalmente como una fuente energética con aporte proteico limitado. En cuanto a minerales, se reportaron concentraciones bajas, destacándose el calcio (0.17 %), el magnesio (0.12 %) y el hierro (130 ppm). De particular relevancia es el contenido de cianuro de hidrógeno (38.62 mg/kg), cercano al límite seguro para la alimentación animal, lo que resalta la necesidad de aplicar procesos adecuados que reduzcan su toxicidad antes de su inclusión en dietas para ganado.

3.2.3 Impacto ambiental

La cáscara de yuca, que representa hasta el 30 % del peso del tubérculo, es un residuo generado en grandes volúmenes por la agroindustria. Según el Ministerio de Agricultura de Colombia (2023), el país produce cerca de 2.4 millones de toneladas de yuca al año, lo que equivale a más de 660 mil toneladas anuales de residuo agroindustrial potencialmente aprovechable. Dado que la yuca es una materia prima de gran importancia industrial, utilizada principalmente para la producción de almidón y fécula, así como en la fabricación de alcohol carburante, jarabes, edulcorantes, bioplásticos, adhesivos y piensos para animales, su procesamiento genera inevitablemente grandes volúmenes de cáscara como subproducto (Sriroth et al., 2020).

El alto contenido de materia orgánica y humedad de la cáscara, que puede superar el 65 % en peso fresco, favorece su rápida descomposición, liberando olores desagradables, lixiviados y gases de efecto invernadero como metano y dióxido de carbono. El vertimiento directo en suelos y cuerpos de agua puede alterar el pH, reducir el oxígeno disuelto y afectar la biodiversidad acuática. Además, la acumulación de este residuo sin tratamiento propicia la proliferación de microorganismos patógenos y la contaminación de fuentes hídricas cercanas (Becerra-Quintana et al., 2022). Frente a este panorama, su valorización resulta estratégica para reducir el impacto ambiental y fortalecer la economía circular en el sector agroindustrial.

3.2.4 Alternativas actuales de uso de la cáscara de yuca

Las estrategias de aprovechamiento de la cáscara de yuca incluyen su uso como insumo en alimentación animal, a través de un secado al sol, que no garantiza la desintoxicación de la materia prima (Jumare et al., 2024). También se utiliza en la producción de harina de cáscara de yuca (HQCP) para acuicultura, yuca ensilada para ganado y como sustrato en fermentaciones sólidas destinadas a obtener enzimas, proteína microbiana y ácidos orgánicos.

Si bien estas alternativas representan avances hacia el aprovechamiento de este residuo, su implementación a gran escala sigue siendo limitada por factores económicos, logísticos y técnicos. La mayoría de estas opciones no logra absorber el volumen total de cáscara generado anualmente, lo que provoca que gran parte del residuo continúe siendo desechado de manera inadecuada. Además, muchos de estos procesos no neutralizan completamente la toxicidad asociada a la linamarina o no generan productos con suficiente valor agregado para justificar su adopción masiva (Sriroth et al., 2020).

3.3 Bagazo de yuca

El bagazo de yuca es un residuo fibroso generado durante la extracción del almidón, y representa entre el 10 y el 20 % del peso total de las raíces procesadas. Debido a esto, su presencia en la cadena agroindustrial es considerable. Este subproducto contiene principalmente celulosa, hemicelulosa, almidón residual (hasta un 60 %) y pequeñas cantidades de proteína. Aunque tiene un bajo valor nutricional en su estado inicial, posee un gran potencial para ser aprovechado. Su nivel de fibra es elevado, además presenta un contenido muy bajo de compuestos cianogénicos, ya que los procesos de lavado y extracción eliminan casi por completo estos elementos tóxicos (Ospina & Ceballos, 2002).

A pesar de que en algunas ocasiones se ha utilizado en alimentación animal, con frecuencia es descartado sin ningún tipo de tratamiento, lo que genera un impacto ambiental negativo. No obstante, gracias a su estructura porosa y al contenido de carbohidratos residuales, el bagazo se considera un sustrato ideal para la FES, ya que esta

técnica permite mejorar su digestibilidad y reducir los compuestos antinutricionales (Marín Morales et al., 2018).

3.4 Compuestos cianogénicos

Los glucósidos cianogénicos, como la linamarina y lotaustralina (Figura 2) son compuestos secundarios de defensa producidos por ciertas plantas, entre ellas la yuca. Estos compuestos están formados por un azúcar unido a un grupo ciano ($-CN$) mediante un enlace glucosídico y permanecen inactivos hasta que son hidrolizados por acción enzimática, como las que ocurren durante el daño celular o la digestión. Esta reacción libera cianuro de hidrógeno (HCN), un metabolito altamente tóxico que interfiere con la respiración celular y la actividad enzimática en organismos vivos (National Research Council, 2001). El contenido de estos compuestos puede variar ampliamente entre variedades de yuca e incluso por las condiciones ambientales, y se concentra en mayor proporción en la cáscara de la raíz.

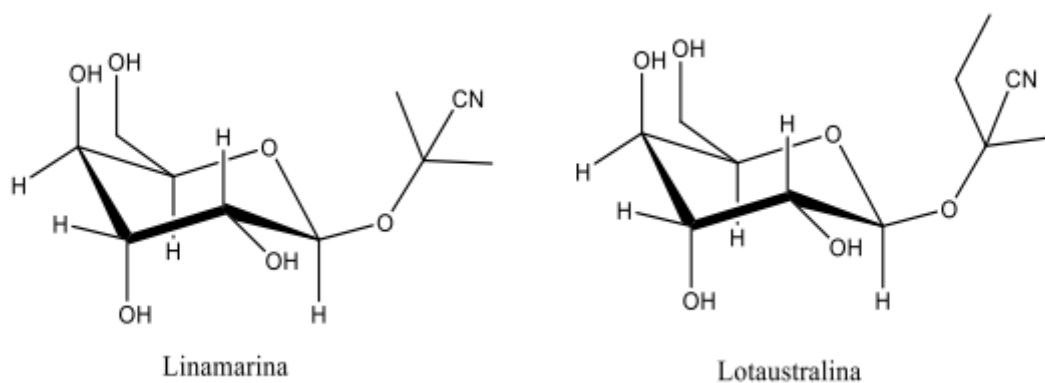


Figura 2. Estructura de los compuestos cianogénicos presentes en las hojas y raíces de la yuca

Fuente: Torres-Rodríguez et al. (2022).

3.5 Fermentación en estado sólido

La FES es un proceso microbiológico que ocurre sobre un sustrato sólido con una cantidad mínima o inexistente de agua libre. La humedad del sustrato debe ser suficiente para permitir el crecimiento y metabolismo de los microorganismos, aunque sin formar una fase acuosa (Srivastava, Rana & Singha, 2022). El soporte sólido puede ser una fuente de

nutrientes o simplemente un medio impregnado con nutrientes que permiten el crecimiento de los microorganismos. La actividad de agua en estos sistemas suele ser inferior a 0.95, lo que contrasta con los valores cercanos a 1 en la fermentación líquida. Esta baja disponibilidad de agua limita el desarrollo de contaminantes, lo que representa una de las principales ventajas del proceso. Además, la FES no requiere agitación mecánica, lo que reduce el consumo energético y facilita su implementación en condiciones de baja infraestructura.

La FES se utiliza ampliamente en las industrias alimentaria, farmacéutica y textil, entre otras, para la producción de metabolitos secundarios biológicamente activos. Representa una alternativa viable y sostenible frente a la fermentación en estado líquido, especialmente por su eficiencia en el uso de residuos agroindustriales como sustratos. Sin embargo, uno de sus principales retos es el escalamiento industrial, ya que el control de variables como temperatura, humedad y oxigenación resulta más complejo en sistemas sólidos heterogéneos. A pesar de estas limitaciones, la FES continúa posicionándose como una tecnología prometedora para procesos biotecnológicos de bajo impacto ambiental y alto valor agregado.

3.6 *Rhizopus Oligosporus*

Rhizopus oligosporus es un hongo filamentoso de la familia Mucoraceae, caracterizado por su capacidad de crecer en una amplia variedad de sustratos y por producir enzimas extracelulares, como proteasas, amilasas y celulasas, que le permiten descomponer compuestos complejos y transformarlos en nutrientes más simples y accesibles (Zhang et al., 2022). Su elección para la degradación de agentes cianogénicos en la cáscara de yuca se debe a su habilidad para producir enzimas que degradan glucósidos cianogénicos, como la linamarina y la lotaustralina, responsables de la producción de cianuro de hidrógeno. Durante la fermentación, estas enzimas hidrolizan los glucósidos, reduciendo la toxicidad del material vegetal y haciéndolo seguro como ingrediente en la formulación de alimento animal (Kolapo et al., 2021). En estudios con otros sustratos, como la soja, este hongo ha mostrado beneficios significativos en la mejora del valor nutricional. En la fermentación de soja para producir tempeh, reduce compuestos antinutricionales y aumenta la

biodisponibilidad de nutrientes esenciales, mejorando la digestibilidad de las proteínas y aumentando el contenido de aminoácidos libres (Romulo & Surya 2021).

3.6.1 Características del género *Rhizopus*

El género *Rhizopus* agrupa hongos filamentosos de rápido crecimiento, ampliamente distribuidos en ambientes con materia orgánica en descomposición. Son saprófitos que se desarrollan preferentemente en sustratos ricos en carbohidratos, como almidón, pectina y celulosa (Velázquez-del Valle et al., 2007). Se caracterizan por hifas cenocíticas no septadas, reproducción asexual mediante esporangios, y una alta capacidad para producir enzimas extracelulares como amilasas, proteasas, lipasas y fitasas (Miszkievicz et al., 2004). Estas enzimas permiten degradar compuestos complejos y mejorar la biodisponibilidad de nutrientes en fermentaciones sólidas.

En biotecnología y alimentos, las especies de *Rhizopus* se utilizan para la producción de alimentos fermentados y para la biotransformación de subproductos agroindustriales, contribuyendo al enriquecimiento proteico y la reducción de compuestos antinutricionales.

3.6.2 Morfología *Rhizopus Oligosporus*

Rhizopus oligosporus presenta un micelio algodonoso blanco que se torna grisáceo o marrón con la formación de esporangios. Las hifas son cenocíticas (Camacho Díaz et al., 2010). Sus esporangios son esféricos y de color oscuro, sostenidos por esporangióforos erectos. La reproducción es principalmente asexual, mediante esporas que se dispersan fácilmente en condiciones aeróbicas.

Su crecimiento óptimo ocurre entre 30 y 37 °C, con tolerancia entre 15 y 40 °C, y pH óptimo de 4.5 a 6.5 (Han et al., 2003). Se adapta bien a condiciones variables de humedad, lo que lo convierte en un microorganismo competitivo y apropiado para procesos de fermentación sólida en diversos sustratos.

4. ANTECEDENTES

Los avances recientes en la FES han impulsado numerosos estudios que abordan tanto su potencial como los desafíos en aplicaciones industriales y de alimentación animal. En la Tabla 2 se presentan antecedentes relevantes en esta área, con temáticas y problemas relacionados, que exploran el uso de distintos sustratos y microorganismos, el diseño de biorreactores, y los factores críticos que influyen en el éxito de la FES.

Tabla 2. Antecedentes de investigaciones relevantes

Año	Título	Autor(es)	Revista	Resumen
2024	Cassava waste as an animal feed treatment: past and future	Jumare, Fatimah I. Salleh, Madihah Md Ihsan, Nurashikin Hussin, Huszalina	Springer Nature	Esta revisión analiza métodos para reducir compuestos antinutricionales en residuos de yuca, ricos en nutrientes, para su uso en alimentación animal. Se destacan técnicas como la FES, mejorando la digestibilidad y el contenido proteico, resaltando factores clave como tamaño de partícula, humedad y tipo de inóculo.

2020	Solid-state fermentation technology and innovation for the production of agricultural and animal feed bioproducts	Vandenberghe, Luciana P.S. Pandey, Ashok Carvalho, Júlio C. Letti, Luiz A.J. Woiciechowski, Adenise L. Karp, Susan G. Thomaz-Soccol, Vanete Martínez-Burgos, Walter J. Penha, Rafaela O. Herrmann, Leonardo W. Rodrigues, Amanda. Soccol, Carlos R.	Springer Nature	Esta revisión explora el uso de FES para producir bioproductos agrícolas y de alimentación animal, como biofertilizantes, probióticos y biopesticidas. Incluye una revisión de sustratos agrícolas empleados, diseños de biorreactores y casos exitosos. También presenta patentes recientes y destaca el interés creciente en esta tecnología en países como China, Corea del Sur, India y EE. UU.
2022	Biochemical Characterization of SSF Cassava Stem and Its Application in Poultry Feed Formulation	Ojo, Ikponmwosa Apiamu, Augustine Egbune, Egoamaka O. Tonukari, Nyerhovwo J.	Springer Nature	Este estudio utiliza la FES del tallo de yuca con <i>R. oligosporus</i> para formular alimento para pollos. La FES aumentó los niveles de glucosa, proteínas y actividad antioxidante en el tallo de yuca, logrando mejoras en el crecimiento de pollos alimentados con este producto fermentado en comparación con un alimento convencional.

2018	Bioreactors in solid state fermentation technology: Design, applications and engineering aspects	Arora, Sidharth Rani, Richa Ghosh, Sanjoy	Journal of Biotechnology	Esta revisión analiza los avances en la tecnología de FES, destacando los diseños de biorreactores para aplicaciones biotecnológicas como la producción de enzimas. Se abordan categorías de biorreactores según su modo de operación, sus condiciones de productividad y las limitaciones a nivel industrial, incluyendo estudios de modelado y diseños recientes a nivel piloto e industrial.
2023	Fungal solid-state fermentation of crops and their by-products to obtain protein resources: The next frontier of food industry	Wang, Jian Huang, Zhenyu Jiang, Qianjin Roubík, Hynek Xu, Qihao Gharsallaoui, Adem Cai, Ming Yang, Kai Sun, Peilong	Trends in Food Science & Technology	Esta revisión analiza el uso de la FES con hongos para mejorar el perfil proteico y el potencial de procesamiento de sustratos vegetales. Destaca las principales variables que afectan el proceso, como humedad, pH y temperatura, y explica cómo estas influyen en la actividad enzimática y la calidad final del producto. Además, se detallan los efectos de la FES sobre la cantidad de proteínas y aminoácidos y se abordan las aplicaciones industriales actuales, incluidas las innovaciones en el diseño de biorreactores. Este análisis es relevante para optimizar la FES de residuos agroindustriales, como la cáscara de yuca, para incrementar su valor nutricional en aplicaciones alimenticias.

2020	Effect of tempe fermentation by three different strains of <i>Rhizopus oligosporus</i> on nutritional characteristics of faba beans	Polanowska, Katarzyna Grygier, Anna Kuligowski, Maciej Rudzińska, Magdalena Nowak, Jacek	Food Science and Technology	Este artículo analiza cómo la FES de habas con tres cepas de <i>R. oligosporus</i> afecta su perfil nutricional. Mediante un monitoreo exhaustivo y una cuantificación detallada, se reportan mejoras significativas, como el aumento de aminoácidos, ácidos grasos esenciales y la formación de esteroides específicos. Estos resultados subrayan el potencial de <i>R. oligosporus</i> en la FES para enriquecer subproductos vegetales y su aplicación en alimentos funcionales.
2017	Recent developments and innovations in solid state fermentation	Soccol, Carlos R da Costa, Eduardo Scopel Ferreira Letti, Luiz Alberto Junior Karp, Susan Grace Woiciechowski, Adenise Lorenci Vandenberghe, Luciana P.S.	Biotechnology Research and Innovation	Esta revisión analiza los desarrollos recientes en FES, destacando la selección de sustratos y microorganismos como factores clave en la producción de enzimas y otros compuestos bioactivos, tales como ácidos orgánicos y pigmentos. Además, aborda innovaciones en el diseño de biorreactores para superar desafíos de la FES y ofrece una revisión de patentes recientes y aplicaciones industriales en procesos y productos de FES.
2018	Effects of Solid-State Fermentation and the potential use of cassava by-products as fermented food	Morales, Eduardo Marin Zajul, Martina Goldman, Michael Zorn, Holger Angelis, Dejanira F.	Springer Nature	Este estudio aplicó FES a bagazo y hojas de yuca, evaluando su potencial como alimentos fermentados. Tras la FES, se observó una reducción significativa del contenido de cianuro, junto con mejoras en el perfil de aminoácidos esenciales y en la biodisponibilidad proteica. También se identificaron ácidos grasos insaturados como linoleico, α -linolénico y docosadienoico, destacando el valor nutricional de estos subproductos comúnmente descartados.

Fuente: Elaboración propia

5. METODOLOGÍA

La metodología de este trabajo comprende la recolección, pretratamiento y caracterización fisicoquímica de la materia prima. También se incluye el cultivo del hongo *Rhizopus oligosporus*, seguido del desarrollo del proceso de FES, llevado a cabo según el diseño experimental definido. Asimismo, se contemplan la cuantificación de compuestos de interés, como la proteína soluble y los compuestos cianogénicos, y el análisis estadístico correspondiente para interpretar los resultados obtenidos.

5.1 Recolección de Materia Prima

Se recolectaron aproximadamente 20 kg de cáscara de yuca, procedente de dos restaurantes ubicados en Roldanillo, Valle del Cauca. La materia prima recolectada fue sometida a un proceso exhaustivo de lavado para eliminar impurezas superficiales. Luego, se removió la peridermis súber, que corresponde a la capa más externa de la cáscara, de color marrón oscuro y naturaleza suberosa, la cual puede actuar como una barrera física para procesos posteriores. Una vez retirada esta capa, el material fue cortado en cuadrados de aproximadamente 2×2 cm para facilitar el proceso de secado. Las muestras fueron empacadas en bolsas y congeladas como método de preservación hasta su previo uso.

5.2 Pretratamiento de la Materia Prima

La materia prima fue sometida a un proceso de secado a 55 °C durante 22 horas, con el fin de reducir su contenido de humedad. Esta etapa permite facilitar los procesos posteriores, prevenir la contaminación por agentes externos y eliminar la mayoría de ellos, evitando así el deterioro físico-químico del material.

5.3 Caracterización de la Materia Prima

Tras los procesos de adecuación de la materia prima, se caracterizaron las propiedades relevantes para el ajuste del proceso de fermentación. Las variables evaluadas fueron el

contenido de humedad, pH, capacidad de retención de agua y actividad de agua, siguiendo metodologías previamente establecidas.

5.3.1 Determinación de la Humedad

Para determinar el contenido de humedad inicial y final de la materia prima, se tomaron aproximadamente 10 g tanto de la cáscara húmeda como de la cáscara previamente secada durante 22 horas a 55 °C. Posteriormente, ambas muestras fueron sometidas a secado en horno a 120 °C, realizándose pesajes cada 30 minutos hasta que el peso permaneciera constante, lo que indicaba la eliminación total del agua. A partir de los datos obtenidos, se calculó el porcentaje de humedad de la muestra sin secar y de la muestra tras el secado prolongado a 55 °C, empleando la ecuación 1.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso}_{\text{inicial}}(g) - \text{Peso}_{\text{Final}}(g)}{\text{Peso}_{\text{inicial}}(g)} \quad \text{Ec. 1}$$

5.3.2 Determinación de pH

La determinación del pH se realizó utilizando un pH-metro marca PCE-228. Para ello, se suspendió 1 g de muestra seca en 10 mL de agua destilada durante 30 minutos. Posteriormente, se realizó la medición introduciendo el electrodo en la suspensión hasta obtener una lectura estable. Este procedimiento se repitió por triplicado para garantizar mayor confiabilidad en los resultados.

5.3.3 Determinación de la Capacidad de Retención de Agua

Para la determinación de la capacidad de retención de agua se suspendieron 1.25 g de la materia prima en polvo en 15 mL de agua destilada, se agitó por 10 min para posteriormente centrifugar a 3000 rpm por 10 min. Luego, se descartó el sobrenadante y se registró el peso del gel obtenido. Finalmente se calcula el índice de absorción de agua WAI mediante la siguiente ecuación:

$$WAI = \frac{\text{Peso del gel (g)}}{\text{Peso de la muestra seca (g)}} \quad \text{Ec. 2}$$

5.3.4 Determinación de la Actividad de agua

La actividad de agua se determinó utilizando un medidor Hygrolab C1, en el cual se colocó 1 g de muestra y el equipo realizó la medición con una precisión de ± 0.003 aw.

5.4 Preparación del microorganismo

5.4.1 Siembra y verificación de pureza del hongo *Rhizopus Oligosporus*

Para la inoculación se utilizó la cepa *Rhizopus oligosporus* ATCC 22959, obtenida del cepario del grupo de investigación MIBIA (Grupo de Investigación en Microbiología y Biotecnología Aplicada) adscrito a la Escuela de Ingeniería de Alimentos de la Universidad del Valle. Los cultivos stock se establecieron en cajas Petri y tubos de ensayo con medio PDA. Posteriormente, las unidades de cultivo fueron incubadas a 30 °C hasta observar una esporulación completa. La pureza de la cepa se verificó mediante observación en estereoscopio, y la morfología se evaluó con microscopio óptico a un aumento de 40X para confirmar la presencia exclusiva de estructuras características del hongo filamentoso.

5.4.2 Preparación del inóculo

El inóculo de *Rhizopus oligosporus* se realizó a partir de un iniciador Tane Koji. Para su preparación, las esporas se multiplicaron en arroz integral cocido, el cual se cocinó hasta alcanzar una consistencia grumosa y húmeda que favoreció el crecimiento del hongo. Luego, se colocó el arroz en bandejas de aluminio y se inoculó con el hongo seleccionado. Posteriormente, se incubó durante 75 horas a 30 °C en un horno con control de temperatura y humedad, condiciones que favorecen el crecimiento y la posterior esporulación del hongo. Una vez completado este proceso, el arroz esporulado fue secado a 50 °C durante 24 horas, molido hasta obtener un polvo fino y posteriormente almacenado en un

recipiente estéril. Para verificar la concentración de nuestro inóculo se realizó un conteo de esporas en la cámara de Neubauer, empleando la siguiente ecuación:

$$No. \text{ esporas/g} = (25) \cdot (1 \cdot 10^4) \cdot (\text{Factor de dilución}) \quad \text{Ec. 3}$$

5.5 Diseño experimental

Las mejores condiciones para la FES dependen de cambios en las concentraciones de componentes nutricionales y antinutricionales del sustrato. Con el fin de identificar las condiciones óptimas de procesamiento, se utilizó un diseño factorial completamente aleatorizado 4^2 , con dos factores: porcentaje de bagazo de yuca en la cáscara (factor A) y tiempo de fermentación en horas (factor B), considerando 4 niveles para cada uno (ver Tabla 3). Los experimentos se realizaron por duplicado, obteniendo 32 muestras.

Tabla 3. Diseño factorial del experimento

Variables independientes	Niveles	Variables de respuesta
% bagazo en cáscara (factor A)	0 (A), 25 (B), 50 (C), 75 (D)	Contenido proteico
Tiempo de fermentación (h) (factor B)	8 (1), 16 (2), 20 (3), 24 (4)	

Fuente: Elaboración propia

Los datos fueron analizados mediante la prueba ANOVA y la prueba de Tukey, con un nivel de confianza del 95%, utilizando el programa Minitab 22.

5.6 Fermentación en Estado Sólido

El proceso de fermentación se llevó a cabo en bandejas de aluminio perforadas, con un espesor de muestra de aproximadamente 2 cm (60 g). Como microorganismo responsable de la fermentación se utilizó *Rhizopus oligosporus*, aplicado en forma de inóculo tane koji con una concentración de 1.5×10^9 esporas/g. Las condiciones del proceso fueron de 30 °C durante 24 h en una cámara ambiental, asegurando una humedad relativa superior al 70% mediante un suministro constante de vapor de agua. El sustrato se preparó con una

humedad inicial del 60%, enriquecido con un 3% de salvado de trigo y con una adición del 2% de inóculo.

De acuerdo con los tiempos definidos en el diseño experimental (8, 16, 20 y 24 h, basados en pruebas preliminares), se tomaron alícuotas de 15 g, las cuales se almacenaron al vacío y se congelaron hasta finalizar la fermentación. Posteriormente, las muestras fueron sometidas a un secado a 55 °C por 24 h, con el fin de inactivar completamente al hongo y detener el proceso de crecimiento fúngico. Finalmente, las muestras se molieron y se almacenaron nuevamente al vacío hasta su posterior análisis de cuantificación de proteínas y demás parámetros de interés.

5.7 Cuantificación de Compuestos de interés

5.7.1 Cuantificación de Proteína Soluble

La determinación de la proteína soluble en las muestras se llevó a cabo mediante el método colorimétrico de Lowry. Para ello, se utilizó una curva de calibración previamente elaborada a partir de soluciones estándar de albúmina bovina, con concentraciones de 0 a 300 mg/L (Figura 3). Luego, se midió la absorbancia de cada muestra en un espectrofotómetro a 750 nm. El procedimiento consistió en ajustar 1 mL de muestra o patrón por tubo, adicionar 0.9 mL de la solución A (preparada con tartrato de sodio y potasio, carbonato de sodio e hidróxido de sodio 1N) y llevar los tubos por 10 minutos a baño de María a 50 °C. Posteriormente, se enfriaron en baño de hielo, se adicionaron 0.1 mL de la solución B (tartrato, sulfato de cobre e hidróxido de sodio 1N) y se dejaron reposar en la oscuridad por 10 minutos. Después, se agregaron 3 mL de la solución C, correspondiente al reactivo de Folin-Ciocalteu diluido 1:14, y se repitió el calentamiento a 50 °C por 10 minutos. Tras un nuevo enfriamiento, se procedió a la lectura de absorbancia, comparando con un blanco que contenía agua destilada en lugar de muestra o patrón. A partir de estas mediciones, se calcularon las concentraciones de proteína en mg/L y, posteriormente, en mg/g considerando el grado de dilución de las muestras solubilizadas. Esto permitió observar el enriquecimiento proteico a lo largo del tiempo y entre tratamientos.

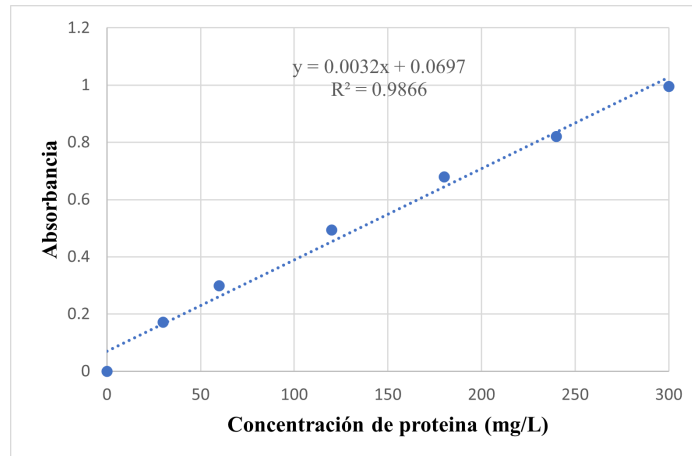


Figura 3. Curva de calibración para la determinación de proteína soluble.

Fuente: Elaboración propia

5.8 Desarrollo estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el módulo de *Design of Experiments* (DOE) del software *Minitab 22*, aplicando el diseño factorial previamente definido. En primer lugar, se verificó la significancia estadística de los factores principales (tiempo de fermentación y porcentaje de adición de bagazo) y de su interacción, mediante el análisis de varianza (ANOVA) y el valor p . Posteriormente, la relevancia de los factores se evaluó gráficamente a través del diagrama de Pareto. A continuación, se realizó la comparación de medias post-ANOVA utilizando el método de Tukey para cada factor de manera independiente. Finalmente, mediante la herramienta de *Optimización de respuesta* del software, se determinó la combinación de niveles de los factores que maximizan el contenido de proteína en las muestras fermentadas.

6. ANÁLISIS DE RESULTADOS

6.1 Pretratamiento de la Materia Prima

Se realizó un secado preliminar de la cáscara de yuca a 55 °C durante 20 horas, con el propósito de reducir su alta humedad inicial y evaluar la estabilidad del material. Posteriormente, se llevó a cabo un secado complementario a 120 °C durante 4 horas, tanto en muestras frescas como en aquellas previamente secadas, hasta alcanzar peso constante. Este procedimiento permitió determinar el contenido de humedad en la cáscara, calculado por diferencia de peso. Los resultados confirmaron que, tras el secado a 55 °C, la muestra alcanzó un valor cercano al 5 % de humedad final, considerado adecuado para garantizar la estabilidad del sustrato y prevenir su deterioro. Con base en estos hallazgos, se definieron las condiciones operativas de secado a 55 °C durante 20 horas para los ensayos experimentales posteriores.

6.2 Caracterización de la Materia Prima

6.2.1 Determinación de la Humedad

La cáscara de yuca es un subproducto del procesamiento del tubérculo, caracterizado por su elevada humedad debido a su naturaleza succulenta, lo que la hace susceptible a la acción microbiana y a cambios físicos durante el almacenamiento y transporte. Por lo tanto, esta fue sometida a un proceso de secado en horno industrial de convección forzada a 55 °C durante 20 h. De acuerdo con los cálculos realizados en las pruebas preliminares, la humedad inicial fue del 70.16 %, mientras que la humedad final alcanzó un valor de 4.97 %, lo cual garantiza la estabilidad del material y condiciones adecuadas para el desarrollo del hongo durante la FES.

Tabla 4. Porcentaje de humedad inicial y final de la cáscara de yuca

Cáscara de yuca	Porcentaje de humedad (%)
Inicial	70.16
Final	4.97

Fuente: Elaboración propia

Este alto contenido de humedad inicial es característico de los tubérculos, lo que coincide con lo reportado por Martínez-Hernández & Brito-Castillo (2019), quienes señalan que la cáscara fresca de yuca puede contener aproximadamente 67% de humedad.

6.2.2 Determinación de la Actividad de agua

La actividad de agua determinada en la cáscara de yuca pretratada fue de 0.627 . Este valor refleja una disponibilidad significativa de agua libre, condición que puede favorecer la proliferación microbiana si no se aplican procesos de estabilización. Comparado con subproductos vegetales deshidratados, cuyos valores suelen situarse por debajo de 0.60, la cáscara fresca presenta un mayor riesgo de deterioro (Compounder's International Analytical Laboratory, 2019).

Tabla 5. Caracterización fisicoquímica de la cáscara de yuca pretratada

Parámetro	Valor
pH	6.01
% Humedad inicial	70.16
% Humedad final	4.97
Retención de agua (WAI)	3.73
Actividad de agua (AW)	0.627

Fuente: Elaboración propia

6.2.3 Determinación del pH

El pH de la cáscara de yuca fue de 6.01, situándose en un rango ligeramente ácido. Este valor es coherente con lo reportado para tejidos vegetales frescos, que suelen presentar pH entre 6.2 y 6.7 (Aisien & Aisien, 2020). La acidez moderada influye en la fermentación principalmente a través de la actividad enzimática del hongo, ya que regula la secreción y eficiencia de enzimas extracelulares como proteasas y amilasas. Estas enzimas facilitan la degradación de compuestos complejos del sustrato, liberando aminoácidos y péptidos que contribuyen al aumento del contenido proteico (Soccol et al., 2017).

Un pH fuera del rango óptimo puede reducir la tasa de crecimiento fúngico y, en consecuencia, la síntesis de proteína microbiana. Por lo tanto, el pH obtenido servirá como referencia para posibles ajustes que optimicen el rendimiento proteico durante la FES.

6.2.4 Determinación de la Capacidad de Retención de Agua

La capacidad de retención de agua (WAI) obtenida en la cáscara de yuca pretratada fue de 3.73. Este parámetro mide la habilidad de las fibras para absorber y retener humedad, propiedad fundamental para mantener la humedad óptima durante la fermentación y garantizar la disponibilidad de agua para la actividad metabólica del hongo. El valor obtenido se encuentra en un rango medio en comparación con otros subproductos agroindustriales, lo que sugiere que el sustrato puede rehidratarse adecuadamente antes y durante el proceso fermentativo (Zhao, Guo, & Zhu, 2017).

6.3 Preparación del microorganismo

6.3.1 Siembra y verificación de pureza del hongo *Rhizopus Oligosporus*

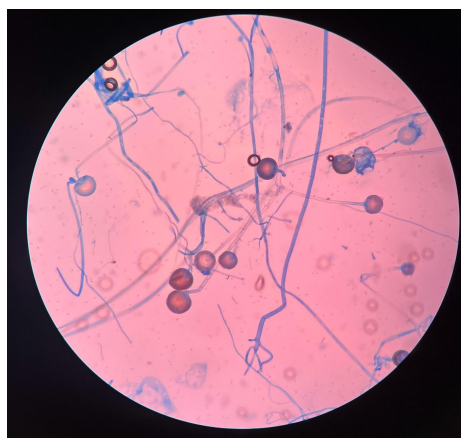


Figura 4. Microscopía de *R. oligosporus* (40X)

Fuente: Elaboración propia

La micrografía obtenida mediante microscopía óptica de *R. oligosporus* muestra la morfología típica del hongo, en la que se distinguen hifas hialinas no septadas y esporangios terminales que contienen esporas de forma elipsoidal a ovoide, con disposición que recuerda a una “cola” o prolongación filamentosa. Esta observación resulta esencial para confirmar la correcta siembra y la pureza del cultivo, garantizando que el material biológico empleado corresponde exclusivamente a *R. oligosporus* y que se encuentra libre de contaminantes fúngicos o bacterianos que puedan interferir en el proceso fermentativo.

6.3.2 Preparación del inóculo

El conteo de esporas en la cámara de Neubauer arrojó una concentración de 1.5×10^9 esporas/g, un valor considerado adecuado, ya que concentraciones en el orden de 10^6 esporas/g o superiores se reconocen como viables para asegurar un crecimiento microbiano efectivo. Este resultado confirma que el inóculo preparado cuenta con la densidad suficiente para garantizar un proceso de fermentación sólido y estable.

6.4 Fermentación en Estado Sólido

La cáscara de yuca enriquecida con bagazo, bajo las condiciones experimentales establecidas (temperatura de 30 °C, humedad del sustrato del 60 % y humedad relativa superior al 70 %), demostró ser un sustrato óptimo para el desarrollo de *R. oligosporus*. Estos parámetros se encuentran dentro de los rangos óptimos de humedad (30 %–75 %) y actividad de agua (0.6–0.75) reportados para favorecer el crecimiento micelial y la expresión enzimática (Letti et al., 2017). La disponibilidad de agua en estas condiciones favoreció la difusión de nutrientes y permitió el funcionamiento eficiente de las enzimas hidrolíticas y oxidativas secretadas por el hongo, esenciales para la degradación de polisacáridos, proteínas y lípidos presentes en el sustrato



Figura 5. Micrografía estereoscópica de la muestra A en el tiempo 1

Fuente: Elaboración propia

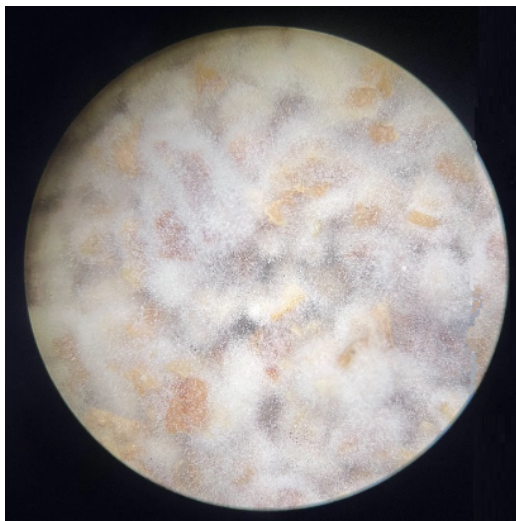


Figura 6. Micrografía estereoscópica de la muestra A en el tiempo 2

Fuente: Elaboración propia

Durante el proceso, se evidenció un crecimiento micelial homogéneo en toda la superficie de las bandejas, con colonización completa en un tiempo reducido. Las formulaciones con mayor contenido de bagazo de yuca presentaron una velocidad de invasión superior y una esporulación más temprana, lo que puede asociarse a un incremento en la porosidad y aireación del sustrato, factores probablemente que favorecen la difusión de oxígeno y el crecimiento micelial.

El pH del sustrato, mantenido en un rango cercano a la neutralidad, también contribuyó a la eficiencia de la fermentación, ya que *R. oligosporus* presenta su máxima actividad proteolítica y amilolítica en estos valores, lo que favorece la liberación de aminoácidos y azúcares simples que potencian el enriquecimiento proteico final (Krishna, 2005).

Finalizado el ciclo fermentativo, todos los residuos fueron sometidos a un proceso de autoclavado a 121 °C por 30 minutos, asegurando la completa inactivación del hongo y evitando riesgos de dispersión de esporas en el ambiente, en cumplimiento con las prácticas seguras de manejo de subproductos fermentados

6.5 Cuantificación de Compuestos de interés

6.5.1 Cuantificación de Proteína Soluble

El contenido de proteína inicial de la cáscara de yuca utilizada como control fue de 13.57 mg/g, equivalente a 1.36 % en base húmeda, que al ajustarse según su humedad (4.97 %) corresponde a aproximadamente 1.43 % en base seca. Este valor es bajo pero coherente con la naturaleza del residuo fresco empleado. Al compararlo con datos de la literatura expresados también en base seca, se observa que Oladimeji et al. (2022) reportan 3.66 % de proteína para cáscara de yuca secada al sol (SCPM); al corregir este valor según su contenido de materia seca (88.58 %), el contenido proteico equivale a 4.13 % en base seca, lo que supera el valor obtenido en este estudio. Esta diferencia puede deberse a variaciones en el grado de secado, el tipo de procesamiento y la composición estructural de cada muestra; no obstante, ambos resultados siguen siendo representativos del bajo aporte proteico característico de este subproducto. En el caso de la cáscara, la composición proteica también puede fluctuar dependiendo de factores como la fertilidad del suelo, el régimen de lluvias, la variedad de yuca y las prácticas agronómicas. Estas variaciones se deben a la influencia directa de las condiciones edafoclimáticas sobre la síntesis y acumulación de compuestos nitrogenados en el tejido vegetal (Ravindran, 1993).

En cuanto a las otras formulaciones de sustrato, se registraron valores iniciales de proteína de 10.4938 mg/g para el tratamiento B (25% de bagazo), 9.70 mg/g para el tratamiento C (50% de bagazo) y 5.6031 mg/g para el tratamiento D (75% de bagazo). Se evidencia que la incorporación de mayores proporciones de bagazo reduce el contenido proteico inicial del sustrato, lo que podría deberse a la menor concentración de compuestos nitrogenados en el bagazo en comparación con la cáscara, dado que este residuo proviene de una fracción más fibrosa y lignificada, con bajo contenido proteico y mayor proporción de polisacáridos estructurales como celulosa y hemicelulosa (Oboh & Akindahunsi, 2003; Aro et al., 2010).

El análisis estadístico mediante ANOVA (Minitab 22) evidenció que tanto el porcentaje de bagazo como el tiempo de fermentación ejercen un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre el contenido de proteína soluble, aceptándose la hipótesis alterna que plantea la existencia de diferencias entre tratamientos. Sin embargo, la interacción entre ambos factores no resultó

estadísticamente significativa, lo que indica que cada uno influye de manera independiente sobre la variable de respuesta. Esta tendencia se observa en el diagrama de Pareto (Figura 7), donde se evidencia que el porcentaje de bagazo y el tiempo tienen efectos significativos sobre la respuesta, mientras que la interacción no alcanza un nivel de significancia.

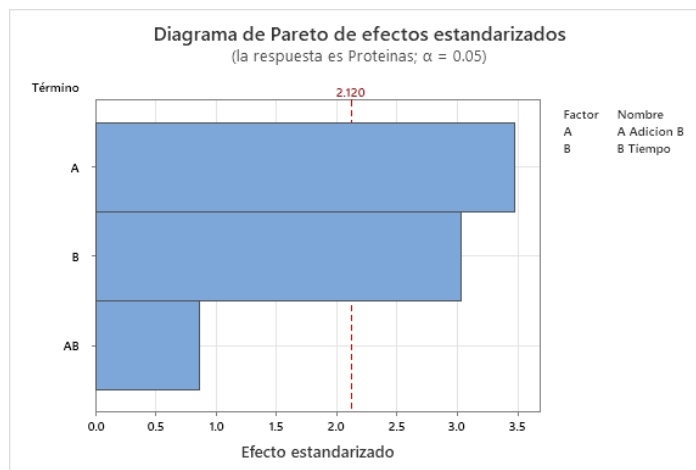


Figura 7. Diagrama de Pareto de efectos estandarizados de las variables estudiadas.

Fuente: Elaboración propia

Además, se presenta la Tabla 6 y la Tabla 7, que muestran las comparaciones múltiples mediante la prueba de Tukey, las cuales permiten identificar las diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de cada factor. Estas tablas muestran las medias del contenido de proteína soluble agrupadas según los niveles de tiempo y de porcentaje de adición de bagazo, facilitando la interpretación de los tratamientos que generan un mayor enriquecimiento proteico.

Tabla 6. Comparaciones por parejas de Tukey según adición de bagazo

Factor A (% bagazo)	N	Media (mg/g)	Agrupación
A	8	24.79	A
D	8	18.62	B
C	8	18.35	B
B	8	17.28	B

Fuente: Elaboración propia.

Nota: las medias que no comparten una letra de agrupación son significativamente diferentes en términos estadísticos.

Tabla 7. Comparaciones por parejas de Tukey según tiempo de fermentación.

Factor B (tiempo)	N	Media (mg/g)	Agrupación
4	8	22.03	A
2	8	21.35	A
3	8	20.35	A B
1	8	15.32	B

Fuente: Elaboración propia

Nota: las medias que no comparten una letra de agrupación son significativamente diferentes en términos estadísticos.

Según la Tabla 6, el mejor promedio de proteína soluble se obtuvo en el tratamiento A (0% bagazo), con un valor de 24.79 mg/g, y el mejor tiempo de fermentación correspondió al tiempo 4 (24 h) como podemos observar en la Tabla 7, con 22.03 mg/g. Sin embargo, el análisis de comparaciones múltiples de Tukey indicó que, de manera general, este resultado no mostró diferencias estadísticamente significativas con el tiempo 2 (16 h), lo que significa que ambos tiempos pueden considerarse equivalentes en términos de rendimiento.

Así pues, la combinación que presentó el valor máximo fue el tratamiento A (0% bagazo) en el tiempo 2 (16 h), alcanzando 30.25 mg/g, como es evidenciable en la Tabla 8, lo que sugiere que la cáscara sola, sin la adición de bagazo, constituye un sustrato más rico en proteínas durante las primeras etapas de fermentación.

Este comportamiento podría explicarse porque la cáscara de yuca presenta un perfil químico más rico en almidones residuales, azúcares solubles y proteínas disponibles que el bagazo, lo que favorece la adaptación y el metabolismo primario de *R. oligosporus*. En las fases iniciales de fermentación, el hongo utiliza preferentemente carbohidratos fácilmente asimilables como fuente de energía, destinando parte de su metabolismo secundario a la síntesis de biomasa proteica y enzimas extracelulares (Mendoza & Rincón, 2021). Por el contrario, el bagazo, al ser más lignocelulósico, requiere una mayor actividad enzimática

(celulasas, hemicelulasas, ligninasas) para liberar monosacáridos fermentables, lo que retrasa el crecimiento y la producción de proteína fúngica.

De hecho, se observó que en el bagazo el crecimiento fue más rápido en términos de colonización superficial, posiblemente por la porosidad y aireación del sustrato, sin embargo, no logra superar los valores proteicos del sustrato más rico en cáscara, debido a los valores iniciales de cada uno. Estos resultados se detallan en la Tabla 8, que muestra los valores promedio de las corridas experimentales y los análisis de significancia estadística correspondientes.

Tabla 8. Contenido de proteína soluble por muestra analizado por software estadístico

Factor (A B)	N	Media (mg/g)	Agrupación
A 2	2	30.26	A
A 4	2	28.33	A B
C 3	2	22.42	B C
A 3	2	22.24	A B C
D 4	2	22.09	B C
B 4	2	20.10	A B C
D 3	2	19.87	A B C
C 2	2	19.66	A B C
A 1	2	18.38	B C
B 2	2	18.17	B C
C 4	2	17.60	A B
D 2	2	17.31	A B C
B 3	2	16.88	B
D 1	2	15.24	C
B 1	2	13.95	B C
C 1	2	13.71	C

Fuente: Elaboración propia

Nota: las medias que no comparten una letra de agrupación son significativamente diferentes en términos estadísticos.

Para explicar este comportamiento, es factible indicar que, la muestra A (0% bagazo) alcanza los mejores resultados en el tiempo 2 (16 h), lo que refleja un aprovechamiento más rápido de los nutrientes fácilmente disponibles de la cáscara. Debido a que el comportamiento varía con la proporción de bagazo, en las muestras B (25% bagazo) y C (50% bagazo) se evidencian incrementos más moderados en el contenido proteico, seguidos de estabilización o ligera reducción, indicando limitaciones nutricionales o proteólisis endógena en fases tardías; mientras que en D (75% bagazo) el enriquecimiento proteico es progresivo y sostenido hasta el tiempo 4 (24 h), lo que sugiere que la fracción fibrosa del bagazo estimula la secreción de enzimas lignocelulolíticas y prolonga el metabolismo fúngico.

6.5.2 Discusión Sobre Compuestos Cianogénicos

Los tres estudios analizados —Prasetyo et al. (Indonesia, 2018), Kolapo et al. (Nigeria, 2021) y Mukhtar et al. (Applied Sciences, 2023)— coinciden en que la FES con *R. oligosporus* constituye una estrategia eficaz para la detoxificación de matrices de yuca. En Indonesia, Prasetyo et al. demostraron que con un 1.5 % (p/p) de inóculo y 72 h de FES, el contenido residual de HCN en harina se redujo a 0.09 mg/kg, nivel compatible con estándares de seguridad alimentaria (Prasetyo et al., 2018). De manera similar, Kolapo et al. evaluaron la pulpa residual del tubérculo en Nigeria y reportaron reducciones superiores al 70–90 %, además de mejoras en el contenido proteico. Mukhtar et al. (2023) evidenciaron que la combinación de pretratamientos mecánicos (screw-press) con biotratamiento logró disminuir el HCN del *press-cake* en un 73.56 %, lo que confirma el efecto sinérgico entre métodos físicos y biológicos. Estos estudios documentaron no solo la reducción de compuestos cianogénicos, sino también un incremento en la funcionalidad, expresada en mayor actividad antioxidante, tras la fermentación con *R. oligosporus*.

Así, los ensayos en cáscaras de yuca confirman que las condiciones adecuadas de humedad, inóculo y tiempo (usualmente entre 48–72 h) permiten disminuciones consistentes y significativas de cianuro (≥ 70 % hasta casi el 100 % en esquemas combinados).

Tabla 9. Reducción de compuestos cianogénicos en subproductos de yuca mediante fermentación sólida con *Rhizopus oligosporus*: comparación de estudios recientes

#	Referencia / Año / País	Sustrato	Metodología (FES / Tratamiento)	Método analítico	Resultados principales
1	Prasetyo et al., 2018 — Indonesia (MATEC Conf.)	Harina/masa de yuca (tubérculo rallado)	FES con <i>R. oligosporus</i> ; variación de dosis de inóculo (1.5 % w/w) y tiempo (12–72 h).	Determinación de HCN residual por métodos químicos estándar.	Con 1.5 % (w/w) y 72 h: HCN residual ↓ hasta 0.09 mg/kg (prácticamente eliminado).
2	Kolapo et al., 2021 — Nigeria (Annals Univ. Dunărea de Jos)	Pulpa de yuca (CWP), variedades dulce y amarga, con/sin corteza	FES con <i>R. oligosporus</i> y comparación con <i>Aspergillus niger</i> , incubación 48–72 h.	HCN total por titulación/picra to; análisis proximate.	Reducciones significativas de HCN: >70 % hasta >90 % según variedad y tratamiento.
3	Mukhtar et al., 2023 — Pakistán (Applied Sciences, MDPI)	Hojas y cáscara de yuca (juice vs press cake)	Pretratamientos mecánicos (screw-press) + enzimáticos y fermentativos.	HCN total por métodos estandarizados.	El press cake mostró reducción de 73.56 % en HCN; tratamientos combinados logran mayores reducciones.

Fuente: Elaboración propia

Estos hallazgos son plenamente aplicables al presente estudio por tres razones principales: (i) las investigaciones emplearon la misma especie fúngica y la modalidad de FES, (ii) los sustratos tratados son análogos, como cáscaras, pulpa o residuos de yuca, y (iii) las variables críticas —humedad, inóculo, temperatura y tiempo de fermentación entre 48–72 h— coinciden con los parámetros utilizados en el experimento en cuestión. Aunque en este caso se detectaron cambios enzimáticos y variaciones de pH desde etapas tempranas, la

literatura señala que la detoxificación completa (reducciones >90 % o valores residuales cercanos a 0 mg/kg) suele alcanzarse tras decenas de horas de incubación bajo condiciones controladas. De esta manera, los descensos de pH y el incremento proteico registrados constituyen indicadores iniciales de que el proceso de hidrólisis de glucósidos cianogénicos mediante β -glucosidasas, así como la eliminación o neutralización posterior del HCN, ya se encuentran en marcha, y que con tiempos mayores de incubación podrían lograrse reducciones aún más pronunciadas, coherentes con lo reportado por Prasetyo (2018) y Kolapo (2021).

El mecanismo metabólico de *R. oligosporus* explica la eficacia de la FES en este tipo de matrices. El hongo secreta un amplio repertorio de enzimas extracelulares, entre ellas β -glucosidasas, glucanasas, amilasas y proteasas, que permiten la hidrólisis de los glucósidos cianogénicos (linamarina y lotaustralina). Este proceso libera agliconas inestables (cianohidrinas) que se degradan a HCN. La eliminación del cianuro se produce mediante la acción conjunta de varios mecanismos: (a) hidrólisis enzimática que libera el HCN ligado, (b) volatilización del HCN en condiciones aireadas y a temperatura controlada, (c) metabolización secundaria en rutas enzimáticas que convierten el cianuro en compuestos menos tóxicos, como el tiocianato a través de la acción de rodanasas o su transformación en derivados amidados, y (d) incorporación parcial del nitrógeno cianogénico en biomasa microbiana, lo que contribuye al enriquecimiento proteico del sustrato. La disminución del pH observada en los ensayos se relaciona con la secreción de ácidos orgánicos y con la actividad enzimática, generando un ambiente favorable para la liberación y posterior eliminación del HCN. En conjunto, estos mecanismos permiten explicar tanto los resultados obtenidos en el presente estudio como los hallazgos reportados en la literatura internacional.

6.5.3 Medición de pH en el proceso de fermentación

Durante la FES de la cáscara de yuca suplementada con diferentes proporciones de bagazo, se observa una disminución progresiva del pH, como se puede evidenciar en la Figura 8, desde valores iniciales cercanos a 6 hasta rangos de 4.7–5.0, reflejo de la intensa actividad metabólica del hongo, la liberación de ácidos orgánicos y la acción de enzimas hidrolíticas,

como la amilasas, celulasas y proteasas, que degradan polisacáridos y proteínas residuales del sustrato (Ezekiel & Aworh, 2013). Esta acidificación se correlaciona inversamente con el incremento en el contenido proteico, ya que a mayor actividad enzimática y crecimiento micelial, mayor es la acumulación de biomasa fúngica y proteínas extracelulares, enriqueciendo el material fermentado (Bayitse et al., 2015).

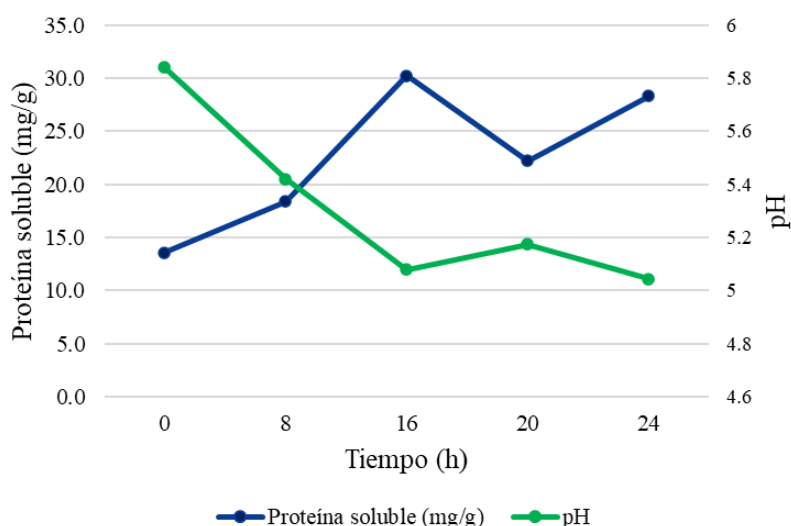


Figura 8. Variación del contenido de proteína y pH durante la FES de la muestra A

Fuente: Elaboración propia

En conjunto, el análisis de correlación de Pearson realizado sobre el conjunto total de datos evidenció una relación inversa moderada a fuerte entre el pH y el contenido de proteína ($r = -0.74$), indicando que la disminución del pH durante el proceso de fermentación se asocia con un incremento del contenido proteico.

7. CONCLUSIONES

La fermentación en estado sólido de la cáscara de yuca suplementada con diferentes proporciones de bagazo demostró en este trabajo ser una estrategia biotecnológica viable, eficiente y sostenible para transformar un residuo agroindustrial en un insumo con mayor valor nutricional y seguro para la alimentación animal. El diseño experimental planteado permitió evaluar la influencia del tiempo de fermentación y del porcentaje de bagazo sobre la eficiencia del proceso, confirmándose que ambos factores ejercen un efecto significativo e independiente sobre el enriquecimiento proteico del sustrato.

Un aspecto relevante observado fue la relación inversa entre el pH y la proteína, donde a medida que la fermentación progresó se registró una caída del pH desde valores iniciales cercanos a 6 hasta niveles finales de 4.7–5.0, lo que se correlaciona con la secreción de ácidos orgánicos y la intensa actividad enzimática del hongo (amilasas, celulasas, proteasas). Este descenso en el pH refleja un metabolismo activo y funciona como un indicador indirecto del grado de bioconversión del sustrato, pues coincidió con los mayores incrementos en proteínas. Así, la evolución del pH se convierte en una variable de control clave en el monitoreo de procesos de fermentación sólida aplicados a biomasa lignocelulósica.

De manera particular, los tratamientos con mayores proporciones de bagazo (50–75 %) mostraron un comportamiento diferenciado respecto al 0 % y 25 %. Aunque no alcanzaron el mismo nivel de proteína en tiempos cortos, presentaron un enriquecimiento progresivo y sostenido en fases tardías de la fermentación. Este efecto se explica porque la fracción fibrosa del bagazo estimula la secreción de enzimas lignocelulolíticas, prolongando la actividad metabólica del hongo y permitiendo una bioconversión más gradual. Así, el bagazo no solo actúa como fuente suplementaria de carbono estructural, sino que también puede extender el periodo de fermentación útil y mejorar la estabilidad del proceso en condiciones industriales.

Aunque en este trabajo no se midió de manera directa la concentración de compuestos cianogénicos, la literatura científica disponible indica que *Rhizopus oligosporus* posee la capacidad de degradar glucósidos cianogénicos presentes en la yuca, gracias a la

producción de β -glucosidasas que hidrolizan linamarina y lotaustralina, liberando HCN que posteriormente puede volatilizarse o transformarse en metabolitos menos tóxicos. Investigaciones recientes, como las que se han debatido a lo largo de este estudio, han reportado reducciones significativas de cianuro en matrices como cáscara, hojas y pulpa de yuca sometidas a fermentación con *R. oligosporus* en condiciones muy similares a la de esta experimentación. A la luz de estos antecedentes y de las condiciones de fermentación sólida empleadas en este estudio, es razonable sugerir que pudo presentarse una disminución de los compuestos cianogénicos en la cáscara de yuca, lo que probablemente mejoró el perfil de inocuidad del material, en concordancia con lo reportado en la literatura para sistemas similares.

En conjunto, los resultados obtenidos muestran que la fermentación en estado sólido de la cáscara de yuca con *Rhizopus oligosporus* es una estrategia promisoría para valorizar este subproducto como ingrediente. Con base en la evidencia reportada por otros autores, esta tecnología tiene potencial para reducir los compuestos cianogénicos presentes en la yuca; sin embargo, en el presente estudio este aspecto no fue evaluado cuantitativamente, por lo que la reducción de cianuro se mantiene como una expectativa sustentada en la literatura. En consecuencia, se recomienda realizar estudios complementarios, incluyendo análisis de HCN residual y otros indicadores de seguridad, que permitan confirmar el grado de detoxificación alcanzado y consolidar la inocuidad del producto fermentado.

8. REFERENCIAS

- Aisien, F. A., & Aisien, E. T. (2020). Biogas from cassava peels waste. *Detritus*, 10, 44–51. <https://doi.org/10.31025/2611-4135/2020.13910>
- Aro, S. O., Aletor, V. A., Tewe, O. O., & Agbede, J. O. (2010). Nutritional potentials of cassava tuber wastes: A case study of a cassava starch processing factory in South-West Nigeria. *Livestock Research for Rural Development*, 22(11).
- Arora, S., Rani, R., & Ghosh, S. (2018). Bioreactors in solid state fermentation technology: Design, applications and engineering aspects. *Journal of Biotechnology*, 269, 16–34. doi: 10.1016/j.jbiotec.2018.01.010
- Bayitse, R., Hou, X., Laryea, G., & Bjerre, A.-B. (2015). Protein enrichment of cassava residue using *Trichoderma pseudokoningii* (ATCC 26801). *AMB Express*, 5, 80. doi: 10.1186/s13568-015-0166-8.
- Becerra-Quintana, R., Lozada, M., Quintana-Mendoza, J., Torres, A., & Henao, J. (2022). Uso de desechos de yuca (*Manihot esculenta Crantz*) en la remoción de verde y naranja de metilo. *Revista Científica*, 30(2), 1-10.
- Camacho Díaz, B. H., Jiménez Aparicio, A., Chanona-Pérez, J. J., Calderón-Domínguez, G., Alamilla-Beltrán, L., Hernández-Sánchez, H., & Gutiérrez-López, G. F. (2010). Morphological characterization of the growing front of *Rhizopus oligosporus* in solid media. *Journal of Food Engineering*, 101(3), 309-317. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.06.028>
- Compounder's International Analytical Laboratory. (2019). What is water activity? Compounder's International Analytical Laboratory.
- Domínguez CE. 1983. Yuca: investigación, producción y utilización. Programa de Yuca, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. 660 p.
- Ezekiel, O. O., & Aworh, O. C. (2013). Solid State Fermentation of Cassava Peel with *Trichoderma viride* (ATCC 36316) for Protein Enrichment. *World Academy*

of Science, Engineering and Technology International Journal of Nutrition and Food Engineering.

Han, B.-Z., Ma, Y., Rombouts, F. M., & Nout, M. J. R. (2003). Effect of temperature and relative humidity on growth and enzyme production by *Actinomucor elegans* and *Rhizopus oligosporus* during sufu pehtze preparation. *Food Chemistry*, 81(1), 27-34. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00347-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00347-3)

Jumare, F. I., Salleh, M. M., Ihsan, N., & Hussin, H. (2024). Cassava waste as an animal feed treatment: past and future. Springer Nature B.V. doi:10.1007/s11157-024-09701-7

Kolapo, A. L., Salami, R. O., Onajobi, I., Oluwafemi, F., Fawole, A. O., & Adejumo, O. (2021). Detoxification and nutritional enrichment of cassava waste pulp using *Rhizopus oligosporus* and *Aspergillus niger*. *The Annals of the University Dunărea de Jos of Galati. Fascicle VI – Food Technology*, 45(1), 52–68.

Krishna (2005) Solid-State Fermentation Systems—An Overview, *Critical Reviews in Biotechnology*, 25:1-2, 1-30, DOI: 10.1080/07388550590925rincon383

Lamidi, A.A. & Ogunkunle, T. (2015). *Chemical composition, mineral profile and phytochemical properties of common feed resources used for small ruminant animal production in South-West, Nigeria*. *International Journal of Science and Nature*, 6(1), 92–96. ISSN 2229–6441.

Marin Morales, E., Zajul, M., Goldman, M., Zorn, H., & Angelis, D. F. (2018). *Effects of solid-state fermentation and the potential use of cassava by-products as fermented food*. *Waste and Biomass Valorization*, 11, 5673–5683. doi:10.1007/s12649-018-0479-3

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*, 28(2), 1–8.

Mendoza Morales, N. A. y Rincón Díaz, J. M. (2021) Evaluación de la implementación de hongos de la podredumbre blanca en una fermentación en sólido para la generación de biomasa como producto de beneficio energético utilizando residuos lignocelulosicos. [Trabajo de grado, Fundación Universidad de América] Repositorio Institucional Lumieres.

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia. (2023). *Estadísticas de producción agrícola: Yuca*. <https://www.minagricultura.gov.co>

Miskiewicz, H., Bizukojć, M., Rozwandowicz, A., & Bielecki, S. (2004). Physiological properties and enzymatic activities of *Rhizopus oligosporus* in solid state fermentations. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 7(1).

Mukhtar, A., Latif, S., Barati, Z., & Müller, J. (2023). Valorization of Cassava By-Products: Cyanide Content and Quality Characteristics of Leaves and Peel. *Applied Sciences*, 13(10), 6340. doi:10.3390/app13106340. MDPI

National Research Council. (2001). *Acute exposure guideline levels for selected airborne chemicals: Volume 2*. National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/10522>

Oboh, G., & Akindahunsi, A. A. (2003). Biochemical changes in cassava products (flour & gari) subjected to *Saccharomyces cerevisiae* solid media fermentation. *Food Chemistry*, 82(4), 599–602. doi: 10.1016/S0308-8146(03)00019-2

Ojo, I., Apiamu, A., Egbune, E. O., & Tonukari, N. J. (2022). Biochemical characterization of solid-state fermented cassava stem (*Manihot esculenta* Crantz-MEC) and its application in poultry feed formulation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. doi: 10.1007/s12010-022-03871-2

Oladimeji, S. O., Adeyemi, A. A., Mosuro, A. O., Adebayo, B. F., Etop, S. C., Adebisi, F. G., & Ogunwole, O. A. (2022). *Nutritional composition of cassava (Manihot esculenta Crantz) peel products*. *Livestock Research for Rural Development*

Ospina, B., & Ceballos, H. (2002). *La yuca en el tercer milenio: sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización*. CIAT.

Prasetyo, T. (2018). *Improvement the Chemical Properties of Cassava Through Microbial Fermentation Using Rhizopus oligosporus*. MATEC Web of Conferences, RSCE 2018, 01025. doi: 10.1051/mateconf/201815001025. Matec Conferences

Polanowska, K., Grygier, A., Kuligowski, M., Rudzińska, M., & Nowak, J. (2020). Effect of tempe fermentation by three different strains of *Rhizopus oligosporus* on nutritional characteristics of faba beans. *LWT - Food Science and Technology*, 122, 109024. doi: 10.1016/j.lwt.2020.109024

Romulo, A., & Surya, R. (2021). Tempe: A traditional fermented food of Indonesia and its health benefits. *Food Technology Department, Faculty of Engineering, Bina Nusantara University, Jakarta, Indonesia*.

Ravindran, V. (1993). Cassava leaves as animal feed: Potential and limitations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61(2), 141–150. doi:10.1002/jsfa.2740610202

Soccol, C. R., da Costa, E. S. F., Letti, L. A. J., Karp, S. G., Woiciechowski, A. L., & Vandenberghe, L. P. S. (2017). Recent developments and innovations in solid state fermentation. *Biotechnology Research and Innovation*. doi:10.1016/j.biori.2017.01.002

Sriroth, K., Chollakup, R., Chotineeranat, S., Piyachomkwan, K., & Oates, C. G. (2020). Processing of cassava waste for improved sustainability and profitability. *Industrial Crops and Products*, 145, 111984. Doi:10.1016/S0960-8524(99)00051-6

Srivastava, R., Rana, P., & Singha, S. (2022). Solid-state fermentation in animal nutrition. ICAR-National Dairy Research Institute.

Torres-Rodríguez, E., Alaeaga-Álvarez, Y., Hermisalla-Espinosa, R., & Ramos-Escalona, M. (2022). Determinación de cianuro en harina y almidón de

yuca (*Manihot esculenta*) de la variedad censa 64-7329. *Revista Cubana de Química*, 34(3), septiembre-diciembre, e-ISSN: 2224-5421.

Vandenbergh, L. P. S., Pandey, A., Carvalho, J. C., Letti, L. A. J., Woiciechowski, A. L., Karp, S. G., Thomaz-Soccol, V., Martínez-Burgos, W. J., Penha, R. O., Herrmann, L. W., Rodrigues, A. O., & Soccol, C. R. (2020). Solid-state fermentation technology and innovation for the production of agricultural and animal feed bioproducts. *Systems Microbiology and Biomanufacturing*. doi:10.1007/s43393-020-00015-7

Velázquez-del Valle, M. G., Bautista-Baños, S., Hernández-Lauzardo, A. N., Guerra-Sánchez, M. G., & Amora-Lazcano, E. (2007). Estrategias de control de *Rhizopus stolonifer* Ehrenb. (Ex Fr.) Lind, agente causal de pudriciones postcosecha en productos agrícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 25(1), 49-60.

Wang, J., Huang, Z., Jiang, Q., Roubík, H., Xu, Q., Gharsallaoui, A., Cai, M., Yang, K., & Sun, P. (2023). Fungal solid-state fermentation of crops and their by-products to obtain protein resources: The next frontier of food industry. *Trends in Food Science & Technology*. doi: 10.1016/j.tifs.2023.06.020

Zhang, Y., Wei, R., Azi, F., Jiao, L., Wang, H., He, T., Liu, X., Wang, R & Lu, B., Y. (2022). Solid-state fermentation with *Rhizopus oligosporus* RT-3 enhanced the nutritional properties of soybeans. *Frontiers in Nutrition*, 9, 972860. doi:10.3389/fnut.2022.972860

Zhao, H.-M., Guo, X.-N., & Zhu, K.-X. (2017). Impact of solid state fermentation on nutritional, physical and flavor properties of wheat bran. *Food Chemistry*, 217, 28-36. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.062>