

# Fermentación en estado sólido: Una alternativa biotecnológica para el aprovechamiento de desechos agroindustriales

José R. Ferrer G<sup>1,2</sup>, José L. Machado<sup>3</sup> y Jhanna Brieva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Escuela de Ingeniería Química. Departamento de Ingeniería Bioquímica. Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia. Apartado 526, Maracaibo 4001-A. Estado Zulia. Venezuela

<sup>2</sup>Escuela de Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería. Universidad Rafael Urdaneta.

<sup>3</sup>Departamento de Ciencias Básicas. Facultad de Ingeniería. Universidad Rafael Urdaneta

e-mail: [joseferrer1@gmail.com](mailto:joseferrer1@gmail.com), [joslumach@yahoo.com](mailto:joslumach@yahoo.com), y [jhanna1980@hotmail.com](mailto:jhanna1980@hotmail.com)

Recibido: 17-05-2013 Aceptado: 02-05-2014

## Resumen

En esta actualización del estado del arte se presenta una revisión sobre las alternativas biotecnológicas establecidas por los diferentes investigadores a nivel mundial, utilizando la fermentación en estado sólido (FES), para el aprovechamiento de desechos agroindustriales. Se discuten los aspectos biotecnológicos, mediante la descripción de los diferentes sustratos usados, las características de los microorganismos inoculados, los aspectos de diseño de ingeniería bioquímica de los biorreactores y los principales productos de la bioconversión desarrollados hasta el presente. Las tendencias de las investigaciones futuras serán hacia la consolidación de la fisiología microbiana de cultivos puros y mixtos de hongos en sustratos tratados y su incidencia en el diseño de biorreactores eficientes, en los cuales se resuelvan las limitaciones de la dinámica de flujo de calor, masa y cantidad de movimiento de los compuestos químicos involucrados en el bioproceso.

**Palabras claves:** Fermentación, estado sólido, biotecnología, desechos agroindustriales, ingeniería bioquímica.

# Solid state fermentation: A biotechnological alternative for exploitation of agroindustrial wastes

## Abstract

In this review the authors present a revision on the biotechnological alternatives developed using solid state fermentation for the exploitation of agro industrial waste materials. Moreover, the biotechnological aspects involved are discussed, by describing the different substrates used in SSF, the characteristics of the microorganisms inoculated, the design of bioreactors as well as the main bioconversion products developed to this day. Future research should focus on the physiology of pure cultures and mixtures of fungi used in substrates and its effect on the design of efficient bioreactors. This would result in the solving of problems concerning movement of the chemicals involved in the bioprocess and heat and mass transfer.

**Key words:** Fermentation, solid state, biotechnology, agro industrial waste materials and biochemical engineering.

## Introducción

El desarrollo de la biotecnología, en sus diferentes períodos se basa en los bioprocesos, dentro de los que destaca la fermentación en estado sólido (FES) como la técnica para promover el crecimiento microbiano y producción de metabolitos de interés en la industria láctea, en la industria de cosecha de champiñones, en bioprocesos de compostaje para producción de abono orgánico y de ensilaje para conservar cereales y utilizarlos en épocas de sequía [1, 2, 3, 4].

Los bioprocesos implementados se han llevado a cabo bajo dos modalidades de uso del oxígeno, de manera aeróbica y anaeróbica, dependiendo de las vías metabólicas y fermentativas utilizadas por los microorganismos para su crecimiento y para la formación, mediante reacciones bioquímicas, de los compuestos químicos de interés en dicho bioproceso.

De las cuatro grandes áreas científicas acopladas para llevar a cabo un proceso biotecnológico (Microbiología, Bioquímica, Genética e Ingeniería Química), la Ingeniería Química juega un rol fundamental al escalar los resultados de experiencias a nivel de laboratorio al diseño a nivel industrial, mediante la implementación de los fenómenos de transferencia de masa, calor y cantidad de movimiento, en las operaciones unitarias utilizadas para los pre y post-tratamientos necesarios para la realización de los bioprocesos en los biorreactores y la posterior purificación para la obtención de los productos deseados [5].

Sobre las tecnologías en estado sólido existen diferentes concepciones entre los investigadores: cuando se realiza utilizando un sustrato natural o un sustrato inerte como soporte sólido se refiere a fermentación en estado sólido. Ahora bien, si el sustrato utilizado sirve como fuente de carbono y otros nutrientes a los microorganismos utilizados, se le conoce como fermentación de sustrato sólido (FSS) y cuando la fermentación ocurre en una capa de líquido pequeña, la cual se encuentra por encima de la superficie del sustrato, se designa como fermentación superficial (FS) [6].

En lo que sí se tiene una distinción fundamental al referirse a las características operacionales, es entre la fermentación sumergida y la fermentación en estado sólido, en cualquiera de sus modalidades. La fermentación sumergida se encuentra altamente desarrollada en los aspectos de diseño de biorreactores, control del proceso y cinética microbiana, teniendo su fortaleza en los bioprocesos con bacterias y levaduras (modificadas o no genéticamente) en medios definidos o complejos.

Sin embargo, se presentan serias limitaciones en cuanto a los grandes volúmenes de agua utilizados y los bajos rendimientos cuando se usan hongos en las aplicaciones industriales en fermentación sumergida. Por otro lado, la FES, aunque tiene debilidades en lo relativo al diseño de biorreactores, dinámica de flujo, transferencia de calor, transferencia de masa del oxígeno y de gases producidos durante la fermentación, disponibilidad de agua y oxígeno, control del proceso y medida de variables operacionales; tiene grandes fortalezas en relación a la utilización de medios sólidos complejos, manejo de volúmenes menores de agua, desarrollo microbiano en su ambiente natural y alta productividad [7,8,9].

Presentar una revisión sobre aspectos fundamentales de la FES, como herramienta biotecnológica para el aprovechamiento de desechos agroindustriales, es el objetivo de este trabajo.

## **Sustratos**

Los desechos agroindustriales tienen características fisicoquímicas adecuadas para utilizarse como sustratos en los bioprocesos de FES. Su composición química caracterizada por la presencia de polisacáridos como celulosa y hemicelulosa, es de importancia fundamental como fuente de carbono para los microorganismos. Sin embargo, la presencia de la lignina representa un factor perturbador en la disponibilidad de esos polisacáridos para el desarrollo microbiano, ya que es un sustrato recalcitrante formada por polifenoles [10,11,12]. Debido a esto, se ha incrementado el área superficial para el desarrollo microbiano, modificando el tamaño de partícula mediante pretratamiento mecánico y la accesibilidad a la fuente de nutrientes mediante pretratamientos químicos y enzimáticos [1,11,13].

Como sustrato ideal para la FES se considera aquél que provea a los microorganismos de todos los nutrientes necesarios para el metabolismo celular y fermentativo. Por otro lado, si alguno de los nutrientes no se encuentran en niveles adecuados, es necesario utilizar un suplemento como fuente externa del mismo) [1].

La selección de un desecho agroindustrial para usarlo como sustrato depende de los siguientes factores: costo, disponibilidad en cantidades adecuadas para justificar una aplicación industrial y posibilidad de almacenamiento sin causar deterioro morfológico y microbiológico [7,23].

Entre los sustratos más utilizados en FES se encuentran: bagazos de yuca [7], caña de azúcar [14], naranja, manzana, uva [1,4,11,15,16], aceituna y tomate [6]; cascarilla y pulpa de café [2,3,17]; salvado de trigo, paja de arroz, paja de trigo, harina de trigo, harina de maíz, escobajo de uva [18,19,20]; torta del prensado en la producción de aceite [6]; desecho generado en la producción de vinagre [21]; okara (residuo generado en la preparación de queso de soya) [22].

En Venezuela, el bagazo de caña de azúcar, la pulpa de café y el escobajo de uva son los desechos agroindustriales más utilizados en FES, para la producción de abono orgánico, ensilaje, alimento para animales y solución nutritiva para cultivos hidropónicos [1,2,3,4,12,17,19,24]. Puesto que, el bajo contenido de cenizas y la alta capacidad de retención de agua les da ventajas comparativas a los bagazos de yuca y de caña de azúcar respecto a otros sustratos como paja de arroz y trigo. Sin embargo, el bagazo de yuca tiene ventajas en relación al de la caña de azúcar, debido a que no necesita ningún tipo de pretratamiento para su uso como sustrato en FES [7].

## **Aspectos Biotecnológicos**

Los aspectos biotecnológicos más importantes a considerar para el diseño de los biorreactores utilizados en FES son: los microorganismos involucrados, la humedad y actividad de agua, la temperatura y la transferencia de calor, biomasa y cinética de crecimiento, transferencia de masa y el modelamiento matemático.

### ***Microorganismos***

En la FES, los microorganismos utilizados principalmente son cepas puras de hongos filamentosos, cultivos mixtos de hongos con cepas modificadas genéticamente (para trabajar en simbiosis) y cultivos mixto de cepas autóctonas aisladas de los sustratos utilizados.

Entre las cepas de hongos utilizados en FES los géneros más comunes son: *Aspergillus* [9,15,23,25], *Rhizopus* [10], *Trichoderma* [26], *Penicillium* [18,27], *Gliocladium* [28], *Saccobolus* [29], *Pleurotus* [30], *Phanerochaete* [28] y *Coriolus* [7].

Pandey [20] utilizando un cultivo mixto de *Aspergillus ellipticus* y *Aspergillus fumigatus*, logró mejorar la actividad hidrolítica y la producción de  $\beta$ -glucosidasa al comparar el desempeño de cada cepa.

Por otro lado, Pandey et. al.[28] utilizaron cepas de un mutante de *Trichoderma reesei* con una cepa de *Pleurotus sajor-caju*, obteniéndose un incremento en la concentración enzimática de celulasa. También se ha utilizado un cultivo mixto de *Trichoderma reesei* y *Aspergillus phoenicus* para aumentar la producción de la enzima xilanasa, respecto a la que se obtiene cuando se usan por separado [7].

### ***Actividad de agua***

La actividad de agua ( $a_w$ ) del sustrato tiene una participación muy importante en la actividad microbiana, al ser el factor clave para permitir el tipo de microorganismo a desarrollarse en dicho sustrato. El motivo de dicha relevancia se ha atribuido a que la actividad de agua es un parámetro fundamental para la transferencia de masa del agua y los solutos a través de la pared celular. Por consiguiente, el control de este parámetro se puede usar para modificar la producción metabólica de los microorganismos [31].

El papel del agua en los procesos de FES es muy variado, al ser el componente principal de la biomasa, sirviendo como fase para difusión de las enzimas y los nutrientes, al mismo tiempo que permite el intercambio gaseoso. Una humedad elevada en el sustrato (>60%), causa una disminución de la capacidad de acción de los poros del sustrato, dificultando la difusión del oxígeno. Por el contrario, una baja humedad (<30%) no permite un crecimiento adecuado del microorganismo ni una disponibilidad importante del sustrato [28].

### ***Temperatura y transferencia de calor***

Los hongos filamentosos que se utilizan en los procesos FES son, por lo general, mesófilos y crecen a temperaturas óptimas entre 29 y 35 °C. Sin embargo, la producción de calor metabólico durante el proceso causa un aumento significativo de la temperatura y si este calor no se elimina rápidamente del medio de cultivo, puede limitar seriamente el crecimiento microbiano. Las estrategias para controlar la temperatura y la humedad se centran en la optimización de la aireación y la evaporación del agua [32].

El crecimiento de hongos y la producción secundaria de metabolitos en FES, son influenciados por la temperatura y los procesos de transferencia de calor en el lecho del sustrato. Durante FES se genera una gran cantidad de calor, la cual es proporcional a las actividades metabólicas de los microorganismos. Sin embargo, los hongos pueden crecer a una temperatura óptima diferente a la temperatura requerida para la formación de productos metabólicos [20].

Los sustratos utilizados en FES tienen conductividades térmicas bajas, lo que disminuye la eliminación del calor e incrementa su acumulación. Por consiguiente, la mayoría de la investigaciones se orientan hacia la optimización del aumento del flujo de calor desde el interior del sustrato hacia los alrededores [7].

### ***Biomasa y cinética de crecimiento microbiano***

La determinación de la biomasa y el seguimiento de la cinética de crecimiento de los hongos filamentosos, son los aspectos biotecnológicos que de manera fundamental diferencian la fermentación sumergida de la fermentación en estado sólido. Para la fermentación sumergida, en la cual se utilizan principalmente bacterias y levaduras, la determinación de la biomasa y la caracterización de la cinética de crecimiento, se realizan por métodos colorimétricos y de separación mecánica de la biomasa por filtración y centrifugación, debido a que ésta no penetra el sustrato, como en el caso de la FES, en la cual se forma una estructura inseparable entre el sustrato y los microorganismos [1].

Entre los métodos utilizados para determinación de biomasa en FES se encuentran: filtración por membrana, determinación de la velocidad de respiración del microorganismo, espectroscopía infrarroja de reflectancia, cambios en glucosamina, ergosterol o azúcares totales en la composición química del hongo y determinación de la concentración del CO<sub>2</sub> producido o de la concentración del O<sub>2</sub> consumido por los microorganismos [7, 11, 20].

### ***Transferencia de masa***

En la FES la transferencia de masa se evidencia en dos niveles: microescala, la cual engloba la difusión de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, producción de enzimas, absorción de nutrientes y formación de metabolitos; y macroescala, la cual incluye flujo de aire a través del sustrato, tipos de sustrato, mezcla del sustrato, diseño del biorreactor, espacio entre partículas y variación en el tamaño de las partículas [6].

En FES las hifas de los hongos forman una masa en la superficie del sustrato y penetra el mismo mediante la secreción de metabolitos secundarios y enzimas [7].

Los gradientes de concentración entre partículas, debido al consumo de nutrientes en combinación con limitaciones en la transferencia de masa, tiene un efecto marcado en la eficiencia y velocidad del proceso [20].

En el caso del FES aeróbico, el desarrollo del proceso es afectado por la limitaciones en la disponibilidad de oxígeno. Debido a que el crecimiento del micelio se lleva a cabo en la superficie sólida y en el área vacía dentro del sustrato, el consumo de oxígeno se realiza en la interfase entre las partículas del sustrato y las hifas del micelio del hongo. El modelamiento del transporte de oxígeno entre el agua y las hifas del hongo se lleva a cabo considerando las hifas del hongo como una biopelícula de organismos unicelulares [19].

La transferencia de oxígeno depende del área superficial interfacial gas-líquido y del espesor de la capa húmeda de las hifas del hongo. Estos dos factores juegan un rol importante para la difusión convectiva del oxígeno en el proceso FES. Similarmente a la transferencia de oxígeno, la difusión de CO<sub>2</sub> se lleva a cabo desde las hifas del hongo a través del área vacía del sustrato sólido [14].

Las enzimas secretadas por las hifas del hongo actúan sobre el sustrato orgánico complejo convirtiéndolo en fuente de carbono simple, el cual es usado por el hongo para su crecimiento y desarrollo [1].

### ***Modelos matemáticos***

El diseño óptimo y la operación de biorreactores en fermentación en estado sólido dependen fundamentalmente del uso de las herramientas conocidas como modelamiento matemático. Estos modelos involucran dos aspectos, principalmente: la influencia de los parámetros del proceso en la cinética de crecimiento microbiano y los fenómenos de transporte de masa y calor llevados a cabo dentro del biorreactor [8].

Los modelos cinéticos dependen del tamaño de partícula, la densidad de empaque, la velocidad

de respiración, tamaño del poro de la partícula de sustrato, profundidad de penetración del micelio del hongo dentro del sustrato y el contenido de agua del lecho de sustrato. Los modelos de transporte dependen de la velocidad de crecimiento del hongo, velocidad de flujo de aire a través del lecho de sustrato, altura del lecho y la velocidad del proceso de remoción de calor [32].

## Diseño de biorreactores

En los procesos de fermentación en estado sólido, los biorreactores representan los ambientes físicos en los cuales se desarrollan los microorganismos responsables de transformar el sustrato. Los aspectos biotecnológicos mencionados anteriormente, representan los factores a considerar para el diseño de estos equipos de ingeniería de manera eficiente.

Los biorreactores se clasifican en: biorreactores a pequeña escala o de laboratorio y biorreactores a gran escala o escala industrial.

En la Tabla N° 1 se presentan los diferentes biorreactores que se han diseñado y puesto en funcionamiento a escala de laboratorio para realizar investigaciones en FES. Estos se han desarrollado principalmente considerando la dinámica de flujo en los lechos empacados, mediante convección forzada a través del lecho del aire necesario para el metabolismo celular e incrementando las dimensiones de la geometría cilíndrica (Columna, Zymotis, Growtek). Por otro lado, existen biorreactores en los cuales la dinámica de flujo se establece mediante el uso de la rotación de tambores perforados, con o sin baffles, para incrementar la transferencia de calor hacia el exterior del biorreactor y adicionalmente el mezclado (Tambor rotatorio perforado) [6,20,28,33,34].

**Tabla N°1. Biorreactores a escala de laboratorio usados en FES**

Tipo de biorreactor	Aspectos relevantes	Referencia
Columna	Columnas de vidrio con diferentes diámetros y diferentes alturas del material sólido. Las columnas de vidrio de 22mm de diámetro y 210 mm de alto, rellenas con 20 g de material sólido pre-inoculado, colocadas en un baño termorregulado de agua y con un flujo de aire saturado con agua de 5 L/h a través del material sólido, se utilizan para la producción de glucoamilasa a partir de una cepa pura de <i>Aspergillus niger</i> , con bagazo de caña de azúcar y desecho de yuca como sustrato.	[6,28]
Tambor perforado rotatorio	Para el mezclado del sustrato sólido en envases horizontales por rotación (con o sin baffles). En este caso el calor producido es minimizado.	[33]

Zymotis	Son modificaciones de los biorreactores de lecho empacado con platos internos, por los cuales circula agua a la temperatura óptima.	[34]
Growtek	Este tipo de biorreactor tiene un envase cilíndrico de 11,3 cm de diámetro y 16 cm de altura. Dentro del biorreactor existe un flotador, con un área de 72 cm <sup>2</sup> , con una base perforada. La fermentación del sustrato sólido inoculado se lleva a cabo encima del flotador. Mientras se mantiene una solución líquida de sales debajo del flotador. Los productos formados durante el proceso de fermentación drenan al medio líquido.	[20]

La Tabla N°2, presenta una recopilación de biorreactores a gran escala que se han diseñado y puesto en funcionamiento a nivel comercial.

**Tabla N°2. Biorreactores a escala industrial usados en FES**

<b>Biorreactor</b>	<b>Aspectos relevantes</b>	<b>Referencia</b>
Koji	Son biorreactores de bandejas (madera, plástico, metal). Las bandejas se arreglan verticalmente introduciéndolas en una cámara con control de temperatura y circulación de aire. La ventaja de este diseño es que se facilita el escalamiento aumentando el número de bandejas, pero la desventaja se establece en las dificultades de esterilización y el uso de grandes espacios.	[7]
PlaFractor™	Biorreactor diseñado en Biocon, India, en el cual se reemplazan las bandejas, el cuarto de incubación y los mecanismos de extracción en los procesos de cultivos con bandejas semi-automáticas, por un equipo compacto.	[22]

Lecho empacado	Son modificaciones de los biorreactores de columnas a escala de laboratorio. En este caso, una malla en el fondo del cilindro vertical se usa para sostener el sustrato, permitiendo el paso de aire por convección forzada a través del lecho estático. El calor producido en la columna se minimiza aumentando la humedad del aire que entra al reactor. La caída de presión en el lecho es un factor a tomar en cuenta por la presencia de canales en el lecho.	[35]
Tambor rotatorio	Son biorreactores en donde el sustrato es mezclado con el microorganismo por rotación, la cual puede ser continua o intermitente dependiendo de la altura del lecho y de la velocidad de rotación. Algunos factores críticos que afectan el funcionamiento de estos biorreactores son: tipo del sustrato, altura del lecho, fisiología del hongo y el tamaño de las partículas del sustrato. La incorporación de baffles mejora el funcionamiento de estos equipos.	[37,42]
Lecho fluidizado	En este caso el sustrato es fluidizado por el flujo de aire por la parte de abajo. La columna del equipo es suficientemente grande para permitir la expansión del lecho. En el tope la columna se ensancha para separar el sólido de la corriente de aire. El mantenimiento de las condiciones uniformes a través del sustrato y el incremento en el área de contacto es la ventaja principal de este tipo de biorreactor.	[37]

## Aplicaciones

Las principales aplicaciones de la fermentación en estado sólido se han enfocado en la producción de las siguientes biomoléculas (Tabla 3):

**Tabla 3. Biomoléculas de interés en FES**

		Referencias
Enzimas	Celulasa, hemicelulasas, endogluconasas, ligninasa, xilanasa, pectinasa, amilasa, lipasa, L-glutaminasa y $\beta$ -galactosidasa	[9,13,15,22,23,25,27,30,41-45]



Ácidos orgánicos	Ácido cítrico, ácido láctico y ácido gálico	[6,7]
Antibióticos	Penicilina, cefamicina, neomicina, iturina, ciclosporina A y cefalosporina	[6,21]

En lo concerniente al manejo integrado de desechos agrícolas, las aplicaciones principales se han centrado en la producción de: compostaje, ensilaje, biofertilizantes, biopromotores y biopesticidas, biocombustibles, biopulpeo, bioblanqueo, alimentos para animales y soluciones nutritivas para cultivos hidropónicos [1-4, 6, 11, 12, 16, 17, 38, 39, 40, 46].

### **Perspectivas futuras**

Actualmente existe una valiosa información relacionada con la fermentación en estado sólido y su potencialidad para la producción biotecnológica de biomoléculas (enzimas, ácidos orgánicos, antibióticos, pesticidas, fertilizantes, combustibles), alimentos para animales, abonos orgánicos y soluciones para cultivos hidropónicos.

Las futuras investigaciones deberán orientarse hacia la consolidación de los siguientes aspectos:

1.- Estudio de la fisiología microbiana para cultivos puros y mezclas, bajo las condiciones ambientales impuestas por la fermentación en estado sólido, como lo son: cinética de crecimiento, producción de metabolitos, trayectorias fermentativas y metabolismo respiratorio.

2.- Estudio sobre el tratamiento previo al sustrato sólido para permitir un bioproceso eficiente, sin limitaciones derivadas de la estructura fisicoquímica del mismo.

3.- Diseño de biorreactores que permitan resolver las dificultades provocadas por la combinación del metabolismo celular y fermentativo de los microorganismos y la dinámica de transferencia de calor, masa y cantidad de movimiento de los compuestos involucrados en el bioproceso (agua, oxígeno, dióxido de carbono, ácidos, álcalis, macro y micronutrientes).

4.- Estudio sobre modelamiento matemático que combine la cinética del crecimiento microbiano con los fenómenos de transporte y la estructura fisicoquímica del sustrato sólido.

5.- Construcción de un prototipo de biorreactor, para probar experimentalmente los resultados obtenidos del modelamiento matemático y lograr las herramientas necesarias para el escalamiento a etapas sucesivas de planta piloto y nivel industrial, para la comercialización de los productos generados del bioproceso estudiado.

### **Referencias Bibliográficas**

1. Ferrer, J., Páez, G., Mármol, Z., Ramones, E., Chandler, C, Marín, M y Ferrer, A.: "Agronomic use of biotechnologically processed grape wastes", *Bioresource. Technol.* Vol. 76 (2001) 39-44.
2. Ferrer, J., Páez, G., Chirinos, M. y Mármol, Z.: "Ensilaje de la pulpa de café", *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, Vol. 12 (1995) 417-428.

3. Ferrer, J., Páez, G. y Chirinos, M.: “ Bioproceso aeróbico de la pulpa de café”, *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia.*, Vol. 17, No. 2 (1994) 67-74.
4. Ferrer, J., Mujica, D. y Páez, G.: “Producción de un compostaje a partir de desechos de uva”, *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia*, Vol. 16, No.3 (1993) 191-198.
5. Ratledge, C. and Kristiansen, B.: “Basic Biotechnology”. Cambridge University Press. London. 2006.
6. Tengerdy, R. and Szakacs, G.: “Bioconversion of lignocellulose in solid substrate fermentation”, *Biochem. Eng. J.*, Vol. 13 (2003) 169-179.
7. Bhargav, S., Panda, B., Ali, M. and Javed, S.: “Solid-state fermentation: An overview”, *Chem. Biochem. Eng. Q.*, Vol. 22, No. 1 (2008) 49-70.
8. Mitchell, D., von Meien, O., Krieger, N. and Dalsenter, F.: “A review of recent developments in modeling of microbial growth kinetics and intraparticle phenomena in solid-state fermentation”, *Biochem. Eng. J.*, Vol. 17 (2004) 15-26.
9. Rahardjo, Y., Sie, S. and Weber, F.: ”Effect of low oxygen concentrations on growth and  $\alpha$ -amylase production of *Aspergillus oryzae* in model solid-state fermentation systems”, *Biomol. Eng.*, Vol. 21 (2005) 163-172.
10. Blandino, A., Dravillas, K., Cantero, D., Pandiella, S. and Webb, C.: “Utilisation of whole wheat flour for the production of extracellular pectinases by some fungal strains”, *Process Biochem.* Vol. 37 (2001) 497-503.
11. Vaccarino, C., Lo Curto, R., Tripodo, M., Patané, R. and Ragno, A.: “Grape marc as a source of feedstuff after Chemicals treatments and fermentation with fungi”, *Bioresource Technol.* Vol. 40 (1992) 35-41.
12. Santiago, B., Ferrer, J., De Comenares, N. y Páez, G.: “Los desechos de uva y su posible uso industrial”, *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia*, Vol. 16, No. 3 (1993) 199-208.
13. Suprabha, G., Sindhu, R., and Shankar, S.: “Fungal xylanase production under solid state and submerged fermentation conditions”, *Afr. J. Microbiol. Res.* , Vol. 2, No. 1 (2008) 82-86.
14. Chandler, C., Ferrer, J., Mármol, Z., Páez, G., Ramones, E. y Perozo, R.: “Efecto de la aireación en el compostaje del bagacillo de la caña de azúcar”, *Multiciencias*, Vol. 8, No. 1 (2008) 19-27.
15. Botella, C., De Ory, I., Webb, C., Cantero, D and Blandino, A.: “Hydrolytic enzyme production by *Aspergillus awamory* on grape pomace”, *Biochem. Eng. J.*, Vol. 26 (2005) 100-106.
16. Hamidi-Esfahani, Z., Hejazi, P., Shojaosadati, S., Hoogschagen, M., Vasheghani-Farahani, E. and Rinzema, A.: “A two-phase model for fungal growth in solid-state cultivation”, *Biochem. Eng. J.*, Vol. 36 (2007) 100-107.
17. Ferrer, J., Páez, G. y Chirinos, M.: “Deshidratación y digestibilidad in Vitro de la pulpa de café ensilada”, *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia*, Vol. 17, No. 3 (1994) 189-195.
18. Roussos, S. y Perreud-Gaime, I.:”Fisiología de microorganismos utilizados em procesos de fermentación em médio sólido”, E. Galindo (Ed.) *Fronteras en Biotecnología y Bioingeniería*, Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería. (1996) 341-348.
19. Berradre, M., Mejías, M., Ferrer, J., Chandler C., Páez, G., Mármol, Z. Ramones, E. y Fernandez, V. “Fermentación en estado sólido del desecho generado en la industria vinícola”. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. Vol. 26, No. 1. (2009) 398-422.
20. Pandey, A.: “Solid-state fermentation”, *Biochem. Eng. J.*, Vol. 13 (2003) 81-84.
21. Liu, J. and Yang, J.: “Process Calorimetry on solid-state fermentation of vinegar wastes in bioreactor with air pressure pulsation”, *Chem. Biochem. Eng. Q.*, Vol. 20, No. 4 (2006) 449-455.
22. Suryanarayan, S.: “Current industrial practice in solid state fermentation for secondary metabolite production: the Biocon India experience”, *Biochem. Eng. J.*, Vol. 13 (2003) 189-195.
23. Nizamuddin, S., Sridevi, A. and Narasimha, G.: “Production of  $\beta$ -galactosidase by *Aspergillus oryzae* in solid-state fermentation”, *Afr. J. Biotechnol.*, Vol 7, No. 8 (2008) 1096-1100.
24. Ferrer, J. y Sánchez, E.: “Obtención de una solución nutritiva para cultivos hidropónicos a partir

- de desechos de uva (*Vitis vinífera* L.)” *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia*, Vol. 17, No. 3 (1994) 197-206.
25. Botella C., Diaz, A., De Ory, I., Webb, C. and Blandino, A.: “Xylanase and pectinase production by *Aspergillus awamori* on grape pomace in solid state fermentation”, *Process Biochem.*, Vol. 42, No. 1 (2007) 98-101.
  26. Melek, S., González, A. y Mas Diego, S.: “Influencia de algunos parámetros en la fermentación en estado sólido del hongo *Trichoderma viride*”, *Tecnol. Quim.*, Vol. XXI, No. 1 (2001) 82-87.
  27. Paz-Lago, D y Hernández, M.: “Purificación y caracterización parcial de la enzima xilanasa a partir del preparado comercial Novoban 240”, *Cult. Trop.* Vol. 21, No. 2 (2000) 27-31.
  28. Pandey, A., Selvakumar, P., Soccol, C. and Nigam, P.: “Solid state fermentation for the production of industrial enzymes”, *Current Sci.*, Vol. 77 (1999) 149-152.
  29. Diorio, L., Forchiassin, F., Papinutti, V. y Sueldo, D.: “Actividad enzimática y degradación de diferentes tipos de residuos orgánicos por *Saccobolus saccoboloides* (Fungi, Ascomucotina)”, *Rev. Iberoam. Micol.*, Vol. 20 (2003) 11-15.
  30. Bermúdez, R., Morris, H., Donoso, C., Martínez, C. y Ramos, E.: “Influencia de La luz en la calidad proteica de *Pleurotus ostreatus* var. *florida*”, *Ver. Cubana Invest. Biomed.*, Vol. 22, No. 4 (2003) 226-231.
  31. Gervais, P. and Molin, P.: “The role of water in solid-state fermentation”, *Biochem. Eng. J.*, Vol. 13. No. 2, (2003) 85-101.
  32. Mitchell, D., von Meien, O. and Krieger, N.: “Recent developments in modeling of solid-state fermentation: heat and mass transfer in bioreactors”, *Biochem. Eng. J.*, Vol. 13 (2003) 137-147.
  33. Marsh, A., Stuart, D., Mitchell, D. and Howes, T.: “Characterizing mixing in a rotating drum bioreactor for solid-state fermentation”, *Biotechnol. Lett.* Vol. 22 (2000) 473-477.
  34. Mitchell, D. and von Meien.: “Mathematical modeling as a tool to investigate the design and operation of the Zymotis packed-bed bioreactor for solid-state fermentation” *Biotechnol. Bioeng.* Vol 68 (2000) 127-135.
  35. Hasan, S., Costa, J. and Sanzo, A.: “Heat transfer simulation of solid-state fermentation in a packed-bed bioreactor”, *Biotechnol. Tech.*, Vol. 12 (1998) 787-791.
  36. Hardin, M., Mitchell, D. and Howes, T.: “Residence time distributions of gas flowing through rotating drum bioreactors”, *Biotechnol. Bioeng.*, Vol. 74 (2001) 145-153.
  37. Menner, M. and Bahr, D.: “Solid-state fermentation of starter cultures in fluidized bed. Part. 2. Mathematical modeling”, *Bioforum.* Vol. 18 (1995) 366-372.
  38. Wright, D., Wyman, C. and Grohman, K.: “Evaluation of bioethanol production from lignocellulose”, *Appl. Biochem. Biotechnol.* , Vol. 57, (1998) 741-761.
  39. Tengerdy, R. and Szakacs.: “Perspectives in agrobiotechnology”, *J. Biotechnol.*, Vol. 66 (1998) 91-99.
  40. Julián, M. y Ramos, L.: “Fermentación en estado sólido (I). Producción de alimento animal”, *Tecnol. Quim.*, Vol. XXVII, No. 3 (2007) 17-22.
  41. Sinh, G., Sing, H., Kaur, S., Bansal, S. , Kaur, S. “Value-addition of agricultural wastes for augmented cellulose and xylanase production through solid-state tray fermentation employing mixed-culture of fungi” *Industrial Crops and Products.*, Vol. 34 (1) (2011) 1160-1167.
  42. Wang, E., Li, S., Tao, L., Geng, X., Li, T. “Modeling of rotating drum bioreactor for anaerobic solid-state fermentation” *Applied Energy.* Vol. 87 (9) (2010) 2839-2845.
  43. Chen, H., Chen, X., Chen, T., Xu, X., Jin, Z. “Extraction and optimization of inulinase obtained by solid-state fermentation of *Aspergillus ficuum* JNSP5-06” *Carbohydrate Polymer.* Vol. 85 (2) (2011) 446-451.
  44. Dhillon, G., Kaur, S., Kaur, S., Metahni, S., M’hamdi, N. “Lactoserum as a moistening medium and crude inducer for fungal cellulose and hemicellulose induction through solid-state fermentation of apple pomace”. *Biomass and Bioenergy.* Vol. 41 (2012) 165-174.
  45. Farinas, C., Vitcosque, G., Fonseca, R., Bertucci, V., Couri, S. “Modeling the effects of solid

- state fermentation operating conditions on endoglucanase production using an instrumented bioreactor". *Industrial Crops and Products*. Vol. 34 (1) (2011) 1186-1192.
46. Li, S., Li, G., Zhang, L. Zhou, Z, Han, B., Hou, W, Wang, J. Li, T. "A demonstration study of ethanol production from sweet sorghum stems with advanced solid state fermentation technology". *Applied Energy*. Vol. 102 (2013) 260-265.