DOI: <https://doi.org/10.46296/ig.v4i8.0034>

COLUMNAS EMPACADAS PARA LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS LIGNOLÍTICAS A PARTIR DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES

COLUMNS PACKED FOR THE PRODUCTION OF LIGNOLYTIC ENZYMES FROM AGROINDUSTRIAL WASTE

Zambrano-Macías Pierre Paolo^{1*}, Vera-Párraga Nixon Eduardo¹, Rosero-Delgado Ernesto Alonso¹

¹Carrera de Ingeniería Química, Facultad de Ciencias Matemáticas, Físicas y Químicas, Universidad Técnica de Manabí, UTM. Portoviejo, Ecuador.

***Correo:** pzambrano4068@utm.edu.ec

Resumen

Comenzando con una breve descripción de la fermentación en estado sólido (FES) se señalan las enzimas producidas por diferentes microorganismos sobre distintos sustratos sólidos. Se detallan las columnas empacadas tradicionales como biorreactor de FES y se revisan las variables de interés como temperatura, aireación, tamaño y forma de las partículas, densidad de empaque, porosidad, actividad de agua y pH. Se puntualizan consideraciones que son cruciales en el rendimiento de un biorreactor de columna empacada como la selección del sistema, relación del tamaño, agitación, calor metabólico, influencia del aire en el calor metabólico. Se incluyen ecuaciones que permiten estudiar la actividad metabólica del microorganismo como la ecuación estequiométrica general, el coeficiente respiratorio y el rendimiento biomasa/sustrato ($Y_{x/s}$). Se señalan los factores biológicos que permiten evaluar el crecimiento de la biomasa como la tasa de crecimiento específico (μ), la tasa específica de consumo del sustrato (q_s) y el tiempo de latencia (λ). Se indica el rol de la modelación matemática en el biorreactor y se plantean las ecuaciones Logística modificada y Gompertz modificada para describir el rendimiento general del biorreactor.

Palabras clave: fermentación en estado sólido, enzimas, columnas empacadas, biomasa.

Abstract

Starting with a brief description of solid-state fermentation (SSF) the enzymes produced by different microorganisms on different solid substrates are pointed out. Traditional packed columns such as FES bioreactor are detailed and the variables of interest such as temperature, aeration, size and shape of the particles, packing density, porosity, water activity and pH are reviewed. Crucial considerations in the performance of a packed column bioreactor are pointed out, such as system selection, size ratio, agitation, metabolic heat, the influence of air on metabolic heat. Equations that study metabolic activity of the microorganism are included, such as the general stoichiometric equation, the respiratory coefficient and the biomass / substrate ($Y_{x/s}$). The biological factors that allow evaluating the growth of biomass are indicated, such as the specific growth rate (μ), the specific rate of consumption of the substrate (q_s) and the latency phase (λ). The role of mathematical modeling in the bioreactor is indicated and the Modified Logistics and Modified Gompertz equations are proposed to describe the general performance of the bioreactor.

Keywords: solid-state fermentation, enzymes, packed columns, biomass.

Información del manuscrito:

Fecha de recepción: 03 de mayo de 2021

Fecha de aceptación: 28 de mayo de 2021

Fecha de publicación: 09 de julio de 2021

1. Introducción

Las columnas empacadas como biorreactores de fermentación sólida proporcionan el ambiente en el que se puede llevar a cabo el desarrollo y la actividad biológica de los microorganismos.

Son particularmente útiles para optimizar las condiciones de cultivo y para experimentos cinéticos. Debido a su diseño compacto, permiten probar un gran número de condiciones experimentales simultáneamente (Brand et al., 2001; Mitchell, 2006). Las columnas empacadas tradicionales solo han sido utilizadas en las primeras fases de crecimiento, durante las etapas de colonización y formación de primordios, sin llegar a la fase de fructificación. Una variante de las columnas empacadas permite estudiar la cinética del proceso a través de la actividad respirométrica del microorganismo para la comprensión de su metabolismo (Soccol et al., 2017).

El uso de las columnas empacadas se ha posicionado en los últimos 20 años como una alternativa viable para efectuar fermentaciones sólidas, esto gracias a su sencillez en la bioconversión de sustratos sólidos de bajo costo (Bharti & Dutt,

2018; Sath et al., 2018). Con base en ello, en los últimos años, investigadores de todo el mundo han mostrado una creciente atención y como efecto de ello, se han realizado estudios referentes a su viabilidad para ser aplicado en la producción de enzimas y otras sustancias de interés industrial (Ruíz et al., 2007).

El desarrollo de las columnas empacadas comienza normalmente en el laboratorio con la definición de las variables de interés, en el caso de los procesos de fermentación esas condiciones representan los nutrientes del sustrato y sus propiedades físico-químicas, la temperatura, el pH, aireación, entre otras (Pandey, 2003; Adnan et al., 2017). Cada estudio de las columnas empacadas requiere de una caracterización y consideraciones para establecer la propuesta en el diseño del biorreactor. En él se requiere abordar ecuaciones que permitan describir el proceso biológico del biorreactor y se deben identificar los parámetros biológicos que se caracterizan en una curva de crecimiento.

En esta revisión se detallan las columnas empacadas como biorreactor de fermentación sólida

para la obtención de enzimas lignolíticas de interés industrial. Se describen las variables de operación, así como los factores importantes a considerar para su diseño.

2. Fermentación en estado sólido

La fermentación en estado sólido (FES) es definida por varios autores como el crecimiento de microorganismos en partículas sólidas húmedas, en situaciones en las que los espacios entre partículas contienen una fase gaseosa continua y un mínimo de agua visible (Lonsane et al., 1985; Mitchell, 2006; Moo-Young & Tengerdy, 1983; Pandev, 1992). Aunque el agua puede estar presente en la matriz sólida como una película delgada en la superficie de las partículas (Reid, 1989) o atrapada dentro de la región capilar del sólido (Mudgett, 1986). Gran parte de los procesos de fermentación sólida involucran hongos filamentosos (Martín del Campo et al., 2015), sin embargo, algunos involucran bacterias y levaduras para la obtención de enzimas y otros metabolitos (Barrios, 2012). También existen aplicaciones de este método de fermentación directamente en el procesamiento de alimentos (Ghosh, 2016). En los

procesos de FES participan microorganismos aerobios, siendo la mayoría hongos y bacterias (Krishna, 2005). Los más relevantes son los hongos filamentosos, debido a que la fermentación sólida lleva al microorganismo a una interacción directa con el sustrato para su crecimiento y la producción de compuestos de valor agregado (Singhania et al., 2009).

En aplicaciones industriales, los sistemas FES se pueden utilizar en condiciones de control destinadas a producir diferentes productos. Desarrollo de bioprocesos, tales como biorremediación (Kaewlaoyoong & Al., 2020), biodegradación de compuestos peligrosos (Iark & Al., 2019), bioconversión de biomasa (Khonngam & Apilak, 2019), biotransformación de residuos de cultivos para enriquecimiento nutricional (Santos et al., 2018); biopulpado (Colonia et al., 2019); y la producción de productos con valor agregado tales como metabolitos secundarios biológicamente activos, incluidos antibióticos (Nagavalli et al., 2015), alcaloides (Wang et al., 2016), factores de crecimiento de plantas (Gao et al., 2020), enzimas

(Behera & Ray, 2016; Karp et al., 2015), ácidos orgánicos (Tang et al., 2015; Vandenberghe et al., 2018) y, bioplaguicidas (Rodríguez et al., 2019), biosurfactantes (Velioglu & Ürek, 2015), biocombustibles (Li et al., 2013), compuestos aromáticos (Madrera et al., 2015), entre otros.

2.1. Producción de enzimas fúngicas en FES

Las enzimas son usadas por los hongos filamentosos para descomponer la materia vegetal y los materiales complejos del medio ambiente, que a su vez se absorben a través de las paredes de las hifas y se utilizan para su crecimiento y mantenimiento (Edwards et al., 2017). El sistema enzimático de los hongos incluye dos tipos de enzimas extracelulares (Andlar et al., 2018): hidrolíticas, responsables de la degradación de los polisacáridos

(Jadhav et al., 2017) y oxidantes o también llamadas lignolíticas, que degradan la lignina y abren los anillos de fenilo (Sanchez, 2009).

Los bioproductos más comunes destinados a la producción a través de la fermentación sólida son las enzimas (Sermanni & Tiso, 2008). Por eso, es una referencia para los procesos FES, debido a su diversidad en la producción de enzimas (Tabla 1). La importancia de la FES en la producción de las enzimas se debe a los residuos agroindustriales que generalmente se utilizan para este propósito (Sadh et al., 2018). Los nutrientes en el sustrato apoyan el crecimiento del microorganismo y debido a su metabolismo pueden secretar enzimas (Ravindran et al., 2018; Evans & Hedger, 2001).

Tabla 1.

Enzimas producidas y sustratos utilizados en FES.

Enzima	Microorganismo	Sustrato	Referencia
amilasa	<i>Bacillus subtilis</i>	salvado de trigo, cáscaras de frutas	(Almanaa et al., 2020)
	<i>Thermomyces sp.</i>	residuos de soya y pan	(Cerde et al., 2016)
β-glucosidasa	<i>Gongronella butleri</i>	salvado de trigo y soya, cáscara de arroz	(Santos et al., 2016)

	<i>Colletotrichum graminicola</i>	salvado de trigo	(Zimbardi et al., 2013)
β -xilosidasa	<i>Colletotrichum graminicola</i>	salvado de trigo	(Zimbardi et al., 2013)
celulasa	<i>Rhizopus oryzae</i>	hojas de palma de aceite crudo	(Ezeilo et al., 2020)
esterasa	<i>Aspergillus niger</i>	cascarilla de maíz	(Camacho et al., 2016)
	<i>Yarrowia lipolytica</i>	cáscaras de sandía	(Sales et al., 2020)
glucoamilasa	<i>Aspergillus niger</i>	salvado de trigo	(Gupta & Nagar, 2020)
	<i>Aspergillus awamori</i>	residuos de pan	(Melikoglu et al., 2015)
inulinasa	<i>Penicillium oxalicum</i>	salvado de maíz	(Singh & Chauhan, 2018)
	<i>Mucor circinelloides</i>	Pulpa de manzana	(Singh et al., 2020)
invertasa	<i>Aspergillus niger</i>	salvado de trigo, harina de soya, harina de semilla de algodón, cáscara de naranja	(Ohara et al., 2015)
lacasa	<i>Trametes versicolor</i>	tallos de maíz	(Adekunle et al., 2017)
	<i>Ganoderma lucidum</i>	cáscara y paja de arroz, cáscara de girasol	(Postemsky et al., 2017)
lignina peroxidasa	<i>Ganoderma lucidum</i>	residuos de maíz	(Mehboob et al., 2011)
lipasa	<i>Yarrowia lipolytica</i>	cáscaras de sandía	(Sales et al., 2020)
manganeso peroxidasa	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	residuos de yuca	(Li et al., 2015)
pectinasa	<i>Aspergillus oryzae</i>	residuos cítricos, bagazo de caña	(Biz et al., 2016)
proteasa	<i>Aspergillus tamarii</i>	salvado de trigo	(Novelli et al., 2016)
queratinasa	<i>Bacillus weihenstephanensis</i>	plumas secas	(Sahoo et al., 2015)
xilanasa	<i>Rhizopus oryzae</i>	hojas de palma de aceite crudo	(Ezeilo et al., 2020)

	<i>Colletotrichum graminicola</i>	salvado de trigo	(Zimbardi et al., 2013)
--	---------------------------------------	------------------	----------------------------

Un largo número de microorganismos, incluido bacterias, levaduras y hongos producen una gran variedad de enzimas (Tabla 1). El sistema de fermentación sólida es un proceso atractivo para la elaboración de enzimas utilizando como cultivos los hongos filamentosos, como se mencionó anteriormente, los sustratos sólidos tienen características similares a su hábitat natural, lo que resulta en un mejor crecimiento y secreción de una amplia gama de enzimas (Singhania et al., 2009).

La literatura revela que se ha trabajado ampliamente en la obtención de enzimas mediante la fermentación en estado sólido para la aplicación de procesos industriales como: tratamiento de residuos del curtido industrial (Abraham et al., 2014; Yazid et al., 2016), hidrólisis de proteínas (Yazid et al., 2016) y residuos lignocelulósicos para la producción de biohidrógeno (Saratale et al., 2014), sacarificación de materiales lignocelulósicos para la producción de bioetanol (Kumar et al., 2016),

aditivo en detergentes como reemplazo de la soda cáustica (Verma et al., 2014), biodestintado y bioblanqueo de residuos de papel de fotocopadoras (Pathak et al., 2014), producción de xilitol (Burhan et al., 2019), recuperación de plata a partir de películas de RX (Verma et al., 2014), degradación de colorantes industriales (Wittong et al., 2019).

En la figura 1 se observa un esquema tradicional del proceso de producción de enzimas en sistemas FES y fermentación líquida (FEL). En la fermentación sólida se extraen del lecho sólido mediante el uso de una solución de arrastre, mientras que en la fermentación líquida las enzimas se encuentran diluidas en el medio. En ambos sistemas las enzimas son extraídas después del período de cultivo, siendo el producto posfiltrado un sobrenadante líquido que contiene las enzimas de interés.

Figura 1. Esquema tradicional del sistema de fermentación sólido/líquido.

3. Biorreactores de columna empacada

En cualquier proceso de fermentación, el biorreactor proporciona el ambiente para el desarrollo y la actividad de los microorganismos que provocan la reacción biológica. Hay varios parámetros que deciden la idoneidad del tipo de fermentador que se utilizará en cualquier proceso de fermentación en particular (Pandey, 1991). Para ello, Mitchell (2006), los divide en grupos en función de las estrategias de aireación y agitación.

Las columnas empacadas, columnas Raimbault o camas empacadas constan generalmente de un sistema de columnas (Raimbault & Alazard, 1980)

construidas en vidrio o plástico, en la que el sustrato sólido se apoya sobre una base perforada, desde la cual se introduce aire forzado (Figura 2) (Farinas, 2015). El aire estéril se suministra por medio de una bomba y es controlado con ayuda de una válvula o de un caudalímetro. Las columnas empacadas pueden equiparse con chaquetas de agua para controlar esta variable durante la fermentación (Raimbault & Alazard, 1980) (Figura 3). Rosero & Dustet (2017) desarrollaron una variante al control de variables de temperatura y humedad mediante un módulo de fermentación experimental, en donde la temperatura es regulada mediante una placa calefactora y distribuida con ayuda de un ventilador (Figura 4). El aire suministrado pasa por una columna de humificación para reducir la pérdida de humedad del sustrato sólido durante el proceso de fermentación, mientras que los gases de salida son capturados con una trampa de gases que contiene una solución de hidróxido; esto permite el estudio de la fermentación por medio de la actividad respirométrica (O_2 consumido y CO_2 producido) del microorganismo para

la compresión de su metabolismo (Soccol et al., 2017).

Figura 2. Representación esquemática de un biorreactor de columna empacada (Krishania et al., 2018).

Figura 3. Esquema de columnas empacadas con chaqueta (Raimbault & Alazard, 1980). 1. Válvula reguladora del flujo de aire; 2. Columna de humidificación; 3. Medidores de flujo de aire; 4. Baño de agua regulado; 5. Columna de fermentación; 6. Sistema de cierre de gases; 7. Analizador de gases.

Figura 4. Esquema del módulo experimental de fermentación (Rosero & Dustet, 2017). 1. Válvula de ingreso de agua; 2. Bomba de aire estéril; 3. Válvula reguladora del flujo de aire; 4. Columna de humidificación; 5. Sistema de calefacción y ventilación; 6. Lámpara UV; 7. Columna de fermentación; 8. Sistema de cierre de gases; 9. Trampa de gases.

Los biorreactores de columna empacada son uno de los diseños de FES más adecuados para su uso a escala de laboratorio. Permiten realizar estudios que implican el cribado de microorganismos y la optimización de la composición del medio utilizando pequeñas cantidades de sustrato, y la geometría de la columna ayuda a mantener una temperatura estable en el biorreactor (Pirota et al., 2013).

Las columnas empacadas son aplicadas durante las primeras etapas de los estudios de FES, debido a la variedad de información que proporcionan sobre el proceso (Raimbault & Alazard, 1980), han sido usadas como una opción viable

para la producción de enzimas y otros metabolitos (Obregon, 2018; Robinson et al., 2001; Robinson & Nigam, 2003; Woiciechowski et al., 2013). Son particularmente útiles para optimizar las condiciones de cultivo y para experimentos cinéticos. Debido a su diseño compacto, permiten probar un gran número de condiciones experimentales simultáneamente (Mitchell et al., 2001), manteniendo el ambiente óptimo de la fermentación sólida: una aireación eficaz y un crecimiento uniforme del micelio en todo el sustrato (Aguilar et al., 2002; Hassouni et al., 2006; Nora, 2008), permitiendo el control en línea de los gases de escape que se puede utilizar como una medida indirecta del crecimiento microbiano (Mitchell et al., 2001).

En la industria, las columnas empacadas se utilizan para procesos de separación como absorción, decapado, destilación y otras como la remoción de partículas extrañas y compuestos químicos indeseables (Durand, 2003; Pérez et al., 2019), siendo gran parte de su aplicación en la industria de procesamiento de los alimentos (Ali & Akhtar, 2018). Sin embargo, a día de hoy, su empleo se

considera en las operaciones que conllevan transferencia de masa y de calor y requieren el contacto directo entre fases (Chuquín, 2013; Orozco, 2018; Richardson et al., 2002). Una de las principales ventajas de los biorreactores de fermentación sólida con cultivos fúngicos es la facilidad con la que pueden crecer en sustratos complejos como los residuos agroindustriales, sin mucho pretratamiento (Alvira et al., 2010). La complejidad del sustrato surge de la presencia de estructuras macromoleculares como celulosa, lignina, almidón e incluso moléculas más pequeñas. Los hongos no pueden absorber directamente estas macromoléculas, y secretan enzimas para hidrolizarlas en compuestos metabolizables más pequeños (Doelle et al., 1992).

4. Variables de interés en un biorreactor de columna empacada

4.1. Temperatura

El crecimiento de los microorganismos y la producción de los metabolitos suelen ser sensibles a los cambios de temperatura. Los hongos que producen enzimas pueden crecer en un amplio rango de 20 a 55 °C, y la temperatura óptima

de crecimiento podría ser diferente a la de formación de productos (Yadav, 1988). La temperatura es un parámetro complejo de controlar, debido a la mala conductividad térmica de la matriz sólida, así como a la naturaleza estática de la FES (Gowthaman et al., 2001). El control de la temperatura es complejo en los sistemas a gran escala debido a que la generación de calor conduce a graves pérdidas de humedad, bajos rendimientos u otros problemas (Krishna, 2005).

4.2. Aireación

La aireación tiene una influencia significativa en un biorreactor de FES debido al aporte de oxígeno al proceso aeróbico y a los fenómenos de transporte de calor y masa en el sistema (Pandey et al., 2001). Muchos parámetros operativos y características del medio pueden afectar las tasas de transferencia de O_2 , como: la porosidad de los sólidos húmedos, la profundidad del lecho, las perforaciones en el recipiente de cultivo, el contenido de humedad del medio y la geometría del reactor (Lonsane et al., 1992).

Los puntos a tener en cuenta con la aireación son el caudal y la calidad del aire. El aire seco a un caudal

elevado tendrá un efecto sobre la humedad del sustrato fermentado, aunque tiene una ventaja en términos de eliminación de calor. Se demostró que la tasa de aireación posee un efecto positivo sobre el crecimiento microbiano y la producción de metabolitos (Assamoi et al., 2008; Gutarra et al., 2005; Zhang et al., 2003). Además, la tasa de aireación por aire saturado controla la temperatura y los gradientes de humedad del medio sólido (Umsza-Guez et al., 2011).

4.3. Propiedades del sustrato

Para la selección del sustrato adecuado para el crecimiento del microorganismo, existen varios factores involucrados. Es necesario determinar algunas de estas propiedades para incluirlas en los modelos de biorreactores. Otros pueden no aparecer en los modelos, pero puede influir en el rendimiento del biorreactor y, por lo tanto, es necesario pensar en ellos durante el desarrollo del proceso. Los más importantes son su disponibilidad y su bajo valor comercial (Daioglou et al., 2016), y otros factores como: su capacidad de retener agua (de Castro & Sato, 2015), la composición química del sustrato (de Castro et al.,

2014), el tamaño y forma de las partículas, y la porosidad.

4.4. Tamaño y forma de las partículas

El tamaño y la forma de las partículas se atribuyen a la accesibilidad de la matriz sólida al microorganismo (Barrios et al., 1993). Las partículas pequeñas contribuyen a una mayor densidad de empaque, lo que afectará la transferencia de oxígeno; en cambio, partículas grandes derivan en una menor accesibilidad de la matriz y mostrarán un menor rendimiento en la fermentación (Favela et al., 1998). En los modelos de biorreactores FES deben realizarse experimentos de laboratorio con diferentes tamaños de partículas para determinar el tamaño óptimo desde la perspectiva de los rendimientos de conversión (Tosuner et al., 2019; Vidal et al., 2011). El tamaño de partícula determina varios parámetros a través de los cuales se caracteriza un sistema heterogéneo, como la

densidad del empaque y la porosidad. Sin embargo, en relación con el tamaño de partícula, debe tenerse en cuenta que en los procesos FES no permanece constante y tiende a disminuir (van Kuijk et al., 2016). La principal causa en la variación de la fracción vacía es la formación del micelio (Zadrazil & Puniya, 1995), esto es particularmente cierto en sistemas en el que se utilizan hongos, que, durante la colonización, comienza a degradar la capa exterior del sustrato antes de llegar al interior (Sachs et al., 1991).

4.5. Densidad de empaque

Por lo general, es necesario conocer la densidad del empaque, es decir la densidad de relleno del lecho (ρ_e) (Figura 5). Esto relaciona la masa (m_s) del lecho con el volumen conocido (V) que el lecho ocupará. Se puede determinar experimentalmente mediante la Ecuación 1 (Costa et al., 1998).

$$\text{porosidad} = \frac{\text{volumen de vacíos}}{\text{volumen total}}$$

$$\text{densidad de empaque} = \frac{\text{masa total del lecho}}{\text{volumen total del lecho}}$$

Figura 5. Significado físico de dos propiedades importantes del lecho: la porosidad y la densidad de empaque (Mitchell, 2006).

$$\rho_e = \frac{m_s}{V} \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde ρ_e , tiene las unidades g.L^{-1} o su equivalente Kg.m^{-3} . La densidad de empaque también puede ser calculada si se conoce la porosidad del lecho (ϵ) y la densidad de las propias partículas sólidas (ρ_p).

$$\rho_e = \rho_p(1 - \epsilon) + \rho_a \epsilon \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde: ρ_a es la densidad del aire (Mitchell, 2006).

4.6. Porosidad

La porosidad del sólido afecta el flujo de fluido y altera aún más sus características de transferencia de masa y calor. Por ejemplo, la porosidad afecta la penetración del aire, la transferencia de calor y la difusión efectiva del aire en medio poroso (Wang et al., 2018), por lo cual se ve afectado el rendimiento de un proceso de FES. La porosidad mide la fracción total del lecho que está compuesta por los espacios vacíos (ϵ) (Figura 6), que se define en la Ecuación 3 (Pandey et al., 2008).

$$\varepsilon = \frac{V_a}{V_b} = \frac{V_b - V_s}{V_b} = 1 - \frac{V_s}{V_b} \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde: V_b , es el volumen total que ocupa el lecho (m^3); V_a , es el volumen interior de la columna que ocupa el aire (m^3) y V_s es el volumen dentro del lecho que ocupan las partículas del sustrato (m^3). Para

partículas de tamaño irregular (Figura 6), como los son generalmente los residuos agroindustriales, no es posible medir con exactitud la porosidad con ecuaciones simples por lo que debe determinarse experimentalmente (Mitchell, 2006).

Figura 6. Efecto del tamaño de partícula sobre la porosidad

4.7. Actividad de agua del sólido

La actividad del agua es importante para que los microorganismos completen la actividad física (Chirife & Fontana, 2020). Aunque existe poca o nula agua libre en la fermentación sólida, el agua unida a las partículas sólidas determina si la reacción biológica puede continuar exitosamente (Chen, 2013). La actividad de agua es definida como la relación de la presión de vapor de equilibrio del agua en el material a la

del agua pura a la misma temperatura y se puede determinar mediante la ecuación 4 (Gervais & Molin, 2003).

$$a_w = \frac{P_w}{P_T} = \gamma_w X_w \quad (\text{Ec. 4})$$

En donde: P_w , se define como la presión parcial del agua; P_T , es la presión total del gas en el sistema; γ_w , coeficiente de la actividad del agua y X_w , la fracción molar del agua en el sistema. En los diseños de biorreactores FES, como en las

columnas empacadas se necesita ajustar el valor de la actividad del agua de acuerdo con las características de diferentes microorganismos (Chen & Xu, 2004).

Durante el proceso de fermentación dentro del biorreactor existen pérdidas de agua, lo que dificultaría la difusión de los gases y ralentizaría el metabolismo del microorganismo, o incluso podría detenerse (Gervais & Molin, 2003); por lo tanto, debe minimizarse la pérdida de agua por evaporación mediante la incorporación de aire saturado. No es práctico agregar agua en el lecho debido a que no se va a distribuir de manera uniforme entre las partículas del sustrato al ser un lecho estático (Mitchell et al., 2006).

4.8. pH

El pH del sustrato ejerce una influencia importante en la eficiencia general de la fermentación. Esto se debe a que el pH puede ir cambiando como respuesta a sus actividades metabólicas (Peña et al., 2015). Cada microorganismo posee un rango para su crecimiento con un valor óptimo dentro del rango (Liu et al., 2015; Walker & White, 2017). En sistemas FES, el control del pH externo no es posible debido a la

naturaleza sólida del sustrato (Srivastava et al., 2019). Sin embargo, un intento de cambiar la variabilidad del pH durante el proceso se obtiene mediante el uso de formulación tampón con componentes que no tienen influencia perjudicial sobre la actividad metabólica del microorganismo (Rodriguez et al., 2008).

5. Consideraciones en un biorreactor de columna empacada

5.1. Selección del sistema

La operación continua en un biorreactor de columna empacada no es una opción útil en diseños de fermentación sólida. En la fermentación líquida los nutrientes añadidos a un biorreactor continuo se distribuyen por todo el biorreactor, quedando a disposición de todos los microorganismos (Mitchell et al., 2006). En FES, cualquier partícula sólida agregada a la fermentación debe ser colonizada, proceso que tomará un período significativo de tiempo.

5.2. Relación del tamaño

La relación del tamaño dependerá de la masa del sustrato que debe

contener y la densidad del empacado de la cama (Mitchell et al., 2006). En el proceso de ampliación de la columna existe un límite en la altura de la columna, en el sentido de que lechos muy altos tendrán como resultado rendimientos muy bajos, debido a los gradientes de temperatura (Bastos et al., 2015). Una vez alcanzado este límite, la capacidad del biorreactor solo se puede aplicar con un aumento en el diámetro del lecho. Este límite de altura no es una constante, ya que

está en función de la tasa de crecimiento del organismo y de las condiciones de funcionamiento, especialmente la velocidad superficial del aire (Mitchell et al., 1999). Dada la cinética de crecimiento típica, las alturas máximas del lecho rondarían 1 m (Mitchell et al., 2003); y con base en ello, autores han desarrollado columnas empacadas según los criterios en sus diseños, tal como se observa en la tabla 2.

Tabla 2.

Dimensiones de columnas empacadas establecidas por diversos autores

Dimensiones (radio-altura)	Cantidad de sustrato	Producto	Concentración del producto	Referencia
3.8 cm – 10 cm	15 g	endoglucanasa	878 U.g ⁻¹	(Zanelato et al., 2012)
2.4 cm – 70 cm	100 g	ácido cítrico	103.8 g.kg ⁻¹	(Lu et al., 1997)
2 cm – 14 cm	30 g	lipasa	26.4 U.g ⁻¹	(Gutarra et al., 2005)
1.5 cm – 34 cm	30 g	lipasa	223 U.g ⁻¹	(Oliveira et al., 2017)

Un estimado de la altura máxima de una columna empacada se puede calcular con la ecuación propuesta por (Mitchell et al., 1999).

$$H = \frac{\rho_a(C_{pa} + f)V_z(T_s - T_e)}{0.25\rho_s(1 - \varepsilon)Y_{\mu_{\max}}X_m} \quad (\text{Ec. 5})$$

Donde: ρ_a y ρ_s es la densidad del aire saturado y del sustrato,

respectivamente (kg.m⁻³); C_{pa} , la capacidad calorífica del aire saturado (J.kg⁻¹.°C⁻¹); f es igual a 0.00246 kg de agua.kg de aire⁻¹.°C⁻¹; V_z , la velocidad superficial del aire (m.s⁻¹); T_s y T_e , la temperatura en la entrada y la salida del aire respectivamente (°C); ε , la fracción

de espacios vacíos; Y , el coeficiente de rendimiento de calor metabólico ($\text{J.kg de biomasa seca}^{-1}$); $\mu_{\text{máx}}$, representa la velocidad específica máxima de crecimiento (h^{-1}) y X_m , los kilogramos máximos de biomasa seca en relación con los kilogramos inicial de sustrato húmedo (kg.kg^{-1}).

5.3. Agitación en una columna empacada

La agitación en el diseño de biorreactores de columna empacada es una consideración a tener en cuenta, es deseable si esta es tolerada, ya que ayuda al transporte de calor y O_2 , mejorando la capacidad de control de las condiciones ambientales dentro de la cama (Nagel et al., 2001). La literatura revisada por Finkler et al.

(2017) demuestra que la tasa de agitación para cultivos fúngicos es $< 5 \text{ rpm}$.

Otro de los problemas que resuelve la agitación es la aglomeración del sustrato por hongos filamentosos (Finkler et al., 2017), lo que produce espacios entre el lecho y la pared del biorreactor (Figura 7). La aglomeración del sustrato fue investigada por Schutyser et al. (2003). En sus estudios, sugirieron que la mejor estrategia para prevenir la formación de aglomerados es agitar al comienzo de la fermentación para romper los puentes hifales entre las partículas antes de que se vuelvan demasiado fuertes.

Figura 7. Fuerza de fracción de los puentes hifales (Pitol et al., 2015)

Sin embargo, la agitación puede afectar el proceso de forma perjudicial. Puede dañar el tejido de las hifas en procesos basados en hongos (Lonsane et al., 1992), lo que afectaría el desarrollo y la formación de los productos. La agitación puede aplastar las partículas del sustrato si no tienen suficiente resistencia mecánica (Kadić et al., 2014) o puede hacer que las partículas pegajosas se aglomeren (Scheel et al., 2008).

Si bien el equilibrio entre los efectos negativos y positivos de la agitación no han sido bien caracterizados, es necesario realizar estudios propios en los que se comparen los rendimientos de fermentaciones agitadas y no agitadas.

5.4. Calor metabólico

La generación de calor es directamente proporcional a la actividad metabólica en el biorreactor FES (Barragán et al., 2016). El calor generado por el proceso de fermentación es de aproximadamente 80 a 3200 kcal/kg de sustrato seco (Tanzi et al., 2017).

El calor metabólico durante la fermentación sólida es uno de los problemas más críticos (Kumar et al.,

2020), ya que un aumento de la temperatura afecta susceptiblemente el crecimiento microbiano, debido a que la generación de calor produce gradientes térmicos (Sosa et al., 2016). Pueden desarrollarse puntos calientes con un aumento de temperatura de hasta 70 °C, lo que puede afectar la porosidad del lecho (Chen, 2013).

Hay muchos enfoques disponibles que utilizan diferentes técnicas de enfriamiento para mejorar la transferencia de calor y para controlar el crecimiento microbiano en las columnas empacadas tradicionales, como: la agitación (Carboué et al., 2019), aireación forzada con aire saturado (Casciadori et al., 2015; Figueroa-Montero et al., 2011), o utilización de chaquetas de agua (Bück et al., 2015; Perez et al., 2019;) que son aplicados según las características en el diseño del biorreactor.

Además del modelo tradicional, otras variantes de las columnas empacadas han sido sugeridas en función de las estrategias en el diseño. El biorreactor Zymotis (Roussos et al., 1993) contiene placas de transferencia de calor

internas espaciadas a unos 5 cm. El modelado demostró que tiene buen potencial para controlar la temperatura del lecho (Mitchell et al., 2002; Mitchell & Von Meien, 2000). En cambio, Mitchell et al. (2010) sugirieron dividir la cama en bandejas de varias capas y colocarlas una encima de la otra para tomar la forma clásica de columna empacada.

La tasa máxima de generación de calor para cualquier cultivo se puede determinar con la ecuación desarrollada por Mitchell et al. (1999) (R_Q , kJ.h^{-1}).

$$R_Q = \rho_b X_{\text{máx}} Y_q \mu_{\text{máx}} V_b / 4 \quad (\text{Ec. 6})$$

Donde: ρ_b , es la densidad del empaque (kg.m^{-3}); Y_q , el coeficiente de rendimiento de calor metabólico ($\text{J.kg de biomasa seca}^{-1}$); $\mu_{\text{máx}}$, representa la velocidad específica máxima de crecimiento (h^{-1}); $X_{\text{máx}}$,

los kilogramos máximos de biomasa seca en relación con los kilogramos inicial de sustrato húmedo (kg.kg^{-1}) y V_b , el volumen del lecho (m^3).

5.5. Influencia del aire en el calor metabólico

El enfriamiento del lecho por aireación forzada, debido a la evaporación, es la principal forma efectiva de superar los gradientes de temperatura y humedad en el lecho durante el funcionamiento estático (Bhave & Kulkarni, 2019; Torres-Mancera et al., 2015). En columnas empacadas son más apropiados porque la aireación forzada permite tener cierto control sobre los parámetros de control de la fermentación (Amhamed et al., 2017) (Figura 8). Esto se puede lograr mediante la manipulación del caudal y la temperatura del aire utilizado en el proceso.

Figura 8. Mecanismo de transferencia de calor por convección en el lecho con aireación forzada (Mitchell, 2006).

Las tasas de aireación generalmente se rigen por consideraciones de eliminación de calor (Ghildyal et al., 1994), dado que los caudales de aire necesarios para la eliminación adecuada de calor suelen ser más que suficientes para evitar limitaciones en el suministro de O₂ en el lecho (Mitchell et al., 2006). El caudal másico de aire (W_{air}, kg.h⁻¹) requerido se calcula según la ecuación 7.

$$W_{air} = \frac{R_Q}{Q_{rem}\Delta T} \quad (Ec. 7)$$

Donde: ΔT, es el aumento máximo permitido de la temperatura del aire; Q_{rem}, es la suma de la capacidad calorífica del aire húmedo (1 kJ.kg de aire seco⁻¹.°C⁻¹) y la contribución del enfriamiento evaporativo "λ.(dH_{sat}/dT)"; donde λ, es la entalpía de evaporización del agua (kJ.kg de agua⁻¹) y dH_{sat}/dT, es el cambio de capacidad de transporte de agua del aire (kg de vapor.kg de aire seco⁻¹.°C⁻¹) (Mitchell, 2006).

6. Parámetros biológicos de interés

El mejoramiento de la capacidad de producción potencial del microorganismo es la principal forma de mejorar la eficiencia de la fermentación en un biorreactor (Chen, 2013). Para lograr este objetivo se debe comprender la regulación metabólica del microorganismo, es decir, el consumo de la fuente de carbono, de nitrógeno y demás elementos, así como de la síntesis de los productos.

El crecimiento celular obedece a la ley de la conservación de la materia, a pesar de las complejas y numerosas reacciones intracelulares involucradas (Doran, 2013). Todos los átomos de carbono, nitrógeno, oxígeno e hidrógeno y otros elementos son consumidos durante el crecimiento y se incorporan a nuevas células excretadas como productos (Danchin, 2001). La ecuación 8 representa la ecuación estequiométrica general para el crecimiento de células aeróbicas (Doran, 2013).

Sustrato + Oxígeno + Nitrógeno → Biomasa + Dióxido de carbono + Agua

Donde: $C_wH_xO_yN_z$, es la fórmula química del sustrato; $H_gO_hN_i$, la fórmula de la fuente del nitrógeno y $CH_aO_bN_d$, la fórmula de la biomasa seca. Los coeficientes estequiométricos están representados con las letras a, b, c y d. En adicional, se requiere información para la resolución de esta ecuación. Por lo general, esta información se obtiene de mediciones experimentales. En la FES, y sobre todo en los sistemas de columnas empacadas se evalúan parámetros como el cociente respiratorio (CR) (Romero et al., 2015).

$$CR = \frac{\text{moles de CO}_2 \text{ producidas}}{\text{moles de O}_2 \text{ consumidas}} = \frac{d}{a} \quad (\text{Ec. 9})$$

El cociente respiratorio se puede calcular directamente cuando se conoce la composición de los gases de salida en el biorreactor de columnas empacadas.

De todos los componentes principales de la biomasa celular, la fuente de carbono es la más importante. El rendimiento de un producto en estudios cinéticos se basa en el consumo de la fuente de carbono ($Y_{x/s}$) (Ecuación 10) (Doran, 2013).

$$Y_{x/s} = \frac{\text{gramos de células producidas}}{\text{gramos de sustrato consumido}} \quad (\text{Ec. 10})$$

La fuente de nitrógeno es el siguiente factor determinante en el crecimiento de los microorganismos y la formación de productos (Sanchez & Demain, 2002), por lo que debe determinarse para obtener el máximo de biomasa. Esto se basa en el rendimiento $Y_{x/s}$ y la composición de la biomasa.

Generalmente, se cree que la relación entre la masa de carbono y nitrógeno (C/N) es más crucial para que un proceso en particular obtenga un producto específico. Esto es válido cuando el metabolito a producir no es asociado al crecimiento, o incluso parcialmente asociado. En caso de que el metabolito esté asociado al crecimiento es mejor desde el inicio balancear el medio (Rodriguez et al., 2008).

6.1. Tasa de crecimiento específico (μ)

Durante el periodo de fermentación, se realizan estudios cinéticos que están determinados por la variación de una o varias variables en un período de tiempo. Generalmente, la variable utilizada para establecer el

proceso cinético ha sido la biomasa, variable presente en cualquier período de tiempo. Esto se determina mediante la tasa de crecimiento específico; cuando es independiente del proceso se puede expresar de forma exponencial (Ecuación 11) o de forma logística (Ecuación 12).

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (\text{Ec. 11})$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \left(1 - \frac{X}{X_m}\right) \quad (\text{Ec. 12})$$

Donde: X, es la concentración de la biomasa en un momento particular (g.L^{-1}); t, el tiempo (h); μ , la tasa de crecimiento específico (h^{-1}) (Rodríguez et al., 2018). Cuando se relaciona la tasa de crecimiento con la concentración de un solo sustrato se aplica la ecuación de Monod (Sasikumar & Viruthagiri, 2010). Esto permite la representación de una cinética de crecimiento celular a través de diferentes fases, conocidas como fases de crecimiento.

6.2. Tasa específica de consumo de sustrato (q_s)

Los microorganismos consumen sustrato del entorno para su metabolismo, por lo tanto, determinar el consumo del sustrato

en el biorreactor representa una herramienta útil para describir de manera simplificada los patrones de agotamiento del sustrato durante el período de la fermentación. Para reflejar el agotamiento del sustrato en función del tiempo se plantea la ecuación de Doran (Doran, 2013).

$$q_s = -\frac{1}{X} \frac{dS}{dt} \quad (\text{Ec. 13})$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \left(1 - \frac{X}{X_m}\right) \quad (\text{Ec. 11})$$

Donde: X, es la concentración de la biomasa en un momento particular (g.L^{-1}); t, el tiempo (h); S, el sustrato (g).

6.3. Tiempo de latencia (λ)

El tiempo o fase de latencia es otro de los parámetros biológicos a caracterizar en una curva de crecimiento (Francois et al., 2007). Los microorganismos, cuando se introducen a los biorreactores, utilizan la fase de latencia para adaptarse a su nuevo entorno antes de comenzar a crecer, se pueden sintetizar metabolitos, pero la tasa de crecimiento es prácticamente nula ($\mu \approx 0$) (Doran, 2013). El período de la fase de latencia se ve influida por variables como: la identidad del microorganismo (Buchanan, 1990), el tamaño del inóculo (Besse et al., 2006) o por eventualidades físico-

químicas en el medio, tales como: el pH, la actividad del agua, la temperatura y el acceso a los nutrientes (Francois et al., 2007). Para biorreactores a gran escala, la fase de latencia puede volverse considerable. Tales tiempos de retraso podrían generar efectos adversos sobre la uniformidad del producto (Mitchell et al., 2006). El tiempo de latencia se puede determinar mediante ajustes de curvas utilizando ecuaciones como Gompertz o Logística (McKellar & Knight, 2000).

7. Modelación matemática

Los modelos matemáticos tienen un rol importante que desempeñar en la optimización de los biorreactores de FES (Mitchell et al., 2003). Los modelos de biorreactor tienen como objetivo describir el rendimiento general del biorreactor. La modelación matemática consta de dos submodelos: un submodelo de equilibrio/transporte que describe la transferencia de masa y calor dentro y entre las diversas fases del biorreactor (Mendoza & Kulich, 2004) y un submodelo cinético, que describe cómo el crecimiento de los microorganismos depende de variables ambientales locales clave

(Mitchell et al., 2004). Si se pueden desarrollar métodos para dar predicciones realistas, se pueden hacer ahorros considerables en los costos asociados al biorreactor (Baranyi & Roberts, 1994).

Los modelos matemáticos de biorreactores FES utilizan con mayor frecuencia las ecuaciones Logística modificada (Ecuación 14) o Gompertz modificada (Ecuación 15) (Zwietering et al., 1990). Esto se hace con base en la simplicidad matemática, ya que a menudo estas ecuaciones pueden dar un acercamiento adecuado de toda la curva de crecimiento (Mitchell et al., 2004). Con modelos cinéticos alternos, la curva de crecimiento debe dividirse en varias fases en la que cada una se plantea una ecuación. Atehortúa et al. (2007) publicó resultados de una cinética de crecimiento logístico que describe bien el perfil de biomasa de *Bacillus thuringiensis* hasta el agotamiento de la fuente de carbono. Sin embargo, no describe la descomposición de la biomasa durante la fase de muerte. Zhang et al. (2013) evaluaron modelos de dos fases, en la primera fase tomaron una ecuación exponencial y una

ecuación logística para la segunda fase, en donde modelaron el crecimiento *Clonostachys rosea*, y obtuvieron una buena correlación entre los datos ajustados y los experimentados.

$$y = \frac{A}{1 + \exp((4\mu_{\max}/A)(\lambda - t) + 2)}$$

(Ec. 84)

$$y = A * \exp\left(-\exp\left(\frac{\mu_{\max}}{A}(\lambda - t) + 1\right)\right)$$

(Ec. 95)

Donde: y, es la biomasa seca (g) en el tiempo t; A, $\mu_{\max}$ y λ son los parámetros del modelo. λ indica el período de la fase de latencia (h); $\mu_{\max}$, representa la velocidad específica máxima de crecimiento (h^{-1}) y A, la biomasa seca máxima (g).

8. Conclusiones

Los biorreactores de columnas empacadas son apropiados para los procesos de fermentación sólida en el que se apliquen cultivos fúngicos, ya que se logra recrear condiciones similares su hábitat natural mediante un mayor control de las variables ambientales. Las columnas empacadas permiten estudiar al microorganismo a través de su actividad respirométrica, esto permite determinar el consumo de

aire que requiere el microorganismo para llevar a cabo sus necesidades metabólicas y permite cuantificar de manera indirecta la biomasa producida en el proceso por medio de la producción de CO_2 del cultivo.

El calor producido en el sistema es una de las consideraciones fundamentales a tener en cuenta, ya que conducen al aumento de la temperatura. En la transferencia de calor se apoyan parámetros que se requieren aplicar al diseño del biorreactor. Las tasas de aireación generalmente se rigen en términos de eliminación de calor. Los caudales de aire necesarios para la eliminación adecuada de calor suelen ser más que suficientes y cubren la demanda del microorganismo en sus necesidades metabólicas. La ampliación de la columna debe regirse en términos de calor, ya que lechos muy altos conducirán al sobrecalentamiento. La similitud geométrica se puede utilizar para escalar biorreactores utilizando resultados a escala de laboratorio, pero solo hasta que se alcance la altura crítica. Después de eso, los aumentos adicionales en la escala solo se pueden lograr aumentando el ancho del lecho.

Los modelos matemáticos son útiles para describir el rendimiento del biorreactor, permiten describir cómo el crecimiento del microorganismo se puede ver afectado por variaciones en los parámetros de control como la actividad de agua del sustrato y la temperatura. Los modelos de Gompertz modificado y Logístico modificado lo hacen de una manera simple y suelen proporcionar visualmente ajustes razonablemente buenos, sin embargo, ambos modelos, en ocasiones, no predicen con totalidad la curva de crecimiento del microorganismo, específicamente el período de muerte o la predicción de la fase de latencia. El modelo Logístico modificado se ajusta al perfil de crecimiento de hongos en sistemas de fermentación sólida, aunque en algunos casos suele diferir con los datos experimentales. Este modelo se puede aplicar en dos fases durante una curva de crecimiento, la primera fase desde el tiempo cero hasta la etapa de formación de los primordios, y la segunda, desde la etapa de formación de los primordios hasta el final de la fermentación.

Bibliografía

- Abraham, J., Gea, T., & Sánchez, A. (2014). Substitution of chemical dehairing by proteases from solid-state fermentation of hair wastes. *Journal of cleaner production*, 74, 191-198.
- Adekunle, A., Zhang, C., Guo, C., & Liu, C. (2017). Laccase production from *Trametes versicolor* in solid-state fermentation of steam-exploded pretreated cornstalk. *Waste and biomass valorization*, 8(1), 153-159.
- Adnan, M., Ashraf, S., Khan, S., & Alshammari, E. (2017). Effect of pH, temperature and incubation time on cordycepin production from *Cordyceps militaris* using solid-state fermentation on various substrates. *CyTA - Journal of Food*, 15(4), 617-621.
- Aguilar, C., Favela, E., Vinegra, G., & Augur, C. (2002). Culture conditions dictate protease and tannase production in submerged and solid-state cultures of *Aspergillus niger* Aa-20. *Applied biochemistry and biotechnology*, 102(1-6), 407-414.
- Ali, S., & Akhtar, J. (2018). Hydrodynamics of Packed Bed Column: Study of the Column for the Absorption of CO₂ in Water and its Efficiency. *Mass Spectrom Purif Tech*, 4(2), 122.

- Almanaa, T., Vijayaraghavan, P., Alharbi, N., Kadaikunnan, S., Khaled, J., & Alyahya, S. (2020). Solid state fermentation of amylase production from *Bacillus subtilis* D19 using agro-residues. *Journal of King Saud University-Science*, 2(1555-1561), 32.
- Alvira, P., Tomás, E., Ballesteros, M., & Negro, M. (2010). Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology*, 101(13), 4851–4861.
- Amhamed, A., Edredera, E., Loganathan, K., & Emtir, M. (2017). Optimizing the design parameters of a packed column aerator for VOC removal: A real case study on polluted ground water. *J Oil Gas Petrochem Sci*, 1(1), 00001.
- Andlar, M., Rezić, T., Marđetko, N., Kracher, D., Ludwig, R., & Šantek, B. (2018). Lignocellulose degradation: An overview of fungi and fungal enzymes involved in lignocellulose degradation. *Engineering in Life Sciences*, 18(11), 768-778.
- Assamoi, A., Destain, J., Delvigne, F., Lognay, G., & Thonart, P. (2008). Solid-state Fermentation of *Xylanase* from *Penicillium canescens* 10-10c in a Multi-layer-packed Bed Reactor. *Biochemistry and Biotechnology*, 145, 87–98.
- Atehortúa, P., Álvarez, H., & Orduz, S. (2007). Modeling of growth and sporulation of *Bacillus thuringiensis* in an intermittent fed batch culture with total cell retention. *Bioprocess and biosystems engineering*, 30(6), 447-456.
- Baranyi, J., & Roberts, T. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International journal of food microbiology*, 23(3-4), 277-294.
- Barragán, L., Figueroa, J., Durán, L., González, C., & Hennigs, C. (2016). Fermentative production methods. In *Biotransformation of Agricultural Waste and By-Products* (págs. 189-217). Elsevier.
- Barrios, J. (2012). Solid-state fermentation: Physiology of solid medium, its molecular basis and applications. *Process Biochemistry*, 47, 175-185.
- Barrios, J., González, H., & Mejía, A. (1993). Effect of particle size, packing density and agitation on penicillin production in solid state fermentation. *Biotechnology Advances*, 11(3), 539-547.
- Bastos, R., Morais, D., & Volpi, M. (2015). Influence of solid

- moisture and bed height on cultivation of *Aspergillus niger* from sugarcane bagasse with vinasse. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 32(2), 377-384.
- Behera, S., & Ray, R. (2016). Solid State Fermentation for Production of Microbial Cellulases: Recent Advances and Improvement Strategies. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 656-669.
- Besse, N., Audinet, N., Barre, L., Cauquil, A., Cornu, M., & Colin, P. (2006). Effect of the inoculum size on *Listeria monocytogenes* growth in structured media. *International journal of food microbiology*, 110(1), 43-51.
- Bharti, A., K, K., A, K. A., & Dutt, D. (2018). Exploitation of *Parthenium hysterophorus* biomass as low-cost substrate for cellulase and xylanase production under solid-state fermentation using *Talaromyces stipitatus* MTCC 12687. *Journal of radiation research and applied sciences*, 11(4), 271-280.
- Bhave, P., & Kulkarni, B. (2019). Effect of active and passive aeration on composting of household biodegradable wastes: a decentralized approach. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 8(1), 335-344.
- Biz, A., Finkler, A., Pitol, L., Medina, B., Krieger, N., & Mitchell, D. (2016). Production of pectinases by solid-state fermentation of a mixture of citrus waste and sugarcane bagasse in a pilot-scale packed-bed bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 111, 54-62.
- Brand, D., Pandey, A., Rodriguez, J., Roussos, S., Brand, I., & Soccol, C. (2001). Packed Bed Column Fermenter and Kinetic Modeling for Upgrading the Nutritional Quality of Coffee Husk in Solid-State Fermentation. *Biotechnology Progress*, 17(6), 1065-1070.
- Buchanan, R. L. (1990). A mathematical approach toward defining and calculating the duration of the lag phase. *Food Microbiology*, 7(3), 237-240.
- Bück, A., Casciatori, F., Thomeo, J., & Tsotsas, E. (2015). Model-based control of enzyme yield in solid-state fermentation. *Procedia engineering*, 102, 362-371.
- Burhan, K., Kresnowati, M., & Setiadi, T. (2019). Evaluation of Simultaneous Saccharification and Fermentation of Oil Palm Empty Fruit Bunches for Xylitol Production. *Bulletin of*

- Chemical Engineering & Reaction Catalysis*, 14(3), 559-567.
- Camacho, M., Camacho, R., Armendariz, M., Ramírez, L., Asaff, A., Levasseur, A., & Rodríguez, J. (2016). Corn bran as potential substrate for high production of feruloyl and acetylxylan esterases by solid state fermentation. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 15(1), 11-21.
- Carboué, Q., Rébuba, C., Dupuy, N., Roussos, S., & Bombarda, I. (2019). Solid state fermentation pilot-scaled plug flow bioreactor, using partial least square regression to predict the residence time in a semicontinuous process. *Biochemical Engineering Journal*, 149, 107248.
- Casciotori, F., Bück, A., Thoméo, J., & Tsotsas, E. (2015). Two-phase and two-dimensional model describing heat and water transfer during solid-state fermentation within a packed-bed bioreactor. *Chemical Engineering Journal*, 287, 103-116.
- Cerda, A., El-Bakry, M., Gea, T., & Sánchez, A. (2016). Long term enhanced solid-state fermentation: inoculation strategies for amylase production from soy and bread wastes by *Thermomyces* sp. in a sequential batch operation. *Journal of environmental chemical engineering*, 4(2), 2394-2401.
- Chen, H. (2013). *Modern solid state fermentation*. Holanda: Springer.
- Chen, H. (2015). Lignocellulose biorefinery conversion engineering. In *Lignocellulose Biorefinery Engineering* (págs. 87-124). Elsevier.
- Chen, H., & Xu, J. (2004). *Principles and applications of modern solid state fermentation*. Beijing: Chemical Industry Press.
- Chirife, J., & Fontana, A. (2020). Introduction: Historical Highlights of Water Activity Research. In *Water activity in foods: fundamentals and applications* (págs. 1-11).
- Chuquín, D. (2013). *Diseño y simulación de una columna de destilación binaria de etanol-agua para la Empresa Hetween*. Riobamba: DSpace ESPOCH.
- Colonia, B., Woiciechowski, A., Malanski, R., Letti, L., & Soccol, C. (2019). Pulp improvement of oil palm empty fruit bunches associated to solid-state biopulping and biobleaching with xylanase and lignin peroxidase cocktail produced by *Aspergillus* sp. *LPB-Bioresource technology*, 285(121361).

- Costa, J., Alegre, R., & Hasan, S. (1998). Packing density and thermal conductivity determination for rice bran solid-state fermentation. *Biotechnology Techniques*, 12(10), 747-750.
- Daiooglou, V., Stehfest, E., Wicke, B., Faaij, A., & van Vuuren, D. (2016). Projections of the availability and cost of residues from agriculture and forestry. *Gcb Bioenergy*, 8(2), 456-470.
- Danchin, A. (2001). BAC (Bacterial Artificial Chromosome). In *Encyclopedia of Genetics* (págs. 135-144). Academic Press.
- de Castro, R., & Sato, H. (2015). Enzyme production by solid state fermentation: general aspects and an analysis of the physicochemical characteristics of substrates for agro-industrial wastes valorization. *Waste and biomass valorization*, 6(6), 1085-1093.
- de Castro, R., Nishide, T., & Sato, H. (2014). Production and biochemical properties of proteases secreted by *Aspergillus niger* under solid state fermentation in response to different agroindustrial substrates. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(4), 236-245.
- Doelle, H., Mitchell, D., & Rolz, C. (1992). *Solid substrate cultivation*. Springer.
- Doran, P. (2013). *Bioprocess Engineering Principles*. Reino Unido: Elsevier.
- Durand, A. (2003). Bioreactor designs for solid state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13(2-3), 113-125.
- Edwards, J., Forster, R., Callaghan, T., Dollhofer, V., Dagar, S., Cheng, Y., & Henske, J. (2017). PCR and omics based techniques to study the diversity, ecology and biology of anaerobic fungi: insights, challenges and opportunities. *Frontiers in microbiology*, 8, 1657.
- Evans, C., & Hedger, J. (2001). Degradation of plant cell wall polymers. In *Fungi in Biorremediation* (págs. 1-26).
- Ezeilo, U., Wahab, R., & Mahat, N. (2020). Optimization studies on cellulase and xylanase production by *Rhizopus oryzae* UC2 using raw oil palm frond leaves as substrate under solid state fermentation. *Renewable Energy*, 156, 1301-1312.
- Farinas, C. (2015). Developments in solid-state fermentation for the production of biomass-degrading enzymes for the bioenergy sector. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 52, 179-188.

- Favela, E., Córdova, J., García, M., & Gutiérrez, M. (1998). Kinetics of growth of *Aspergillus niger* during submerged, agar surface and solid state fermentations. *Process Biochemistry*, 33(2), 103-107.
- Figueroa-Montero, A. E.-I., Huerta, S. G., & Favela, E. (2011). Improvement of heat removal in solid-state fermentation tray bioreactors by forced air convection. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 86(10), 1321-1331.
- Finkler, A., Biz, A., Pitol, L., Medina, B. S., Luithardt, H., de Lima Luz Jr, L., & Mitchell, D. (2017). Intermittent agitation contributes to uniformity across the bed during pectinase production by *Aspergillus niger* grown in solid-state fermentation in a pilot-scale packed-bed bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 121, 1-12.
- Francois, K. V., Van Impe, J., Debevere, J., García, R., & Devlieghere, F. (2007). Effect of preincubation temperature and pH on the individual cell lag phase of *Listeria monocytogenes*, cultured at refrigeration temperatures. *Food microbiology*, 24(1), 32-43.
- Gao, H., Lu, C., Wang, H., Wang, L., Yang, Y., & Jiang, T. (2020). Production exopolysaccharide from *Kosakonia cowanii* LT-1 through solid-state fermentation and its application as a plant growth promoter. *International journal of biological*, 150, 955-964.
- Gervais, P., & Molin, P. (2003). The role of water in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13(2-3), 85-101.
- Ghildyal, N., Gowthaman, M., Rao, K., & Karanth, N. (1994). Interaction of transport resistances with biochemical reaction in packed-bed solid-state fermentors: effect of temperature gradients. *Enzyme and microbial technology*, 16(3), 253-257.
- Ghosh, J. (2016). Solid State Fermentation and Food Processing: A Short Review. *Department of Biotechnology*, 6(1), 1-7.
- Gowthaman, M., Krishna, C., & Moo-Young, M. (2001). Fungal solid state fermentation - an overview. In *Applied mycology and biotechnology*, 1, 305-352.
- Gupta, K., & Nagar, S. (2020). Solid State Fermentation of Wheat Bran for Production of Glucoamylase by *Aspergillus niger*. *Life Sci*, 6(4), 2640-2645.
- Gutarra, M., & Cavalcanti, E. D. (2005). Lipase production by solid-state fermentation.

- Applied Biochemistry and Biotechnology*, 21(1), 105-116.
- Gutarra, M., Cavalcanti, E., Castilho, L., Freire, D., & Sant'Anna, G. (2005). Lipase production by solid-state fermentation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 121(1), 105-116.
- Hassouni, H., Alaoui, M., Perraud, I., Augur, C., & Roussos, S. (2006). Effect of culture media and fermentation parameters on phytase production by the thermophilic fungus *Myceliophthora thermophila* in solid state fermentation. *Micologia Aplicada International*, 18(2), 29-36.
- Jark, D., & al., e. (2019). Enzymatic degradation and detoxification of azo dye Congo red by a new laccase from *Oudemansiella canarii*. *Bioresource technology*, 289(121655).
- Jadhav, H., Shaikh, S., & Sayyed, R. (2017). Role of Hydrolytic Enzymes of Rhizoflora in Biocontrol of Fungal Phytopathogens: An Overview. In *Rhizotrophs: Plant growth promotion to bioremediation* (pp. 183-203). Singapur: Springer.
- Kadić, A., Palmqvist, B., & Lidén, G. (2014). Effects of agitation on particle-size distribution and enzymatic hydrolysis of pretreated spruce and giant reed. *Biotechnology for biofuels*, 7(1), 1-10.
- Kaewlaoyoong, A., & al., e. (2020). White rot fungus *Pleurotus pulmonarius* enhanced bioremediation of highly PCDD/F-contaminated field soil via solid state fermentation. *Science of the Total Environment*, 738(139670).
- Karp, S., Faraco, V., Amore, A., Letti, L., Thomaz Soccol, V., & C, S. (2015). Statistical optimization of laccase production and delignification of sugarcane bagasse by *Pleurotus ostreatus* in solid-state fermentation. *BioMed research international*.
- Khonngam, T., & Apilak, S. (2019). Bioconversion of sugarcane bagasse and dry spent yeast to ethanol through a sequential process consisting of solid-state fermentation, hydrolysis, and submerged fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 150(107284).
- Krishania, M., Sindhu, R., Binod, P., Ahluwalia, V., Kumar, V., Sangwan, R., & Pandey, A. (2018). Design of bioreactors in solid-state fermentation. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (pp. 83-96). Elsevier.
- Krishna, C. (2005). Solid-State Fermentation Systems - An

- Overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25(1-2), 1-30.
- Kumar, A., Dutt, D., & Gautam, A. (2016). Production of crude enzyme from *Aspergillus nidulans* AKB-25 using black gram residue as the substrate and its industrial applications. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 14(1), 107-118.
- Kumar, V., Ahluwalia, V., Saran, S., Kumar, J., Patel, A., & Singhanian, R. (2020). Recent developments on solid-state fermentation for production of microbial secondary metabolites, challenges and solutions. *Bioresource Technology*, 124566.
- Li, H., Zhang, R., Tang, L., Zhang, J., & Mao, Z. (2015). Manganese peroxidase production from cassava residue by *Phanerochaete chrysosporium* in solid state fermentation and its decolorization of indigo carmine. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 23(1), 227-233.
- Li, S., Li, G., Zhang, L., Zhou, Z., Han, B., & Hou, W. (2013). A demonstration study of ethanol production from sweet sorghum stems with advanced solid state fermentation technology. *Applied energy*, 102, 260-265.
- Liu, X., Jia, B., Sun, X., Ai, J., Wang, L., Wang, C., & Huang, W. (2015). Effect of initial pH on growth characteristics and fermentation properties of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of food science*, 80(4), M800-M808.
- Lonsane, B., Ghidyal, N., & Budiatman, S. (1985). Engineering aspects of solid state fermentation. *Enzyme and Microbial Technology*, 7(6), 258-265.
- Lonsane, B., Saucedo, G., Raimbault, M., Roussos, S., Viniegra, G., Ghildyal, N., & Krishnaiah, M. (1992). Scale-up strategies for solid state fermentation systems. *Process Biochemistry*, 27(5), 259-273.
- Lu, M., Brooks, J., & Maddox, I. (1997). Citric acid production by solid-state fermentation in a packed-bed reactor using *Aspergillus niger*. *Enzyme and Microbial Technology*, 21(6), 392-397.
- Madrera, R., Bedriñana, R., & Valles, B. (2015). Production and characterization of aroma compounds from apple pomace by solid-state fermentation with selected yeasts. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 1342-1353.
- Martín del Campo, M., Camacho, R., & Dlaz, J. (2015). *Solid state fermentation as a potential*

- technique for esterase/lipase production by halophilic archaea*. Springer.
- McKellar, R., & Knight, K. (2000). A combined discrete–continuous model describing the lag phase of *Listeria monocytogenes*. *International journal of food microbiology*, 54(3), 171-180.
- Mehboob, N., Asad, M., Imran, M., Gulfraz, M., Wattoo, F., Hadri, S., & Asghar, M. (2011). Production of lignin peroxidase by *Ganoderma leucidum* using solid state fermentation. *African Journal of Biotechnology*, 10(48), 9880-9887.
- Melikoglu, M., Lin, C., & Webb, C. (2015). Solid state fermentation of waste bread pieces by *Aspergillus awamori*: Analysing the effects of airflow rate on enzyme production in packed bed bioreactors. *Food and Bioproducts Processing*, 95, 63-75.
- Mendoza, J., & Kulich, E. (2004). Aplicación de balances de masa y energía al proceso de fermentación en estado sólido de bagazo de caña de azúcar con *Aspergillus niger*. *Biotecnología Aplicada*, 21(2), 85-91.
- Mitchell, D. (2006). *Solid-State Fermentation Bioreactors*. Berlín: Springer.
- Mitchell, D., & Von Meien, O. (2000). Mathematical modeling as a tool to investigate the design and operation of the *zymotis* packed-bed bioreactor for solid-state fermentation. *Biotechnology and bioengineering*, 68(2), 127-135.
- Mitchell, D., Berovič, M., & Krieger, N. (2006). Introduction to solid-state fermentation bioreactors. In *Solid-state fermentation bioreactors* (pp. 33-44). Berlin: Springer.
- Mitchell, D., Cunha, L., Machado, A., de Lima Luz Jr, L., & Krieger, N. (2010). A model-based investigation of the potential advantages of multi-layer packed beds in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 48(2), 195-203.
- Mitchell, D., Pandey, A., Sangsurasak, P., & Krieger, N. (1999). Scale-up strategies for packed-bed bioreactors for solid-state fermentation. *Process Biochemistry*, 35(1-2), 167-178.
- Mitchell, D., von Meien, O., & Krieger, N. (2003). Recent developments in modeling of solid-state fermentation: heat and mass transfer in bioreactors. *Biochemical Engineering Journal*, 13(2-3), 137-147.
- Mitchell, D., von Meien, O., Krieger, N., & Dalsenter, F. (2004). A

- review of recent developments in modeling of microbial growth kinetics and intraparticle phenomena in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 17(1), 15-26.
- Mitchell, D., Von Meien, O., Luz Jr, L., & Krieger, N. (2002). Evaluation of productivity of Zymotis solid-state bioreactor based on total reactor volume. *Food Technology and Biotechnology*, 40(2), 135-144.
- Moo-Young, M., & Tengerdy, R. (1983). *Principles of solid substrate fermentation*. Londres: J.E. Smith.
- Mudgett, R. E. (1986). Solid state fermentation. *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*. Demain, 66-83.
- Nagavalli, M., Ponamgi, S., Girijashankar, V., & Venkateswar Rao, L. (2015). Solid State Fermentation and production of Rifamycin SV using *Amycolatopsis mediterranei*. *Letters in applied microbiology*, 60(1), 44-51.
- Nagel, F., Tramper, J., Bakker, M., & Rinzema, A. (2001). Temperature control in a continuously mixed bioreactor for solid-state fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, 72(2), 219-230.
- Nora, G. (2008). *Producción de setas comestibles y enzimas lacasas por fermentación en estado sólido de la pulpa de café con Pleurotus spp.* Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Técnicas. Santiago de Cuba: Universidad de Oriente.
- Novelli, P., Barros, M., & Fleuri, L. (2016). Novel inexpensive fungi proteases: Production by solid state fermentation and characterization. *Food Chemistry*, 198, 119-124.
- Obregon, I. J. (2018). *Producción de enzimas fibrolíticas por A. Niger GSI mediante fermentación en estado sólido de rastrojo de maíz y su evaluación en la digestibilidad in vitro de un subproducto agroindustrial*. México: Repositorio Institucional UAQ.
- Ohara, A., de Castro, R., Nishide, T., Dias, F., Bagagli, M., & Sato, H. (2015). Invertase production by *Aspergillus niger* under solid state fermentation: Focus on physical-chemical parameters, synergistic and antagonistic effects using agro-industrial wastes. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(4), 645-652.
- Oliveira, F., Salgado, J., Abrunhosa, L., Pérez, N., Domínguez, J., Venâncio, A., & Belo, I. (2017). Optimization of lipase production by solid-state fermentation of olive pomace:

- from flask to laboratory-scale packed-bed bioreactor. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 40(7), 1123-1132.
- Orozco, A. (2018). *Desarrollo de una propuesta de mejora para la destilación al vacío de glicerol formal utilizando una columna empacada*. Bogotá: Fundación Universidad de América.
- Pandev, A. (1992). Recent process developments in solid-state fermentation. *Process Biochemistry*, 27(2), 109-117.
- Pandey, A. (1991). Aspects of fermenter design for solid-state fermentations. *Process Biochemistry*, 26(6), 355-361.
- Pandey, A. (2003). Solid-State Fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13, 81-84.
- Pandey, A., Soccol, C., & Larroche, C. (2008). *Current developments in solid-state fermentation*. Nueva Delhi: Springer Science & Business Media.
- Pandey, A., Soccol, C., Rodriguez-Leon, J., & Nigam, P. (2001). *Solid State Fermentation in Biotechnology: Fundamentals and Applications*. Nueva Delhi: Asiatech Publisher Inc.
- Pathak, P., Bhardwaj, N., & Singh, A. (2014). Production of crude cellulase and xylanase from *Trichoderma harzianum* PPDDN10 NFCCI-2925 and its application in photocopier waste paper recycling. *Applied biochemistry and biotechnology*, 172(8), 3776-3797.
- Peña, A., Sánchez, N., Álvarez, H., Calahorra, M., & Ramírez, J. (2015). Effects of high medium pH on growth, metabolism and transport in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS yeast research*, 15(2), 1-13.
- Pérez, A., Pérez, E., & Liaño, N. (2019). Diseño de una columna empacada y una torre de bandejas perforadas para la absorción de etanol. Diseño de la columna empacada. *Revista Mutis*, 9(1), 50-64.
- Perez, C., C. F., & Thoméo, J. (2019). Strategies for scaling-up packed-bed bioreactors for solid-state fermentation: The case of cellulolytic enzymes production by a thermophilic fungus. *Chemical Engineering Journal*, 361, 1142-1151.
- Pirota, R., Tonelotto, M., da Silva Delabona, P., & Fonseca, R. (2013). Enhancing xylanases production by a new Amazon Forest strain of *Aspergillus oryzae* using solid-state fermentation under controlled operation conditions. *Industrial Crops and Products*, 45, 465-471.

- Pitol, L., Biz, A., Mallmann, E., Krieger, N., & Mitchell, D. (2015). Production of pectinases by solid-state fermentation in a pilot-scale packed-bed bioreactor. *Chemical Engineering Journal*, 283, 1009-1018.
- Postemsky, P., Bidegain, M., González, R., Figlas, N., & Cubitto, M. (2017). Pilot-scale bioconversion of rice and sunflower agro-residues into medicinal mushrooms and laccase enzymes through solid-state fermentation with *Ganoderma lucidum*. *Bioresource technology*, 231, 85-93.
- Raimbault, M., & Alazard, D. (1980). Culture Method to Study Fungal Growth in Solid Fermentation. *Applied and Microbiology and Biotechnology*, 9, 199-209.
- Ravindran, R., Hassan, S., Williams, G., & Jaiswal, A. (2018). A review on bioconversion of agro-industrial wastes to industrially important enzymes. *Bioengineering*, 5(4).
- Reid, I. D. (1989). Solid-state fermentations for biological delignification. *Enzyme and microbial technology*, 11(12), 786-803.
- Richardson, J., Harker, J., & Backhurst, J. (2002). Flow of fluids through granular beds and packed columns. *Chemical Engineering*, 2, 191-236.
- Robinson, T., & Nigam, P. (2003). Bioreactor design for protein enrichment of agricultural residues by solid state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 13(2-3), 197-203.
- Robinson, T., Singh, D., & Nigam, P. (2001). Solid-state fermentation a promising microbial technology for secondary metabolite production. *Applied microbiology and biotechnology*, 55(3), 284-289.
- Rodríguez, J., de Carvalho, J., Pandey, A., Soccol, C., & Rodríguez, D. (2018). Kinetics of the solid-state fermentation process. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (pp. 57-82). Elsevier.
- Rodriguez, J., Soccol, C., Pandey, A., & Rodriguez, D. (2008). Factors affecting solid-state fermentation. In *Current developments in solid-state fermentation* (pp. 26-47). Nueva York: Springer.
- Rodríguez, P., Cerda, A., Font, X., Sánchez, A., & Artola, A. (2019). Valorisation of biowaste digestate through solid state fermentation to produce biopesticides from

- Bacillus thuringiensis*. *Waste Management*, 93, 63-71.
- Romero, V., Packard, T., Berdalet, E., Roy, S., Gagné, J., & Gómez, M. (2015). Respiration quotient variability: bacterial evidence. *Marine Ecology Progress Series*, 519, 47-59.
- Rosero, E., & Dustet, J. (2017). Cinética de la fermentación en estado sólido de cascarilla de arroz y bagazo de caña con *Auricularia auricula*. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 51(1), 28-38.
- Roussos, S., Raimbault, M., Prebois, J., & Lonsane, B. (1993). Zymotis, a large scale solid state fermenter design and evaluation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 42(1), 37-52.
- Ruíz, H., Rodríguez, R., Rodríguez, R., Contreras, J., & Aguilar, C. (2007). Diseño de biorreactores para fermentación en estado sólido. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 6(1), 33-40.
- Sachs, I., Blanchette, R., Cease, K., & Leatham, G. (1991). Effect of wood particle size on fungal growth in a model biomechanical pulping process. *Wood and fiber science*, 23(3), 363-375.
- Sadh, P., Duhan, J., & Duhan, J. (2018). Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. *Bioresources and Bioprocessing*, 5(1).
- Sahoo, D., Halder, S., Das, A., Jana, A., Paul, T., Thatoi, H., & Mohapatra, P. (2015). Keratinase production by *Bacillus weihenstephanensis* PKD5 in solid-state fermentation and its milk clotting potential.
- Sales, J., de Castro, A., Ribeiro, B., & Coelho, M. (2020). Supplementation of watermelon peels as an enhancer of lipase and esterase production by *Yarrowia lipolytica* in solid-state fermentation and their potential use as biocatalysts in poly (ethylene terephthalate) (PET) depolymerization reactions. *Biocatalysis and Biotransformation*, 1-12.
- Sanchez, C. (2009). Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology Advances*, 27(2), 185–194.
- Sanchez, S., & Demain, A. (2002). Metabolic regulation of fermentation processes. *Enzyme and Microbial Technology*, 31(7), 895-906.
- Santos, F., Garcia, N., da Paz, M., Fonseca, G., & Leite, R. (2016). Production and characterization of β -glucosidase from *Gongronella butleri* by solid-state fermentation. *African Journal*

- of Biotechnology*, 15(16), 633-641.
- Santos, V., Nascimento, C., Schmidt, C., Mantovani, D., & Dekker. (2018). Solid-state fermentation of soybean okara: Isoflavones biotransformation, antioxidant activity and enhancement of nutritional quality. *LWT*, 92, 509-515.
- Saratale, G., Kshirsagar, S., Sampange, V., Saratale, R., O. S., Govindwar, S., & Oh, M. (2014). Cellulolytic enzymes production by utilizing agricultural wastes under solid state fermentation and its application for biohydrogen production. *Applied biochemistry and biotechnology*, 174(8), 2801-2817.
- Sasikumar, E., & Viruthagiri, T. (2010). Simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of sugarcane bagasse-kinetics and modeling. *International Journal of Chemical and Biological Engineering*, 3(2), 57-64.
- Scheel, M., Seemann, R., Brinkmann, M., Di Michiel, M., Sheppard, A., & Herminghaus, S. (2008). Liquid distribution and cohesion in wet granular assemblies beyond the capillary bridge regime. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 20(49), 494236.
- Schutyser, M., De Pagter, P., Weber, F., Briels, W., Boom, R., & Rinzema, A. (2003). Substrate aggregation due to aerial hyphae during discontinuously mixed solid-state fermentation with *Aspergillus oryzae*: Experiments and modeling. *Biotechnology and bioengineering*, 83(5), 503-513.
- Sermanni, G., & Tiso, N. (2008). Aspects of design of bioreactors in SSF. In *Current developments in solid-state fermentation* (pp. 117-144). New York: Springer.
- Singh, R., & Chauhan, K. y. (2018). Response surface optimization of solid state fermentation for inulinase production from *Penicillium oxalicum* using corn bran. *Journal of food science and technology*, 55(7), 2533-2540.
- Singh, R., Chauhan, Kaur, K., & Pandey, A. (2020). Statistical optimization of solid-state fermentation for the production of fungal inulinase from apple pomace. *Bioresource Technology Reports*, 9(100364).
- Singhania, R., Patel, A., Soccol, C., & Pandey, A. (2009). Recent advances in solid-state fermentation. *Biochemical*

- Engineering Journal*, 44(1), 13-18.
- Soccol, C., Ferreira, E., & Junior, L. (2017). Recent developments and innovations in solid state. *Biotechnology Research and Innovation*, 1-20.
- Sosa, D., Dustet, J., Boucourt, R., & Rodríguez, Z. (2016). Validation of a mathematical model developed for the solid state fermentation process of the sugar cane (*Saccharum officinarum*) with sweet potato (*Ipomoea batata* Lam). *Cuban Journal of Agricultural Science*, 50(1), 25-38.
- Srivastava, N., Srivastava, M., Ramteke, P., & Mishra, P. (2019). Solid-State Fermentation Strategy for Microbial Metabolites Production: An Overview. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 345-354). Elsevier.
- Tang, B., Lei, P., Xu, Z., Liang, J., Feng, X., & Xu, H. (2015). Highly efficient rice straw utilization for poly-(c-glutamic acid) production by *Bacillus subtilis* NX-2. *Bioresource Technology*, 193, 370-376.
- Tanzi, G., Tonsi, M., Grilli, C., & Malpei, C. (2017). Dairy By-Products Valorization with Biomethane and Biohydrogen Production through *Lactose* Fermentation in Anmbr. *Chemical Engineering Transactions*, 57, 1819-1824.
- Torres-Mancera, M. T.-M., Rosales, G., Nampoothiri, K., & Saucedo, G. (2018). Online monitoring of solid-state fermentation using respirometry. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (pp. 97-108). Elsevier.
- Tosuner, Z., Taylan, G., & Özmihçı, S. (2019). Effects of rice husk particle size on biohydrogen production under solid state fermentation. *International Journal of Hydrogen Energy*, 44(34), 18785-18791|.
- Umsza-Guez, M., Díaz, A., Ory, I., Blandino, A., Gomes, E., & Caro, I. (2011). Xylanase production by *Aspergillus awamori* under solid state fermentation conditions on tomato pomace. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(4), 1585-1597.
- van Kuijk, S., Sonnenberg, A., Baars, J., Hendriks, W., & Cone, J. (2016). The effect of particle size and amount of inoculum on fungal treatment of wheat straw and wood chips. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 7(39), 1-9.
- Vandenberghe, L., Karp, S., de Oliveira, P., de Carvalho, J., Rodrigues, C., & Soccol, C. (2018). Solid-state fermentation for the

- production of organic acids. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*, 415-434.
- Velioglu, Z., & Ürek, R. (2015). Optimization of cultural conditions for biosurfactant production by *Pleurotus djamor* in solid state fermentation. *Turkish Journal of Biology*, 39(1), 160-166.
- Verma, A., Ansari, M., Anwar, M., Agrawal, R., & Agrawal, S. (2014). Alkaline protease from *Thermoactinomyces sp. RS1* mitigates industrial pollution. *Protoplasma*, 251(3), 711-718.
- Vidal, B., Dien, B., Ting, K., & Singh, V. (2011). Influence of feedstock particle size on lignocellulose conversion-a review. *Applied biochemistry and biotechnology*, 164(8), 1405-1421.
- Walker, G., & White, N. (2017). Introduction to fungal physiology. *Fungi: biology and applications*, 1-35.
- Wang, H., Dai, H., Janiak, C., Lin, W., & Orfali, R. (2016). Targeted solid phase fermentation of the soil dwelling fungus *Gymnascella dankaliensis* yields new brominated tyrosine-derived alkaloids. *RSC advances*, 6(85), 81685-81693.
- Wang, L., Liu, Y., & Chen, H. (2018). Advances in Porous Characteristics of the Solid Matrix in Solid-State Fermentation. In *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (pp. 19-29). Elsevier.
- Wittong, C., Montalvo, D., Rosero, E., & Dustet, J. (2019). *Biodegradación de colorantes industriales con extractos enzimáticos obtenidos en sistemas FES y FEL con Pleurotus djamor*.
- Woiciechowski, A. L., Carvalho, J., Spier, M., & Soccol, C. (2013). Empleo de resíduos agroindustriais em bioprocessos alimentares. *Biotecnologia de Alimentos*, 1, 143-171.
- Yadav, J. (1988). SSF of wheat straw with *alkaliphilic Coprinus*. *Biotechnology and Bioengineering*, 31(5), 414-417.
- Yazid, N., Barrena, R., & Sánchez, A. (2016). Assessment of protease activity in hydrolysed extracts from SSF of hair waste by and indigenous consortium of microorganisms. *Waste management*, 49, 420-426.
- Yazid, N., Barrena, R., & Sánchez, A. (2016). The immobilisation of proteases produced by SSF onto functionalized magnetic nanoparticles: application in the hydrolysis of different protein sources. *Journal of*

- Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 133, S230-S242.
- Zadrazil, F., & Puniya, A. (1995). Studies on the effect of particle size on solid-state fermentation of sugarcane bagasse into animal feed using white-rot fungi. *Bioresource Technology*, 54(1), 85-87.
- Zanelato, A., Shiota, V., Gomes, E., Silva, R., & Thoméo, J. (2012). Endoglucanase production with the newly isolated *Myceliophthora sp. i-1d3b* in a packed bed solid state fermentor. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(4), 1536-1544.
- Zhang, X., Mo, H., & Li, Z. (2003). A solid-state bioreactor coupled with forced aeration and pressure oscillation. *Biotechnology letters*, 25(5), 417-420.
- Zhang, Y., Liu, J., ming Zhou, Y., Zhang, Y., Liu, Y., Gong, T., & Wang, J. (2013). A new two-phase kinetic model of sporulation of *Clonostachys rosea* in a new solid-state fermentation reactor. *Process Biochemistry*, 48(8), 1119-1125.
- Zimbardi, A., Sehn, C., Meleiro, L., Souza, F., Masui, D., Nozawa, M., . . . Furriel, R. (2013). Optimization of β -Glucosidase, β -Xylosidase and Xylanase Production by *Colletotrichum graminicola* under Solid-State Fermentation and Application in Raw Sugarcane Trash Saccharification. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 2875-2902.
- Zwietering, M., J. I., Rombouts, F., & Van't Riet, K. (1990). Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and environmental microbiology*, 56(6), 1875-1881.