

LA FERMENTACIÓN DE HIDROLIZADOS DE TALLOS DE YUCA COMO ALTERNATIVA DE PRODUCCIÓN DE PROTEÍNA UNICELULAR DE *CANDIDA UTILIS*

Ing. Roberto Real Reyes¹, MSc. Ena de los Ángeles Hernández López¹, Dr. C. Mario
Ill Lavín¹

1. Universidad de Matanzas, roberto.real@umcc.cu

Resumen

La proteína unicelular de *Candida utilis* constituye una alternativa para la alimentación animal, por su alto contenido proteico. Este microorganismo puede crecer sobre una gran variedad de desechos industriales, alimentarios y agrícolas. Los tallos de yuca son un desecho agrícola con potencialidades como materia prima para producir *Candida utilis*. Precisamente, el objetivo de este trabajo es establecer las condiciones del proceso de fermentación de los hidrolizados de tallos de yuca, como alternativa para obtener proteína unicelular de *Candida utilis*. Como resultado se obtiene que en el proceso de fermentación de este microorganismo es necesario tener en cuenta la formulación y oxigenación adecuada del medio de cultivo. También se requiere la selección del modo de operación del biorreactor y la preparación adecuada de su inóculo. Además, se establece que los tallos de yuca representan un candidato ideal para este proceso, debido a su disponibilidad, contenido de almidón y bajo costo.

Palabras claves: *proteína unicelular; Candida utilis; tallos de yuca; fermentación.*

Introducción

Actualmente en Cuba, la nutrición animal depende de la importación de soya y *Northgold*, en especial para la ganadería. Esta situación motiva la búsqueda de fuentes alternativas nacionales, más económicas. Una propuesta interesante, para la alimentación animal, es el empleo de los tallos de yuca en la producción de proteína unicelular de *Candida utilis*. Este microorganismo puede crecer sobre una gran variedad de desechos industriales, alimentarios y agrícolas.

Los tallos de yuca constituyen un desecho agrícola del que solo se aprovecha entre un 10 y un 20 % en la propagación del cultivo, y pequeñas cantidades se usan como combustible. El resto, se abandona en los campos o se quema, lo que ocasiona problemas medioambientales. Sin embargo, la literatura reporta que tienen un contenido de almidón que puede alcanzar hasta un 30 % de materia seca (Zhu et al., 2015), el cual puede extraerse o hidrolizarse fácilmente a glucosa. Este contenido de almidón incita la búsqueda de vías para su aprovechamiento. Precisamente el objetivo de este trabajo es establecer las condiciones del proceso de fermentación de los hidrolizados de tallos de yuca, como alternativa para obtener proteína unicelular de *Candida utilis*.

Desarrollo

1. Producción de proteína unicelular

Entre 1950 y 1960 creció la preocupación sobre la brecha de alimentos entre los países industrializados y los países del tercer mundo, especialmente debido al rápido y continuo crecimiento de la población en los países menos desarrollados. Como resultado de esta preocupación, se buscaron fuentes de alimentos alternativas y no convencionales. Se reconoció que la malnutrición proteica es mucho más severa que la de otros alimentos (Okafor y Okeke, 2018). Una de estas fuentes alternativas fueron los microorganismos. La esperanza era que los organismos microscópicos ayudaran a cubrir esta deficiencia proteica mundial, debido a las limitaciones reconocidas que presentan las fuentes convencionales de proteínas, que incluyen:

- Posible destrucción de las cosechas de plantas debido a condiciones climáticas desfavorables.
- La necesidad de permitir un lapso de tiempo para la reposición de las cantidades existentes en el caso de la cría de peces.
- La tierra limitada disponible para la agricultura en el caso de la producción vegetal.

La producción de proteína unicelular tiene varias características atractivas:

- No está sujeta a los efectos del clima y se puede producir cada minuto del año.
- Los microorganismos tienen un crecimiento mucho más rápido que las plantas o los animales. Por ejemplo, un buey que pese 10 000 libras sintetizaría menos de 1 libra (o 1 / 10 000 de su peso) de proteínas al día, mientras que 10 000 libras de levaduras producirían más de 50 toneladas (más de 100 veces) de su propio peso de proteína al día.
- Los productos de desecho pueden convertirse en alimentos en la producción de proteína unicelular.

Sin embargo, la proteína unicelular también tiene algunas desventajas. Uno de las más obvias es que muchos de los países en desarrollo donde hay desnutrición proteica carecen de la experiencia y de los recursos financieros necesarios para desarrollar las industrias de fermentación. Otras críticas son que los microorganismos contienen altos niveles de ARN (ácido ribonucleico) y que su consumo podría conducir a la acumulación de ácido úrico, formación de cálculos renales y aparición de la gota (Okafor y Okeke, 2018).

Las especies de microorganismos utilizadas para la producción de proteína unicelular pertenecen a las familias de las microalgas, bacterias, levaduras y hongos filamentosos. En Cuba, la proteína unicelular de la levadura *Candida utilis*, producida a partir de melazas de caña, ha constituido un renglón exportable y de consumo interno, fundamentalmente para alimento porcino y como componente en la formulación de piensos en la alimentación animal (Lezcano, 2011; Montes de Oca et al., 2013).

Esta levadura también recibe el nombre de *Torula* o levadura forrajera (Díaz, 2017; Torres et al., 2016). Es el microorganismo que tiene mayor empleo como suplemento alimenticio animal debido a su gran contenido de vitamina B, minerales y por ser una importante fuente de proteínas (Isaac et al., 2015).

Su ventaja fundamental radica en que se trata de un producto establecido con buena aceptabilidad por su alto contenido proteico y excelente perfil de aminoácidos esenciales. Posee una relación proteína/carbohidratos mayor que la de otros forrajes vegetales. Debido al alto por ciento de lisina que contiene, esta levadura resulta ideal como suplemento de vegetales pobres en este aminoácido esencial, pero no debe emplearse como única fuente de nitrógeno debido a su deficiencia en aminoácidos sulfurados (cistina y metionina) (Izquierdo, 2011).

Una de las características más importantes de esta levadura es que se multiplica rápidamente y puede ser cultivada sobre una gran diversidad de materiales. Entre estos materiales se encuentran el licor de prensa, mieles finales, vinazas de destilería, licor

residual de sulfito de la industria papelera, madera sacarificada y residuos de frutos. Además, la especie *C. utilis* se caracteriza por emplear como fuente de carbono, no solo hexosas y pentosas, sino también otros compuestos orgánicos como ácidos, alcoholes y aldehídos (Otero y Almazán, 2012).

En Cuba, una de las cepas más empleadas es la *C. utilis* NRRL Y-660, que utiliza como sustrato melazas de caña. Esta cepa se caracteriza por un mayor rendimiento biomasa-sustrato en comparación con otras cepas de *C. utilis* y un perfil superior de aminoácidos totales. Su pH óptimo de crecimiento se encuentra entre 4,5 y 5. Además, su rango de temperatura óptimo está entre los 28 y 33°C, donde se logra maximizar el rendimiento biomasa-sustrato. Un aspecto interesante es que un incremento en la concentración inicial de sustrato repercute en una disminución de dicho rendimiento (Otero y Almazán, 2012).

Esta levadura se cultiva mediante el proceso de fermentación, el cual se define como el proceso mediante el cual los microorganismos crecen a gran escala, tanto en condiciones aerobias como anaerobias (Okafor y Okeke, 2018). También es posible definirlo como el conjunto de reacciones microbianas, tanto anaeróbicas como aeróbicas, usadas en la producción de una gran variedad de sustancias útiles (Katoh et al., 2015). Su práctica es una de las tecnologías más antiguas del hombre. Las capacidades fermentativas de los microorganismos se han utilizado durante miles de años. Las levaduras se utilizaron para cultivar pan en Egipto desde el año 4000 antes de nuestra era, y los productos lácteos fermentados como el queso y el yogur se desarrollaron temprano en la historia.

La aireación y la agitación son elementos esenciales durante el proceso de fermentación. La aireación suministra el oxígeno necesario a los microorganismos y la agitación mantiene condiciones uniformes dentro del fermentador. En conjunto, la aireación y la agitación son importantes ya que promueven la transferencia de masa efectiva al medio líquido en el fermentador.

En un biorreactor, el transporte de oxígeno desde la fase gaseosa a la fase líquida está controlado por el coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_{La}). Su determinación es primordial para cuantificar los efectos de las variables operativas en el suministro de oxígeno. Los siguientes son los métodos más comunes (García-Ochoa y Gómez, 2009):

1. Método dinámico: Se basa en la medida del oxígeno disuelto presente en el medio por absorción o desorción de este gas. Después de una variación de la concentración en el gas de entrada al reactor, se analiza el cambio dinámico en la concentración de oxígeno disuelto.
2. Método de la oxidación del sulfito de sodio: Este método se basa en la reacción del sulfito de sodio, que es un agente reductor, con el oxígeno disuelto para producir sulfato, en la presencia de un catalizador (iones cobre (II) o cobalto (II)).

3. **Método del balance de oxígeno:** Tiene su fundamento en la medición de la cantidad de oxígeno que se transfiere al líquido en un intervalo de tiempo fijo. Este método requiere de medidores de flujo, presión y temperatura precisos, además de analizadores de oxígeno gaseoso (Standbury et al., 2017).

Otro de los aspectos de interés durante la fermentación es la preparación del inóculo. Esta constituye la primera fase del proceso fermentativo. Consiste en cultivar el microorganismo en varias etapas de aumento de volumen para disminuir el tiempo en que se logra la población microbiana requerida, así como el riesgo de contaminación. Generalmente esta etapa la componen un fermentador de cultivo puro y un prefermentador (Standbury et al., 2017).

El inóculo generalmente debe ser de un 5-20% del volumen final de la fermentación, de forma tal que el tiempo real de producción se acorte considerablemente. Ya que los organismos utilizados en la mayoría de las fermentaciones son aerobios, el inóculo generalmente debe ser aireado vigorosamente para fomentar el desarrollo celular máximo, aunque pueden necesitar menos aireación en la incubación posterior (Standbury et al., 2017).

La capacidad de cultivar grandes cantidades de microorganismos se logra mediante el uso de un recipiente conocido como fermentador o biorreactor. Un fermentador es un recipiente en el cual un microorganismo se cultiva de manera controlada para producir la masa celular del organismo en sí, o un producto producido por la célula. Hay tres modos principales de operación de un biorreactor: continuo, por lotes alimentado, y discontinuo o por lotes. La elección del modo de operación tiene un efecto significativo en la conversión del sustrato, la concentración del producto, la susceptibilidad a la contaminación y la confiabilidad del proceso (Doran, 2013).

En el modo de operación continua se suministran continuamente nutrientes al medio y constantemente salen del reactor parte de los microorganismos. La generación continua de los microorganismos repone a los que salen del reactor. Si el recipiente está bien mezclado, la corriente de producto tiene la misma composición que el líquido en el reactor (Doran, 2013).

En el modo de operación por lotes con alimentación el proceso comienza con una solución de sustrato relativamente diluida y se agregan más nutrientes a medida que la conversión se incrementa. De esta forma se evitan altas velocidades de crecimiento. Esto es importante, por ejemplo, en los cultivos donde la demanda de oxígeno durante el crecimiento rápido es demasiado alta para la capacidad de transferencia de masa del reactor, o cuando las altas concentraciones de sustrato son inhibitorias o promueven vías metabólicas indeseables (Doran, 2013).

En la operación discontinua o por lotes no hay entradas ni salidas del reactor, o sea, que se opera en un sistema cerrado. El sustrato se agrega al comienzo del proceso y los productos son extraídos solo al final. La mayoría de los biorreactores comerciales son recipientes mezclados operados por lotes (Doran, 2013). El clásico reactor mixto es el tanque agitado; sin embargo, los reactores también pueden ser de columna de burbujas u otra configuración siempre que las concentraciones de sustrato, producto y catalizador dentro del recipiente sea uniforme. El costo de operar un reactor por lotes depende del tiempo que se tarda en alcanzar la concentración de producto deseada o el nivel de conversión del sustrato. Los costos de operación se reducen si la reacción se completa rápidamente. Por lo tanto, es muy importante poder predecir el tiempo requerido para las reacciones por lotes.

Durante las fermentaciones discontinuas, la población de microorganismos atraviesa varias fases de crecimiento distintas: fase de latencia, fase exponencial, fase estacionaria y fase de muerte (Waites et al., 2001). Cuando se grafica el logaritmo neperiano de la biomasa microbiana con respecto al tiempo se obtiene la curva de crecimiento microbiano que puede apreciarse en la figura 1.1.

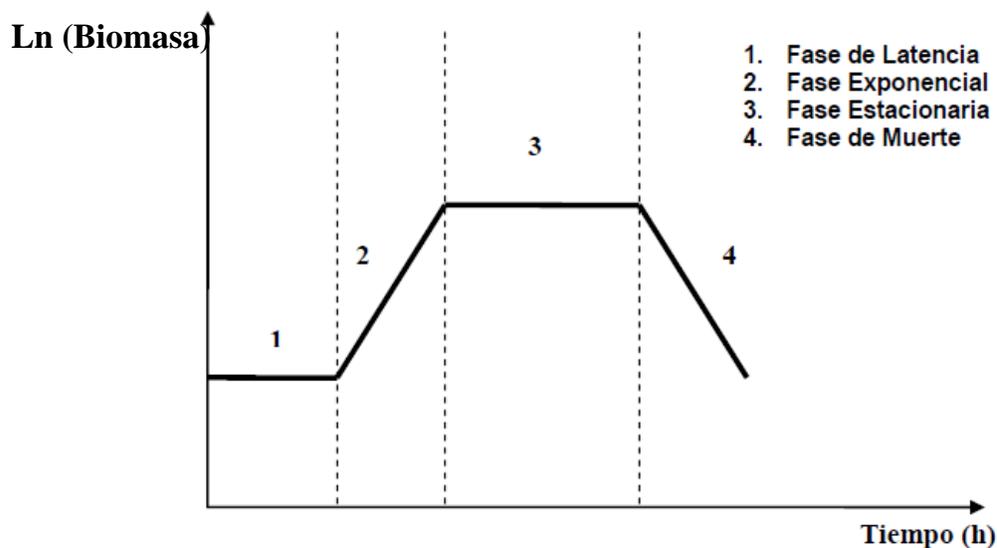


Figura 1.1: Curva de crecimiento microbiano. Fuente: (Martínez, 2008).

Fase de latencia: En esta fase prácticamente no hay crecimiento, y la población microbiana permanece relativamente constante. Sin embargo, es un período de intensa actividad metabólica a medida que el inóculo microbiano se adapta al nuevo entorno. Cuando las células son inoculadas en un medio fresco pueden ser deficientes en enzimas esenciales, vitaminas o cofactores, que deben ser sintetizados para poder utilizar los nutrientes disponibles, antes de la división celular (Waites et al., 2001).

Fase exponencial: En esta fase, la población microbiana comienza a alcanzar la mayor velocidad de crecimiento posible. Se mantiene esta fase en tanto haya sustrato disponible en exceso (Otero y Almazán, 2012). Existe un consumo constante de los nutrientes (Martínez, 2008).

Fase estacionaria: En este punto, la tasa de crecimiento general ha disminuido a cero y no hay cambio neto en el número de células debido a que el número de muertes iguala al número de células generadas. Sin embargo, los microorganismos todavía son metabólicamente activos, utilizan nutrientes liberados de células lisadas y en algunos casos producen metabolitos secundarios. La duración de la fase estacionaria varía según los microorganismos involucrados y las condiciones ambientales (Waites et al., 2001).

Fase de muerte: Después de la fase estacionaria le sigue la fase de muerte, donde las células mueren a una velocidad constante y a menudo se someten a lisis (Waites et al., 2001). Aquí la velocidad de desaparición (muerte) se vuelve más alta que la velocidad de crecimiento, lo que provoca la disminución de la densidad celular (Martínez, 2008).

En la fermentación la elección del medio de cultivo para el microorganismo constituye una etapa esencial. Todos los medios microbiológicos, ya sea para fines industriales o de laboratorio, deben satisfacer las necesidades de un microorganismo en términos de carbono, nitrógeno, minerales, factores de crecimiento y agua. Además, no deben contener materiales que sean inhibidores del crecimiento (Okafor y Okeke, 2018).

Los requisitos de carbono generalmente se satisfacen con carbohidratos, especialmente (en experimentos de laboratorio) de glucosa. Sin embargo, carbohidratos más complejos como el almidón o la celulosa pueden ser utilizados también por algunos organismos. Las fuentes de energía también pueden incluir hidrocarburos, alcoholes o incluso ácidos orgánicos. Al componer un medio industrial, el contenido de carbono debe ser adecuado para lograr la producción de las células requeridas (Okafor y Okeke, 2018). Para la mayoría de los organismos, el peso del organismo producido a partir de un determinado peso de los carbohidratos (conocido como constante de rendimiento) en condiciones aeróbicas es de aproximadamente 0,5 gramos de células secas por gramo de glucosa. Esto significa que los carbohidratos son al menos dos veces el peso esperado de las células y deben ponerse como glucosa o su compuesto equivalente.

El nitrógeno se encuentra en las proteínas, incluidas las enzimas, así como en los ácidos nucleicos, por lo tanto, es un elemento clave para la célula. La mayoría de las células usan amoníaco u otras sales de nitrógeno. Cualquier compuesto de nitrógeno que el organismo no puede sintetizar debe ser agregado (Okafor y Okeke, 2018).

Los minerales forman parte de algunas enzimas en la célula y deben estar presentes en el medio. Los principales elementos minerales necesarios incluyen al fósforo, el azufre y el magnesio. Además se requieren elementos traza como el manganeso, boro, zinc, cobre y molibdeno (Okafor y Okeke, 2018). Los factores de crecimiento incluyen vitaminas,

aminoácidos y nucleótidos y se deben agregar al medio si el organismo no puede fabricarlos.

2. Tallos de yuca como fuente de carbono para la producción de *Candida utilis*

La yuca constituye hoy una fuente muy importante de alimento para millones de personas en las áreas tropicales y subtropicales de África, Asia y Latinoamérica (Sanoussi et al., 2015), siendo usada además como fuente de biocombustibles (Wei et al., 2015; Schwantes et al., 2016).

Durante la cosecha de la yuca, frecuentemente después de 8-12 meses de la plantación, el tallo leñoso es separado de la raíz. Se estima que cerca de 116 millones de toneladas de tallos de yuca se producen anualmente a nivel mundial, y que de 32 a 35 millones de toneladas están disponibles en base seca (Wei et al., 2014; Zhu et al., 2015).

Entre un 10 y un 20% de los tallos se emplean en la propagación del cultivo, y pequeñas cantidades son usadas como combustible o alimento animal. Sin embargo, la mayor parte debe ser eliminada de los campos y es abandonada o quemada, lo que provoca emisiones gaseosas y problemas medioambientales (Zhu et al., 2015).

Una de las aplicaciones de los tallos de yuca residuales es como biocombustible (Hedman et al., 2015). Aunque es necesario realizar un tratamiento previo del tallo debido a su alto contenido de cenizas y elementos como el cloro y el potasio, los que pueden provocar problemas de corrosión y emisión de partículas. Otra de las aplicaciones involucra a la fabricación de tableros, que a su vez pueden ser empleados en la fabricación de pisos, falsos techos, muebles y cubiertas de pared (Aislen et al., 2015).

Sin embargo, los tallos de yuca actualmente se han convertido en el centro de atención para la producción de etanol basado en su potencial para producir una cantidad considerable de azúcares fermentables (Niño et al., 2013; Reales et al., 2016; Li et al., 2017). El contenido de almidón de los tallos de yuca puede alcanzar hasta un 30 % de materia seca (Zhu et al., 2015) y puede ser fácilmente extraído o hidrolizado a glucosa a partir de un proceso simple y de bajo costo. A diferencia de la extracción de azúcares fermentables a partir de la biomasa lignocelulósica que requiere de un tratamiento previo del material (Castaño et al., 2015). Este ha sido un factor muy importante en el diseño de procesos industriales para la producción eficiente y sostenible de etanol (Wei et al., 2015).

El almidón es la principal reserva de carbohidratos en las plantas y la fuente más importante de carbohidratos digeribles para la nutrición humana (Sillanpää y Ncibi, 2017). Es una mezcla de dos polímeros de glucosa: amilosa y amilopectina (Dhital et al., 2014). La amilosa es un (1-4) α - D glucano lineal que habitualmente tiene un grado de polimerización (número de moléculas de glucosa) de aproximadamente 400 (Okafor y Okeke, 2018).

La amilopectina es un D glucano ramificado con enlaces predominantemente α -D (1-4) y con alrededor del 4% del tipo α -D (1-6). La amilopectina consiste en cadenas similares a la amilosa pero con un grado de polimerización de 12-50 (Okafor y Okeke, 2018).

Los polímeros que conforman al almidón pueden separarse en las unidades de glucosa que lo integran mediante la hidrólisis enzimática. Las enzimas catalizan la reacción de hidrólisis, mediante la ruptura selectiva de los enlaces glicosídicos. Como producto final del proceso se obtiene fundamentalmente glucosa, además de maltosa y dextrinas límites. El hidrolizado puede emplearse como fuente de carbono en la formulación de medios de cultivo necesarios en la producción de proteína unicelular.

En la Unidad Empresarial de Base (UEB) España Republicana, perteneciente a LABIOFAM, se ha obtenido concentrado proteico base levadura *Torula* a partir de materias primas amiláceas (maíz, boniato, yuca amarga, afrecho de trigo y combinaciones de las mismas) (Herrera y Pons, 2014).

Las potencialidades de los tallos, unido a la experiencia en la obtención de *Torula* a partir de materiales amiláceos incitan la aplicación de los tallos de yuca en la obtención de proteína unicelular de *Torula*.

Se proponen las siguientes etapas para la obtención de *Candida utilis* a partir de tallos de yuca residuales, a escala industrial: preparación de la materia prima, hidrólisis enzimática, fermentación, termólisis y concentración (Iglesias, 2016).

Preparación de la materia prima: Aquí se acondicionan los tallos de yuca para facilitar el desarrollo de etapas posteriores. La materia prima requiere de un lavado que permita eliminar las impurezas que interfieren negativamente en el proceso. Luego los tallos se secan para eliminar la mayor parte de la humedad, y después pasan a la molienda, hasta lograr un diámetro de partículas menor a 0,5 mm. Este tamaño aumenta la eficiencia de la etapa de hidrólisis.

Hidrólisis enzimática: Su objetivo es transformar el almidón presente en los tallos tratados en glucosa. Se adicionan agua y las enzimas α -amilasa y amiloglicosidasa. Se utiliza vapor directo para alcanzar y controlar la temperatura óptima de acción de las enzimas. De esta manera se obtienen los hidrolizados de tallos de yuca.

Fermentación: En esta fase a los hidrolizados de tallos de yuca se le adicionan el inóculo y los nutrientes. Además se controla el pH del medio y la temperatura. El objetivo es lograr que la levadura *Candida utilis* se reproduzca y crezca de forma aeróbica.

Termólisis y concentración: El objetivo fundamental de etapa es detener el crecimiento del microorganismo. Posteriormente se concentra la levadura para obtener un producto final con 80% de sólidos en suspensión, mediante la eliminación del agua en exceso.

Conclusiones

La proteína unicelular de *Candida utilis* constituye un alimento animal muy nutritivo, debido a su elevado contenido proteico y su excelente perfil de aminoácidos esenciales. Además, se caracteriza por su alta velocidad de producción y capacidad de desarrollo sobre una gran variedad de desechos industriales, alimentarios y agrícolas. En el proceso de fermentación para producir *Candida utilis* es necesario la formulación adecuada del medio de cultivo, y la oxigenación conveniente mediante la aireación y la agitación correctas. También se requiere preparar apropiadamente el inóculo del fermentador, seleccionar el modo de operación del biorreactor donde se cultive el microorganismo, y tener en cuenta la etapa de la curva de crecimiento en la que se encuentra el cultivo, en el caso de biorreactores por lotes. Todos estos elementos contribuyen a alcanzar las condiciones óptimas, que maximizan la producción de proteína unicelular. Los tallos de yuca constituyen un residuo agrícola, que posee alta disponibilidad, alto contenido de almidón y bajo costo. Estos factores lo convierten en candidato ideal para la producción de proteína unicelular de *Candida utilis*.

Referencias bibliográficas

- AISLEN, F., AMENAGHAWON, A., BIENOSE, K. Particle boards produced from cassava stalks: Evaluation of physical and mechanical properties. *South African Journal of Science*, 111, 2015, 5-6.
- CASTAÑO, H., REALES, J., ZAPATA, J. Enzymatic hydrolysis of cassava stalks pretreated with the alkaline method. *Agronomía Colombiana*, 33(2), 2015, 238-243.
- DHITAL, S. et al. Enzymatic hydrolysis of starch in the presence of cereal soluble fibre polysaccharides. *Food and Function*, 5, 2014, 579-586.
- DÍAZ, M. Consideraciones sobre la interrelación etanol–levadura *Torula* en un complejo agroindustrial. *Centro Azúcar*, No. 4., Vol.44., 2017, pp.33-43.
- DORAN, P. *Bioprocess engineering principles*. 2da ed. Reino Unido: Academic Press, 2013.
- GARCÍA-OCHOA, F. Y GÓMEZ, E. Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes: An overview. *Biotechnology Advances*, 27, 2009, 153–176.
- HEDMAN, B. et al. Enhancing fuel qualities of cassava crop residues by washing. *Fuel Processing Technology* 139, 2015, 127–134.
- HERRERA, J. Y PONS, J. *Sustratos Proteicos (SUSPROTEL). Aspectos Tecnológicos*. Fórum Ciencia y Técnica, Matanzas, Cuba, 2014.
- IGLESIAS, O. *Propuesta tecnológica preliminar para la obtención de un Sustrato Proteico (base levadura *Torula*) a partir de tallos de yuca residuales*. Trabajo de diploma en opción al título de ingeniero químico. Universidad de Matanzas, 2016.
- ISAAC, E., GONZÁLEZ, V., MIÑO, J., GONZÁLEZ, E. Diseño óptimo económico de la etapa de concentración de crema para la obtención de levadura *Torula* en una destilería de etanol. *Centro Azúcar*, No.3, Vol 42, 2015, pp. 10-22.
- IZQUIERDO, Y. *Levadura *Torula*. Impacto económico de las sales nutrientes en el costo de producción*. Trabajo de diploma para optar por el título de ingeniero químico. Instituto Superior Politécnico “José Antonio Echeverría”, 2011.
- KATOH, S., HORIUCHI, J., YOSHIDA, F. *Biochemical Engineering: A Textbook for Engineers, Chemists and Biologists*. 2da ed. Alemania: Wiley-VCH, 2015.
- LEZCANO, P. Composición mineral de levadura *Torula (Candida utilis)*, desarrollada a partir de vinaza de destilería., *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, Vol. 39, 2011, pp. 459-468.

LI, X. et al. Fermentation Process and Metabolic Flux of Ethanol Production from the Detoxified Hydrolyzate of Cassava Residue. *Frontiers in Microbiology*, Vol 8, 2017.

MARTÍNEZ, E. *Evaluación de la cinética del proceso de producción microbiana de la riboflavina (vitamina B₂) por medio de la acción metabólica de la Candida utilis*. San Salvador. Trabajo de diploma para optar por el título de Licenciado en Química y Farmacia. Universidad del Salvador, 2008.

MONTES DE OCA, A., BERMÚDEZ, R., SERRAT, M. Evaluación del boniato tetuanado como sustrato para la obtención de proteína microbiana. *TECNOLOGÍA QUÍMICA*, No. 3, Vol. XXXIII, 2013.

NIÑO, L., ACOSTA, A., GELVES, R. Evaluación de pretratamientos químicos para la hidrólisis enzimática de residuos lignocelulósicos de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia*, 69, 2013, pp. 317-326.

OKAFOR, N. Y OKEKE, B. *Modern Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2da ed. Estados Unidos: CRC Press, 2018.

OTERO, M. Y ALMAZÁN, O. *La Levadura como Base de una Industria*. Editorial Académica Española, 2012.

REALES, G., CASTAÑO, H., ZAPATA, J. Evaluación de Tres Métodos de Pretratamiento Químico sobre la Deslignificación de Tallos de Yuca. *Información Tecnológica*, Vol. 27(3), 2016, pp. 11-22.

SANOUSI, A. et al. Diversity, Physicochemical and Technological Characterization of Elite Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) Cultivars of Bantè, a District of Central Benin. *The Scientific World Journal*, Vol. 2015, 2015, pp. 8.

SCHWANTES, D. et al. Chemical Modifications of Cassava Peel as Adsorbent Material for Metals Ions from Wastewater. *Journal of Chemistry*, Vol. 2016, 2016, pp. 15.

SILLANPÄÄ, M. Y NCIBI, C. *A Sustainable Bioeconomy: The Green Industrial Revolution*. 1ra ed. Suiza: Springer, 2017.

STANDBURY, P., WHITAKER, A., HALL, S. *Principles of fermentation technology*. 3ra ed. Reino Unido: Elsevier, 2017.

TORRES, A., DÍAZ, M., SAURA, G. Factibilidad económica de alternativas de inversión para reducir el costo de producción de la levadura *Torula*. *Revista Centro Azúcar*, 43, 1, 2016, pp. 10-17.

WAITES, M. et al. *Industrial Microbiology: An introduction*. 1ra ed. Reino Unido: Blackwell Science Ltd, 2001.

WEI, M.G. et al. Cassava stem wastes as potential feedstock for fuel ethanol production: a basic parameter study. *Renew. Energy* 83, 2015, 970–978.

WEI, M.G. et al. Ash composition in cassava stems originating from different locations varieties, and harvest times. *Energy Fuels* 28, 2014, 5086–5094.

ZHU, B. et al. Cassava stems: a new resource to increase food and fuel production. *GCBBioenergy* 7, 2015, 72–83.