

# Detoxificación de banano verde

**Adelaida María Garcés Molina**

Bióloga. Candidata a Maestría en Biotecnología Universidad Pontificia Bolivariana. Docente Investigadora de la Facultad de Industrias Pecuarias, Corporación Universitaria Lasallista.

Correspondencia: Adelaida María Garcés Molina. e-mail: adgarces@lasallista.edu.co

Línea de investigación: Bioprocesos. Semillero de Investigación sobre Materia Orgánica SISMO

## De-toxification of green banana

### Resumen

Colombia produce grandes cantidades de banano para exportación, pero un 10-20% es rechazado porque no cumple con la calidad necesaria. El banano de rechazo no puede emplearse como alimento para animales porque contiene taninos que son sustancias antinutricionales, por lo que grandes cantidades de él se pudren en las fincas, causando problemas ambientales y pérdidas económicas para los productores. Una alternativa para el empleo del banano verde en la alimentación animal es reducir su contenido de taninos por medio de la fermentación en estado sólido, proceso que tiene grandes ventajas tanto desde el punto de vista del proceso como económicas.

**Palabras clave:** Banano verde, taninos, fermentación en estado sólido.

### Abstract

Colombia produces big quantities of banana to export, but a quantity rated between 10% and 20% is rejected because it does not fulfill the required quality standards. Those rejected bananas can not be used to feed animals, because they are containing tannins, which are anti-nutritional substances, and then those bananas get rotten in the farms, causing environmental problems and economical loses for the producers. An alternative for the use of green bananas as animal food is the reduction of their tannin contents by the use of solid-state fermentation, a very advantageous procedure under economical and process efficiency terms.

**Key words:** Green banana, tannins, solid state fermentation

## Introducción

El cultivo del banano produce entre un 10-20% de banano de rechazo por tonelada de fruta producida. En el 2003, Colombia exportó 1.420.423 toneladas de banano,<sup>1</sup> lo que indica que se gene-

raron alrededor de 142.842,3 - 284.084,6 toneladas de banano de rechazo. El banano verde posee un alto contenido de almidones, bajo contenido proteico y un alto contenido de taninos (véase la Tabla 1), por lo que no es una fuente nutricional adecuada para la alimentación animal.

**Tabla 1. Composición bromatológica del banano verde <sup>2</sup>**

Índice ( % materia seca)	Fruto	Cáscara
Materia seca	20	18
Extracto libre	8,2	33,5
Proteína (N x 6,25)	5,5	9,5
Extracto etéreo	1,1	8,3
Fibra bruta	1,3	26,7
Cenizas	4,0	22,0
Taninos	7,36	40,5
Almidón	72,3	

Los taninos son compuestos producidos por las plantas para protegerse de sus depredadores, que inducen en el animal una indigestión prolongada. Algunos de sus efectos son la disminución del consumo de alimentos y de la eficiencia digestiva, lo que repercute negativamente en el crecimiento y productividad del animal,<sup>3</sup> por lo que son consideradas sustancias con efectos antinutricionales.

En estudios realizados para alimentar cerdos con cáscaras de banano verde se encontró que tiene poca digestibilidad debido al alto contenido de taninos,<sup>4</sup> los que forman complejos estables tanino-proteína y tanino-celulosa que inhiben la fermentación microbiana y la absorción de nutrientes y reaccionan con las proteínas de la mucosa intestinal.<sup>5</sup> Por lo tanto se recomienda el suministro de banano verde descascarado o cocido (para aumentar su palatabilidad y digestibilidad, y reducir el contenido de taninos), pero ambos tratamientos son costosos.<sup>6</sup> También se puede emplear el fruto maduro, pero produce diarrea en los animales.<sup>7</sup> Otra alternativa es reducir el contenido de taninos del banano verde procesándolo por medio de la fermentación en estado sólido con hongos filamentosos para poder emplearlo directamente en alimentación animal.

### **Los taninos, sustancias antinutricionales**

Los taninos son sustancias no muy bien definidas químicamente que hacen parte del grupo de compuestos fenólicos vegetales, el que incluye los ácidos fenólicos (de 7-9 carbonos) y las ligninas.<sup>8</sup> Existen dos tipos de taninos: los hidrolizables y los condensados. Los hidrolizables están constituidos por un núcleo glucídico cuyos grupos hidróxilo se eterifican con ácidos carboxílicos fenólicos; los condensados son polímeros no ramificados de hidroxiflavonoles.<sup>5, 9-13</sup> Tanto unos como otros son insolubles en solventes no polares y solubles en agua y alcohol.<sup>9, 10</sup>

La gran cantidad de grupos hidróxilo fenólicos que poseen los taninos condensados les proporciona numerosos sitios capaces de formar puentes de hidrógeno, por lo que crean asociaciones reversibles con otras moléculas. Tienen una mayor afinidad por las proteínas porque pueden establecer fácilmente puentes de hidrógeno con el oxígeno del grupo carboxilo de los péptidos.<sup>5</sup> Se ha com-

probado que los complejos tanino-proteína se forman con mayor facilidad a un pH  $\approx$  6,0, correspondiente a los valores medios en el rumen<sup>14</sup> y que se disocian a un pH menor de 3,5 y mayor de 8,5<sup>15</sup>. Además, se ha observado que la unión es más fuerte conforme avanza el tiempo<sup>16</sup>, a mayor insolubilidad en agua de la molécula de tanino; a mayor tamaño de la proteína y cuando la proteína es rica en prolina (aunque sea pequeña), porque tienen una estructura abierta de fácil acceso para la formación de enlaces de hidrógeno.<sup>17</sup> Los taninos condensados tienen menor afinidad hacia la formación de enlaces con las proteínas.<sup>17, 18</sup> Los taninos hidrolizables se encuentran principalmente en dicotiledóneas,<sup>5, 19, 20</sup> pero se ha encontrado que algunos cereales como sorgo, cebada y mijo los poseen en grandes cantidades.<sup>21</sup> Los taninos condensados están ampliamente distribuidos y suelen producir antocianidinas por degradación ácida por lo que también se les conoce como proantocianidinas.<sup>22</sup>

El efecto de los taninos en la nutrición animal ha sido muy investigado y se ha encontrado que por su alto grado de reactividad interacciona con las proteínas de las plantas disminuyendo su accesibilidad,<sup>8, 15, 23</sup> como con las enzimas digestivas de los herbívoros reduciendo la digestibilidad de la materia orgánica.<sup>24-27</sup> Además interacciona con las mucoproteínas de la saliva<sup>8</sup> o directamente con los receptores gustativos,<sup>5</sup> lo que provoca la sensación de astringencia, característica de los taninos y, consecuentemente, la baja palatabilidad de las plantas que contienen cantidades elevadas de estos compuestos.<sup>5, 28</sup>

En la célula viva, los taninos son almacenados en una vacuola,<sup>17, 29</sup> pero las células en estados de senescencia y muerte almacenan los taninos en la pared celular.<sup>11, 22, 28</sup> Los taninos contenidos en la vacuola de la célula viva son liberados durante el procesamiento del alimento, uniéndose a las proteínas vegetales, a los polisacáridos y proteínas de la pared celular y permaneciendo parte de ellos como taninos libres.<sup>23, 30-35</sup> En su paso a través del sistema digestivo de los rumiantes, estas tres fracciones (tanino-proteína, tanino-pared celular y taninos libres) experimentan diferentes transformaciones e intercambios entre ellas, siendo los taninos libres, los únicos susceptibles de sufrir degradación o absorción.<sup>36</sup> Una vez que los taninos han pasado por el rumen, las secreciones gástricas, pancreáticas y biliares disocian el

complejo tanino-proteína,<sup>15,36,37</sup> permaneciendo una gran cantidad de taninos ligados a la pared celular que va a ser excretado en las heces junto a la lignina, lo que contribuiría a una disminución de la digestibilidad de la fibra ácido detergente contenida en la dieta.<sup>36</sup> También se ha encontrado que los taninos afectan muchas actividades de los microorganismos del rumen como son la síntesis de RNA y la actividad proteolítica o celulolítica,<sup>18, 38, 39</sup> lo que conlleva a un efecto depresor sobre la digestibilidad de los carbohidratos solubles y hemicelulosas.<sup>24,38-43</sup>

En Colombia parte del banano de rechazo se comercializa en el mercado interno, pero un gran porcentaje se pudre en las fincas, generando pérdidas económicas para el productor y problemas ambientales que además dificultan la comercialización del producto, debido a las actuales exigencias del mercado sobre producción limpia. Por lo tanto la implementación de un bioproceso que permita el empleo del banano verde en la alimentación animal solucionaría algunos de los problemas de esta cadena productiva. Una de las alternativas es el empleo de la fermentación en estado sólido para reducir los taninos e incrementar las proteínas del banano verde ya que se ha encontrado que la pulpa de café fermentada en sólido con *Rhizopus* sp reduce hasta en un 65% su contenido de taninos<sup>44</sup> y que este mismo proceso incrementa en un 11% el contenido proteico de la yuca.<sup>45-47</sup>

### **La fermentación en estado sólido, alternativa para el manejo de residuos de cosecha**

Tradicionalmente la mayoría de los productos de origen biotecnológico se generan por medio de fermentaciones en medios líquidos, sin embargo en los últimos veinte años se ha desarrollado la fermentación en estado sólido, ya que tiene grandes ventajas sobre las fermentaciones líquidas; entre ellas está, una mayor productividad por gramo de sustrato empleado, 30-80 g/L en las fermentaciones líquidas y 100-300g/L en las fermentaciones sólidas; menores costos en la recuperación de productos, empleo de gran variedad de sustratos, fácil aireación, consumo limitado de agua, no producción de efluentes y menores costos de operación y equipo entre otras.<sup>46, 48-50</sup> Tradicionalmente la fermentación en estado sólido se emplea en la producción de alimentos como salsa

soya y koji<sup>51</sup> y en la maduración de quesos entre otros. En la actualidad se llevan a cabo investigaciones para emplearla en la producción de enzimas,<sup>52-56</sup> el compostaje de residuos celulósicos,<sup>57</sup> la producción de sustancias químicas,<sup>58</sup> el incremento de proteínas en alimentos animales<sup>59, 60</sup> y la detoxificación de residuos de cosecha.<sup>44,61,62</sup> Además, se han desarrollado modelos cinéticos,<sup>48, 63</sup> estudios de los parámetros del proceso<sup>64</sup> y su control<sup>65</sup> y se han diseñado varios tipos de biorreactores para el escalado industrial del proceso.<sup>49, 66,67</sup>

La fermentación en estado sólido (FES) se define como el crecimiento de microorganismos en sustratos sólidos en ausencia de agua libre, es una técnica antigua que se remonta a las tradiciones de los pueblos orientales. Históricamente la FES se desarrolló en los procesos de producción de pan, queso, alimentos fermentados, bebidas alcohólicas y en el compost agrícola. Por citar un ejemplo, el uso de la salsa de soya y koji en Japón se remonta a 1000 años A.C. y en China hasta 3000 años A.C., por lo que puede decirse que la FES constituye una antigua técnica adaptada a nuevos propósitos, a partir de la cual se han generado nuevas propuestas para áreas específicas como la microbiología, la farmacéutica y la bioquímica.

Durante la segunda guerra mundial se utilizó la FES para la producción de penicilina y después fue reemplazada por la fermentación sumergida en los países occidentales. Sin embargo, su empleo ha comenzado a resurgir debido a las propiedades del proceso. La FES puede ser definida teniendo en cuenta sus propiedades descritas a continuación, según Raimbault (1998):

- Se realiza en una matriz sólida porosa, que puede ser biodegradable o no, la cual posee una gran superficie por unidad de volumen, en el rango de  $10^3$  a  $10^6$  m<sup>2</sup>/ cm<sup>3</sup>; en cuya interfase sólido/gas es muy fácil el crecimiento microbiano.
- La matriz puede absorber una cantidad de agua equivalente a una o muchas veces su peso seco, con actividad relativamente alta del agua en la interfase sólido/gas lo cual, permite una alta rata a los procesos bioquímicos.
- El aire puede fluir bajo presiones relativamente bajas y mezclarse con la masa en fermentación.
- La interfase sólido/gas es un buen hábitat para un rápido crecimiento de hongos filamentosos, levaduras y bacterias, ya sea para cultivo de uno solo de ellos o mezclados.

- Las propiedades mecánicas de la matriz le permiten resistir la compresión o una agitación suave, lo cual es necesario para cualquier proceso de fermentación. Este proceso requiere de gránulos pequeños o partículas fibrosas que no tiendan a romperse o pegarse una de otra.
- La matriz no debe estar contaminada con inhibidores de la actividad bacteriana y debe ser capaz de absorber o contener nutrientes tales

como carbohidratos, fuentes de nitrógeno y sales minerales.

La mayoría de las investigaciones alrededor de la FES, desarrolladas en diferentes países del mundo, tienden a tomar este tipo de fermentación como una alternativa a la fermentación sumergida, ya que presenta ventajas con relación a ésta, aunque también presenta limitaciones (Tabla 2).

**Tabla 2. Comparación entre la fermentación líquida y sólida<sup>49</sup>**

Factor	Fermentación Líquida	Fermentación Sólida
Sustratos	Sustratos solubles	Polímeros insolubles
Asepsia	Esterilización por calor y control de la asepsia	Tratamiento por vapor, no se necesita esterilidad
Agua	Alto consumo de agua, producción de efluentes	Bajo consumo de agua, no producción de efluentes
Calor metabólico	Fácil control de la temperatura	Baja transferencia de calor
Aireación	Baja solubilidad del O <sub>2</sub> , se requiere aireación	Fácil aireación por la gran superficie de intercambio
Control de pH	Fácil	Sustratos buffereados
Agitación	Necesaria	Es preferible no agitar
Escalado	Equipos disponibles	Se deben diseñar y construir
Inoculación	Fácil inoculación, proceso continuo	Inoculación por esporas, proceso discontinuo
Contaminación del proceso	Riesgo de contaminación por una sola cepa de bacterias	Riesgo de contaminación por la baja rata del crecimiento de los hongos
Consumo energía	Alto consumo de energía	Bajo consumo de energía
Volumen del equipo	Gran volumen y tecnología costosa	Bajo volumen y bajo costo de los equipos
Residuos contaminantes	Altos volúmenes de efluentes contaminantes	No hay efluentes, menor contaminación
Rendimiento S /P	30-80 g/L	100/300 g/L

En la fermentación en estado sólido se produce más biomasa y producto por unidad de volumen y la recuperación de producto es más simple<sup>68</sup>, pero existen problemas con respecto al intercambio de calor, transferencia de oxígeno, gradientes de pH, nutrientes y productos como consecuencia de la heterogeneidad del cultivo, por lo que se deben emplear microorganismos muy tolerantes para minimizarlos<sup>49</sup>; el intercambio de calor y la transferencia de oxígeno se regulan por medio de la aireación y el pH y los nutrientes por medio de sustancias buffer<sup>63</sup>.

En los procesos de fermentación en estado sólido pueden emplearse bacterias, levaduras y hongos filamentosos, pero éstos últimos son los más utilizados debido a sus propiedades fisiológicas, enzimológicas y bioquímicas. Entre ellas están la forma de crecimiento de sus hifas, su buena tolerancia a la baja actividad del agua ( $A_w = 0.7$ ) y una alta presión osmótica, lo que los hace eficientes y competitivos con la microflora natural para la conversión de sustratos sólidos<sup>49</sup>.

En general los sustratos empleados en la fermentación en estado sólido son productos agrícolas

heterogéneos, cuya preparación es básica para convertir el sustrato bruto a una forma utilizable. Ésta incluye reducción del tamaño, suplementación con nutrientes (en caso de que sea necesario), ajuste del pH y tratamiento con vapor para eliminar contaminantes, aunque este último paso es discutido por algunos autores ya que el valor tan bajo de la  $A_w$  inhibe el crecimiento bacteriano en la mayoría de los casos<sup>48</sup>. En el caso de la disminución de taninos, cafeína y polifenoles se ha encontrado que el factor más limitante es el pH el cual debe mantenerse alrededor de 6.0<sup>44</sup>.

Los biorreactores empleados en la fermentación en estado sólido se diseñan con base en la composición, tamaño, porosidad, resistencia mecánica, retención de agua, capacidad de transferencia de calor, actividad del agua y la necesidad o no de esterilidad en el proceso<sup>67</sup>.

## Conclusiones

La fermentación en estado sólido es un proceso que permite transformar residuos orgánicos en productos con un alto valor agregado como enzimas, antibióticos y ácidos orgánicos, entre otros; o se puede emplear para la producción de alimentos, detoxificación de residuos y enriquecimiento proteico. Tiene grandes ventajas sobre las fermentaciones líquidas; las más sobresalientes son su alto rendimiento, bajo consumo energético durante el proceso, bajo costo de equipos y no producción de efluentes.

La gran cantidad de residuos agrícolas, cuyo empleo en la alimentación animal se ha visto restringido por la cantidad de metabolitos secundarios tóxicos que contienen o por su baja calidad nutricional, podrían ser transformados mediante la fermentación en estado sólido, en alimentos con alto valor nutritivo. Adicionalmente, se solucionaría el problema ambiental que generan al descomponerse, contaminando aguas y suelos, y se podría transformar las pérdidas económicas de los productores en ganancia al utilizar los desechos de cosechas como materia prima con un valor económico adicional.

## Referencias

1. COLOMBIA, MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO. Cadena del banano 2003. [On line]. En: Anuario 2003. Colombia,

El Ministerio. [Fecha de acceso: 5/04/2004] URL Disponible en: [http://www.agrocadenas.gov.co/banano/banano\\_reportes.htm](http://www.agrocadenas.gov.co/banano/banano_reportes.htm)

2. QUIROZ et al. Dynamics of Feed Resources in Mixed Farming Systems of Latin America. [On line]. En: Dairy Development in West Africa. Nigeria. 1996. [Fecha de acceso: 17/06/2003] URL Despoiled en: [www.ssdairy.org/AdditionalRes/CropResidues/chap8.htm](http://www.ssdairy.org/AdditionalRes/CropResidues/chap8.htm).
3. MARTINEZ, S., S. Los metabolitos intermedios como factores antinutricionales. Folleto Universidad de Camagüey. [On line]. Cuba [Fecha de acceso: 23/02/04]. URL disponible en: [www.reduc.edu.cu/.../metab-int/Folleto.html](http://www.reduc.edu.cu/.../metab-int/Folleto.html).
4. VISWANATHAN, S. y KUMAR, R. Relationship between protein-precipitating capacity of fodder tree leaves and their tannin content. En: Animal Feed Science and Technology. Vol. 44 (1993); p. 281-287.
5. MCLEOD, M.N. Plants tannins; their role in forage quality. En: Nutrition. Abstract Review. Vol. 44 (1974); p. 803-815.
6. FIGUEROA, V. Integración de la producción porcina con la agricultura a través de cultivos tropicales de alto rendimiento. Documento Fundación Polar [On line]. Venezuela. [Fecha de acceso: 17/05/03]. URL disponible en: [www.fpolar.org.ve/ats/ats/ats\\_info/eventos/porcicultores/vilda\\_figueroa/Cap03.doc](http://www.fpolar.org.ve/ats/ats/ats_info/eventos/porcicultores/vilda_figueroa/Cap03.doc).
7. BAO, M. et al. Aprovechamiento de los residuos de plataneras: I Producción en las Islas Canarias, sus características y alternativas de utilización. En: Revista Agroquímica de tecnología de Alimentos. Vol. 27 (1987); p. 24-30.
8. WONG, E. Plant phenolics. In: G.W. Butler and R.W. Bailey (Ed.) Chemistry and Biochemistry of Herbage. Vol. 1 pp: 265-322. Academic Press. London. 1973.
9. DESHPANDE, S.S. et al. Tannin analysis of food products. En: Review Food Science Nutrition. Vol. 24 (1986); p. 401-449.
10. MOLE, S. y WATERMAN, P.G. A critical analysis of techniques for measuring tannins in

- ecological studies. Techniques for chemically defining tannins. En: *Oecologia*. Vol. 72 (1987); p. 137-147.
11. STAFFORD, H.A. Proanthocyanidins and the lignin connection. En: *Phytochemistry*. Vol. 27 (1988): p. 1-6.
  12. MULLER-HARVEY, I. y MCALLAN, A.B. Tannins: Their biochemistry and nutritional properties. En: *Advances in Plant Cell Biochemistry and Biotechnology*. Vol. 1 (1992); p. 151-217.
  13. REED, J.D. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. En: *Journal Animal Science*. Vol. 73 (1995); p. 1516 - 1528.
  14. KOUPI-ABYAZANI, M.R. et al. Purification and characterization of a proanthocyanidin polymer from seed of alfalfa (*Medicago sativa* Cv. Beaver). En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 4 (1993); p. 565-569
  15. JONES, W.T. y J.L. MANGAN. Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. En: *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 28 (1977); p. 126-136.
  16. TERRILL, T.H. et al. Assay and digestion of <sup>14</sup>Clabelled condensed tannins in the gastrointestinal tract of sheep. En: *British Journal of Nutrition*. Vol. 72 (1994); p. 467-477.
  17. SPENCER, C.M. et al. Polyphenol complexation, some thoughts and observations. En: *Phytochemistry*. Vol. 27 (1988); p. 2397-2409.
  18. MAKKAR, H.P.S. et al. Changes in tannin content, polymerization and protein precipitation capacity in oak (*Quercus incana*) leaves with maturity. En: *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 44 (1988); p. 301-307.
  19. ABREU, J.M. Tannins in leaves of Portuguese mediterranean trees. E: Papanastasis (Ed.) *Agriculture. Agrimed research programme. Fodder trees and shrubs in the Mediterranean production systems: objectives and expected results of the EC research contract*. V. pp: 85-87. Commission of the European Communities. *corniculatus* and *Lotus pedunculatus*. En: *Australian Journal Agriculture Research*. Vol. 44 (1993); p. 1667-1681.
  20. PEREVOLOTSKY, A. Tannins in Mediterranean woodlands species: lack of response to browsing and thinning. En: *Oikos*. Vol. 71 (1994); p. 333-340.
  21. JANSMAN, A.J.M. Tannins in feedstuffs for simple stomached animals. En: *Nutrition Research*. Vol. 6 (1993); p. 209-236.
  22. IASON, G.R. et al. Variation in condensed tannin concentration of a temperate grass (*Holcus lanatus*) in relation to season and reproductive development. En: *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 21 (1995); p. 1103-1112.
  23. REED, J.D. et al. Condensed tannins: a factor limiting the use of cassava forage. En: *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 33 (1982); p. 213-220.
  24. GRIFFITHS, D.W. The inhibition of digestive enzymes by extracts of field bean (*Vicia faba*). En: *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 30 (1979); p. 458-462.
  25. HORIGOME, T., R. et al. Effects of condensed tannins prepared from leaves of fodder plants on digestive enzymes in vitro and in the intestine of rats. En: *British Journal of Nutrition*. Vol. 60 (1988); p. 275-285.
  26. LIENER, I.E. Naturally occurring toxic factors in animal feedstuffs. In: J. Wiseman and D.J.A Cole (Ed.) *Feedstuff Evaluation*; 1990. pp: 377-394. Butterworths. London.
  27. SILANIKOVE, N. et al. Goats fed tannin-containing leaves do not exhibit toxic syndromes. En: *Small Ruminants Research*. Vol. 21 (1996); p. 195-201.
  28. MAKKAR, H.P.S. et al. Tannin levels in leaves of some oak species at different stages of maturity. En: *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 54 (1991); p. 513-519.
  29. BURNS, J.C. Symposium: Forage quality and animal performance. Antiquity factors as

- related to forage quality. En: *Journal of Dairy Science*. Vol. 61 (1978); p. 1809-1820.
30. PRICE, M.L. et al. Tannin content as a function of grain maturity and drying conditions in several varieties of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. En: *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 27 (1979); p. 1270-1274.
31. RITTNER, U. Y J.D. REED. Phenolics and in vitro degradability of protein and fibre in west African browse. En: *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 58 (1992); p. 21-28.
32. TERRILL, T.H. et al. Condensed tannin concentration in *Sericea lespedeza* as influenced by preservation method. En: *Crop Science*. Vol. 30 (1990); p. 219-224.
33. TERRILL, T.H. et al. Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate, meals and cereal grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 58 (1992); p. 321-329.
34. TERRILL, T.H. et al. Effect of drying method and condensed tannin on detergent fiber analysis of *Sericea lespedeza*. En: *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 66 (1994); p. 337-343.
35. JACKSON, F.S. et al. The extractable and bound condensed tannin content of leaves from tropical tree, shrub and forage legume. En: *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 71 (1996); p. 103-110.
36. PÉREZ-MALDONADO, R.A. Y NORTON, B.W. The effects of condensed tannins from *Desmodium intortum* and *Calliandra calothyrsus* on protein and carbohydrate digestion in sheep and goats. En: *British Journal of Nutrition*. Vol. 76 (1996); p. 515-533.
37. MANGAN, J.L. Nutritional effects of tannins in animal feeds. En: *Nutrition Research Review*. Vol. 1 (1988); p. 209-231.
38. BARRY, T.N. Y MANLEY, T.R. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. Quantitative digestion of carbohydrates and proteins. En: *British Journal of Nutrition*. Vol. 51 (1984); p. 493-504.
39. MCALLISTER, T. A. et al. Microbial attachment and feed digestion in the rumen. En: *Journal of Animal Science*. Vol. 72 (1994); p. 3004-3018.
40. GRIFFITHS, D.W. Y JONES, D.I. Cellulase inhibition by tannins in the testa of field beans (*Vicia faba*). En: *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 28 (1977); p. 983-989
41. CHIQUETTE, J., et al. Effect of two isosynthetic strains of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) using in vitro and in sacco techniques. En: *Canadian Journal of Animal Science*. Vol. 68 (1988); p. 751-760.
42. WAGHORN, G.C. et al. Effects of condensed tannins in *Lotus corniculatus* on its nutritive value for sheep. Non-nitrogenous aspects. En: *Journal of Agricultural Sciences*. Vol. 123 (1994); p. 99-107.
43. WAGHORN, G.C. y SHELTON, I.D. Effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on the nutritive value of ryegrass (*Lolium perenne*). En: *Journal of Agricultural Sciences*. Vol. 125 (1995); p. 291-297.
44. BRAND, D., et al. Biological detoxification of coffee husk by filamentous fungi using a solid state fermentation system. En: *Enzyme and Microbial Technology*. Vol. 27 (2000); p. 127-133.
45. SOCCOL C. R. Growth kinetics of *Rhizopus arrhizu* in solid state fermentation of treated cassava. En: *Biotechnology Technology*. Vol. 7 (1993); p. 563-568.
46. SOCCOL, C. R., Y VANDENBERGHE, L. P. S. Overview of applied solid-state fermentation in Brazil. En: *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 13 (2003); p. 205-218
47. STERZ S. C. et al. Growth kinetics of *Rhizopus formosa* MUCL28422 or raw cassava flour in solid state fermentation. En: *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. Vol. 74 (1999); p. 58-586
48. DUSDET, J. C. Aplicaciones de la Fermentación en Estado Sólido. En: *Memorias Congreso Latinoamericano de Estudiantes de Ingeniería Química*. (2001: La Habana). Cuba: Ed. COLAEIQ 20p.

49. RAIMBAULT, M. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. En: *Electronic Journal of Biotechnology*. Vol. 1 no. 3 (1998) [Fecha de acceso: 23/02/04] URL disponible en: [www.ejb.org/](http://www.ejb.org/)
50. VINIEGRA, G. et al. Advantages of fungal enzyme production in solid state over liquid fermentation systems. En: *Biochemical Engineering Journal*. V. 13 (2003); p. 157-167
51. HAN, B. Z. et al. Review of Chinese fermented soybean food. En: *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 65 (2001); p. 1-10
52. BARA, M. T., et al. Purification and characterization of an exo-L-1,3-glucanase produced by *Trichoderma asperellum*. En: *FEMS Microbiology Letters*. Vol. 219 (2003); p. 81-85
53. KRISHNA, C. Production of bacterial cellulases by solid state bioprocessing of banana wastes. En: *Bioresource Technology*. Vol. 69 (1999); p. 231-239
54. MAHADIK, N. D. et al. Production of acidic lipase by *Aspergillus niger* in solid state fermentation. En: *Process Biochemistry*. Vol. 3 (2002); p. 715-721
55. MURASHIMA, K. et al. Purification and characterization of new endo-1,4-D-glucanases from *Rhizopus oryzae*. En: *Enzyme and Microbial Technology*. Vol. 30 (2002); p. 319-326.
56. OKEMOTO, K. et al. Purification and characterization of an endo(1,6)galactanase from *Trichoderma viride*. En: *Carbohydrate Research*. Vol. 338 (2003); p. 219-230
57. NAGAO, N., et al. Novel hybrid system of solid state and submerged fermentation with recycle for organic solid waste treatment. En: *Process Biochemistry*. Vol. 00 (2003); p. 1-7
58. KUMAR, D. et al. Utilization of fruits waste for citric acid production by solid state fermentation. En: *Process Biochemistry*; Vol. 00 (2002); p. 1-5
59. ANUPAMA, S. Y RAVINDRA, P. Research review paper Value-added food: Single cell protein. En: *Biotechnology Advances*. Vol. 18 (2000); p. 459-479
60. HAN, J. Solid-state fermentation of cornmeal with the basidiomycete *Hericium erinaceum* for degrading starch and upgrading nutritional value. En: *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 80 (2003); p. 61-66
61. LINARES, A. et al. Detoxification of semisolid olive-mill wastes and pine-chip mixtures using *Phanerochaete favido-alba*. En: *Chemosphere*. Vol. 51 (2003); p. 887-891
62. TENDERDY, R. P. Y SZAKACS, G. Bioconversion of lignocellulose in solid substrate fermentation. En: *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 13 (2003); p. 169-179
63. RINZEMA, A. Food Fermentation: Process Engineering. Department of Agrotechnology and Nutritional Sciences. Wageningen University. Netherlands. 2001. [Fecha de acceso: 25/03/2003] URL Disponible en: <http://pkedu.ftb.eitn.wua.nl/rinzema/Food-FermentationFoodFer%20Dictaat%202001%20Chapter%204%20v2.PDF>
64. MITCHELL, D. A. et al. Recent developments in modeling of solid-state fermentation: heat and mass transfer in bioreactors. En: *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 13 (2003); p. 137-147
65. BELLON, V. et al. Sensors and measurements in solid state fermentation: a review. En: *Process Biochemistry*. Vol. 38 (2003); p. 881-896
66. PANDEY, A. et al. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. En: *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 6 (2000); p. 153-162
67. DURAND, A. Bioreactor designs for solid state fermentation. En: *Biochemical Engineering Journal*. Vol. 13 (2003); p. 113-125
68. MOO-YOUNG, M. Edible fungi from fermented cellulosic residues: bioprocess innovation. En: *Fungal Science*. Vol. 6 no. 2 (1991); p. 71-72.