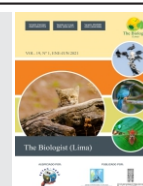




## The Biologist (Lima)



ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL

### USE OF CITRUS BY-PRODUCTS: FERMENTATION OF THE ORANGE PEEL BY *ASPERGILLUS NIGER* VAN TIEGHEM, 1867

### APROVECHAMIENTO DE SUBPRODUCTOS CÍTRICOS: FERMENTACIÓN DE LA CORTEZA DE NARANJA POR *ASPERGILLUS NIGER* VAN TIEGHEM, 1867

Olegario Marín-Machuca<sup>1,2,\*</sup>; José Iannacone<sup>3,4</sup>; Raúl Ernesto Porras-Lavalle<sup>5</sup>; Fredy Aníbal Alvarado-Zambrano<sup>6</sup>; Ahuber Omar Vásquez-Aranda<sup>7</sup> & Ricardo Arnaldo Alvarado-Zambrano<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Tecnología de Alimentos. Facultad de Oceanografía, Pesquería, Ciencias Alimentarias y Acuicultura. Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV). Lima. Perú.

<sup>2</sup>Escuela Profesional de Ingeniería de Alimentos. Facultad de Ingeniería Pesquera y de Alimentos Universidad Nacional del Callao (UNAC). Callao. Perú.

<sup>3</sup>Laboratorio de Parasitología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma (URP). Lima. Perú.

<sup>4</sup>Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal. Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Grupo de Investigación en Sostenibilidad Ambiental (GISA), Escuela Universitaria de Posgrado, Universidad Nacional Federico Villarreal (EUPG –UNFV). Lima. Perú.

<sup>5</sup>Unidad de Investigación, Innovación y Emprendimiento. Facultad de Ciencias Sociales. Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV). Lima. Perú.

<sup>6</sup>Facultad de Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS). Huánuco. Perú.

<sup>7</sup>Laboratorio de Geografía y Medio Ambiente. Facultad de Ingeniería Geográfica, Ambiental y Ecoturismo. Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV). Lima, Perú.

<sup>8</sup>Facultad de Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), Huánuco, Perú.

\*Corresponding author: [omarin@unfv.edu.pe](mailto:omarin@unfv.edu.pe)

<https://orcid.org/0000-0001-7615-0986>

## ABSTRACT

The use of citrus by-products was evaluated through the fermentation of the orange peel by means of *Aspergillus niger* van Tieghem strain, 1867, which was obtained by inoculation in a petri dish, at a temperature of 35°C and a pH of 4,3. The crushed orange peel was used as a substrate, partially dehydrated, spread on trays, dried in cardboard trays and without heat pretreatment, adding only components and mineral nutrients, and *A. niger* was cultivated at different fermentation temperatures between 8°C and 40 °C. Upon completion of the fermentation process of the pretreated orange peel, maximum percentages of transformation of mineral nitrogen to organic nitrogen of 34.5% were obtained, for a value of the thermal integral between 0°C and 320°C per day, obtaining 1 kg of dry matter, 6.6% protein for 600 g of product (feed) with 18% protein. Finally, the variation of the pH of the substrate was correlated as a function of the thermal integral of the feedstock; the performance of the transformation of mineral to organic nitrogen as a function of the thermal integral of the feedstock and the evolution of the organic nitrogen content of the orange peel fermented by *A. niger* compared to the thermal integral. The results show high correlation coefficients. It is concluded that it is possible to take advantage of citrus by-products by fermentation of the orange peel by *A. niger*.

**Keywords:** *Aspergillus niger* – orange peel – fermentation – inorganic and organic nitrogen

doi:10.24039/rtb2021191882

## RESUMEN

Se evaluó el aprovechamiento de los subproductos cítricos mediante la fermentación de la corteza de naranja por medio de *Aspergillus niger* van Tieghem, 1867, el que fue obtenido por inoculación en placa Petri, a temperatura de 35°C y a un pH de 4,3. Se utilizó como sustrato la corteza de naranja triturada, parcialmente deshidratada, extendida en bandejas, secada en bandejas de cartón y sin pretratamiento térmico, añadiéndole, únicamente, componentes y nutrientes minerales, y se cultivó a *A. niger* a diferentes temperaturas de fermentación entre 8°C y 40°C. Al culminar el proceso fermentativo de la corteza de naranja pretratada se obtuvieron porcentajes máximos de transformación de nitrógeno mineral a nitrógeno orgánico de 34,5 %, para un valor de la integral térmica entre 0°C y 320°C por día, obteniendo para un kg de materia seca, 6,6 % de proteína para 600 g de producto (pienso) con 18 % de proteína. Finalmente, se correlacionó la variación del pH del sustrato en función de la integral térmica del cultivo; el rendimiento de la transformación del nitrógeno mineral a orgánico en función de la integral térmica del cultivo y la evolución del contenido de nitrógeno orgánico del sustrato de naranja fermentado por el *A. niger* frente a la integral térmica. Los resultados muestran altos coeficientes de correlación. Se concluye que es posible aprovechar los subproductos cítricos mediante la fermentación de la corteza de naranja por *A. niger*.

**Palabras clave:** *Aspergillus niger* – corteza de naranja – fermentación – nitrógeno inorgánico y orgánico

## INTRODUCCIÓN

La producción de alimentos proteicos no tradicionales a partir de residuos y subproductos agrícolas, tanto para la alimentación humana como para animales, como el ganado, han experimentado un incremento progresivo en los últimos años. Se han empleado los residuos de la caña de azúcar y luego la azúcar refinada como materia prima para la obtención de ácido cítrico en residuos de frutas cítricas, generando un alto costo de producción, donde con el transcurrir de los años se han buscado nuevas alternativas de producción más económicas; logrando cultivar a *Aspergillus niger* van Tieghem strain, 1867 con azúcar morena, obteniéndose buenos resultados, pero con un costo aún alto (Sáez *et al.*, 2002; Roukas & Kotzekidou, 2020).

Es importante conocer las características de *A. niger* para su identificación, las cuales son: cabezas conidiales de tonos negro a negro grisáceo, negro café, negro púrpura y negro carbón. La caracterización morfológica de la cepa de *A. niger* AL01 confirma que la cepa empleada se trata de un *A. niger* var. *niger*, y muestra las características principales detalladas para la identificación y

aplicación de las cepas de dicho hongo en la fermentación de la corteza de residuos cítricos (Sáez *et al.*, 2002; Ahmed *et al.*, 2016).

Uno de los métodos más prometedores para la producción de proteína no convencional lo constituye la Fermentación en Fase Sólida (FFS) de los residuos lignocelulósicos (Santos *et al.*, 2020), lo cual está determinado en primera instancia, a los grandes volúmenes de estos residuos que se producen anualmente en el mundo, y, en segundo lugar, por las ventajas que tiene el sistema de FFS sobre las fermentaciones sumergidas convencionales; complementando que la caña de azúcar como sus residuos agroindustriales se utilizan en la producción de alimento animal enriquecido en proteína por FFS (Julián & Ramos, 2007).

El crecimiento en estado sólido, normalmente sobre una placa de agar en una caja Petri, permite medir la cantidad de biomasa producida para diversas concentraciones iniciales de glucosa, pero no es fácil la determinación de los productos excretados, como en un medio líquido, por lo que solo se obtiene un conocimiento limitado acerca del metabolismo de *A. niger*. Los estudios realizados en sustratos sólidos, como es el caso de

la cáscara de naranja parcialmente deshidratada, no han incorporado ninguna información basada en el conocimiento de las rutas metabólicas de este microorganismo, lo que nos permitiría describir el crecimiento de *A. niger* de una forma menos empírica (Reyes-Ocampo *et al.*, 2013; Abdullah *et al.*, 2020; Sepúlveda *et al.*, 2020).

Es necesario plantear alternativas de alimentación animal basada en fuentes y alimentos no convencionales y es aquí, donde opciones biotecnológicas como las fermentaciones y en especial la fermentación en estado sólido (FES) se consolidan como una alternativa para la generación de alimentos proteico-energéticos de buena calidad y de bajo costo, evaluando el pH y el contenido de nitrógeno orgánico, situación que mejorará la rentabilidad del agronegocio ganadero y en general de las producciones pecuarias, dando una alternativa económicamente viable y ambientalmente sostenible (Borrás-Sandoval & Torres-Vidales, 2016).

En la actualidad los altos índices de contaminación han llevado a los gobiernos de todo el mundo a exigir a las industrias de productos cítricos una producción limpia, lo cual hace que las empresas planteen soluciones para disminuir sus cargas contaminantes, en virtud que la industria alimenticia genera una gran cantidad de residuos orgánicos e inorgánicos, de características contaminantes y la biotecnología y la fermentación son una excelente alternativa en la biodegradación de estos desechos, convirtiéndolos en materias primas para la obtención de importantes productos de consumo. En la producción de piensos con *A. niger* los niveles de los nutrientes y las condiciones ambientales, como pH, agitación, temperatura, iones metálicos, concentración de fosfato, fuente de nitrógeno y carbono, alcoholes y aditivos, son factores importantes que regulan la morfología del microorganismo y el proceso fermentativo (López *et al.*, 2005).

Los modelos cinéticos para la producción de celulasas son escasos, especialmente para procesos de fermentación en fase sólida, en la que sólo se ha hallado trabajos relacionados que presentan un modelo cinético simple para describir la dinámica de la actividad de varias enzimas en un crecimiento modélico del hongo *A. niger* en placas Petri, en cuyo modelo no se establecen relaciones

matemáticas con varias variables del proceso, todo lo cual limita su aplicación y, que el modelo cinético (polinomial) propuesto por los autores de este trabajo está estructurado de forma que se tiene en cuenta la desnaturalización de la enzima por la hidrólisis de la celulasa por las proteasas, y la inhibición de las enzimas debido al máximo crecimiento del microorganismo, en la que ocupa todo su espacio vital y deja de crecer (León-Revelo *et al.*, 2018).

El plátano Dominic Harton en estado maduro es un fruto abundante en carbohidratos, por lo que se empleó como sustrato en un proceso de fermentación al agente *A. niger* (Velásquez *et al.*, 2010). La cáscara de naranja puede convertirse en un material esencial para la elaboración de biopelículas debido a su contenido en fibras de celulosa, pectina y aceites esenciales; donde la composición de la cáscara de naranja varía de acuerdo con la especie y a las condiciones de su cultivo, reportándose que la naranja contiene 14,27 % másico de cáscara; a su vez, la cáscara seca contiene 53,27 % másico de carbohidratos; y que a su vez, los residuos de naranja contienen los porcentajes másicos siguientes: pectina, 29,8; celulosa, 18,7; y, hemicelulosa, 20,9; vale decir que el contenido de celulosa es cercano al 20% (Alata *et al.*, 2019).

Las enzimas pépticas se utilizan en la industria de alimentos, debido a que la degradación de la pectina disminuye la viscosidad de los jugos, facilitando así procesos como clarificación, filtración y concentración de los extractos de frutas y vegetales. Numerosas compañías producen comercialmente enzimas pépticas a partir de hongos, en especial del género *Aspergillus*, mediante fermentación en sustrato sumergido o en sustrato sólido (Lozano & López, 2018; Ozdal & Kurbanoglu, 2019).

El propósito del presente trabajo fue utilizar y aprovechar los residuos y subproductos de la industria citrícola (corteza de naranja) por acción de *A. niger* para obtener piensos proteinizados para animales y evaluar el pH en función de la integral térmica ( $^{\circ}\text{C} \times \text{día}$ ), el rendimiento de nitrógeno en función de la integral térmica ( $^{\circ}\text{C} \times \text{día}$ ) y la cuantificación del nitrógeno orgánico (% base seca) en función de la integral térmica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sustrato

Se utilizó el residuo de corteza de naranja procedente de los mercados aledaños (Santa Rosa, Vencedores y Corazón de Jesús), Lima, Perú, y de los vertederos de algunas plantas procesadoras de frutas cítricas. Se realizaron algunos procesos de tratamiento de residuos sólidos, entre ellos el de un secado convenientemente. El subproducto obtenido se trituró y pasó a un proceso de molienda mecánica. Al subproducto proveniente de la molienda, por cada kg de materia seca de sustrato se le adicionó como nutriente 60 g de nitrato amónico, 4 g de fosfato potásico y 4 g sulfato de magnesio; que, según técnica diseñada, no se aplica tratamiento térmico previo alguno. Las condiciones de proceso fueron mantenidas constantes o con mínima variación del pH (4,3) y de la temperatura (32 °C).

### Integral térmica

La integral térmica, en °C x día se define como la temperatura acumulada e integrada, que es necesaria para completar un estado fenológico (plantas), un estadio larvario (artrópodos) o el ciclo completo de un ser vivo como es el caso del *A. niger*. Este concepto es utilizado en biología, procesos fermentativos, procesos biológicos y para realizar modelos matemáticos de predicción de desarrollo microbiano. Así mismo, la integral térmica corresponde a un índice de disponibilidad de calor para el desarrollo y maduración de especies vegetales (corteza de naranja, previamente deshidratada). Si desde el momento que se produce la germinación de un cultivo se suman las temperaturas medias de cada día hasta el momento de madurez, la suma total es siempre la misma.

### Condiciones y aspectos del proceso

El proceso fue llevado a cabo en condiciones de no esterilidad en todas las etapas de la investigación, dado que las cepas del *A. niger* no permiten el desarrollo y proliferación de microorganismos. Aún en estas condiciones se realizaron los controles microbianos respectivos, durante las 24 h y en toda la investigación. Así mismo, se evaluó el pH por medio de medición elemental simple usando pH metro, la cuantificación del nitrógeno por el método micro Kjeldahl y la variación de

materia seca por método de constancia de masa (Romero-Fernández *et al.*, 2019).

### Relación de las variables dependientes y la independiente

La variación del pH en función de la integral térmica (°C x día), el rendimiento (en %) de nitrógeno inorgánico transformado a nitrógeno orgánico en función de la integral térmica (°C x día) y el nitrógeno orgánico (% base seca) en función de la integral térmica (°C x día).

### El inóculo

Con respecto al inóculo, se empleó una cepa de *A. niger*, procedente del laboratorio de microbiología de la "Farmacia Universal" de Lima, Perú. Las características principales de las cepas de *A. niger*, para su identificación fueron: cabezas conidiales de tonos oscuros a negro grisáceo, de formas radiadas o divididas formando columnas de cadenas de conidios irregulares o bien definidos. La cepa se mantuvo en extracto de malta al 2%. Se preparó una suspensión de esporas por extracción con una solución de sulfato sódico al 0,01% en agua estéril (tratada a 100°C por 10 min) sobre placas del cultivo esporulado, presentando una concentración de  $4,5 \times 10^8$  esporas por  $\text{cm}^3$ , sirviendo para inocular el sustrato de corteza de naranja a razón de 20 mL de sustrato por cada kg de materia seca. Se realizó la determinación de aflatoxinas, por inoculación en placa Petri durante 24 h y durante el periodo de la fase fermentativa.

### Cultivo

El sustrato inoculado para el cultivo fue extendido en bandejas de plástico de 25 x 40 x 10  $\text{cm}^3$ , con una densidad de carga de 25 kg de corteza de naranja fresca por  $\text{m}^2$  de bandeja, las cuales se cultivaron a 8°C, 18°C, 26°C y 37°C, respectivamente. En cuanto a los métodos analíticos, la materia seca se determinó por desecación en estufa (equipo que está provisto de una capacidad de 5 kg y temperatura de hasta 130 °C) a 104°C, hasta peso constante; el pH, nitrógeno total, y el nitrógeno mineral.

### Materia seca

El contenido en materia seca (MS) o contenido en extracto seco, es la proporción porcentual de sólidos en una mezcla sólida (cáscara de naranja parcialmente deshidratada) y, cuanto más alta sea esta proporción, más seca será esta mezcla sólida.

La unidad del contenido MS es [% p/p] y el procedimiento para determinar el contenido MS fue medida en el laboratorio donde para ello se extrajo una muestra de cáscara de naranja parcialmente deshidratada (que en algunas ocasiones es llamada materia fresca) que fue calentada en la mufla por encima de 100 °C para que la humedad residual (en su mayoría, agua) se evapore. El residuo seco restante se pesó y ponderó; ello dio como resultado el contenido de sustancia seca de la mezcla de corteza de naranja parcialmente deshidratada.

#### Análisis de datos

Los datos obtenidos se trataron estadísticamente realizando un análisis de regresión cuadrática, validado por su coeficiente de regresión de Person. Para el coeficiente de correlación  $r$  de Pearson se utilizó la fórmula siguiente:

$$r = \sqrt{\frac{\sum(y_c - \bar{y})^2}{\sum(y - \bar{y})^2}}$$

Donde  $y_c$  representa los valores calculados por el modelo de estimación,  $\bar{y}$  representa la media elemental de los datos experimentales y  $y$  representa a los datos experimentales.

**Aspectos éticos:** Los autores señalan que se cumplieron todos los aspectos éticos a nivel nacional e internacional.

## RESULTADOS

Los cultivos, como se reseña en la parte experimental, se realizaron sin tratamiento térmico previo buscando con ello que el aporte energético y proteico al proceso fuera el menor posible. A pesar de las condiciones no estériles, no se detectó desarrollo de microorganismos diferentes a *A. niger*, ni la presencia de aflatoxinas (análisis realizado por inoculación en placa Petri durante 24 h y durante el periodo de la fase fermentativa) en los diferentes controles realizados a los cultivos.

Periódicamente se evaluó el pH del sustrato, el contenido de nitrógeno y la variación de materia seca de los cultivos, como el índice de metabolización de la materia orgánica, y se analizó su relación con los factores de tiempo, temperatura e integral térmica.

La fermentación de cortezas de naranja y de cualquier subproducto cítrico, mediante cepas del *A. niger*, manteniendo condiciones de proceso estables, es una excelente alternativa en la biodegradación de estos desechos, convirtiéndolos en materias primas para la obtención de importantes productos de consumo animal, como son los piensos para animales mayores, especialmente vacunos.

Los valores del pH, el rendimiento (nitrógeno transformado/nitrógeno transformable) y el nitrógeno orgánico (% base seca) en función de la integral térmica (°C x día) se presentan en las tablas 1, 2 y 3; respectivamente.

**Tabla1.** Valores del pH vs la integral térmica (°C x día).

Integral térmica (°C x día)	pH
50	3,7
80	3,4
100	3,5
130	3,5
150	3,4
200	3,2
250	3,5
300	3,7
350	4,3
400	5,0
450	6,1
500	6,2

Correlacionando los datos de la tabla 1, se llega a determinar la relación de orden cuadrática con su coeficiente de correlación correspondiente. La relación de orden cuadrática, que hace la estimación respectiva de la dependencia del pH en función la integral térmica es el modelo expresado por la ecuación (1)

$$\text{pH} = 4,0632 - 0,0091 \times (IT) + 2,8145 \times 10^{-5}(IT)^2 \dots (1)$$

con un coeficiente de correlación de Person igual a:

$$r = \sqrt{\frac{11,99}{12,44}} = 0,98$$

Correlacionando los datos de la tabla 2, se llega a determinar la relación de orden cuadrática con su coeficiente de correlación correspondiente. La relación de orden cuadrática, que hace la estimación respectiva de la dependencia del rendimiento ( $\frac{N \text{ transformado}}{N \text{ transformable}} \times 100$ ) en función la integral térmica es el modelo expresado por la ecuación (2)

$$\text{Rendimiento} = 0,6913 - 0,3304 \times (IT) - 5,6253 \times 10^{-4}(IT)^2 \dots (2)$$

con un coeficiente de correlación Person igual a

$$r = \sqrt{\frac{1585,99}{1708,85}} = 0,96$$

**Tabla 2.** Valores del rendimiento vs integral térmica ( $^{\circ}\text{C} \times \text{día}$ ).

Integral térmica ( $^{\circ}\text{C} \times \text{día}$ )	Rendimiento ( $\frac{N \text{ transformado}}{N \text{ transformable}} \times 100$ )
50	18
75	15
100	30
150	32
180	40
200	44
220	46
250	49
270	50
300	48
350	42
400	43
450	31
500	26

**Tabla 3.** Valores del nitrógeno orgánico vs la integral térmica ( $^{\circ}\text{C} \times \text{día}$ ).

Integral térmica ( $^{\circ}\text{C} \times \text{día}$ )	Nitrógeno orgánico (% base seca)
50	1,7
100	2,6
150	3,0
200	3,5
250	3,5
300	3,6
350	3,7
400	3,7
450	3,5
500	3,5

Correlacionando los datos de la tabla 3, se llega a determinar la relación de orden cuadrática con su coeficiente de correlación correspondiente. La relación de orden cuadrática, que hace la estimación respectiva de la dependencia del nitrógeno orgánico (% base seca) en función la integral térmica es el modelo expresado por la ecuación (3)

$$\text{Oxígeno orgánico} = 1,2317 + 0,01432 \times (IT) - 2,0151 \times 10^{-5} (IT)^2 \dots (3)$$

con un coeficiente de correlación de Person igual a

$$r = \sqrt{\frac{3,50}{3,66}} = 0,97$$

## DISCUSIÓN

El proceso de fermentación de la corteza de naranja por acción del *A. niger*, los cuales se realizaron sin tratamiento térmico previo, condujeron a un aporte energético y proteico considerable. Es fácil medir la cantidad de biomasa producida para diversas concentraciones iniciales de glucosa, en la cual no se detectó desarrollo de microorganismos diferentes a pesar de las condiciones no estériles y sin presencia de aflatoxinas (Reyes-Ocampo *et al.*, 2013; Khalil *et al.*, 2020).

Al evaluar el pH del substrato y el contenido de nitrógeno como el índice de metabolización de la materia orgánica, se ha determinado que existe mejorías sustanciales en la calidad y rentabilidad del pienso producido y en general de las producciones pecuarias, dando una alternativa económicamente viable y de un desarrollo sostenible por un periodo largo de tiempo (Borrás-Sandoval & Torres-Vidales, 2016).

La corteza de naranja fermentada mediante cepas del *A. niger* previamente triturada y deshidratada y cualquier subproducto cítrico, es una excelente alternativa en la biodegradación de estos desechos, convirtiéndolos en materias primas para la obtención de importantes productos como son los piensos para animales mayores (López *et al.*, 2005; Anand *et al.*, 2017; Vidya *et al.*, 2018).

El pH representado en función de la integral térmica va a presentar un comportamiento

logístico, llegando a describir expresiones que estiman fenómenos para valores de pH referenciales adecuados óptimos (León-Revelo *et al.*, 2018). La dispersión estadística de la relación entre nitrógeno transformado y el nitrógeno transformable frente a la integral térmica será un fenómeno de transferencia de tipo no lineal; la misma que fue validada estadísticamente. Al correlacionar el pH con la integral térmica tiene un comportamiento cóncavo hacia arriba similar una expresión analítica logística, siendo necesario desarrollar expresiones de que describan fenómenos para valores de pH óptimos referenciales adecuados. En este estudio se llegó a determinar expresiones polinómicas de segundo grado, que no son modelos ni expresiones logísticas y llegando a tener diferencia a lo reportado por otros autores (León-Revelo *et al.*, 2018).

Las cantidades numéricas de pH, rendimiento (nitrógeno transformado/nitrógeno transformable) y de nitrógeno orgánico (% base seca) en función de la integral térmica ( $^{\circ}\text{C} \times \text{día}$ ) se correlacionaron adecuadamente, concluyendo que dichos valores se pueden representar por modelos algebraicos elementales y, por ser modelos, únicamente bivariantes, tienen un valor del coeficiente de correlación  $r$  Pearson igual o mayor a 0,96.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdullah, R.; Hanif, M.; Akaleem, A.; Iqtedar, M.; Nisar, K. & Saleem, F. 2020. Evaluation of agricultural byproducts to produce betaglucosidase by *Aspergillus niger* mbt-2 using solid state fermentation. Bangladesh Journal of Botany, 49: 135-140.
- Ahmed, I.; Zia, M.A.; Hussain, M.A.; Akram, Z.; Naveed, M.T. & Nowrouzi, A. 2016. Bioprocessing of citrus waste peel for induced pectinase production by *Aspergillus niger*; its purification and characterization. Journal of Radiation Research and Applied Sciences, 9: 148-154.
- Alata, E.; Cuadros, Y.; Miranda, L. & Medina, E. 2019. Biopelículas producidas con cáscara de naranja y reforzadas con celulosa bacteriana. Revista de la Sociedad Química del Perú, 85: 231-241.

- Anand, G.; Yadav, S. & Yadav, D. 2017. Production, purification, and biochemical characterization of an exo-polygalacturonase from *Aspergillus niger* MTCC 478 suitable for clarification of orange juice. *3 Biotech*, 7: 122.
- Borrás-Sandoval, L. & Torres-Vidales, G. 2016. Producción de alimentos para animales a través de fermentación en estado sólido – FES. *Orinoquia*, 20: 47-54.
- Julián, M. & Ramos, L. 2007. Fermentación en estado sólido (I). Producción de alimento animal. *Revista Tecnología Química*, 27: 17-22.
- Khalil, M.; Khattak, S.; Ali, Q.; Qureshi, J.A. & Malik, A. 2020. Isolation and characterization of pectinase producing *Aspergillus niger* from orange. *International Journal of Botany Studies*, 5: 45-48.
- León-Revelo, G.; Cujilema-Quitio, M.; Baryolo, L.; Delgado, E.; Córdova, J. & Ramos-Sánchez, L. 2018. Determinación de la temperatura óptima para la producción de celulasas con *Aspergillus niger* en fermentación sólida. *Revista Centro Azúcar*, 45: 1-13.
- López, C.; Zuluaga, A.; Herrera, S.; Ruíz, A. & Medina, V. 2005. Producción de ácido cítrico con *Aspergillus niger* NRRL 2270 a partir de suero de leche. *Dyna*, 73: 39-57.
- Lozano, A. & López, E. 2018. Endopoligalacturonasa y pectinesterasa de *Aspergillus niger*. *Revista colombiana de biotecnología*, 3: 85-91.
- Ozidal, M. & Kurbanoglu, E.B. 2019. Citric acid production by *Aspergillus niger* from agro-industrial by-products: molasses and chicken feather peptone. *Waste and Biomass Valorization*, 10: 631–640.
- Reyes-Ocampo, I.; González-Brambila, M., & López-Isunza, F. 2013. Un análisis del metabolismo de *Aspergillus niger* creciendo sobre un sustrato sólido. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 12: 41-56.
- Romero-Fernández, A.J.; Arias-Mota, R.M. & Mendoza-Villarreal, R. 2019. Aislamiento y selección de hongos de suelo solubilizadores de fósforo nativos del estado de Coahuila, México. *Acta Botanica Mexicana*, 126: e1390.
- Roukas, T. & Kotzekidou, P. 2020. Pomegranate peel waste: a new substrate for citric acid production by *Aspergillus niger* in solid-state fermentation under non-aseptic conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 27: 13105–13113.
- Sáez, A.; Flórez, L. & Cadavid, A. 2002. Caracterización de una cepa nativa de *Aspergillus niger* y evaluación de la producción de ácido cítrico. *Revista Universidad EAFIT*, 128: 34-41.
- Santos, K.A.; Fontana, R.C.I.; Santos, L.S.; Batista, I.C.; Gandolfi, R.R.O.; Castro, S.S.; Sampaio, V.S.; Veloso, C.M. & Bonomo, R.C.F. 2020. Partitioning of amylase produced by *Aspergillus niger* in solid state fermentation using aqueous two-phase systems. *Process Biochemistry*, 94: 116-125.
- Sepúlveda, L.; Laredo-Alcalá, E.; Buen rostro-Figueroa, J.J.; Ascacio-Valdés, J.A.; Genisheva, Z.; Aguilar, C. & Teixeira, J. 2020. Ellagic acid production using polyphenols from orange peel waste by submerged fermentation. *Electronic Journal of Biotechnology*, 43: 1-7.
- Velásquez, J.; Beltrán, P. & Giraldo, G. 2010. Obtención de ácido cítrico por fermentación con *Aspergillus niger* utilizando sustrato de plátano dominico hartón (*Musa aab simmonds*) maduro. *Revista Tumbaga*, 5: 135-147.
- Vidya, P.; Annapoorani, A.M. & Jalalugeen, H. 2018. Optimization and utilisation of various fruit peel as substrate for citric acid production by *Aspergillus niger* isolated from orange and carrot. *The Pharma Innovation Journal*, 7: 141-146.

Received December 29, 2020.

Accepted January 11, 2021.