

Modelado del crecimiento durante la detoxificación de residuos de café por hongos filamentosos

Modeling of growth during detoxification of coffee residues by filamentous fungi

Eva Luz Hernández-Teyssier¹ ,
Miguel Ángel Anducho-Reyes¹ ,
Gerardo Díaz-Godínez² ,
Alejandro Tellez-Jurado¹ 

¹Laboratorio de Agrobiotecnología, Universidad Politécnica de Pachuca, Carretera Pachuca-Ciudad Sahagún Km. 20, Ex-Hacienda de Santa Bárbara, CP. 43830, Zempoala, Hidalgo, México.

²Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Carretera San Martín Texmelucan Km 10.5, San Felipe Ixtacuixtla, CP. 90120, Ixtacuixtla de Mariano Matamoros, Tlaxcala.

*Autor de correspondencia: alito@upp.edu.mx

Artículo científico

Recibido: 13 de febrero 2023

Aceptado: 13 de octubre 2023

Como citar: Hernández-Teyssier EL, Anducho-Reyes MA, Díaz-Godínez G, Tellez-Jurado A (2023) Modelado del crecimiento durante la detoxificación de residuos de café por hongos filamentosos. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios Núm. Esp. III: e3628. DOI: 10.19136/era.a10nIII.3628

RESUMEN. Se describe el modelado del crecimiento y detoxificación de una mezcla de residuos de café (MRC) por fermentación en estado sólido (FES) a partir de la cuantificación del CO₂ metabólico como método indirecto, solución de ecuación de estequiometría de crecimiento y seguimiento de polifenoles. La FES se realizó en columnas Raimbault con *Lentinus strigosus*, *Trichoderma harzianum* y dos cepas de *Aspergillus* sp.; una aislada de paja de cebada (*Aspergillus* sp. APC) y otra de residuos de café (*Aspergillus* sp. ARC); el CO₂ se atrapó en solución de NaOH 1.0 M. La solución de la ecuación dio el factor de conversión 3.53 g de CO₂ por gramo de biomasa y por la ecuación modificada de Gompertz, el modelado de biomasa con valores de R² superiores a 0.95; las μ_{max} fueron 0.12 ± 0.01 h⁻¹ para *L. strigosus*, 0.20 ± 0.03 h⁻¹ para *T. harzianum*, 0.21 ± 0.01 h⁻¹ para *Aspergillus* sp. APC y 0.42 ± 0.08 h⁻¹ para *Aspergillus* sp. ARC, sin embargo, los valores de RMSE, indica predicciones con errores considerados. Finalmente, la detoxificación se logró en 75.74 ± 6.07% con *L. strigosus* a los 10 días, 56.13 ± 6.92% y 50.34 ± 4.82% con *T. harzianum* y *Aspergillus* sp. APC, respectivamente, a los 4 días y 32.89 ± 3.17% con *Aspergillus* sp. ARC a los 10 días. La estrategia de cuantificación y modelado de biomasa dota de una nueva herramienta para el estudio de FES, además se describe la detoxificación como consumo de polifenoles como sustrato.

Palabras clave: Ecuación de Gompertz, *Lentinus strigosus*, método indirecto, polifenoles, *Trichoderma harzianum*.

ABSTRACT. The modeling of the growth and detoxification of a mixture of coffee residues (MCR) by solid-state fermentation (SSF) from the quantification of metabolic CO₂ as an indirect method, growth stoichiometry solution, and monitoring of polyphenols is described. The SSF was carried out in Raimbault columns with *Lentinus strigosus*, *Trichoderma harzianum* and two strains of *Aspergillus* sp.; one isolated from barley straw (*Aspergillus* sp. ABS) and another from coffee residues (*Aspergillus* sp. ACR); the CO₂ was trapped in a 1.0 M NaOH solution. The solution of the equation gave the conversion factor 3.53 g of CO₂ per gram of biomass, and by the modified Gompertz equation, the modeling of biomass with R² values greater than 0.95; μ_{max} were 0.12 ± 0.01 h⁻¹ for *L. strigosus*, 0.20 ± 0.03 h⁻¹ for *T. harzianum*, 0.21 ± 0.01 h⁻¹ for *Aspergillus* sp. ABS and 0.42 ± 0.08 h⁻¹ for *Aspergillus* sp. ACR, however, RMSE values, indicate predictions with considered errors. Finally, detoxification was possible in 75.74 ± 6.07% with *L. strigosus* at 10 days, 56.13 ± 6.92%, and 50.34 ± 4.82% with *T. harzianum* and *Aspergillus* sp. ABS, respectively, at 4 days and 32.89 ± 3.17% with *Aspergillus* sp. ACR at 10 days. The biomass quantification and modeling strategy provides a new tool for the study of SSF, in addition, detoxification is described as consumption of polyphenols as a substrate.

Key words: Gompertz equation, indirect method, *Lentinus strigosus*, polyphenols, *Trichoderma harzianum*.

INTRODUCCIÓN

En octubre del 2022 miembros y socios de la Organización Internacional del Café (ICO) se reunieron para celebrar el día del café y dar la bienvenida al sector a una nueva y mejor etapa de desarrollo, de economía lineal a economía circular, ya que se reconocieron los esfuerzos de cafecultores por disminuir el impacto de los residuos hacia la transformación de nuevos productos a menor costo por procesamientos ecoamigables (ICO 2022). El sector cafetalero es la agroindustria más importante a nivel mundial, durante el año cafetalero 2020/21 en todo el mundo se produjeron 170.8 millones de sacos de 60 kg de granos de café, con 49% del total mundial generado en América del Sur (ICO 2021); y considerando que los granos representan aproximadamente el 50% del peso de la cereza (Farah y Dos-Santos 2015, Janissen y Huynh 2018) se generaron 1.02×10^7 t de residuos. Por lo tanto, las actividades derivadas de la producción y procesamiento del café son un claro ejemplo del impacto socioeconómico y cultural en la región productora de la agroindustria cafetalera así como de la posible implementación de una economía circular para generar mayor desarrollo y bienestar por el cuidado al medio ambiente (Muñoz-González y Mero-Loor 2020, ICO 2022).

Los residuos de café son altamente contaminantes para el ambiente, especialmente de suelos y aguas, debido a su composición donde predominan compuestos recalcitrantes como cafeína, taninos, y una gran variedad de moléculas de origen fenólico que además, son compuestos de baja biodisponibilidad y tóxicos para muchos microorganismos (Mussatto *et al.* 2011). Además de que son una fuente primaria de compuestos polifenólicos (Manasa *et al.* 2020) con potencial para ser utilizados en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética (Geremu *et al.* 2016, Ravindran *et al.* 2018, Massaya *et al.* 2019). También se ha descrito el uso de este tipo de residuos como fuente de carbono para diversos procesos fermentativos (Alves *et al.* 2017).

Pocos microorganismos toleran la presencia de compuestos recalcitrantes en residuos como los del café, lo que limita el uso para aplicaciones biológicas (Mata *et al.* 2016). Algunos hongos filamentosos son capaces no solo de tolerarlos, sino también de llevar a cabo diversos procesos de transformación, lo que puede ser aprovechado para posibles aplicaciones biotecnológicas (Hikichi *et al.* 2017). Por otra parte, es posible generar estrategias fisicoquímicas para disminuir la toxicidad de residuos ricos en compuestos fenólicos (Bhoite y Murthy 2014, Londoño-Hernandez *et al.* 2020) para posteriormente, utilizarlos en el desarrollo de procesos biotecnológicos y generar una amplia gama de subproductos con mayor valor agregado. Por lo que es posible, desarrollar procesos de tratamiento de residuos vegetales que persigan objetivos complementarios, como generar etapas primarias (fisicoquímicas y/o biológicas) donde la meta sea la eliminación de compuestos tóxicos y posteriormente, desarrollar etapas secundarias que permitan la generación de subproductos con mayor valor agregado, por lo tanto, el modelamiento del crecimiento microbiano tomado como referencia la detoxificación de residuos y la producción de CO₂ puede ser una herramienta útil para una mejor comprensión de la FES.

Entre las estrategias primarias para la eliminación de compuestos tóxicos, se puede mencionar a la fermentación en estado sólido (FES) por medio de hongos filamentosos, proceso biológico que presenta ventajas como bajos requerimientos energéticos y mejor adaptabilidad de los hongos debido a la similitud a su hábitat natural (Rodríguez-Couto y Sanromán 2005). La FES puede ser considerada como la mejor opción para el tratamiento de residuos lignocelulósicos (Brand *et al.* 2000, Bhoite y Murthy 2014, Londoño-Hernandez *et al.* 2020). Debido a los pocos reportes que se enfoquen al estudio del crecimiento microbiano en FES (Smits *et al.* 1999, Pineda-Insusti *et al.* 2014, Rosero-Delgado *et al.* 2017) por la complejidad del sistema y los problemas que conlleva el sistema, mientras que la principal desventaja del sistema es el crecimiento heterogéneo del micelio sobre la superficie del residuo (matriz), generando una invasión irregular del exterior al

interior (Rodríguez-Couto y Sanromán 2005, Yazid *et al.* 2017). Además, la transferencia de oxígeno no es constante a lo largo del fermentador y conforme crece el micelio, los procesos de transferencia de masa se dificultan. Por esta razón, se requiere de una estrategia viable y sencilla para abordar esta desventaja que proporcione una mejor descripción del crecimiento microbiano en la FES para una mejor comprensión de la interacción entre el residuo y el microorganismo. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio se centró en desarrollar un modelo matemático para describir el crecimiento en FES de hongos filamentosos relacionándolo con la detoxificación de residuos de café para una mejor comprensión del metabolismo microbiano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo y acondicionamiento de residuos

Los residuos de café provienen del beneficio húmedo y se recolectaron en el municipio de Amixtlán, ubicado en la Sierra Norte de Puebla, México (20° 02' 53.1" Norte, 97° 47' 56.1" Oeste), entre 400 y 1 700 msnm, con clima cálido subhúmedo y lluvias todo el año. En el lugar de recolecta se deposita bagazo, cascarilla y pergamino del beneficio, por lo que las muestras fueron una mezcla de residuos de café (MRC); de la cual se tomaron 100 kg y transportaron en bolsas plásticas. La MRC se secó en horno de convección a 60 °C hasta alcanzar una humedad menor al 10% (Hames *et al.* 2008); la composición de la MRC se determinó en tres muestras secas de 1 kg, que se separó en bagazo, cascarilla y pergamino, para luego pesarlos para relacionar con la masa total de la MRC. Del total de la MRC seca, se tomaron 500 g y se molieron, tamizaron y se tomaron 300 g del tamaño de partícula entre 2.37 y 1.68 mm (malla US12), los cuales se guardaron a temperatura ambiente en bolsas plásticas hasta su uso.

Cepas y preparación de inóculo

Los microorganismos, *L. strigosus*, *T. harzianum*, y dos hongos aislados de residuos, uno de paja (*Aspergillus* sp. APC) y otro de residuos de

café (*Aspergillus* sp. ARC), se sembraron en matraz de 250 mL con 50 mL de PDA. Después de seis días (*L. strigosus*) y tres días de crecimiento (hongos ascomicetos) a 26 ± 2 °C se les añadió agua esterilizada para diluir micelio o esporas.

La solución de inóculo de los ascomicetos se preparó a partir de las esporas colectadas del crecimiento obtenido. el inóculo se preparó al diluir en 300 mL de agua estéril 1×10^9 esporas mL^{-1} de cada ascomiceto. Para *L. strigosus*, se diluyó el micelio de 6 días, cortando en cuadros de 0.5 cm^2 el agar invadido utilizando una cuchilla estéril. Los trozos de agar con el hongo fueron adicionados en un matraz Erlenmeyer conteniendo 300 mL de agua estéril, se agitó a 150 rpm durante 12 h y el sobrenadante obtenido con el micelio en suspensión ($8.98 \pm 0.70 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) fue utilizado como inóculo.

Montaje del sistema de fermentación en columnas de vidrio

La FES se realizó utilizando columnas tipo Rimbault (Rimbault y Alazard 1980) empleando una torunda de algodón como tope en la base de la columna. Los 300 g de MRC secos se humedecieron con 300 mL de agua (relación 1:1). Las columnas y la MRC humedecidos se esterilizaron a 121 °C por 15 min; se dejó enfriar, la MRC estéril se inoculó con 300 mL de solución de cada inóculo, y se mezcló para homogeneizar. La humedad final del sustrato fue $67.5 \pm 0.5\%$, posteriormente, las columnas se empacaron a una densidad de empaque de $0.51 \pm 0.01 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ hasta una altura de 5 cm (Quintanar-Gómez *et al.* 2012). En la parte inferior de la columna se colocó un humidificador y se inyectó aire a una velocidad de $1 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$. Como estrategia para cuantificar la biomasa, se colocó en la parte superior de la columna un sistema de colección del aire, este aire se hizo burbujear en 100 mL de NaOH 1 M para atrapar el CO_2 metabólico producto de la respiración de los hongos. La fermentación se llevó a cabo a 25 °C durante 16 días.

Cinética del proceso

Para realizar los análisis y dar seguimiento a la cinética, se llevó a cabo el muestreo de colum-

nas cada 2 días durante 16 días retirando aleatoriamente tres columnas en cada toma de muestra, en cada muestreo se cuantificó el CO₂ metabólico por volumetría y el contenido total de polifenoles (CTP) por espectrofotometría utilizando el método modificado de Folin-Ciocalteu (Geremu *et al.* 2016, Hernández-Teyssier *et al.* 2023), el cual consistió en colocar en tubos eppendorf color ámbar de 2 mL, 200 µL de muestra, 1 mL de solución comercial de Folin-Ciocalteu diluida 10 veces, 800 µL de Na₂CO₃ al 7.5%, la mezcla se dejó reposar por 30 min en oscuridad a 25 ± 2.0 °C. Las muestras se leyeron a 765 nm empleando ácido gálico como estándar y se reportó como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de residuos secos (mg EAG · g⁻¹ RS).

Cuantificación indirecta de biomasa utilizando el CO₂ metabólico

Para cuantificar el CO₂ metabólico se tomaron 2 mL de la solución trampa de NaOH, se añadieron 18 mL de agua y se colocaron tres gotas de fenolftaleína, se tituló con HCl 0.1 M valorado hasta el cambio de vire, de violeta a incoloro (Alcalinidad a la fenolftaleína); posteriormente, se colocaron tres gotas de naranja de metilo y se tituló hasta el cambio de vire, de amarillo a canela (Alcalinidad total). La alcalinidad total y alcalinidad a fenolftaleína se determinaron de acuerdo a la NMX-AA-036 (SE 2014); la Alcalinidad a la fenolftaleína se calculó con el volumen de ácido para el cambio de vire con fenolftaleína. Posteriormente, con la siguiente Ecuación se calculó la concentración de CO₂.

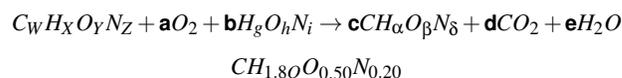
$$CO_2(mg\ g^{-1}RS) =$$

$$\frac{\text{Alcalinidad total} - \text{Alcalinidad a fenolftaleína}}{\text{Peso seco del residuo fermentado}}$$

$$* \text{Volumen de NaOH en trampa}$$

El factor de conversión de CO₂ metabólico a biomasa se obtuvo a partir de la solución de la ecuación de estequiometría de crecimiento, considerando una composición teórica elemental de la

MRC a partir del porcentaje de cada residuo (Pineda-Insuasti *et al.* 2014), la fórmula general empírica de biomasa (Doran 2012) y una eficiencia biológica (Y_{x/s}) de 0.35 g · g⁻¹.



Después de aplicado el factor de conversión, los datos se modelaron con la ecuación modificada de Gompertz (Rosero-Delgado *et al.* 2017) y se obtuvieron los parámetros cinéticos, velocidad máxima específica de crecimiento (μ_{max}) y periodo de latencia (λ).

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

Donde: X_o es biomasa inicial (mg · g⁻¹ RS), X_{max} biomasa máxima obtenida (mg · g⁻¹ RS), μ_{max} velocidad máxima específica de crecimiento (d⁻¹), λ periodo de latencia (d) y t tiempo de muestreo.

Seguimiento del desgaste de la matriz por espectroscopía FT-IR

Los residuos fermentados secos se molieron hasta un tamaño menor a 0.149 mm y se analizaron en un Espectrofotómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR) modelo Agilent (CARY 630), la toma de datos se realizó en el rango espectral de 4000 a 600 cm⁻¹, con una resolución de 100 escaneos, los análisis se realizaron por triplicado (Hernández-Teyssier *et al.* 2023).

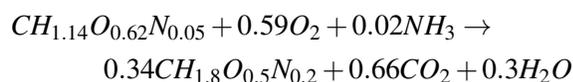
Análisis estadístico

Todos los experimentos y mediciones se realizaron por triplicado. Los análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias de Duncan se realizaron a un α = 0.05, y la validación del modelo cinético a partir del coeficiente de correlación obtenido (R²) y el error de raíz cuadrada media (RMSE) se realizó con el software R versión 4.3.0 (Wickham 2016, Wickham *et al.* 2022, R Core Team 2023).

RESULTADOS

Solución de la ecuación de estequiometría

La composición de la MRC presentó 5% de pergamino, 40% de cascarilla y 55% de bagazo, de aspecto heterogéneo y tonos cafés. Para el cálculo de la composición elemental de la MRC, se buscó en la literatura la composición elemental de cada residuo (Tabla 1). Con base en el porcentaje de MRC se calculó el valor de cada elemento en cada residuo, al ser una propiedad extensiva de la materia, se suman y se obtiene la composición teórica elemental de 49.33% de C, 4.70% de H, 40.45% de O, 2.63% de N y 2.88% de cenizas. Para luego con la fórmula empírica en relación atómica de un mol de C de sustrato: $CH_{1.14}O_{0.62}N_{0.05}$. Para luego con las fórmulas empíricas, de sustrato y de biomasa, suponiendo como fuente de nitrógeno al NH_3 y partiendo de una $Y_{x/s}$ de $0.35 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ se resolvió el sistema de ecuaciones para obtener la solución a la ecuación de estequiometría de crecimiento, dando como resultado la ecuación de estequiométrica de crecimiento microbiano siguiente:



Después de comprobado el equilibrio en la ecuación, el factor de conversión se definió como 3.53 g de CO_2 por gramo de biomasa.

Modelado de biomasa

Aplicando el factor de conversión a los valores de CO_2 , los datos obtenidos en unidades de biomasa ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ RS}$) se simularon por el modelo de crecimiento de Gompertz modificado. El valor de los parámetros μ_{max} y λ se asignó considerando valores bajos de RMSE y mayor coeficiente de correlación (R^2) entre los datos experimentales y los datos modelados. En la Tabla 2 se presentan los valores de cada parámetro del modelo y de las dos métricas, R^2 y RMSE; luego de realizar una comparación de medias con la Prueba de Duncan, se observó en las μ_{max} diferencias significativas entre sí, la μ_{max} más alta fue de $0.42 \pm 0.08 \text{ h}^{-1}$ para *Aspergillus* sp. ARC, muy similares entre *Aspergillus* sp. APC

y *T. harzianum* ($0.21 \pm 0.01 \text{ h}^{-1}$ y $0.20 \pm 0.03 \text{ h}^{-1}$, respectivamente) y muy baja para *L. strigosus* ($0.12 \pm 0.01 \text{ h}^{-1}$). Los ajustes de los datos experimentales con el modelado indican valores de la métrica R^2 superior a 0.95, pero el modelo matemático presenta deficiencia en el pronóstico de algunos microorganismos por valores de RMSE relativamente altos.

Reducción del contenido de polifenoles y crecimiento microbiano

Durante la FES se evaluó el CTP, considerando su reducción como la detoxificación de los residuos de café, pero luego de unos días de fermentación, se observó un ligero aumento en su concentración. En la Figura 1 se muestra el comportamiento del CTP para cada microorganismo y en la Tabla 3 la velocidad de degradación del CTP en cada FES, las cuales muestran diferencias significativas, considerando a *T. harzianum* como el microorganismo más rápido, por lograr una velocidad de reducción de $1.92 \pm 0.28 \text{ mg EAG g}^{-1} \text{ RS día}^{-1}$, seguido por *Aspergillus* sp. APC ($1.39 \pm 0.19 \text{ mg EAG g}^{-1} \text{ RS día}^{-1}$), *L. strigosus* ($0.88 \pm 0.18 \text{ mg EAG g}^{-1} \text{ RS día}^{-1}$) y *Aspergillus* sp. ARC ($0.17 \pm 0.002 \text{ mg EAG g}^{-1} \text{ RS día}^{-1}$). Estas velocidades se observaron para todos los casos, a los 4 días de fermentación. Respecto al porcentaje de detoxificación, los mejores resultados se observaron con *L. strigosus* con $75.74 \pm 6.07\%$ a los 10 días de fermentación, seguido de *T. harzianum* con $56.13 \pm 6.92\%$ a los 4 días, *Aspergillus* sp. APC con $50.34 \pm 4.82\%$ a los 4 días y *Aspergillus* sp. ARC con $32.89 \pm 3.17\%$ a los 10 días. Posterior al día de máxima reducción de polifenoles, se observó en cada FES un ligero aumento en CTP, lo que coincidió con el inicio de la fase estacionaria, pero sin lograr rebasar el CTP iniciales (Figura 1).

Desgaste de residuos de café por FES

El desgaste de la matriz se analizó por espectroscopía de IR, como los residuos lignocelulósicos están compuestos de lignina, hemicelulosa y celulosa; el análisis de FT-IR se enfocó en cambios como la aparición, aumento o nitidez de picos y en longitudes de onda correspondientes a grupos funcionales de estos biopolímeros (Tabla 4). Los cam-

Tabla 1. Composición teórica elemental de la mezcla de residuos de café obtenida a partir del porcentaje de cada residuo.

Residuos	C (%)	H (%)	O (%)	N (%)	Cenizas (%)
Cascarilla de café ⁽¹⁾	50.30	5.30	43.80	< 1	1.20
Bagazo ⁽¹⁾	53.10	4.70	41.70	< 1	8.10
Mezcla de residuos	49.33	4.70	40.45	2.63	2.88

⁽¹⁾ Gómez et al. (2004).

Tabla 2. Parámetros cinéticos empleados para simular el crecimiento en FES con el modelo Gompertz modificado.

Microorganismo	<i>L. strigosus</i>	<i>T. harzianum</i>	<i>Aspergillus</i> sp. APC	<i>Aspergillus</i> sp. ARC
X ₀ (mg · g ⁻¹ RS)	2.51 ± 0.12	1.00 ± 0.13	0.01 ± 0.00	19.19 ± 0.63
X _{max} (mg · g ⁻¹ RS)	37.54 ± 1.38	30.07 ± 1.91	14.84 ± 1.02	111.59 ± 11.63
μ _{max} (h ⁻¹)	0.12 ± 0.01 ^c	0.20 ± 0.03 ^{bc}	0.21 ± 0.01 ^b	0.42 ± 0.08 ^a
λ (d)	3.36 ± 0.31	0.00 ± 0.00	0.03 ± 0.05	0.10 ± 0.00
R ²	0.98 ± 0.01 ^{ab}	0.95 ± 0.01 ^b	0.98 ± 0.02 ^a	0.98 ± 0.02 ^{ab}
RMSE	5.16 ± 0.42 ^{ab}	3.36 ± 0.67 ^{bc}	0.82 ± 0.47 ^c	7.28 ± 3.76 ^a

Misma letra en fila no es estadísticamente diferente.

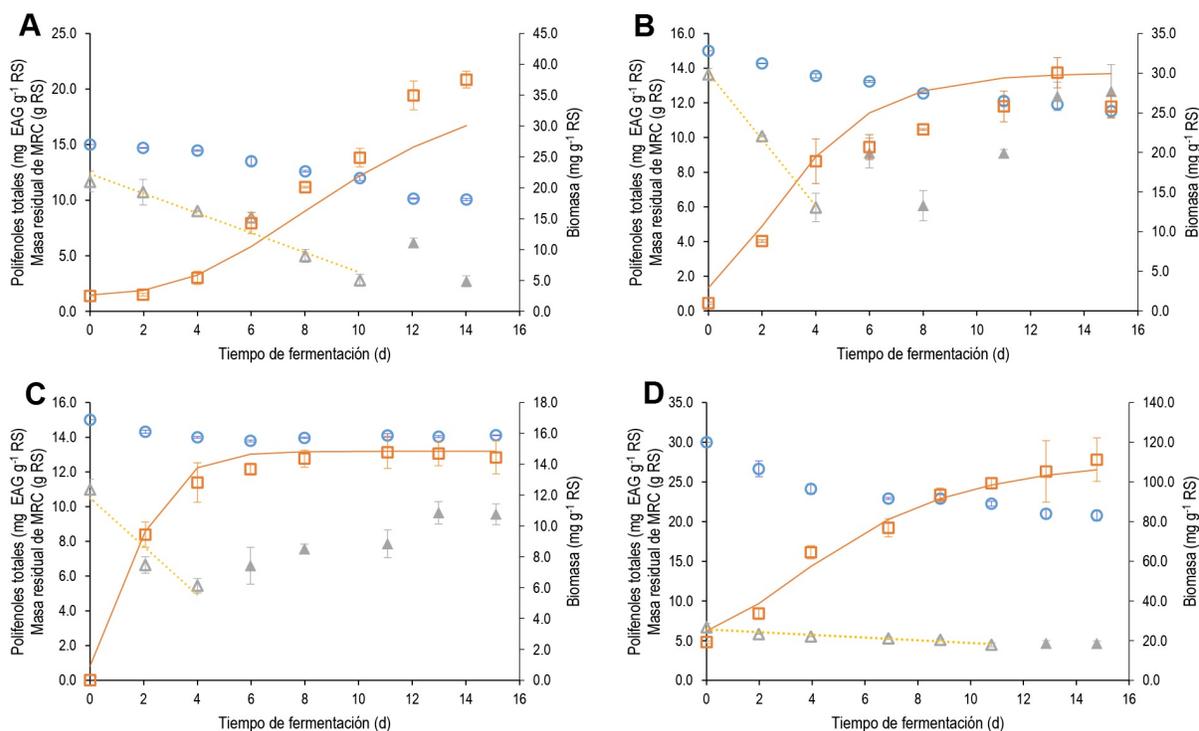


Figura 1. Cinéticas en FES de A) *L. strigosus*, B) *T. harzianum*, C) *Aspergillus* sp. APC y D) *Aspergillus* sp. ARC, del CTP (Δ ▲), masa residual de MRC fermentados (○), crecimiento experimental (□) y modelado (-) (n = 3).

bios en la MRC fermentados se evaluaron en tres tiempos: tiempo inicial, tiempo intermedio (tiempo de máxima detoxificación) (Tabla 3) y tiempo final. También se analizaron los residuos sin tratamiento y los residuos después de esterilizados como blancos para comparar los cambios por la interacción con el

microorganismo.

Generalmente la descripción de los espectros de FT-IR se divide en dos regiones, en la región de grupo funcional ($\geq 1\ 500\ \text{cm}^{-1}$) y en la región de huellas características ($< 1\ 500\ \text{cm}^{-1}$). En la primera los residuos mostraron cambios en el porcentaje de

Tabla 3. Velocidad de reducción de polifenoles totales por microorganismo calculada en el día de menor concentración obtenida por pendiente.

Microorganismo	<i>L. strigosus</i>	<i>T. harzianum</i>	<i>Aspergillus</i> sp. APC	<i>Aspergillus</i> sp. ARC
Velocidad de degradación del CTP (mg EAG g ⁻¹ RS día ⁻¹)	0.88 ± 0.18 ^c	1.92 ± 0.28 ^a	1.39 ± 0.19 ^b	0.17 ± 0.02 ^d
Día de máxima detoxificación (d)	10.0	4.0	4.0	10.8
Porcentaje de detoxificación (%)	75.74 ± 6.07 ^a	56.13 ± 6.92 ^b	50.34 ± 4.82 ^b	32.89 ± 3.17 ^c
Coefficiente de linealidad para pendiente (R ²)	0.93 ± 0.04 ^{ab}	1.00 ± 0.00 ^a	0.90 ± 0.07 ^{ab}	0.89 ± 0.06 ^b

Misma letra en fila no es estadísticamente diferente.

Tabla 4. Regiones espectrales de interés para muestras lignocelulósicas en la región media del IR*.

Región espectral (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Modo vibracional	Corresponde
3 500 - 3 200	γ (O-H)	Estiramiento	Celulosa/lignina
3 000 - 2 850	C-H	Estiramiento	Celulosa/hemicelulosa
1 750 - 1 710	C=O	Estiramiento	Aldehídos/cetonas/ésteres libres de lignina y hemicelulosa
1 680 - 1 600	C=C; C-O aromático	Estiramiento asimétrico	Lignina/aromáticos
1 500 - 1 475	C=C; N-H	Estiramiento en el plano	Aromático de lignina/fenólico/proteína
1 470 - 1 426; 1 371	C-C; C-O	Estiramiento/ deformación	Carboxilato/carboxílico/lignina fenólica de celulosa y hemicelulosa
1 265 - 1 215	C-O-C	Estiramiento asimétrico	Anillo aromático residual de lignina y celulosa (β-Glucopiranosas)
1 115 - 900	C-O	Estiramiento	Grupos hidroxilo/éteres de azúcar
1 080 - 1 030	C-O; C=H; C-C-O	Estiramiento	Polisacáridos
835	C-H	Estiramiento	Rompimiento de anillos de lignina, hemicelulosa y celulosa

*Tabla construida con información de Zara et al. 2017, de-Carvalho-Oliveira et al. 2018, Jorge Montalvo et al. 2019, Gabhane et al. 2020, Ahmed y Choi, 2021, Volli et al. 2021.

transmitancia (% T) (Figura 2) específicamente entre 3 500 y 2 850 cm⁻¹, correspondiente a grupos funcionales γ (O-H) y C-H de la celulosa, hemicelulosa y lignina; y en la otra región, los residuos se diferencian mejor por la aparición o desaparición de señales entre los 1 740 a los 835 cm⁻¹, mayormente relacionada a grupos funcionales de la lignina, como C=C, C-O, C-O-C, C-H.

De los cuatro espectros (Figura 2), el residuo desgastado en la FES con *T. harzianum* (Figura 2B) mostró en la región de grupo funcional (3 500 a 2 850 cm⁻¹) un patrón distinto a lo observado por los otros microorganismos, ya que los residuos de tiempo intermedio presentaron menos cambios en % T. Por otro lado, la región de huellas características (1 740 a 835 cm⁻¹) es más compleja y para este estudio, los espectros y su descripción se centraron en grupos funcionales de compuestos fenólicos y anillos aromáticos derivados de la lignina y polifenoles (Tabla 4), por lo que, se acotó la región entre 1 115 y 1 437 cm⁻¹.

En la Figura 2A se muestra el patrón de desgaste de los residuos fermentados por *L. strigosus*, donde se observó el mismo número de señales, pero con menos % T (Figura 2A). En la Figura 2B, de *T. harzianum*, se observaron señales más nítidas y amplias, así como la formación de otra a los 1 400 cm⁻¹ al tiempo intermedio; en cuanto a APC y ARC (Figura

2C y 2D) las señales son muy parecidas, ya que el valor del % T en tiempo inicial es mayor y en tiempos intermedio y final las señales se solaparon y son menores en % T; y porque no aparecen o desaparecen señales solo se definen y alargan más.

DISCUSIÓN

Modelado de crecimiento en FES

Para desarrollar satisfactoriamente la estrategia de cuantificación indirecta y modelación de biomasa, fue necesario conocer la composición elemental de la mezcla, por lo se optó por la deducción teórica a partir del conocimiento en porcentaje de cada residuo en la MRC y de la composición elemental de cada residuo, para así resolver la ecuación estequiométrica de crecimiento. Este procedimiento ya ha sido utilizado por Rosero-Delgado et al. (2017) quienes modelaron el crecimiento de *Auricularia auricula* en cascarilla de arroz y bagazo de caña en FES a partir de la cuantificación de CO₂ metabólico, la conversión a biomasa por la ecuación de estequiometría y la ecuación modificada de Gompertz, reportando μ_{max} de 0.004 h⁻¹ y 0.003 h⁻¹, en cascarilla de arroz y bagazo de caña, respectivamente.

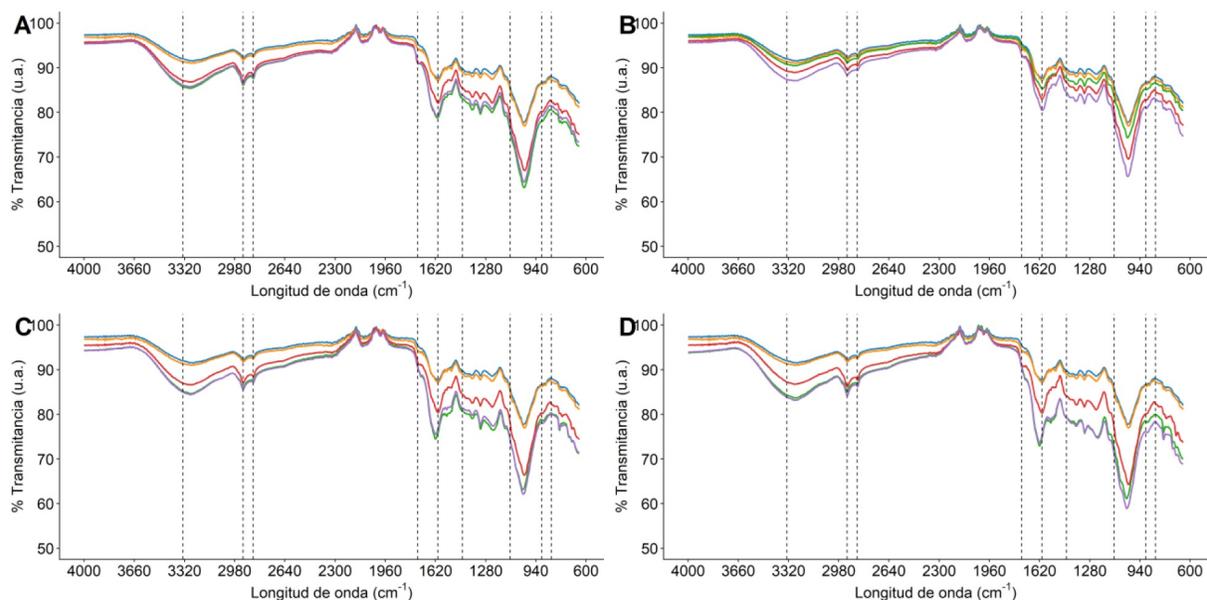


Figura 2. Espectros FT-IR de residuos fermentados por A) *L. strigosus*, B) *T. harzianum*, C) *Aspergillus* sp. APC y D) *Aspergillus* sp. ARC a (-) tiempo inicial, (-) tiempo intermedio y (-) tiempo final contrastando con (-) residuos sin tratamiento y (-) residuos esterilizados (n = 3).

Además de cuantificar CO_2 metabólico, otros estudios han aplicado métodos indirectos para cuantificar y modelar el crecimiento de basidiomicetos y actinomicetos en FES que no implican conocer el contenido elemental de los sustratos. Al respecto, Smits *et al.* (1999) cuantificaron el contenido de glucosamina, consumo de oxígeno y actividad del agua en FES de salvado de trigo con *Trichoderma reesei*, proponiendo cuatro modelos de crecimiento, pero solo uno predice con mayor precisión el crecimiento en periodos largos de fermentación. Por otro lado, Téllez-Téllez *et al.* (2008) cuantificaron la biomasa de *Pleurotus ostreatus* y *A. auricula* en FES y fermentación sumergida (FSm); en FES emplearon un soporte inerte y por diferencia de peso definieron la biomasa real producida; para ambas fermentaciones aplicaron las ecuaciones Velhurst-Pearl o logística y obtuvieron la mayor velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}) (0.033 h^{-1}) en FES que en FSm (0.022 h^{-1}), debido probablemente a la similitud de hábitat natural de los hongos.

La parametrización del crecimiento biológico conlleva a una mejor descripción del proceso, en la Tabla 2 se muestran los valores requeridos para el modelo Gompertz modificado y los valores de los

métricos R^2 y RMSE. Generalmente, para modelar el crecimiento se requiere el valor de la μ_{max} porque permite saber el tiempo de multiplicación del microorganismo y estimar su adaptabilidad por la asimilación del sustrato, además este valor es específico para los microorganismos con el sustrato. Las μ_{max} obtenidas por los microorganismos, muestran como algunos microorganismos están más adaptados al sustrato y consumo de nutrientes. Por un lado, el microorganismo más lento fue *L. strigosus* por presentar el menor valor ($0.12 \pm 0.01 \text{ h}^{-1}$), pero al compararlo con otros basidiomicetos como *P. ostreatus* y *A. auricula* (Téllez-Téllez *et al.* 2008) es más rápido, debido a su capacidad metabólica y disponibilidad de sustrato. Por otro lado, el microorganismo con mayor rapidez para crecer fue *Aspergillus* sp. ARC con un valor de $0.42 \pm 0.08 \text{ h}^{-1}$, este microorganismo fue aislado de los residuos de café y al ser un ascomiceto y en comparación con los basidiomicetos, es más rápido para el desarrollo de micelio en sustratos lignocelulósicos (De-Oliveira-Rodrigues *et al.* 2020). La μ_{max} de los otros ascomicetos no mostro ser tan significativo ya que luego de la prueba de Duncan, *Aspergillus* sp. APC y *T. harzianum* fueron agrupados como b y bc, respectivamente, considerándose como

iguales en tanto a adaptación al sustrato y capacidad de metabolizar los nutrientes.

La utilidad de los valores métricos radica en cómo y cuánto podemos aceptar la predicción de valores por un modelo matemático a partir de datos experimentales. Es decir, R^2 muestra la proporción de la varianza en la variable respuesta de los datos modelados, y RMSE indica qué tan alejados están los valores modelados de los experimentales. Contrario al valor de R^2 , los valores de RMSE no tienen un límite máximo o un criterio definido para saber el mejor ajuste, solo se considera que sea menor para un mejor ajuste (Montgomery 2004). En este estudio los valores de R^2 son superiores a 0.95, lo cual sugiere una menor varianza entre los datos modelados y experimentales, sin embargo, llega a existir diferencia significativa entre los microorganismos *T. harzianum* y *Aspergillus* sp. APC, situación justificable, porque el valor RMSE de cada uno también se diferencia, mientras que para *Aspergillus* sp. APC es un valor pequeño (0.82 ± 0.47), para *T. harzianum* es 3.36 ± 0.67 , lo cual indica que el modelo Gompertz modificado no fue el ideal para evaluar el crecimiento de todos los hongos, ya que al comparar cada valor de RMSE se observan diferencias significativas, considerándolo más apto para modelar el crecimiento de *Aspergillus* sp. APC, y menos para *Aspergillus* sp. ARC, donde se observó un mayor valor de RMSE (7.28 ± 3.76). Por lo que es necesario evaluar otros modelos de crecimiento con esta estrategia de cuantificación de biomasa.

Desarrollo del contenido total de polifenoles en FES

De acuerdo a las cinéticas de crecimiento (Figura 1), la pendiente de reducción de polifenoles se relaciona con la fase exponencial de crecimiento, lo cual sugiere que estos compuestos son de fácil asimilación debido a que son consumidos en las primeras instancias del crecimiento, y probablemente, su consumo se deba a la síntesis de enzimas como las tanasas encargadas de hidrolizar taninos hasta generar subproductos como glucosa y ácido gálico (Govindarajan et al. 2019, Ristinmaa et al. 2022). Por lo tanto, es probable que la detoxificación de

residuos de café se deba a la hidrólisis de los polifenoles presentes en el residuo y otro biopolímeros como lignina, hemicelulosa y celulosa, lo cual coincide con lo mencionado por Ristinmaa et al. (2022) quienes evaluaron un medio específico con galotaninos solubles en agua y *Clostridium butyricum*. Los resultados obtenidos sugieren que los polifenoles pueden ser una fuente de carbono que activa la secreción de enzimas hidrolíticas en hongos, levaduras y bacterias (Lekshmi et al. 2021). Es común el uso de bacterias para la producción de enzimas como las tanasas ya que representan ventajas siendo la principal, el tiempo de crecimiento, pero no es común su uso para el aprovechamiento integral de residuos lignocelulósicos (Govindarajan et al. 2019, Lekshmi et al. 2021, Ristinmaa et al. 2022).

Por otro lado, el aumento observado de CTP se puede deber a que el hongo basidiomiceto *L. strigosus*, crecen debido a la degradación inicial de los polifenoles presentes en el residuo que generan una caída en la concentración de CTP, agotadas estas moléculas, se inicia la degradación de la lignina propiciada por la presencia de enzimas ligninolíticas, lacasa, manganeso peroxidasa (MnP) y lignina peroxidasa (LiP) (García-Esquivel et al. 2021), las cuales generan monolignoles (Lu y Ralph 2010, Chen et al. 2023) y moléculas reactivas que son cuantificables por el método de Folin-Ciocalteu por presentar un grupo hidroxil en el anillo fenólico; además de que se conoce mayor producción de estas enzimas en basidiomicetos que en ascomicetos (De-Oliveira-Rodrigues et al. 2020).

Para los tres ascomicetos evaluados, el aumento de CTP se podría justificar por que los polifenoles no estructurales, como ácido tánico y ácido digálico, se degradan por la enzima tanasa producida por este género de hongos, la cual hidroliza el enlace éster del tanino hidrolizable generando éster de galoilo, glucosa y ácido gálico (Lekshmi et al. 2021). Además, compuestos como vainillato, ferulato y siringato y cafeína se degradan por una ruta similar a la degradación de ácido gálico, pero por medio de enzimas dioxigenasas (Kasai et al. 2007) generando en todos los casos un reactivo (protocatechuado o 4-carboxi-2-hidroximuconato semialdehído)

recondensable biológicamente por el NADP⁺. Para luego dar lugar al ácido 2-pirona-4,6-dicarboxílico, sustancia formada por un anillo de pirano con dos grupos de ácido carboxílico (Otsuka *et al.* 2006), detectable por el método de Folin-Ciocalteu. Por lo cual el aumento de CTP en los ascomicetos podría deberse a la recondensación biológica y presencia de este tipo de enzimas; situación observada también por Londoño-Hernandez *et al.* (2020) luego de 60 h de cultivo de *Rhizopus oryzae* en FES y Serna-Díaz *et al.* (2016) que observaron recondensación en la deslignificación de paja de cebada. La mayor detoxificación observada en el basidiomiceto *L. strigosus*, podría deberse a la capacidad de secretar enzimas ligninolíticas como lacasa, LiP y MnP (García-Esquivel *et al.* 2021). La cual esta relacionadas con la degradación de la lignina y su mineralización; además, este hongo podría aprovecharse para generar biomasa comestible debido a sus beneficios nutricionales y terapéuticos (Dulay *et al.* 2014).

El tiempo de degradación es un factor de suma importancia en procesos fermentativos, los ascomicetos estudiados mostraron capacidad para reducir la cantidad de polifenoles presentes en los residuos en un menor tiempo que el utilizado por el basidiomiceto, y pone en evidencia su potencial para procesos de detoxificación. Al respecto, se han descritos resultados similares como el caso de *Rhizopus oryzae* al lograr una reducción del 91.16% a los 8 días (Londoño-Hernandez *et al.* 2020) o el uso de *Aspergillus* sp para degradar a los 6 días de fermentación el 92% de cafeína presente en residuos de café (Brand *et al.* 2000). Es posible mejorar los tiempos de degradación al controlar variables como el pH, humedad del sustrato, temperatura de incubación, tamaño de inóculo entre otros, y acelerar la degradación de compuestos tóxicos utilizando hongos filamentosos como los ascomicetos o basidiomicetos.

Modificación de matriz orgánica por metabolismo microbiano

La matriz orgánica utilizada está compuesta principalmente por lignocelulosa, lo que es una ven-

taja para dar seguimiento de su desgaste. La lignocelulosa está conformada por lignina, hemicelulosa y celulosa, la cual representa el mayor porcentaje en peso de la matriz y muy pocas veces se puede acceder a ella únicamente por procesos biológicos o enzimáticos. En las señales observadas por FT-IR (Figura 2), se observa que las señales más intensas pertenecen a la hemicelulosa y lignina, ya que, al considerarlas como capas externas de esta matriz lignocelulósica, son más fácilmente observables y son las más susceptibles a cambios estructurales por el contacto directo con el micelio. La lignina y hemicelulosa son polisacáridos heterogéneos, con un gran número de grupos funcionales, principalmente OH, C-H, C=C, los cuales muestran estiramiento vibracional en la región de grupo funcional ($\geq 1\ 500\ \text{cm}^{-1}$) y comparando lo reportado con otros autores (Zhang *et al.* 2020, Volli *et al.* 2021) se asimilan en esta región, siendo específicamente entre los 3 600 y 3 200 cm^{-1} , la señal observada en todos los residuos lignocelulósicos. Por otro lado, el residuo mostró señales en los 2 922 cm^{-1} y 2 854 cm^{-1} , que es una señal poco común en los residuos lignocelulósicos, y hasta el momento, esta señal también la comparten los residuos de cebada, elote (Volli *et al.* 2021), cascarilla de arroz (Jorge-Montalvo *et al.* 2019) y cáscara de nuez (Zhang *et al.* 2020). Lo que se sugiere que esta señal corresponde a grupos funcionales de la celulosa degradada parcialmente, luego de tratamientos físico o químicos en los residuos, por lo tanto, el contacto de los residuos con microorganismos, desgasta las primeras capas (lignina y hemicelulosa) y expone parcialmente la celulosa. El primer contacto del microorganismo con el residuo es con la lignina y luego la hemicelulosa, por lo tanto, se observan señales más nítidas de los grupos funcionales presentes en ambos biopolímeros, estas señales son consideradas como huellas características (huellas dactilares) en la región menor de 1 500 cm^{-1} , como lo mencionan (Volli *et al.* 2021) que compararon las señales entre 1 115 y 1 604 cm^{-1} asociándolo a un patrón típico de lignina por lo que llegaron a la conclusión de que esta región corresponde a los grupos funcionales de este polímero. En la Tabla 4 se muestran los valores obtenidos en la región donde se observa

reducción en el tamaño/intensidad de las señales (menor % T) que puede atribuirse a la exposición de los biopolímeros a la acción enzimática que pueden afectar las regiones internas del biopolímero por la acción metabólica (atenuación y nitidez de señales), ya que se ha mencionado, que el aumento de CTP, se puede deber a que los microorganismos hidrolizan lignina, liberando algunos monómeros y exponiendo otros aumentando la detección de CTP.

CONCLUSIONES

Mediante la cuantificación de CO₂ metabólico y la aplicación de la ecuación estequiométrica de crecimiento, se calculó la cantidad de biomasa de *L. strigosus*, *T. harzianum* y dos *Aspergillus* aislados, uno de paja de cebada y otro de residuos de café; generada en FES, lo que permitió modelar el

crecimiento de estos microorganismos sobre residuos de café. La detoxificación de residuos de café ocurre durante la fase de crecimiento exponencial considerando a los polifenoles como sustrato, logrando la mayor detoxificación con el basidiomiceto *L. strigosus* (75.74 ± 6.07%) en 10 días, mientras que el tiempo de detoxificación para los ascomicetos fue de 4 días para *T. harzianum* (56.13 ± 6.92%) al igual que para *Aspergillus* sp. APC (50.34 ± 4.82%) y *Aspergillus* sp. ARC (32.89 ± 3.17%).

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado gracias al apoyo recibido por el Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología (CONAHCyT) por la beca doctoral recibida No. 563173.

LITERATURA CITADA

- Ahmed MA, Choi JW (2021) Characteristic features of lignin extracted with gamma valerolactone after anaerobic and sonication only treatments of pine saw dust to make thin film composites. *Bioresource Technology Reports* 15: 100814. DOI: 10.1016/j.biteb.2021.100814.
- Alves RC, Rodrigues F, Nunes MA, Vinha AF, Oliveira MBPP (2017) State of the art in coffee processing by-products. In: Galanakis CM (ed) *Handbook of coffee processing by-products: Sustainable applications*. Elsevier. London, UK. pp: 1-26.
- Bhoite RN, Murthy PS (2014) Biodegradation of coffee pulp tannin by *Penicillium verrucosum* for production of tannase, statistical optimization and its application. *Food and Bioproducts Processing* 94: 727-735.
- Brand D, Pandey A, Roussos S, Soccol CR (2000) Biological detoxification of coffee husk by filamentous fungi using a solid-state fermentation system. *Enzyme and Microbial Technology* 27: 127-133.
- Chen M, Li Y, Liu H, Zhang D, Shi QS, Zhong XQ, Guo Y, Xie XB (2023) High value valorization of lignin as environmental benign antimicrobial. *Materials Today Bio* 18 DOI: 10.1016/j.mtbio.2022.100520.
- De-Carvalho-Oliveira F, Srinivas K, Helms GL, Isern NG, Cort JR, Gonçalves AR, Ahring BK (2018) Characterization of coffee (*Coffea arabica*) husk lignin and degradation products obtained after oxygen and alkali addition. *Bioresource Technology* 257: 172-180.
- De-Oliveira-Rodrigues P, Alves Gurgel LV, Pasquini D, Badotti F, Góes-Neto A, Alves Baffi M (2020) Lignocellulose-degrading enzymes production by solid-state fermentation through fungal consortium among *Ascomycetes* and *Basidiomycetes*. *Renewable Energy* 145: 2683-2693.
- Doran P (2012) *Bioprocess engineering principles*. 2nd Edition. Academic Press. Sidney, Australia. 430p.
- Dulay RMR, Arenas MC, Kalaw SP, Reyes RG, Cabrera EC (2014) Proximate composition and functionality of the culinary-medicinal tiger sawgill mushroom, *Lentinus tigrinus* (higher *Basidiomycetes*), from the Philippines. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 16: 85-94.

- Farah A, Dos-Santos TF (2015) The coffee plant and beans: An introduction. In: Preedy VR (ed) Coffee in health and disease prevention. Elsevier Inc. London, UK. pp: 5-10.
- Gabhane J, Kumar S, Sarma AK (2020) Effect of glycerol thermal and hydrothermal pretreatments on lignin degradation and enzymatic hydrolysis in paddy straw. *Renewable Energy* 154: 1304-1313.
- García-Esquivel Y, Mercado-Flores Y, Anducho-Reyes MA, Álvarez-Cervantes J, Wobeser EA von, Marina-Ramírez AI, Téllez-Jurado A (2021) 3-Methyl-2-benzothiazolinone hydrazone and 3-dimethylamino benzoic acid as substrates for the development of polyphenoloxidase and phenoloxidase activity by zymograms. *3 Biotech* 11: 1-12. DOI: 10.1007/s13205-020-02622-6.
- Geremu M, Tola YB, Sualeh A (2016) Extraction and determination of total polyphenols and antioxidant capacity of red coffee (*Coffea arabica* L.) pulp of wet processing plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 3: 25. 10.1186/s40538-016-0077-1.
- Gómez A, Klose W, Rincón SL, Wiest W (2004) Transformación termoquímica de la biomasa residual del proceso de extracción del aceite de palma: tecnologías y perspectivas. *Palmas* 25: 388-397.
- Govindarajan RK, Krishnamurthy M, Neelamegam R, Shyu DJH, Muthukalingan K, Nagarajan K (2019) Purification, structural characterization and biotechnological potential of tannase enzyme produced by *Enterobacter cloacae* strain 41. *Process Biochemistry* 77: 37-47.
- Hames B, Ruiz R, Scarlata C, Sluiter A, Sluiter J, Templeton D (2008) Preparation of samples for compositional analysis laboratory analytical procedure (LAP). National Renewable Energy Laboratory. Colorado, USA. <https://www.nrel.gov/docs/gen/fy08/42620.pdf>. Fecha de consulta: 3 de enero de 2022.
- Hernández-Teyssier EL, Ramírez-Vargas MR, Ramírez-Castillo ML, Téllez-Jurado A (2023) Integration of extraction and acid hydrolysis processes as a strategy for better use and obtaining products from coffee residues. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 22(1): Bio3021. DOI: 10.24275/rmiq/Bio3021.
- Hikichi SE, Andrade RP, Dias ES, Duarte WF (2017) Biotechnological applications of coffee processing by-products. In: Galanakis CM (ed) Handbook of coffee processing by-products: Sustainable applications. Elsevier. Chania, Greece. pp: 221-244.
- ICO (2021) The Future of Coffee: Investing in youth for a resilient and sustainable coffee sector. Germany. 98p.
- ICO (2022) International Coffee Day 2022. International Coffee Organization. London, UK. 4 p. <https://www.internationalcoffeeday.org>. Fecha de consulta: 2 de diciembre de 2022.
- Janissen B, Huynh T (2018) Chemical composition and value-adding applications of coffee industry by-products: A review. *Resources, Conservation and Recycling* 128: 110-117.
- Jorge-Montalvo PA, Flores del Pino L, Visitación Figueroa L, Naveda Rengifo RA (2019) Remoción de lignina en el pretratamiento de cascarilla de arroz por explosión con vapor. *Revista de La Sociedad Química Del Perú* 85: 352-361.
- Kasai D, Masai E, Katayama Y, Fukuda M (2007) Degradation of 3-O-methylgallate in *Sphingomonas paucimobilis* SYK-6 by pathways involving protocatechuate 4,5-dioxygenase. *FEMS Microbiology Letters* 274: 323-328.
- Lekshmi R, Arif Nisha S, Thirumalai Vasan P, Kaleeswaran B (2021) A comprehensive review on tannase: Microbes associated production of tannase exploiting tannin rich agro-industrial wastes with special reference to its potential environmental and industrial applications. *Environmental Research* 201: 111625. DOI: 10.1016/j.envres.2021.111625.

- Londoño-Hernandez L, Ruiz HA, Ramírez C, Ascacio JA, Rodríguez-Herrera R, Aguilar CN (2020) Fungal detoxification of coffee pulp by solid-state fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 23: 101467. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.101467.
- Lu F, Ralph J (2010) Lignin. In: Run-Cang S (ed) *Cereal straw as a resource for sustainable biomaterials and biofuels*. Elsevier. Beijing, China. pp: 169-207.
- Manasa V, Padmanabhan A, Appaiah KAA (2020) Utilization of coffee pulp waste for rapid recovery of pectin and polyphenols for sustainable material recycle. *Waste Management* 120: 762-771.
- Massaya J, Prates Pereira A, Mills-Lamprey B, Benjamin J, Chuck CJ (2019) Conceptualization of a spent coffee grounds biorefinery: A review of existing valorisation approaches. *Food and Bioproducts Processing* 118: 149-166.
- Mata G, Salmones D, Pérez-Merlo R (2016) Hydrolytic enzyme activities in shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) strains cultivated on coffee pulp. *Revista Argentina de Microbiología* 48: 191-195.
- Montgomery D (2004) *Diseño y Análisis de Experimentos*. 2da Edición. Limusa Willey. CDMX, México. 692p.
- Muñoz-González R, Mero-Loor AK (2020) El sector cafetalero a nivel mundial y sus principales determinantes socioeconómicos. *Revista Cubana de Ciencias Económicas* 6: 27-41.
- Mussatto SI, Carneiro LM, Silva JPA, Roberto IC, Teixeira JA (2011) A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. *Carbohydrate Polymers* 83: 368-374.
- Otsuka Y, Nakamura M, Shigehara K, Sugimura K, Masai E, Ohara S, Katayama Y (2006) Efficient production of 2-pyrone 4,6-dicarboxylic acid as a novel polymer-based material from protocatechuate by microbial function. *Applied Microbiology and Biotechnology* 71: 608-614.
- Pineda-Insuasti JA, Soto-Arroyave CP, Ramos-Sánchez LB (2014) Ecuación estequiométrica para describir el crecimiento de *Pleurotus ostreatus* cepa ceba-gliie-po-010606. *Biotecnología Aplicada* 31: 43-47.
- Quintanar-Gómez S, Arana-Cuenca A, Mercado Flores Y, Gracida Rodríguez JN, Téllez-Jurado A (2012) Effect of particle size and aeration on the biological delignification of corn straw using *Trametes* sp. 44. *BioResources* 7: 327-344.
- R Core Team (2023) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Viena, Austria. <https://www.r-project.org/>. Fecha de consulta: 2 de enero de 2023
- Raimbault M, Alazard D (1980) Culture method to study fungal growth in solid fermentation. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology* 9: 199-209.
- Ravindran R, Desmond C, Jaiswal S, Jaiswal AK (2018) Optimisation of organosolv pretreatment for the extraction of polyphenols from spent coffee waste and subsequent recovery of fermentable sugars. *Bioresource Technology Reports* 3: 1-16.
- Ristinmaa AS, Coleman T, Cesar L, Weinmann AL, Mazurkewich S, Branden G, Hasani M, Larsbrink J (2022) Structural diversity and substrate preferences of three tannase enzymes encoded by the anaerobic bacterium *Clostridium butyricum*. *Journal of Biological Chemistry* 298: 101758. DOI: 10.1016/j.jbc.2022.101758.
- Rodríguez-Couto S, Sanromán MA (2005) Application of solid-state fermentation to ligninolytic enzyme production. *Biochemical Engineering Journal* 22: 211-219.
- Rosero-Delgado EA, Dustet-Mendoza JC (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: 28-38.

- SE (2014) NMX-AA-036 SCFI-2001 Análisis de agua - Determinación de acidez y alcalinidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Diario Oficial de la Federación. [http://lasa.ciga.unam.mx/monitoreo/images/biblioteca/42 NMX-AA-036-SCFI-2001_Acidez_alcalinidad.pdf](http://lasa.ciga.unam.mx/monitoreo/images/biblioteca/42%20NMX-AA-036-SCFI-2001_Acidez_alcalinidad.pdf). Falta fecha de consulta: 2 de diciembre de 2022.
- Serna-Díaz MG, Arana-Cuenca A, Medina-Marin J, Seck-Tuoh-Mora JC, Mercado-Flores Y, Jiménez-González A, Téllez-Jurado A (2016) Modeling of sulfite concentration, particle size, and reaction time in lignosulfonate production from barley straw using response surface methodology and artificial neural network. *BioResources* 11: 9219-9230.
- Smits JP, Van Sonsbeek HM, Knol W, Tramper J, Geelhoed W, Peeters M, Rinzema A (1999) Modelling fungal solid-state fermentation: The role of inactivation kinetics. *Bioprocess Engineering* 20: 391-404.
- Téllez-Téllez M, Fernández FJ, Montiel-González AM, Sánchez C, Díaz-Godínez G (2008) Growth and laccase production by *Pleurotus ostreatus* in submerged and solid-state fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology* 81: 675-679.
- Volli V, Gollakota ARK, Shu CM (2021) Comparative studies on thermochemical behavior and kinetics of lignocellulosic biomass residues using TG-FTIR and Py-GC/MS. *Science of the Total Environment* 792: 148392. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.148392.
- Wickham H (2016) *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. Springer-Verlag. New York, USA. <https://ggplot2.tidyverse.org>. Fecha de consulta: 2 de agosto de 2022
- Wickham H, Francois R, Henry L, Müller K (2022) *dplyr: A grammar of data manipulation (R package version 1.0.10)*. New York, USA. <https://cran.r-project.org/package=dplyr>. Fecha de consulta: 2 de agosto de 2022
- Yazid NA, Barrena R, Komilis D, Sánchez A (2017) Solid-state fermentation as a novel paradigm for organic waste valorization: A review. *Sustainability* 9(2): 224. DOI: 10.3390/su9020224.
- Zara J, Yegres F, Vargas N, Cubillan L, Navas P, Márquez-Riquel M (2017) Empleo de la espectroscopia infrarroja (FT-IR-ATR) como herramienta para la caracterización del bagazo de caña proveniente de la Sierra Falconiana. *Química Viva* 16: 17-24.
- Zhang L, Yang Z, Li S, Wang X, Lin R (2020) Comparative study on the two-step pyrolysis of different lignocellulosic biomass: Effects of components. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 152: 104966. DOI: 10.1016/j.jaap.2020.104966.