



## Producción y cuantificación de carbohidratos a partir de residuos lignocelulósicos por hongos del género *aspergillus*

Diana Nicole Ríos Torres<sup>1</sup>, Ivan Salmerón Ochoa<sup>1</sup>, Armando Quintero Ramos<sup>1</sup>, Samuel Pérez Vega<sup>1</sup>, Sergio Cisneros de la Cueva<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH), Circuito universitario S/N campus UACH II, Chihuahua, Chih. México. C.P. 31125.

\*[sdelacueva@uach.mx](mailto:sdelacueva@uach.mx)

---

### Resumen

Uno de los principales residuos generados en México son los desechos urbanos de jardinería, principalmente compuestos de residuos lignocelulosicos que contienen azúcares que no se encuentran disponibles para ser utilizados por los microorganismos y aprovecharlos para generar compuestos químicos de alto valor agregado. En este estudio por fermentación en medio sólido utilizando los residuos de jardinería como sustrato, se evaluó la capacidad de degradación de lignina y producción de azúcares como glucosa, galactosa y xilosa, probando tres diferentes especies de hongos del género *Aspergillus* a humedades de 60%, 70% y 80%. Las diferentes especies de hongos del género *Aspergillus* fueron designados como cepas A1, A2 y A3. Los máximos valores de degradación de lignina de  $60.29 \pm 0.57\%$  y producción de glucosa de  $116.52 \pm 0.99$  ppm, galactosa de  $50.86 \pm 0.51$  ppm y xilosa de  $38.27 \pm 0.47$  ppm fueron obtenidos para la cepa A1 a una humedad de 70%.

*Palabras claves:* *Aspergillus*, *Lignina*, *Degradación*, *Residuos de jardinería*, *azúcares fermentables*

### Abstract

One of the main residues generated in Mexico is urban garden waste, mainly composed of lignocellulose residues that contain sugars that are not available for use by microorganisms and use them to generate chemical compounds of high added value. In this study by solid state fermentation using garden waste as a substrate, the capacity for lignin degradation and production of sugars such as glucose, galactose and xylose was evaluated, testing three different species of fungi of the genus *Aspergillus* at humidity of 60%, 70% and 80%. The different species of fungi of the genus *Aspergillus* were designated as strain A1, A2 and A3. The maximum values of lignin degradation of  $60.29 \pm 0.57\%$  and production of glucose of  $116.52 \pm 0.99$  ppm, galactose of  $50.86 \pm 0.51$  ppm and xylose of  $38.27 \pm 0.47$  ppm were obtained for the strain A1 at a humidity of 70%.

*Keywords:* *Aspergillus*, *Degradation*, *Lignin*, *Garden waste*, *fermentable sugars*



## 1. Introducción

La acumulación de residuos lignocelulósicos en grandes cantidades en lugares en los que no se pueden tratar para su eliminación, llegan a ser un problema, que da como resultado el deterioro del medio ambiente y la pérdida de material potencialmente valioso que puede utilizarse en la fabricación de papel, producción de combustible de biomasa, compostaje, alimentación humana y animal entre otros (Carota et al., 2021) (Sánchez, 2009).

Entre los residuos orgánicos más abundantes que están siendo dispuestos en México, en rellenos sanitarios y en los tiraderos de basura a cielo abierto, controlado y no controlado, se encuentran los residuos lignocelulosicos. De acuerdo a datos reportados por la secretaría de medio ambiente (SEMARNAT) en México se generaron 120,128.00 toneladas de residuos sólidos urbanos (RSU) por día y se estimó que el 10.84% fueron residuos lignocelulosicos (SEMARNAT, 2020).

Este tipo de residuos en su proceso de degradación natural desprenden gases como el metano, involucrados en el cambio climático global, así como malos olores, los cuales atraen fauna nociva y especies transmisoras de enfermedades (Granados et al., 2012). Así como también, provocan la formación de lixiviados que arrastran contaminantes hacia los cuerpos de agua superficiales o se infiltran hacia los mantos acuíferos, deteriorando las fuentes de abastecimiento de agua para consumo humano e irrigación de campos agrícolas, amenazando además los ecosistemas acuáticos (Granados et al., 2012)

Una solución a esta problemática es la producción de biocombustibles a partir del uso de los residuos agrícolas, y residuos sólidos urbanos, mediante la conversión de materiales lignocelulosicos (Bugg et al., 2011).

El material lignocelulósico consiste en tres tipos de polímeros, celulosa, hemicelulosa y lignina, que están fuertemente entrelazados y unidos químicamente por fuerzas no covalentes y por enlaces covalentes (Baldrian y Valášková, 2008).

La celulosa es un biopolímero lineal de moléculas de anhidro-glucopiranosas, conectadas por enlaces glucosídicos  $\beta$ -1,4 y es componente principal de todo el material lignocelulósico. Las hemicelulósas, son polímeros heterogéneos de pentosas, hexosas y azúcares ácidos constituyen el segundo componente más abundante del material lignocelulósico (Dashtban et al., 2009).

La lignina es un polímero aromático que contiene tres alcoholes aromáticos, incluidos el alcohol coniferílico, sinapílico y el p-cumarílico (Li et al., 2020). La lignina es el tercer componente principal en los residuos lignocelulósicos que actúa como una barrera uniéndose tanto a hemicelulosa como a la celulosa, y evita la penetración de las enzimas lignocelulolíticas en la estructura lignocelulósica interior, afectando la accesibilidad de los polisacáridos ricos en energía. Debido a las características de la lignina hace que sea el componente más recalcitrante del material lignocelulosico para degradarse (Li et al., 2020). Los hongos suelen degradar mejor los constituyentes de la pared celular de las plantas debido a su sistema enzimático extracelular y a la penetración de las hifas (Sharma y Arora, 2015).

Las bacterias no son tan eficientes para el pretratamiento de biomasa lignocelulósica, como lo demuestra un estudio que comparó hongos y bacterias, para el pretratamiento de desechos de caña de azúcar (Rouches et al., 2016).

La capacidad de los hongos para degradar materiales lignocelulósicos se debe a su sistema enzimático altamente eficiente. Los hongos tienen dos tipos de sistemas enzimáticos extracelulares; el sistema hidrolítico, que produce hidrolasas que son responsables de la degradación de los polisacáridos y un sistema ligninolítico extracelular y oxidativo único, que degrada la lignina y abre los anillos de fenilo (Andlar et al., 2018).

Algunos hongos pertenecientes al género de *Aspergillus* tienen una capacidad ampliamente reconocida para degradar la lignocelulosa, sin embargo, existe una gran diversidad de hongos de este género y poco se ha explorado e informado en la degradación de residuos lignocelulosicos (Carota et al., 2021). El objetivo de este estudio fue evaluar la eficiencia de la degradación de lignina y liberación de azúcares

en residuos de jardinería por fermentación en medio sólido probando tres especies de hongos del género *Aspergillus* a diferentes niveles de humedad.

## 2. Metodología experimental

### 2.1. Materia prima

Los residuos de jardinería se recolectaron en la facultad de ciencias químicas de la UACH Chihuahua Chih., México, en las fechas de octubre. Debido a la temporada en la que se recolectaron los residuos, no se requirió de un secado. Los residuos se trituraron pasándolos por un tamiz de 0.75 mm y se guardaron en un recipiente plástico a temperatura de 4°C.



A) Residuos de jardinería recolectados y depositados en bandejas de plástico



B) Molienda de los residuos de jardinería



C) Muestra de residuos de jardinería molidos y tamizados

Figura 1. Acondicionamiento de los residuos de jardinería

Una vez que los residuos de jardinería se molieron y tamizaron (Figura 1A-C), se tomó una muestra homogénea para su caracterización, y el resto se utilizó para realizar los pretratamientos con los hongos aislados. En la Tabla 1 se muestra la caracterización de los residuos de jardinería.

**Tabla 1. Caracterización de los residuos de jardinería**

Parámetro	Resultado
Azúcares Reductores	$0.067 \pm 2.83E^{-3}$ g/L
Glucosa	$3.53 \pm 2.90E^{-2}$ ppm
Galactosa	$1.19 \pm 0.14$ ppm
Xilosa	-
Humedad	$12.09 \pm 3.82E^{-1}$ % p/p
Ceniza	$3.28 \pm 4.24E^{-2}$ % p/p
Nitrógeno	$4.20 \pm 7.07E^{-2}$ % p/p
Celulosa	$30.92 \pm 5.09E^{-1}$ % p/p
Lignina	$37.08 \pm 1.70E^{-1}$ % p/p
pH	$4.49 \pm 1.41E^{-2}$

### 2.2. Aislamiento e identificación de hongos

En frascos estériles se tomaron muestras de estiércol de vaca de una pila de almacenamiento de un biodigestor localizado en Gómez palacio, Dgo. El propósito de tomar en este sitio las muestras fue aislar hongos con capacidad de degradación de residuos lignocelulosicos.

Las muestras tomadas fueron diluidas serialmente con agua estéril ( $10^{-1}$  hasta  $10^{-5}$ ). Posteriormente de cada dilución se sembró en placas de agar papa dextrosa (PDA) que fueron incubadas a 30 °C por 4-7 días (Anita et al., 2013).

Los hongos obtenidos fueron sembrados sobre placas de celulosa agar que contenían: 20 g/L de celulosa pulverizada, 15 g/L de agar-agar y medio mineral modificado descrito originalmente por Castillo et al. (2015) (0.5 g/L  $\text{NaNO}_3$ , 1 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.5 g/L  $\text{MgSO}_4$ , 0.5 g/L KCl, 0.01 g/L  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ). Las placas fueron incubadas a 30 °C por 4-7 días.

Para la identificación, los tres hongos aislados que presentaron la mayor capacidad celulolítica fueron identificados a nivel de género, a partir de los protocolos de Barnett y Barry (1998) y Domsch et al. (1993).

### 2.3. Pretratamiento con los hongos

El pretratamiento de los residuos de jardinería utilizando los tres hongos aislados fue realizado por fermentación en medio sólido variando la humedad en 10%, 20% y 30%. Para el montaje de las unidades experimentales, se tomaron 100 g residuos de jardinería para mezclarlos con medio mineral descrito originalmente por Castillo et al. (2015) y depositar la mezcla en charolas de aluminio. Finalmente, la mezcla correspondiente a cada experimento fue inoculada en forma independiente con cada uno de los hongos con 5% p/p de inóculo de la suspensión de esporas que contenía aproximadamente  $1.0 \times 10^7$  esporas/mL (Figura 2).



1. Preparación de inóculo



2. Mezclado de los residuos de jardinería con el medio mineral



3. Deposición de la mezcla en charolas de aluminio

Figura 2. Etapas del pretratamiento de los residuos de jardinería

También se realizaron experimentos control para evaluar el efecto de los factores abióticos del proceso de fermentación en medio sólido. En estos experimentos no se agregó inóculo y se utilizaron las mismas condiciones con respecto a los experimentos que si fueron inoculados. Todos los experimentos se incubaron a 30°C durante 40 días (Figura 2). La asignación de los experimentos se muestra en la tabla 2.

### 2.4. Métodos analíticos

La determinación de azúcares reductores se realizó por el método DNS de acuerdo al procedimiento experimental descrito por Miller (1959). La determinación de pH, humedad y cenizas se determinó de acuerdo a los métodos descritos por la AOAC (1995).

El contenido de lignina se determinó como lignina de Klason, de acuerdo a la norma ANSI/ASTM (1977a). El contenido de celulosa se determinó de acuerdo a la norma ANSI/ASTM (1977b).



Para la determinación de la concentración de glucosa, galactosa y xilosa se utilizó un HPLC Thermo Scientific Dionex ICS-5000 equipado con un detector electroquímico con electrodo de trabajo de oro y electrodo de referencia de AgCl usando una columna PA-100 CarboPac (4 × 250 mm) (Thermo Scientific).

## 2.5. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de concentración de lignina, glucosa, galactosa y xilosa fueron analizados estadísticamente por ANOVA de análisis de medias para examinar las diferencias entre niveles de una variable o más variables. El análisis se realizó utilizando el software Minitab versión 18.1.

## 3. Resultados y discusión

### 3.1 Aislamiento e identificación de las cepas de hongos A1, A2 y A3.

En la figura 3 se muestra la morfología microscópica y macroscópica de cada uno de los hongos aislados. A partir del análisis comparativo de las características macroscópicas y microscópicas, se identificaron que las tres cepas de hongos aislados pertenecen al género *Aspergillus*

Morfología microscópica con objetivo 100x del microscopio.		
Morfología macroscópica colonial en caja Petri con medio Agar Papa Dextrosa		
A) Cepa A1. <i>Aspergillus Terreus</i>	B) Cepa A2. <i>Aspergillus Candidus</i>	C) Cepa A3. <i>Aspergillus Fumigatus</i>
Figura 3. Morfología macroscópica y microscópica de las tres diferentes cepas de hongos aislados		

La cepa A1 se identificó como *Aspergillus Terreus* ya que las características físicas del cultivo en medio PDA presento colonias de color marrón canela o marrón amarillento. En cuanto a la morfología microscópica presentó cabezas conidiales biseriadas y columnares con conidios globosos, lisos y de paredes delgadas (Figura 3A) (Abarca, 2000).

La cepa A2 se identificó como *Aspergillus Candidus* ya que las características físicas del cultivo en medio PDA presento colonias de color blanco, con textura aterciopelada o espumosa. En cuanto a la morfología microscópica presentó cabezas conidiales globosas (esféricas) con conidios globosos, lisos y de paredes delgadas (Figura 3B) (Abarca, 2000).

La cepa A3 se identificó como *Aspergillus Fumigatus*, ya que las características físicas del cultivo en medio PDA presento colonias de color verde-azulado a verde-grisáceo y textura aterciopelada. En cuanto a la morfología microscópica presentó cabezas conidiales uniseriadas piriformes con conidios de superficie lisa (Figura 3C) (Abarca, 2000).

### 3.2 Degradación de la lignina

En la figura 4 se muestran los recipientes después de 40 días de incubación por fermentación en medio sólido de los residuos de jardinería utilizando diferentes cepas de hongos. En los experimentos control TC1 hasta TC3 no se observó crecimiento micelial. En los experimentos T1 hasta T9 se observó diferente crecimiento micelial, lo que demuestra que la cepa del hongo que se inoculó, tuvo la capacidad de crecer y propagarse en los residuos de jardinería.

**Tabla 2. Porcentajes de degradación de lignina obtenida para los diferentes experimentos a los 40 días de fermentación**

Experimento	Humedad (%)	Cepa de hongos	Degradación de lignina (%)	Concentración de glucosa (ppm)	Concentración de galactosa (ppm)	Concentración de xilosa (ppm)
TC1	60	-	0.32±0.07	3.51±0.01	1.29±0.02	-
TC2	70	-	0.34±0.31	3.58±4.7E <sup>-2</sup>	1.30±0.01	-
TC3	80	-	0.35±0.48	3.60±0.01	1.31±0.01	-
T1	60	Cepa A1	54.40±2.07	85.15±0.30	42.17±1.14	26.24±0.48
T2	70	Cepa A1	60.29±0.57	116.52±0.99	50.86±0.51	38.27±0.47
T3	80	Cepa A1	47.85±1.77	62.96±0.85	37.92±1.39	15.03±0.47
T4	60	Cepa A2	40.07±2.32	61.12±0.18	25.66±0.48	14.70±0.47
T5	70	Cepa A2	45.46±1.70	88.52±0.68	32.87±1.09	28.81±0.34
T6	80	Cepa A2	35.17±2.00	26.49±0.65	20.24±0.95	10.96±0.56
T7	60	Cepa A3	50.99±0.19	72.70±0.54	33.85±0.35	15.08±0.22
T8	70	Cepa A3	57.42±0.91	102.68±0.46	39.96±0.56	30.70±0.80
T9	80	Cepa A3	42.54±2.17	40.39±1.22	28.31±0.93	13.01±0.91

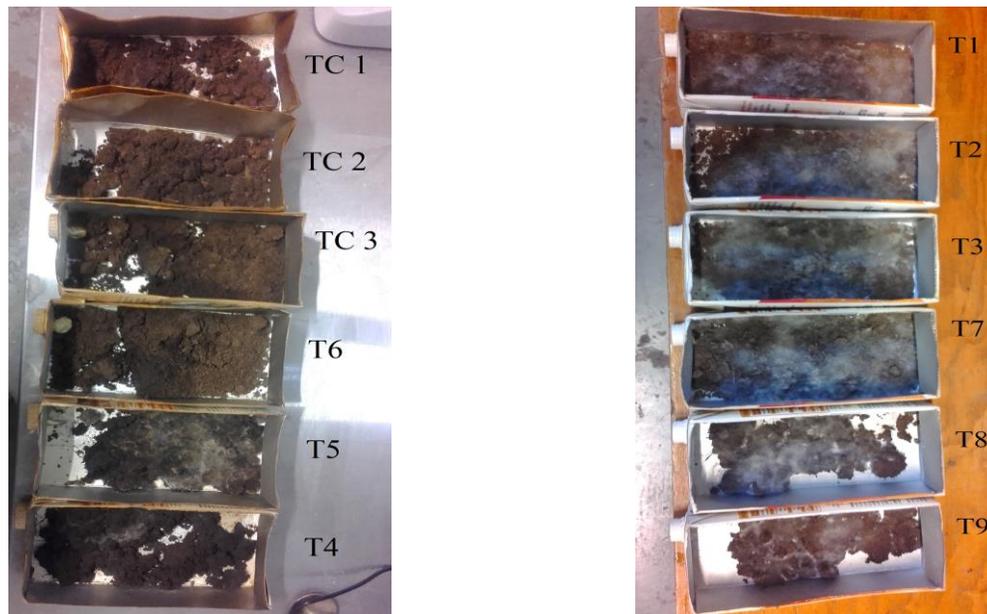


Figura 4. Crecimiento en caja del control y de los diferentes experimentos por fermentación en medio sólido de los residuos de jardinería después de los 40 días de incubación

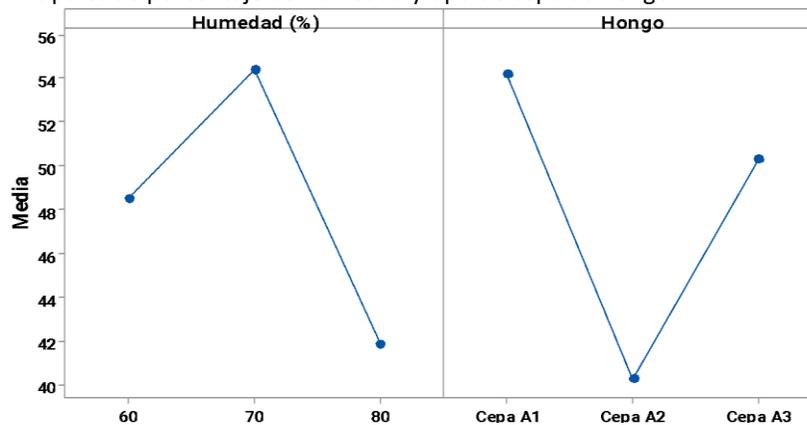
En la figura 5A se muestra que la humedad del 70% y la cepa A1 tuvieron el mayor efecto significativo sobre la degradación de lignina. Por otro lado, la humedad del 80% y la cepa A2 tuvieron el efecto más bajo sobre la degradación de lignina. En la figura 5B se muestra que entre la humedad al 70% y la cepa A1 se tuvo el mayor efecto interactivo sobre la degradación de lignina, teniendo que en esas condiciones experimentales se obtuvieron los máximos valores de degradación de lignina de 60.29±0.57 % (Tabla 2).



El crecimiento y degradación que se dio en todos los experimentos excepto en los experimentos control, se puede deber a que se ha reportado varias especies del género *Aspergillus* son capaces de crecer en ambientes ricos de lignina ya que su condición metabólica les permite degradar compuestos aromáticos y complejos carbohidratos presentes en los residuos lignocelulosicos (Chandra et al., 2016). También ha sido reportado que los hongos del género *Aspergillus* tienen la capacidad de producir enzimas celulolíticas como son peroxidasa y lacasa que pueden degradar eficientemente la lignina (Emtiaz et al., 2001).

El efecto desfavorable de degradación de lignina a humedad de 80%, se puede atribuir a que cuando el contenido de humedad es alto disminuye la porosidad del sustrato, afectado el intercambio de nutrientes y cambiando las condiciones del medio de cultivo (pH, temperatura y concentración) (Carrasco et al., 2003). Valores de 70% humedad han sido reportados como óptimos para la degradación de lignina por fermentación en medio sólido utilizando como sustrato residuos de caña de azúcar (Valiño et al., 2002).

A) Efectos principales de porcentaje de humedad y tipo de cepa de hongo.



B) Efecto de interacción entre porcentaje de humedad y tipo de cepa de hongo.

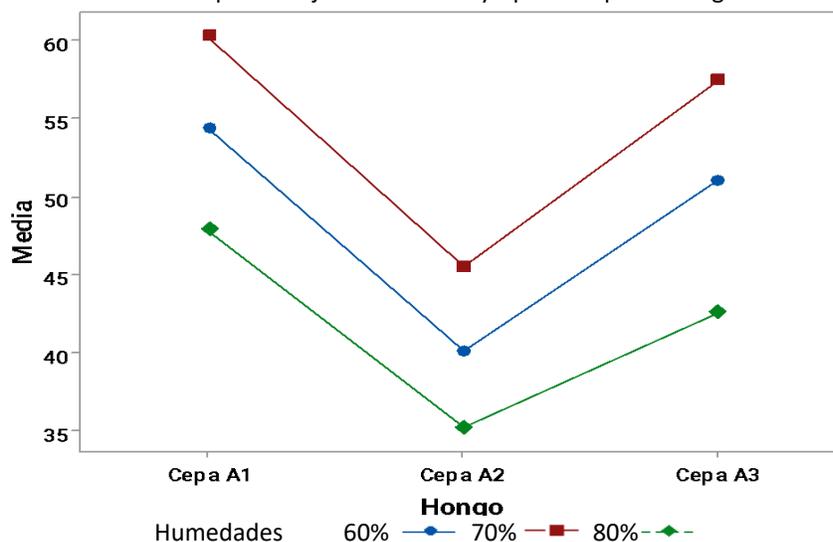


Figura 5. Gráficos de efectos principales de porcentaje de humedad y tipo de cepa de hongo e interacción entre ambos sobre la degradación de lignina en fermentación en medio sólido de residuos de jardinería

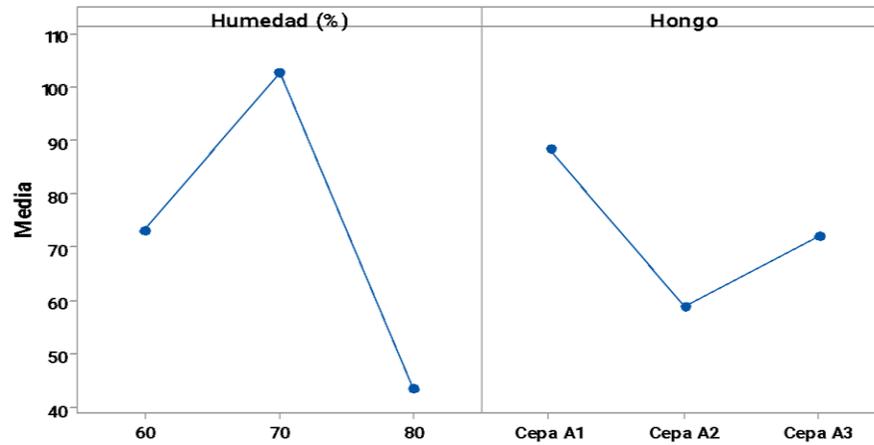


### 3.3 Análisis de azúcares

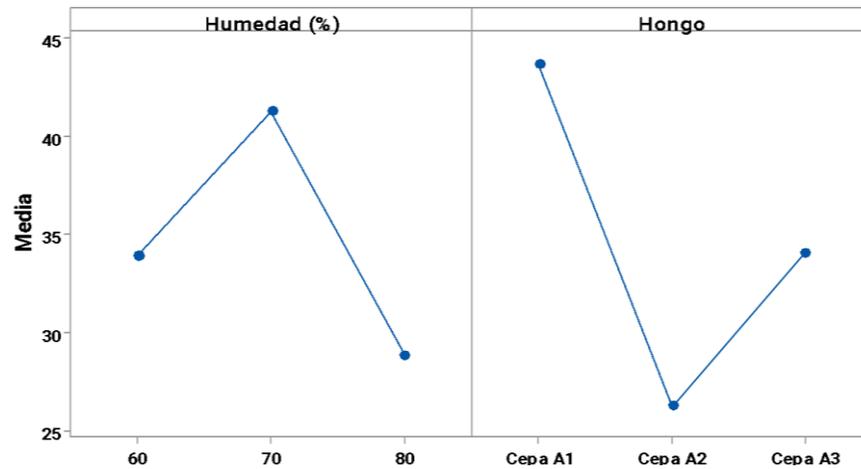
En la tabla 2 se muestran los valores de concentraciones de glucosa, galactosa y xilosa obtenidos para los diferentes experimentos. Los datos nos muestran que los experimentos inoculados con los diferentes hongos, los tres carbohidratos fueron producidos, obteniéndose valores de concentración más altos en comparación con las muestras de residuos de jardinería sin tratamiento.

En los experimentos control no se mostraron cambios en los valores de concentración de glucosa, galactosa y xilosa, por lo que el incremento en la concentración de carbohidratos de los experimentos inoculados, fue debido a la acción metabólica de los hongos.

#### A) Glucosa



#### B) Galactosa





C) Xilosa

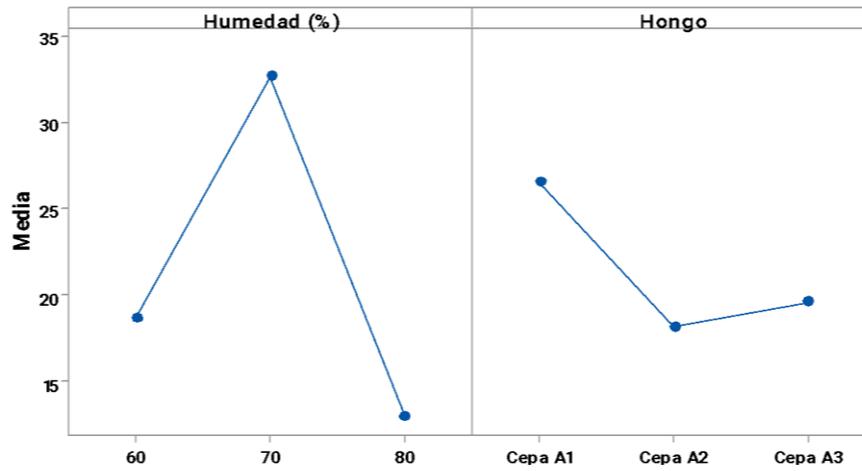
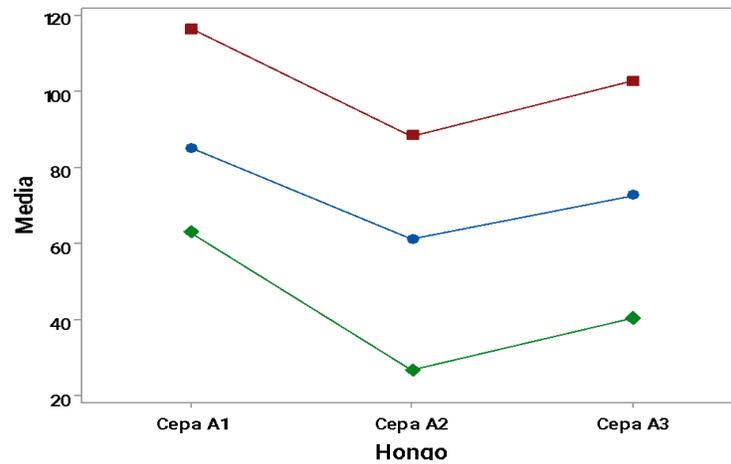
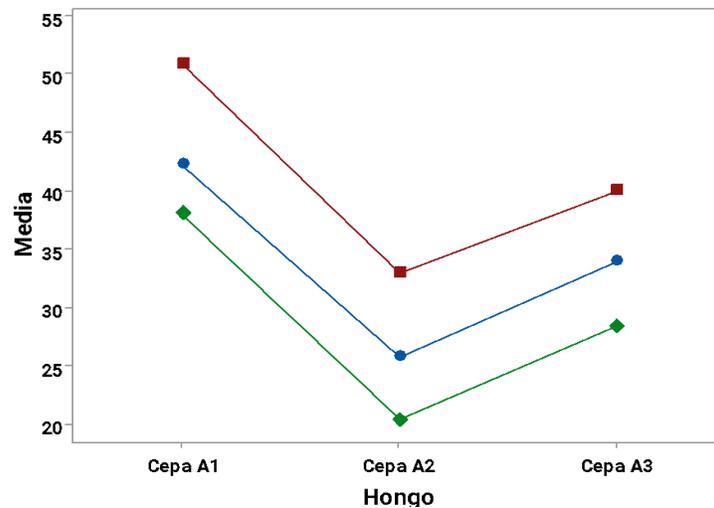


Figura 6. Gráfico de efectos principales de porcentaje de humedad y tipo de cepa de hongo para la producción A) Glucosa, B) Galactosa y C) Xilosa a partir de los diferentes experimentos por fermentación en medio sólido de los residuos de jardinería.

A) Glucosa



B) Galactosa





### C) Xilosa

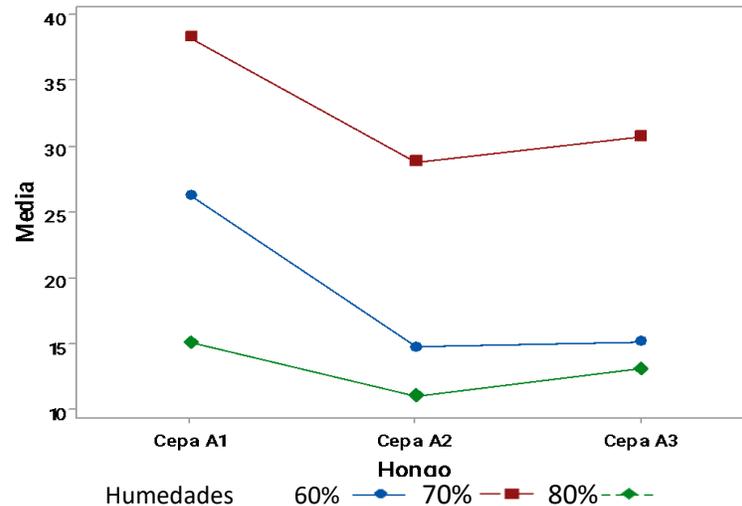


Figura 7. Gráfico de interacción de porcentaje de humedad y tipo de cepa de hongo sobre la producción de glucosa, galactosa y xilosa a partir de los diferentes experimentos por fermentación en medio sólido de los residuos de jardinería

#### 3.4.1 Glucosa

La glucosa fue el carbohidrato que se obtuvo en mayor concentración en comparación con la galactosa y la xilosa. En las figuras 6 y 7 se muestran los efectos principales de humedad, el tipo de cepa de hongo, y el efecto interactivo entre ambos sobre la producción de glucosa.

En las figuras 6A, nos muestran que la humedad al 70% tuvo un efecto significativamente positivo en la producción de la glucosa de los residuos de jardinería. Mientras que a una humedad del 80%, afectó significativamente la producción de glucosa. La cepa A1 se muestra tuvo un efecto positivo en la producción de glucosa, obteniéndose valores significativamente mayores con respecto de las cepas A2 y A3.

En la figura 7A se muestra la interacción entre la humedad y el tipo de cepa de hongo con respecto a la producción glucosa. Los resultados nos muestran que con la interacción entre la cepa A1 y humedad de 70% se tuvo el mayor efecto positivo de producción, ya que se obtuvieron los valores más altos de concentración de glucosa. Por otro lado, la interacción entre cepa A2 y humedad de 80% tuvo el menor efecto en la producción de glucosa, obteniéndose los valores más bajos de concentración (Tabla 2).

#### 3.4.2 Galactosa

La galactosa fue otro carbohidrato analizado en los productos de fermentación de los diferentes experimentos. El análisis de efectos principales nos dio a conocer que la humedad del 70% tuvo el mayor efecto positivo en la producción de galactosa (Figura 6B). La cepa A1 tuvo el mayor efecto en la producción de galactosa en comparación con las cepas A2 y A3. El efecto interactivo nos mostró que la cepa A1 con una humedad del 70% se obtuvo la mayor concentración de galactosa. Por otro lado, la interacción de la cepa A2 a una humedad del 80% no favoreció la producción de galactosa obteniendo la concentración más baja (Tabla 2).



### 3.4.3 Xilosa

La xilosa fue el otro carbohidrato analizado en los productos de fermentación de los diferentes experimentos, teniendo que a una humedad del 70% se tuvo el mayor efecto positivo de producción de este carbohidrato. Evaluando el efecto de las diferentes cepas, se tuvo que la cepa A1 tuvo el mayor efecto positivo en la producción de xilosa. El efecto de interacción entre humedad y tipo de cepa no mostró que la cepa A1 a una humedad del 70% favoreció notablemente la producción de xilosa obteniéndose los valores más altos de concentración. Mientras que la cepa A2 con una humedad del 80%, la producción de xilosa no se vio tan favorecida obteniéndose los valores más bajos de concentración.

Se corroboró que la humedad al 70% no solo favorece a la degradación de lignina, sino que además favorece la producción de glucosa, galactosa y xilosa. Por tanto es un factor muy importante a considerar en la fermentación en medio sólido de residuos de jardinería. Los experimentos T1, T2 y T3 de los que se obtuvieron los valores más altos de degradación y producción de azúcares se correlacionaron con el crecimiento micelial (Figura 4). Este comportamiento se puede deber a que el crecimiento micelial permite que el hongo transporte nutrientes y tenga una mayor asimilación del sustrato (Sánchez, 2009).

La cepa A1 que fue identificada como *Aspergillus terreus* a humedad de 70% mostró la mayor capacidad de degradación lignina y producción de glucosa, galactosa y xilosa. Atribuimos este comportamiento a que la cepa *Aspergillus terreus* se ha reportado, tiene la capacidad de degradar materiales lignocelulosicos debido a que posee un sistema enzimático que puede bioconvertir la celulosa y hemicelulosa a moléculas como son hexosas y pentosas (Sánchez, 2009).

## 4. Conclusiones

A partir de los datos obtenidos de caracterización de los residuos de jardinería, se encontró que presentan un alto contenido de lignina (37.08% p/p) lo que indica que es un sustrato complejo de degradar. Sin embargo, los pretratamientos con los hongos del género *Aspergillus* usados en este estudio permitieron la liberación de glucosa, galactosa y xilosa.

Por fermentación en medio sólido de los residuos de jardinería usando la cepa A1 a una humedad del 70% fue el experimento del que se obtuvo la máxima degradación lignina y los valores más altos de concentración de glucosa, galactosa y xilosa.

Los datos obtenidos del presente estudio ratifican el potencial de los residuos de jardinería para la producción de azúcares fermentables por fermentación en medio sólido que presenta algunas ventajas interesantes, como son: bajo consumo de energía, no se generan subproductos tóxicos al medio ambiente, escalamiento del proceso a nivel industrial y reducción de la concentración de inhibidores por fermentación.

## 5. Agradecimientos

Agradecemos a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua por las instalaciones e infraestructura.



## 6. Referencias

1. Abarca M.L. Taxonomía e Identificación. Rev Iberoam Micol. 2000;17:79-84. <http://www.reviberoammicol.com/2000-17/S79S84.pdf>.
2. Andlar M., Rezić T., Marđetko N., Kracher D., Ludwig R., Šantek B. Lignocellulose degradation: An overview of fungi and fungal enzymes involved in lignocellulose degradation. Eng Life Sci. 2018;18(11):768-778. doi:10.1002/elsc.201800039
3. Anita B.B., Thatheyus A.J., Ramya D. Biodegradation of Carboxymethyl Cellulose using *Aspergillus flavus*. Sci Int. 2013;1(4):85-91. doi:10.5567/sciintl.2013.85.91
4. ANSI/ASTM. 1977a. Standard test methods for lignin in wood D 1106-56. American National Standard Institute, Washington DC.
5. ANSI/ASTM. 1977b. Standard test methods for alpha-cellulose in wood D 1103-60. American National Standard Institute, Washington DC.
6. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16<sup>TH</sup> Ed. Ass. Off. Anal. Chem. Washigton, D.C
7. Baldrian P., Valášková V. Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. FEMS Microbiol Rev. 2008;32(3):501-521. doi:10.1111/j.1574-6976.2008.00106.x
8. Barnett H.L., Barry B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Ed. Burgess Publ. Co. (USA). 218p.
9. Bugg T.D.H., Ahmad M., Hardiman E.M., Rahmanpour R. Pathways for degradation of lignin in bacteria and fungi. Nat Prod Rep. 2011;28(12):1883-1896. doi:10.1039/c1np00042j
10. Carota E., Crognale S., Russo C., Petruccioli M., D'annibale A. Lignocellulolytic potential of the recently described species *Aspergillus olivimuriae* on different solid wastes. Appl Sci. 2021;11(12):5349. doi:10.3390/app11125349
11. Carrasco T., Valiño E., Ibarra A., García Y. Efecto negativo de la humedad en la fermentación en estado sólido del bagazo de caña de azúcar. Rev Cuba Cienc Agrícola. 2003;37(1):37-41.
12. Chandra R., Yadav S., Kumar V. Microbial Degradation of Lignocellulosic Waste and Its Metabolic Products. *Environ Waste Manag.* 2016:249-298. doi:10.1201/b19243-14
13. Dashtban M., Schraft H., Qin W. Fungal bioconversion of lignocellulosic residues; opportunities & perspectives. Int J Biol Sci. 2009;5(6):578-595. doi: 10.7150/ijbs.5.578
14. Castillo D.A., Viteri P. A., Viteri S.E. Desarrollo y evaluación de un inóculo de hongos celulolíticos. Rev U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica. 2015;18(1):217-226. doi:10.4018/978-1-61350-444-4.ch010.
15. Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H. 1993. Compendium of soil fungi. Ed. IHW-Verlag (Regensburg, Alemania). 859p.
16. Emthazi G., Naghavi N., Bordbar A. Biodegradation of lignocellulosic waste by *Aspergillus terreus*. Biodegradation. 2001;12(4):259-263. doi:10.1023/A:1013155621336
17. Granados A., De La Mora A., Carasco K., Torres J., Díaz B., Ortega D., García J., López J., Molina J., Campa J., Rojas H., Reyes N., Martínez B. 2012. Investigación para el Programa Estatal para la Prevención y Gestión Integral de Residuos Sólidos Urbanos y de Manejo Especial para el Estado de Chihuahua.
18. Li S.F., Wang H., Chen J.L, Zhu H.X., Yao R.S., Wu H. Degradation and transformation of lignin by a fungus *Aspergillus Flavus* strain F-1. Iran J Biotechnol. 2020;18(3):62-69. doi:10.30498/ijb.2020.155690.2461



19. Miller G.L. Use of dinitrosalicylic reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem.* 1959;31(3):426-428. doi:10.1021/ac60147a030
20. Rouches E., Herpoël I., Steyer J.P., Carrere H. Improvement of anaerobic degradation by white-rot fungi pretreatment of lignocellulosic biomass: A review. *Renew Sustain Energy Rev.* 2016. doi:10.1016/j.rser.2015.12.317
21. Sánchez C. Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnol Adv.* 2009;27(2):185-194. doi:10.1016/j.biotechadv.2008.11.001
22. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2020. Diagnóstico básico para la gestión integral de los residuos. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/554385/DBGIR-15-mayo-2020.pdf>
23. Sharma R.K., Arora D.S. Fungal degradation of lignocellulosic residues: An aspect of improved nutritive quality. *Crit Rev Microbiol.* 2015;41(1):52-60. doi:10.3109/1040841X.2013.791247
24. Valiño E., Elías A., Torres V. Estudio de la carga microbiana en el bagazo de caña de azúcar fresco como sustrato para la alimentación animal, mediante fermentaciones en estado sólido. *Cuba J Agric Sci.* 2002;(4):373-378.