

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE INGENIERÍA

MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA



“Valorización de las cáscaras de coco como potencial fuente para la obtención de azúcares y edulcorantes no calóricos”

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN
INGENIERIA**

PRESENTA

Elvira Soo Rosas

DIRECTORA DE TESIS

Dra. Mónica Carrillo Beltrán

Mexicali, Baja California, Agosto de 2021.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi directora de tesis la Dra. Mónica Carrillo Beltrán, por su apoyo, dedicación y por compartir sus conocimientos y experiencia conmigo. Por la energía y el entusiasmo que transmite y que me ha inspirado a continuar preparándome.

A mis compañeros del laboratorio de biopelículas, Kristel Angulo, Erick Espinoza y Olivia Flores por su compañía, buena disposición y su amabilidad, por recibirme en el laboratorio con los brazos abiertos. A Manuel "Javi" Armenta por su ayuda en todo el proceso, por ser mi compañero de estudio durante la pandemia y un buen amigo.

Agradezco al Dr. Benjamín Valdez por su orientación y apoyo durante la realización de mi tesis, al Dr. Ramón Ayala por su tiempo y por compartir sus conocimientos conmigo aunque no perteneciera a su clase, al Dr. Marcos Coronado por permitirme trabajar en su laboratorio.

A la Dra. Elizabeth Ramírez, Dr. Oscar Pérez, Dr. Mario Curiel y Dr. Nicola Nedev por su interés en que como alumnos aprendamos y podamos aplicar esos conocimientos adquiridos. Por ser unos excelentes profesores y por hacer que disfrutara cada una de sus clases.

Estoy agradecida con el Instituto de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California por aceptarme en el programa de posgrado y permitirme conocer y trabajar con tantas personas tan especiales.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por la beca que me otorgó para la realización de este posgrado.

A mis amigos Raúl Prieto y Albo Hernandez, porque me ayudaron cada vez que los necesité, por aclarar mis dudas sin importar el día o la hora, lo valoro muchísimo.

A mi familia, principalmente a mi mamá y a mis hermanos Cassandra y Sebastián, y a mi tía Rosalva, porque siempre han estado y sé que siempre estarán. Por su amor incondicional. A mis sobrinos Emilio y Julián, por ser los niños más lindos y ocurrentes que nos alegran a todos. A Lizeth por ser la mejor amiga que podría tener.

A quienes que me motivaron y ayudaron a lograr todo lo que me he propuesto, y que aunque ya no estén conmigo, estaré agradecida toda la vida.

Y a Erik, por estar para mí, animarme cuando siento que no puedo, por su amistad y su amor y por hacerme saber que sin importar la situación, no estoy sola.

ÍNDICE

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	4
1.1 Introducción general.....	5
1.2 Planteamiento del problema	5
1.3 Justificación.....	6
1.4 Objetivos	8
1.4.1 Objetivo General.....	8
1.4.2 Objetivos específicos.....	8
1.5 Hipótesis.....	9
CAPÍTULO II. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	10
2.1 Economía circular.....	11
2.2 Residuos.....	11
2.2.1 Los residuos sólidos urbanos (RSU):.....	12
2.2.2 Los residuos de manejo especial:.....	12
2.2.3 Los residuos peligrosos:.....	12
2.2.4 Autoridad responsable del manejo integral de los residuos:.....	12
2.3 Biomasa lignocelulósica	13
2.4 Coco.....	15
2.5 Hidrólisis.....	16
2.6 Fermentación en estado sólido	18
CAPÍTULO III. MATERIALES Y METODOS.....	19
3.1 Preparación del sustrato.....	20
3.2 Microorganismo.....	20
3.3 Inoculación del microorganismo en las cáscaras de coco.....	20
3.4 Hidrólisis ácida.....	21
3.5 Extracción del crudo enzimático.....	22

3.6	Actividad enzimática.	23
3.7	Hidrólisis enzimática.	24
CAPÍTULO IV. RESULTADOS.		25
4.1	Aislamiento e identificación del hongo	26
4.2	Fermentación en estado sólido	27
4.3	Hidrólisis ácida.....	29
4.4	Actividad enzimática	31
4.5	Hidrólisis enzimática	31
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES.		34
CAPÍTULO VI. RECOMENDACIONES.		35
CAPÍTULO VII. REFERENCIAS.		36
ANEXOS.....		41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Listado de los diez principales productores de coco a nivel mundial	8
Tabla 2. Concentración de las soluciones de dextrosa preparadas para la curva de calibración con su respectiva absorbancia.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. A. niger en PDA a 40x.....	26	Figura 2. A niger en PDA a 100x	26
Figura 3. Colonia en medio PDA.		Figura 4. Vista posterior de la colonia	26
Figura 5. Suspensión de esporas a una concentración de 7×10^6 esporas / mL. ..	27		
Figura 6. Esporas del hongo <i>Aspergillus niger</i> en la cámara de Neubauer visto en microscopio óptico a 40x.....	27		

Figura 7. Cáscara de coco esterilizada e inoculada con una suspensión de esporas a una concentración de 5×10^5 esporas / g de masa seca.	28
Figura 8. Prueba de fermentación usando sustrato previamente hidrolizado con ácido sulfúrico al 1.5%.	28
Figura 9. Cáscara de coco con ácido sulfúrico al 1.5% antes y después de aplicarle temperatura.	29
Figura 10. Cáscara de coco después de la hidrólisis ácida con ácido sulfúrico a distintas concentraciones.	29
Figura 11. Curva de calibración de dextrosa. Absorbancia medida a 575 nm.....	30

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.

1.1 Introducción general.

La presente investigación pretende desarrollar un producto alimenticio que utilice como materia prima un residuo, las cáscaras del coco, y con esto, valorizar dicho residuo evitando el confinamiento.

Es por esto que se decidió utilizar como materia prima un residuo con alto contenido lignocelulósico, para encontrar un uso alternativo a los restos de un alimento tan apreciado en el mundo como lo es el coco, y que genera una gran cantidad de residuos, de no ser utilizados en otros productos. Al inicio de la investigación se planteó una doble fermentación para obtener vinagre a partir de las cáscaras de coco. Sin embargo, fue necesario realizar ajustes por lo que la atención se redirigió a las etapas previas de hidrólisis para la obtención de azúcares fermentables para ser biotransformados por *Aspergillus niger* en la producción de edulcorantes no calóricos, tales como fructooligosacáridos (inulina) y polialcoholes (xilitol, eritritol).

El uso de edulcorantes de origen natural ha tomado una gran importancia en nuestro país debido a la reformulación de alimentos y bebidas, para disminuir o eliminar el contenido de azúcar, en respuesta a la entrada en vigor en Octubre de 2020, de las modificaciones a la NOM-051-SCFI/SSA1-2010: Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados- Información comercial y sanitaria. Dicha norma establece un sistema de etiquetado frontal donde advierte de forma clara y veraz sobre el contenido de nutrimentos críticos e ingredientes que representan riesgos para su salud en un consumo excesivo, representado visualmente por octágonos y leyendas de advertencia.

1.2 Planteamiento del problema

La generación de residuos en México, en el 2018, como resultado de las actividades económicas, sociales y culturales de la vida cotidiana, fue de aproximadamente 107,055 toneladas diarias lo que equivale a 39.08 millones de toneladas anuales; es decir, que cada mexicano generaba al día 0.854 kg de residuos sólidos urbanos (RSU) (INEGI, 2020). Esta generación per cápita es inferior al promedio reportado para América Latina y el Caribe, la cual, ronda los 0.93 kg/hab/día (OPS et al, 2010).

En este mismo año, se registró una generación de residuos en Baja California de 1,425,330 toneladas (Semarnat, 2015).

La gestión de residuos mediante métodos ecológicos podría ajustarse eficazmente para la producción de bioproductos comercialmente importantes a un costo reducido para beneficio de la sociedad. Las cáscaras de frutas y vegetales se emplean como materia prima para la elaboración de productos, lo que hace el proceso más económico, además de que poseen una apreciable cantidad de carbohidratos que son utilizados por los microorganismos para producir ácidos orgánicos (Preethi, Lakshmi, Umesh, Priyanka y Thazeem, 2017).

La producción de etanol a partir de residuos agrícolas y forestales, desechos sólidos urbanos, cultivos energéticos y otras formas de biomasa lignocelulósica podría mejorar la seguridad energética, reducir los déficits comerciales, disminuir la contaminación del aire urbano y contribuir poco, si acaso, a la acumulación neta de dióxido de carbono a la atmósfera, indica Wyman (1994).

Algunos investigadores han utilizado residuos como materia prima para la elaboración de vinagre como las cáscaras y el corazón de la piña (Roda et al., en 2016), cáscaras de plátano y agua madura de coco (Benazir y Mishra, 2015) y restos de naranja, plátano, mango, granada y papaya (Preethi et al., 2017). Como lo mencionan Sindhu et al., (2019) y Preethi et al., (2017), los residuos de origen orgánico poseen una cantidad importante de carbohidratos, lo que otorga una enorme oportunidad para un proceso verde, amigable con el ambiente para la elaboración de productos con valor agregado provenientes de residuos de alimentos.

1.3 Justificación

En México, la mejor solución para la disposición final de los residuos sólidos urbanos son los rellenos sanitarios. De acuerdo a lo establecido en la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de Residuos (LGPGIR), este tipo de infraestructura debe incorporar obras de ingeniería particulares y métodos que permitan el control

de la fuga de lixiviados y el adecuado manejo de los biogases generados. En 2012, a nivel nacional la disposición final en rellenos sanitarios y sitios controlados alcanzó poco más del 74% del volumen de RSU generado, lo que representa un incremento de alrededor del 83% con respecto al año 1997, en el cual se disponía cerca del 41% de los residuos. Mientras tanto, de los residuos generados, el 21% se depositó en sitios no controlados y el 5% restante fue reciclado.

La composición de los residuos sólidos urbanos en México, arroja que el 38% de éstos son residuos orgánicos, el 40% son residuos susceptibles de reciclaje y el 22% restante, son residuos que por sus características son poco viables para su aprovechamiento. Estas cifras muestran que existe gran potencial (78%, orgánicos más susceptibles de reciclaje) para reincorporar a cadenas productivas un volumen significativo de residuos, ya sea a través del reciclaje, compostaje, biodigestión con generación de energía, reúso o co-procesamiento. Lo que representaría una posibilidad de desvío de estos materiales de los sitios de disposición final, atenuando parte de los impactos ambientales ocasionados por la inadecuada disposición de éstos y la explotación de nuevas materias primas (Semarnat, 2017).

En 2016, de los 2203 sitios de disposición final reportados, sólo 173 contaban con infraestructura para una disposición adecuada de los residuos sólidos urbanos recolectados y 2030 sitios de disposición final carecían de infraestructura para una correcta contención y control de las emisiones de aire, suelo y agua que resultan de la disposición de estos residuos (INEGI, 2020).

México se encuentran dentro de los diez principales productores de coco en el mundo, ocupando el octavo lugar; en Asia se concentran los grandes productores de este fruto, Filipinas, Indonesia e India concentran el 71% de la producción global. (Palma, 2016).

En el año 2019, de las 62,875,216 toneladas de coco producido en el mundo, en México se produjeron 1,192,816 toneladas, siendo el 2.05% de la producción mundial según la FAO.

Tabla 1. Listado de los diez principales productores de coco a nivel mundial (FAO, 2019).

País	Producción anual (ton)	Porcentaje aportado a nivel mundial (%)
Indonesia	17,128,595	27.24
Filipinas	14,765,057	23.48
India	14,682,000	23.35
Sri Lanka	2,468,800	3.93
Brasil	2,330,949	3.71
Viet Nam	1,677,044	2.67
México	1,287,957	2.05
Papua Nueva Guinea	1,192,816	1.90
Tailandia	806,026	1.28
Mundial	62,875,216	100.00

Desde el punto de vista comercial, el coco y sus derivados (agua, aceite, harina, azúcar) tienen una gran aceptación por parte de los consumidores debido a su alto contenido de ácidos grasos de cadena media (MCT, por sus siglas en inglés, Medium Chain Triglicerydes), los cuales se han asociado con incremento en el gasto calórico, disminución del apetito, pérdida de peso y mejora en el rendimiento deportivo.

Es por esto que se decidió trabajar con un residuo como materia prima, para encontrar un uso adicional a los restos de un alimento tan apreciado en el mundo como lo es el coco, y que genera una gran cantidad de residuos, de no ser utilizados en la obtención de otros productos.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General.

Valorizar los residuos de la cáscara de coco para la producción de azúcares fermentables y edulcorantes no calóricos.

1.4.2 Objetivos específicos.

- Aislar el hongo *Aspergillus niger*.

- Preparar las cáscaras de coco para fermentación en estado sólido.
- Obtener crudo enzimático por fermentación en estado sólido.
- Hidrolizar las cáscaras de coco con el crudo enzimático.
- Hidrolizar las cáscaras de coco con una enzima de uso industrial
- Comparar la concentración de azúcares obtenidos de la hidrólisis con la enzima industrial y el crudo enzimático producido por el hongo.

1.5 Hipótesis.

La cáscara del coco con un pretratamiento adecuado, es una potencial fuente para la obtención de azúcares y edulcorantes no calóricos.

CAPÍTULO II. FUNDAMENTO TEÓRICO.

2.1 Economía circular

La Economía Circular representa el intento más reciente de conceptualizar la integración de la actividad económica y el bienestar ambiental de forma sostenible (Murray, 2017). En una economía lineal, las materias primas se toman de la naturaleza y se transforman en productos finales, que posteriormente se utilizan y se convierten en residuos. Por el contrario, una economía circular, es un modelo económico que es restaurador por intención y diseño.

Una forma sostenible y ecológicamente benigna de eliminación de desechos es fundamental para proteger el medio ambiente y la salud humana. (Rocchi, 2021).

Los temas globales como los problemas ambientales y la seguridad alimenticia actualmente nos conciernen a todos nosotros. La bioeconomía circular es un enfoque prometedor para resolverlos. La producción de bioenergía y biomateriales puede mantener los vínculos entre la energía y el medio ambiente, así como sustituir la producción de petróleo como materia prima, contribuyendo así a un medio ambiente más limpio y con bajas emisiones de carbono. Además, la asimilación de residuos en productos útiles y bioprocesos para la producción de metabolitos conduce hacia una bioeconomía circular sostenible.

La valorización de los residuos o flujos secundarios en el procesamiento para producir bioproductos de valor agregado como biopolímeros y biolípidos aboga notablemente por una bioeconomía circular sostenible (Leong, 2021).

2.2 Residuos.

Los residuos son materiales o productos cuyo propietario o poseedor desecha y que se encuentra en estado sólido, semisólido o es un líquido o gas contenido en recipientes o depósitos, y que puede ser susceptible de ser valorizado o requiere sujetarse a tratamiento o disposición final conforme a lo dispuesto a la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de Residuos (LGPGIR).

2.2.1 Los residuos sólidos urbanos (RSU):

Son los generados en las casas habitación, que resultan de la eliminación de los materiales que se utilizan en sus actividades domésticas, de los productos que consumen y de sus envases, embalajes o empaques; los residuos que provienen de cualquier otra actividad dentro de establecimientos o en la vía pública que genere residuos con características domiciliarias, y los resultantes de la limpieza de las vías y lugares públicos, siempre que no sean considerados por la ley como residuos de otra índole.

2.2.2 Los residuos de manejo especial:

Son aquellos generados en los procesos productivos, que no reúnen las características para ser considerados como peligrosos o como residuos sólidos urbanos, o que son producidos por grandes generadores de residuos sólidos urbanos.

2.2.3 Los residuos peligrosos:

Son aquellos que posean alguna de las características de corrosividad, reactividad, explosividad, toxicidad, inflamabilidad, o que contengan agentes infecciosos que le confieran peligrosidad, así como envases, recipientes, embalajes y suelos que hayan sido contaminados cuando se transfieran a otro sitio, de conformidad con lo que establece la ley.

2.2.4 Autoridad responsable del manejo integral de los residuos:

Residuos Sólidos Urbanos (RSU).

Responsabilidad de autoridades Municipales. El artículo 10 de la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de Residuos (LGPGIR) establece que los

municipios tienen a su cargo las funciones de manejo integral de residuos sólidos urbanos, que consisten en la recolección, traslado, tratamiento, y su disposición final.

Residuos de Manejo Especial (RME).

Responsabilidad de autoridades Estatales. El artículo 9 de la LGPGIR establece que es facultad de las Entidades Federativas autorizar el manejo integral de residuos de manejo especial, e identificar los que dentro de su territorio puedan estar sujetos a planes de manejo. La valorización de residuos es el principio y conjunto de acciones asociadas cuyo objetivo es recuperar el valor remanente o el poder calorífico de los materiales que componen los residuos, mediante su reincorporación en procesos productivos, bajo criterios de responsabilidad compartida, manejo integral y eficiencia ambiental, tecnológica y económica. (SEMARNAT, 2017).

2.3 Biomasa lignocelulósica

El término biomasa se refiere a toda la materia orgánica que proviene de árboles, plantas y desechos de animales que pueden ser convertidos en energía; o las provenientes de la agricultura (residuos de maíz, café, arroz, macadamia), del aserradero (podas, ramas, aserrín, cortezas) y de los residuos urbanos (aguas negras, basura orgánica y otros) (BUN-CA, 2002).

Una de las principales fuentes de hexosas y pentosas es sin duda, la biomasa de tipo lignocelulósico proveniente principalmente de residuos agrícolas, dado a su elevado contenido de celulosa y hemicelulosa. No obstante, lograr el fraccionamiento de esta biomasa para tener los anhelados polímeros de celulosa y hemicelulosa es un trabajo muy complejo, dado que el elevado contenido de lignina presente impide la separación de los polisacáridos para su posterior hidrólisis, por lo cual es necesario emplear tratamientos físicos, químicos, biológicos o la combinación de estos, lo suficientemente fuertes para que permitan la separación de los polímeros pero sin generar reacciones secundarias de estos azúcares en productos indeseados (Cortes, 2011).

La biomasa que puede ser usada para la producción de energía cubre un amplio rango de materiales y fuentes: los residuos de la industria forestal y la agricultura, los desechos urbanos y las plantaciones energéticas se usan, generalmente, para procesos modernos de conversión que involucran la generación de energía a gran escala, enfocados hacia la sustitución de combustibles fósiles. Adicionalmente es pertinente reconocer que dicha biomasa no solamente se puede emplear para la producción de energía, también puede servir como materia prima para la producción de múltiples sustancias químicas de gran valor comercial (Cortes, 2011).

El material lignocelulósico consiste en tres tipos diferentes de polímeros, celulosa, hemicelulosa y lignina. La celulosa está compuesta por subunidades de D-glucosa unidas por un enlace glucosídico β 1-4. La celulosa en una planta se compone de piezas con una estructura cristalina. Las capas de celulosa se juntan y forman las llamadas brillas de celulosa o paquetes de celulosa, estas brillas de celulosa son en su mayoría independientes y débilmente unidos a través de enlaces de hidrógeno (Pettersen, 1984).

La celulosa en la biomasa lignocelulósica está conformada por componentes cristalinos y amorfos. El componente amorfo se digiere más fácil por enzimas que el componente cristalino. Existe la celulosa cristalina en forma de microfibrillas, que son en conjuntos paracristalinos de varias docenas de cadenas de (1,4) β -D-glucano. Las cadenas de (1,4) β -D-glucano están estrechamente unidas por numerosos puentes de hidrógeno. Las cadenas de glucanos en el núcleo de la microfibrila tienen un espacio preciso.

Los glicanos entrecruzados son una clase de polisacáridos que se pueden unir por puentes de hidrógeno a las microfibrillas de celulosa. Pueden cubrir las microfibrillas pero son lo suficientemente largos para abarcar la distancia entre microfibrillas y unir las para formar una red. La mayoría de los glicanos entrecruzados se denominan hemicelulosas. Las hemicelulosas se componen principalmente de aldopentosas (arabinosa, xilosa, galactosa). La hemicelulosa también une la porción polifenólica de la célula vegetal en la estructura tridimensional, conocidas como complejos de lignina-carbohidrato. Después de la celulosa, la lignina es el producto

orgánico natural más abundante conocido y representa hasta el 20-30% de todos los tejidos vasculares vegetales (Buchanan, Grissem y Jones, 2001).

2.4 Coco.

El cocotero (*Cocos nucifera* L.) apropiadamente llamado “el árbol de la vida”, “el árbol del cielo” o “árbol de los mil usos”, es una planta de gran porte y belleza, apreciada por muchas culturas alrededor del mundo por su alto valor económico, social y cultural. Su cultivo constituye una de las explotaciones agrícolas más antiguas que el hombre ha establecido en la extensa zona intertropical. Su amplia distribución ha sido favorecida por su utilidad, su adaptabilidad a diferentes condiciones ecológicas y a la admirable habilidad del fruto para flotar en el agua de mar y germinar cuando alcanza la línea costera.

El fruto del cocotero, el coco se compone de la corteza, el endocarpo (hueso) y el endospermo sólido (carne) y líquido (agua). El tamaño, la forma, el color y por consiguiente, su composición (corteza, cáscara, carne y agua), varían según la variedad y las condiciones de crecimiento. La madurez del fruto se alcanza generalmente después de 11 o 12 meses de desarrollo. De la palma de coco se obtienen muchos productos, destacando entre ellos, el agua y el aceite, que son muy importantes para el consumo en la dieta diaria del ser humano, porque proporcionan muchos beneficios. (Limonés y Fernández, 2016).

El exocarpo consiste de tejidos fibrosos, duros, verdes, que en ciertos cultivares se tornan amarillos, rojos o castaños en la madurez.

El mesocarpo se compone de un tejido principal de parénquima, que al principio es transparente y que cuando madura el fruto se seca y adquiere color café oscuro, así como de numerosas fibras que recorren el fruto en sentido longitudinal. Las fibras del coco se componen de una envoltura de colénquima que rodea por completo a los haces vasculares, y a veces tienen hacia la parte exterior cuerpos pequeños y silicificados. Las fibras son, después de un largo proceso de separación, un importante artículo de comercio, el coir, que se utiliza en la fabricación de alfombras, felpudos, mecates y otros artículos de coir.

Desde el principio del desarrollo del fruto la parte más importante es el endocarpo. Se compone primero de células de paredes gruesas y translúcidas que conforme avanza la maduración se oscurecen y se hacen más compactas; este proceso se inicia en el ápice y continúa hasta la base. En la madurez es una estructura de color café oscuro muy dura y compacta, constituida por células pétreas o de esclerénquima, de paredes muy gruesas, formadas de capas concéntricas y atravesadas por perforaciones sencillas o ramificadas que comunican el centro de una célula con las vecinas. Se utiliza por su color y dureza en la fabricación de artículos ornamentales; su uso principal es como combustible en los secadores de copra.

La parte económicamente más importante del coco es la semilla. La cubierta o testa es una capa muy delgada de células irregulares de color castaño claro, debajo de la cual se halla el endosperma y un embrión muy pequeño situado en la región basal. El endosperma joven consiste tanto de capas celulares como de una sustancia líquida que contiene muchos núcleos flotantes que no se dividen, esa sustancia es absorbida por las partes sólidas.

En la madurez está formado por dos capas: la externa incluye varios estratos de células isodiamétricas y la interna células alargadas en sentido radial. En la producción comercial el endosperma se seca artificialmente; se le conoce con el nombre de copra y se exporta o procesa localmente para obtener el aceite de coco o para usos menores en confitería. El coco fresco y la copra son buenos alimentos, aunque escasos en minerales y vitaminas (León, 2000).

El mesocarpo está compuesto por un 35.9% de celulosa, 18.56% de hemicelulosa, 19.38% de lignina según el estudio realizado por Rincón et al. En 2016.

2.5 Hidrólisis.

La biomasa lignocelulósica contiene típicamente un 55%-75% de peso seco de carbohidratos, que son polímeros de azúcar de cinco y seis carbonos (Wyman,

1995). Estos carbohidratos que existen principalmente en las paredes de las células vegetales deben descomponerse en sus respectivos azúcares de bajo peso molecular antes de que los microorganismos puedan completar la conversión a etanol u otros productos (Laureano-Perez, Teymouri, Alizadeh & Dale, 2005).

Para lograr la hidrólisis de la biomasa lignocelulósica se han propuesto pretratamientos los cuales se pueden clasificar principalmente en pretratamientos físicos como: mecánicos y térmicos; y químicos empleando ácidos o bases y la combinación entre estos (Cortes, 2011). Así como tratamientos biológicos en los que bacterias y hongos pueden producir enzimas celulasas para la hidrólisis enzimática de material lignocelulósico. Estos microorganismos pueden ser aeróbicos o anaeróbicos, mesófilos o termófilos (Wang, Wang y Gulfraz, 2005).

La actividad enzimática depende de las condiciones del material lignocelulósico, en cuanto a su composición y acceso enzimático, que simultáneamente dependen del pretratamiento realizado a los sustratos. En el estudio realizado por Rodriguez y Piñeros en 2007, en el que se realizaron pretratamientos químicos y biológicos, los mayores valores de actividades enzimáticas se obtuvieron con los cultivos tratados biológicamente. Los tratamientos químicos no tuvieron un efecto positivo en la actividad enzimática. Requieren un proceso mejor controlado, ya que las condiciones afectan significativamente el material, y por lo tanto la producción enzimática.

Ayala et al. (2021) indican que después de hidrolizar cáscara de naranja por el método de ácido diluido, las aplicaciones biológicas deben estudiarse cuidadosamente, ya que la cantidad de compuestos volátiles pueden inhibir el crecimiento de ciertos microorganismos.

Se ha encontrado que el pretratamiento secuencial ácido-base tiene un efecto positivo en los rendimientos de azúcar producidos durante la hidrólisis enzimática, mejorando estos rendimientos en comparación con los obtenidos con una sola etapa de pretratamiento químico (Sanchez et al., 2015). En los resultados obtenidos por Rodriguez, et al. (2017) se obtuvo una mayor cantidad de azúcares al utilizar un pretratamiento ácido, antes de la hidrólisis enzimática en el aserrín de pino.

2.6 Fermentación en estado sólido

Los materiales lignocelulósicos pueden usarse como sustratos para el cultivo de hongos filamentosos capaces de producir enzimas extracelulares con actividades celulasas (Rodríguez y Piñeros, 2007). Las celulasas son proteínas derivadas de los procesos naturales de fermentación, las cuales involucran un complejo enzimático que actúa de forma sinérgica en la degradación de la celulosa y son importantes para la industria de alimentos, ya que evitan la compactación en la producción de purés de frutas, verduras y en polvos instantáneos, son usadas en la extracción de almidón, colorantes, aceites y antioxidantes (Chacón y Waliszewski, 2005).

Residuos de procesos industriales, como el grano usado en la industria cervecera (Wagner, Pería, Ortiz, Rojas y Ghiringhelli, 2021) y bagazo de caña de azúcar (Rodríguez-Zuñiga, Couri, Neto, Crestana y Farinas, 2013) tienen un gran potencial como medio de cultivo para la fermentación en estado sólido.

Los hongos son los principales microorganismos productores de celulasas (Paredes, Alvarez y Silva, 2010). Los hongos son responsables de la mayor proporción de celulasas en la naturaleza y su primacía no es solamente consecuencia de la eficiencia y diversidad de sus sistemas celulolíticos, sino que también tienen ventajas adaptativas como son: la rápida colonización de los sustratos y una eficiente remoción de los productos de hidrólisis (Ramos, 1996).

La fermentación en estado sólido [SSF] ha sido considerada recientemente como más barata y más respetuosa con el medio ambiente en relación con la fermentación líquida sumergida [SLF] en la producción de productos industriales de valor agregado como enzimas, biocombustibles y similares (Mienda, 2011).

CAPÍTULO III. MATERIALES Y METODOS.

3.1 Preparación del sustrato.

Las cáscaras de coco que se utilizaron en la fermentación en estado sólido, se obtuvieron de un local comercial dedicado a la venta de mariscos y cocos, ubicado en el municipio de Mexicali, Baja California. Las cáscaras fueron lavadas con agua corriente y después con agua potable para eliminar cualquier residuo que pudieran contener. Se cortaron en trozos y se secaron en el horno a 37°C por siete días. Cuando estaban secas, se utilizó un molino de granos para disminuir el tamaño de las cáscaras hasta obtener polvo y fibras cortas.

3.2 Microorganismo.

El microorganismo se obtuvo de un hueso de mamey donado al laboratorio, se inoculó en medio sólido papa dextrosa (PDA) y se confirmó mediante la técnica de espectrometría de masas que el microorganismo era *Aspergillus niger* (ver anexo 1). Para la preparación del inóculo, el hongo se sembró en PDA, se incubó por tres días a una temperatura de 26 °C. Se agregaron 10 mL de agua destilada estéril y se agitó por un minuto. El agua con las esporas suspendidas fue transferida a un tubo de vidrio estéril para realizar el conteo mediante la cámara de Neubauer. Esta suspensión fue inoculada en medio líquido de papa y dextrosa por dos días para luego utilizarse en las pruebas de fermentación.

3.3 Inoculación del microorganismo en las cáscaras de coco.

Se colocaron 15 g de las cáscaras molidas en un frasco de 400 mL y se esterilizaron a 121°C por 20 minutos a 15 psi.

Se prepararon tres experimentos de fermentación.

3.3.1 Primer experimento de fermentación: inoculación simple (1F).

Se inoculó con una suspensión de esporas a una concentración de 5×10^5 esporas / gramo de masa seca con una relación sólido-líquido de 1:2. Con un periodo de incubación de 30 días a 26°C.

3.3.2 Segundo experimento de fermentación: doble inoculación (DF).

Se inoculó con una suspensión de esporas a una concentración de 5×10^5 esporas / gramos de masa seca, después de 21 días de incubación, se realizó una segunda inoculación con una suspensión de esporas a una concentración de 5×10^5 esporas / gramo de masa seca. La relación sólido-líquido fue de 1:3. Incubado diez días más a 26°C .

3.3.3 Tercer experimento de fermentación: Hidrólisis ácida (3F).

Se colocaron 2 gramos del sustrato anteriormente hidrolizado con ácido sulfúrico al 1.5% en cajas Petri, después de esterilizarse. Se inoculó con una suspensión de esporas a una concentración de 1×10^6 esporas / gramos de masa filtrada (figura 8). Se incubó por 30 días a 26°C .

Los tres experimentos se realizaron por triplicado.

3.4 Hidrólisis ácida.

Se realizó un tratamiento ácido para hidrolizar la cáscara del coco y obtener un valor de referencia de los azúcares que se pueden obtener mediante este residuo. Se utilizó el método de 3,5-DNS (3,5-ácido dinitrosalicílico), que es una técnica colorimétrica que se basa en una reacción redox que ocurre entre el DNS y los azúcares reductores presentes en la muestra, seguido de la determinación espectrofotométrica a 575 nm. A continuación se explica el procedimiento que se siguió.

3.4.1 Se le realizó un pretratamiento mecánico a la cáscara del coco, por medio de un molino se trituró la muestra hasta obtener un polvo.

3.4.2 Se tomaron 2 gramos del polvo de cáscara y se colocaron en un vaso de precipitado, al cual se le agregaron 30 ml de ácido sulfúrico al 1%.

- 3.4.3 Se realizó el mismo procedimiento para una concentración de ácido de 1.5% y de 2%.
- 3.4.4 Se colocaron los tres vasos en una mufla con una temperatura de 105°C por una hora.
- 3.4.5 Se midió el pH inicial y con una solución de carbonato de calcio 0.1 M se ajustó el pH para que estuviera en un rango entre 4.8 y 5.2.
- 3.4.6 La muestra se almacenó en frío hasta su análisis.
- 3.4.7 Se preparó el reactivo 3,5-DNS, así como la solución de dextrosa que sería usada para la curva de calibración.
- 3.4.8 Dicha curva se elaboró con cinco soluciones estándar de dextrosa con las siguientes concentraciones: 0.4 g/L, 0.8 g/L, 1.2 g/L, 1.6 g/L y 2.0 g/L.
- 3.4.9 Se colocaron 3 mL de cada solución de dextrosa en tubos con 3 mL del reactivo 3,5-DNS.
- 3.4.10 El hidrolizado se filtró con papel filtro de celulosa. Los sólidos del hidrolizado con ácido al 1.5% se utilizaron en la prueba 3F. El sobrenadante se utilizó para las mediciones de glucosa. La muestra se diluyó 10 veces, tomándose 0.3 mL y mezclándolos con 2.7 mL de agua.
- 3.4.11 Los 3 mL de la solución se depositaron en un tubo, al que se le añadieron 3 mL del reactivo 3,5-DNS.
- 3.4.12 Los tubos se calentaron a baño María por 5 minutos con una temperatura de 100°C.
- 3.4.13 Se graficaron los valores de absorbancia obtenidos para la curva de calibración, así como el valor de absorbancia obtenido del hidrolizado de la cáscara del coco.

3.5 Extracción del crudo enzimático.

Después del periodo de incubación, se tomaron 2 g del sustrato fermentado, fueron transferidos a una licuadora donde se agregaron 15 mL de solución tampón de ácido cítrico 50 mM por cada gramo de masa. Y se licuó por 20 segundos. Después de ser licuado, el contenido fue transferido a tubos cónicos de 50 mL.

Los extractos del primer experimento de fermentación se hicieron por duplicado, ya que el crudo además de ser utilizado en las pruebas de hidrólisis de sustrato fermentado, también se utilizó para hidrolizar cáscara de coco sin fermentar previamente esterilizado. Para esto, después de licuarse, se centrifugó a 4300 rpm por 35 minutos. El sobrenadante se utilizó como extracto enzimático y los sólidos se lavaron con agua destilada para posteriormente utilizarse en las pruebas de hidrólisis de celulosa para uso industrial marca MarkNature.

3.6 Actividad enzimática.

La actividad celulasa fue analizada al medir la glucosa liberada de la hidrólisis enzimática de la celulosa, utilizando como sustrato para medir la actividad FPasa el papel filtro Whatman #1 (aproximadamente 50 mg). Se colocarán 0.5 mL de solución de enzima con 1 mL de solución tampón de ácido cítrico (50 mM, pH 4.8) en un tubo de ensayo con el papel filtro (1 x 6 cm).

La mezcla fue incubada a 50 °C por 60 minutos. Se agregaron 3 mL del reactivo 3,5-DNS, se hirvió la mezcla por un minuto para inactivar la enzima y determinar el contenido de azúcares reductores formados en la reacción.

La actividad enzimática de celulasas se reporta en unidades internacionales (UI), definiendo la UI como la cantidad de enzima que libera un micromol de glucosa por minuto en las condiciones de la reacción. Para la fermentación en estado sólido, la actividad enzimática se expresa en UI por gramo de residuo seco.

La actividad endoglucanasa (carboximetil celulasa, CMCasa) se analizó midiendo la cantidad de glucosa liberada por una solución al 2% (p/v) de carboximetil celulosa en una solución amortiguadora de citrato de sodio 50 mM, pH 4.8). La mezcla contenía 0.5 mL de la solución carboximetil celulosa al 2% (p/v) y 0.5 mL del crudo enzimático.

Se llevó a cabo a 50°C por 30 minutos. La reacción se detuvo al añadir 3 mL de solución DNS y calentando el tubo en baño de agua hirviendo por 5 minutos. La cantidad de azúcar liberada fue medida por absorbancia a 575 nm usando un espectrofotómetro.

3.7 Hidrólisis enzimática.

Se realizaron cuatro ensayos de hidrólisis:

- Inoculación simple con sustrato fermentado (1F) y no fermentado (2F).
- Inoculación doble (DF).
- Hidrólisis ácida (3F).
- Celulasas industriales con sustrato fermentado (2C) y no fermentado (1C).

En los extractos de la inoculación simple, doble y de la hidrólisis ácida, se colocaron a baño maría a 50°C por 50 hr después del procedimiento seguido en el apartado 3.4. En la extracción duplicada de la inoculación simple, el sobrenadante se colocó en un tubo cónico de 50 mL que contenía 2 g de la cáscara de coco sin fermentar.

Para las pruebas de hidrólisis con las enzimas industriales, se preparó una solución de celulasas al 1% suspendidas en solución tampón de citratos 50 mM. Se colocó en un tubo cónico de 50 mL 2 g de cáscara de coco sin fermentar y 30 mL de la solución de celulasas industriales. En otro tubo se colocaron los sólidos después de lavarse que resultaron de la extracción duplicada de la inoculación simple y se agregaron 30 mL de la solución de celulasas.

Se mantuvieron en baño maría a 50°C por 50 horas. Para detener la reacción enzimática se llevaron a una temperatura de 100°C por 5 minutos. Luego se centrifugaron a 4400 rpm por 30 minutos. Los azúcares reductores se midieron con el método 3,5-DNS.

Las pruebas de hidrólisis se hicieron por triplicado, por lo que se tuvo un total de 18 muestras hidrolizadas.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS.

4.1 Aislamiento e identificación del hongo



Figura 1. *A. niger* en PDA a 40x.

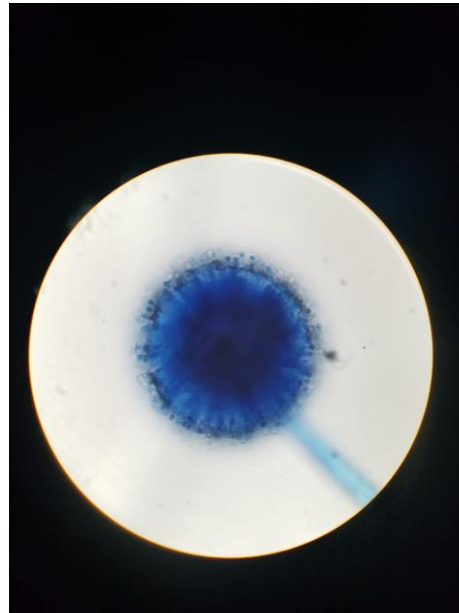


Figura 2. *A. niger* en PDA a 100x



Figura 3. Colonia en medio PDA.



Figura 4. Vista posterior de la colonia

4.2 Fermentación en estado sólido



Figura 5. Suspensión de esporas a una concentración de 7×10^6 esporas / mL.



Figura 6. Esporas del hongo *Aspergillus niger* en la cámara de Neubauer visto en microscopio óptico a 40x.

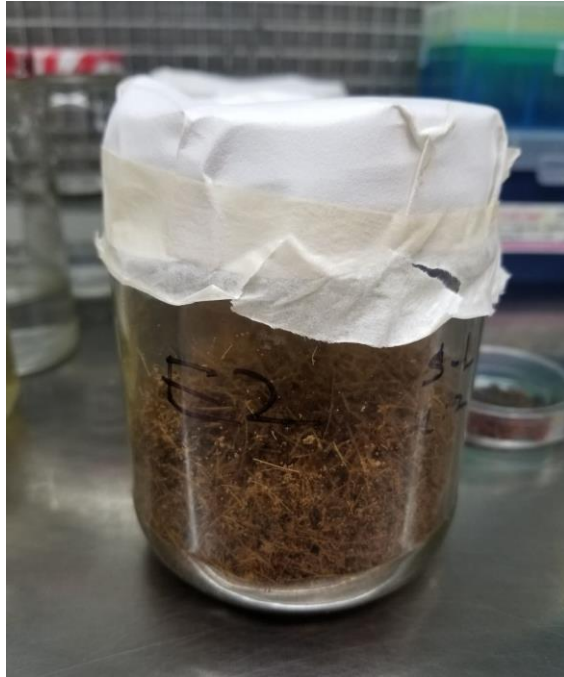


Figura 7. Cáscara de coco esterilizada e inoculada con una suspensión de esporas a una concentración de 5×10^5 esporas / g de masa seca.

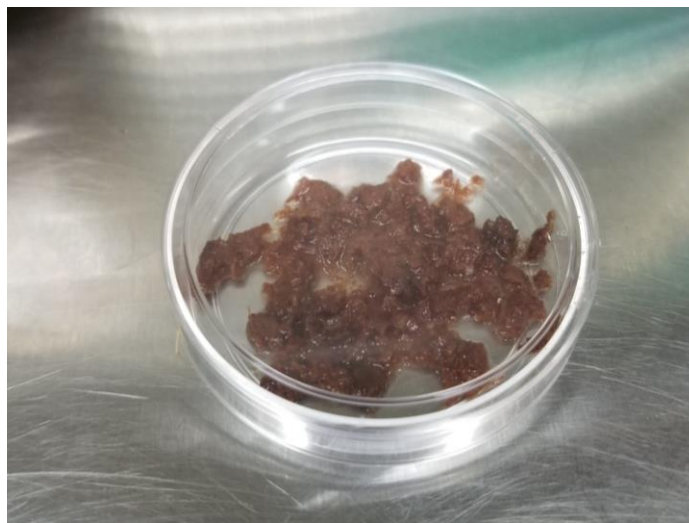


Figura 8. Prueba de fermentación usando sustrato previamente hidrolizado con ácido sulfúrico al 1.5%.

4.3 Hidrólisis ácida.



Figura 9. Cáscara de coco con ácido sulfúrico al 1.5% antes y después de aplicarle temperatura.

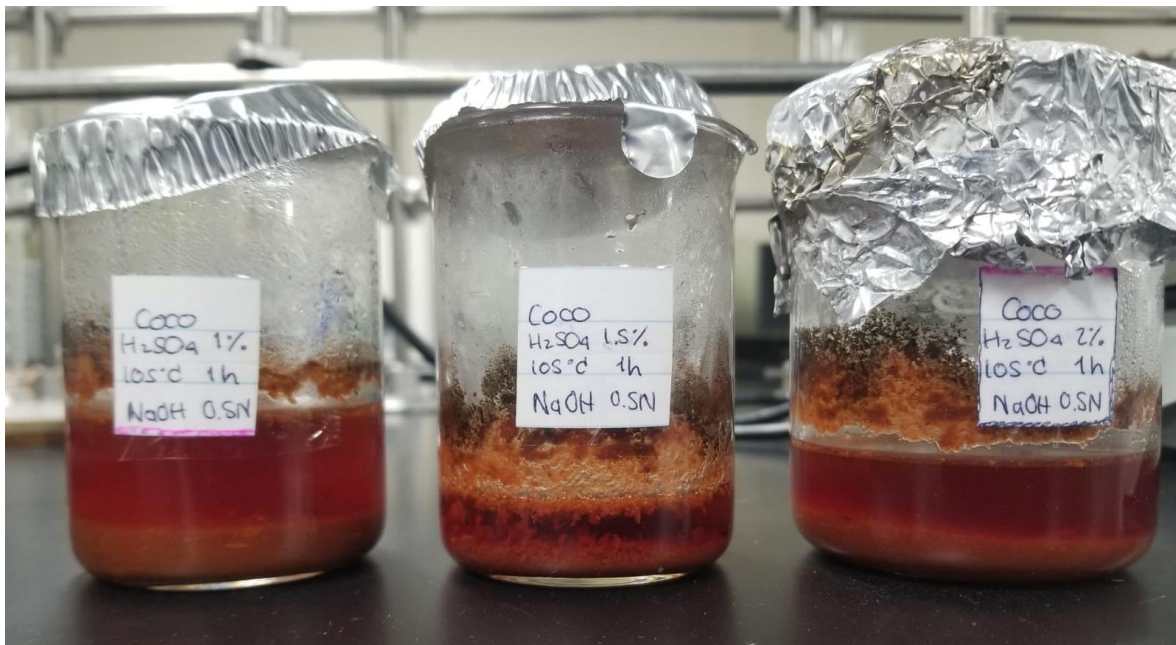


Figura 10. Cáscara de coco después de la hidrólisis ácida con ácido sulfúrico a distintas concentraciones.

Tabla 2. Concentración de las soluciones de dextrosa preparadas para la curva de calibración con su respectiva absorbancia.

Concentración (g/L)	Absorbancia
0	0
0.4	0
0.8	0.02
1.2	0.08
1.6	0.135
2	0.16

En la siguiente gráfica se muestra la absorbancia de las soluciones de acuerdo a la concentración de dextrosa. Con esto se obtuvo la concentración de la cáscara de coco (punto naranja).

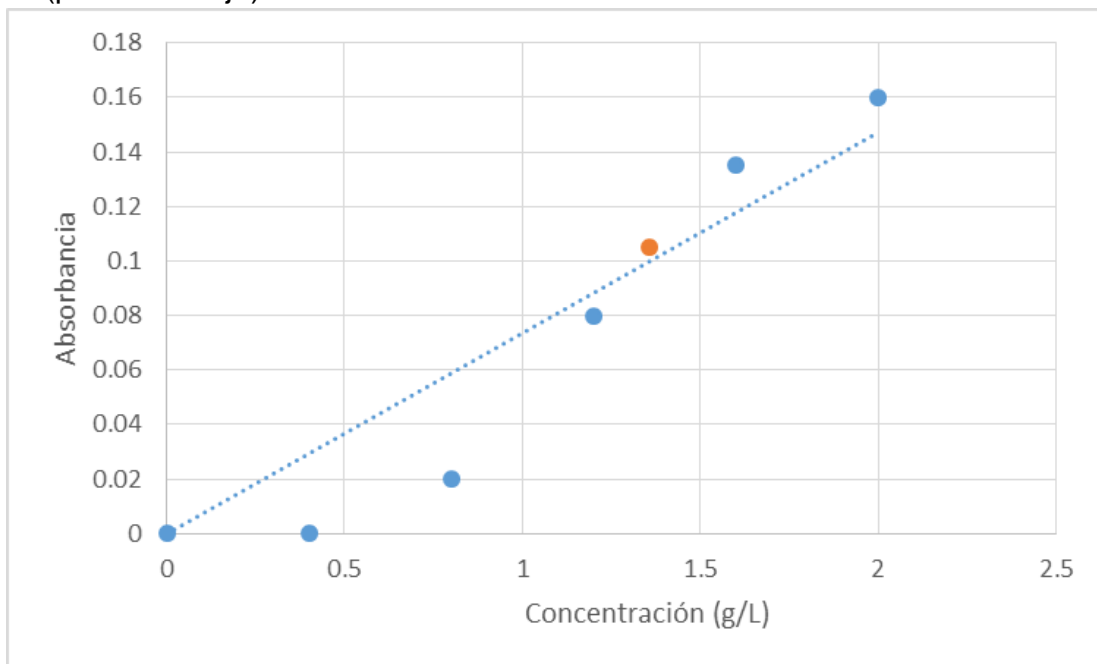


Figura 11. Curva de calibración de dextrosa. Absorbancia medida a 575 nm.

4.1.1 El valor de la concentración de glucosa en la muestra hidrolizada con ácido sulfúrico al 1.5% es de 13.57 g/L.

4.1.2 Mediciones de los azúcares presentes en las muestras de cáscara de coco hidrolizadas con el ácido sulfúrico a las tres concentraciones descritas anteriormente.

4.4 Actividad enzimática

4.5 Hidrólisis enzimática

- Inoculación simple con sustrato fermentado (1F) y no fermentado (2F).
- Inoculación doble (DF).
- Hidrólisis ácida (3F).
- Celulasas industriales con sustrato fermentado (2C) y no fermentado (1C).

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES.

CAPÍTULO VI. RECOMENDACIONES.

CAPÍTULO VII. REFERENCIAS.

Ayala, J. R., Montero, G., Coronado, M. A., García, C., Curiel-Alvarez, M. A., León, J. A., ... y Montes, D. G. (2021). Characterization of Orange Peel Waste and Valorization to Obtain Reducing Sugars. *Molecules*, 26(5), 1348.

Benazir, F., y Mishra, A. A. (2015). Optimization of Process Parameter for the Production of Vinegar from Banana Peel and Coconut Water. *International Journal of Science, Engineering and Technology*, 3(3), 17–23. <https://doi.org/10.2348/ijset0620150817>

Buchanan, Bob B. Gruissem W., y Jones R. L. (2001), *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, 3rd ed. Courier Companies, Inc., 2001.

BUN-CA (2002). *Manuales sobre energía renovable: Biomasa/ Biomass*. 1 ed. -San José, C.R. 2002. <http://www.bio-nica.info/biblioteca/BUNCA2002Biomasa.pdf>

Chacón, O., y Waliszewski, K. N. (2005). Commercial cellulases preparations and their applications in extractives processes. *Universidad y Ciencia*, 21(42), 111-120.

Cortes, W. G. (2011). Materiales lignocelulosicos como fuente de biocombustibles y productos químicos. *TecnoESUFA: revista de tecnología aeronáutica*, 16.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2019. Statistics Division. [Online] Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC> [Consulta: 2021].

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2020). Estadísticas a propósito del día mundial del medio ambiente (5 de junio). Recuperado de https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2020/ambiente2020_Nal.pdf

Laureano-Perez, L., Teymouri, F., Alizadeh, H., y Dale, B. E. (2005). Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 124(1), 1081-1099.

León, J., (2000) *Botánica de los cultivos tropicales*. IICA. Colección Libros y Materiales Educativos No. 84. San José, Costa Rica. Pp. 374-378.

Leong, H. Y., Chang, C. K., Khoo, K. S., Chew, K. W., Chia, S. R., Lim, J. W., ... y Show, P. L. (2021). Waste biorefinery towards a sustainable circular bioeconomy: a solution to global issues. *Biotechnology for Biofuels*, 14(1), 1-15.

Limonés, V. y Fernández, M., (2016). El cocotero: "El árbol de la vida." Desde el Herbario CICY, 8, 107–110.

Mienda, B. S., Idi, A., y Umar, A. (2011). Microbiological features of solid state fermentation and its applications-An overview. *Research in Biotechnology*, 2(6).

Murray, A., Skene, K., y Haynes, K. (2017). The circular economy: an interdisciplinary exploration of the concept and application in a global context. *Journal of business ethics*, 140(3), 369-380.

Organización Panamericana de la Salud, Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental y Banco Interamericano de Desarrollo. Informe de la Evaluación Regional del Manejo de Residuos Sólidos Urbanos en América Latina y el Caribe 2010

Palma, P. (2016). Evaluación de la incidencia del amarillamiento letal del cocotero en Yucatán (Tesis de maestría). Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., Mérida, Yucatán, México.

Paredes, D. A., Alvarez, M. F., y Silva, M. (2010). Obtención de enzimas celulasas por fermentación sólida de hongos para ser utilizadas en el proceso de obtención de bioalcohol de residuos del cultivo de banano. *Revista Tecnológica-ESPOL*, 23(1).

Pensupa, N., Jin, M., Kokolski, M., Archer, D. B., y Du, C. (2013). A solid state fungal fermentation-based strategy for the hydrolysis of wheat straw. *Bioresource technology*, 149, 261-267.

Pettersen, R. C. (1984). The chemical composition of wood. *The chemistry of solid wood*, 207, 57-126.

Preethi, K., Maha Lakshmi, G., Umesh, M., Priyanka, K., y Thazeem, B. (2017). Fruit peels: A potential substrate for acetic acid production using *Acetobacter aceti*.

International Journal of Applied Research, 3(4), 286–291. Retrieved from www.allresearchjournal.com

Ramos, A. M., y Forchiassin, F. (1996). Producción de endoglucanasa en cuatro especies del género *Saccobolus*. *Rev. Argentina de Microbiología*, 28, 55-62.

Rincón, J., Rincón, P., Torres, E., Mondragón, A., Sánchez, M., Arana, A., ... y Ortiz, A. (2016). Caracterización fisicoquímica y funcional de la fibra de mesocarpio de coco (*Cocos nucifera* L.). *Investigación y Desarrollo En Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(2), 279-284.

Rocchi, L., Paolotti, L., Cortina, C., Fagioli, F. F., & Boggia, A. (2021). Measuring circularity: an application of modified Material Circularity Indicator to agricultural systems. *Agricultural and Food Economics*, 9(1), 1-13.

Rodriguez, I., & Piñeros, Y. (2007). Producción de complejos enzimáticos celulolíticos mediante el cultivo en fase sólida de *Trichoderma* sp. sobre los racimos vacíos de palma de aceite como sustrato. *Vitae*, 14(2), 35-42.

Rodríguez, M. D., Castrillo, M. L., Velázquez, J. E., Kramer, G. R., Sedler, C., Zapata, P. D., y Villalba, L. (2017). Obtención de azúcares fermentables a partir de aserrín de pino pretratado secuencialmente con ácido-base. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 33(2), 317-324.

Rodríguez-Zúñiga, U. F., Couri, S., Neto, V. B., Crestana, S., & Farinas, C. S. (2013). Integrated strategies to enhance cellulolytic enzyme production using an instrumented bioreactor for solid-state fermentation of sugarcane bagasse. *BioEnergy Research*, 6(1), 142-152

Sanchez, A., Gil, J. C., Rojas-Rejón, O. A., de Alba, A. P., Medina, A., Flores, R., y Puente, R. (2015). Sequential pretreatment strategies under mild conditions for efficient enzymatic hydrolysis of wheat straw. *Bioprocess and biosystems engineering*, 38(6), 1127-1141.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2015). Informe de la situación del Medio Ambiente en México. Recuperado de <https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe15/tema/cap7.html#tema1>

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2017). Ley general para la prevención y gestión integral de residuos. Primera edición 2003. Recuperado de <https://www.gob.mx/semarnat/acciones-y-programas/residuos-solidos-urbanos-y-de-manejo-especial>

Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2017). Programa Nacional para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos. Recuperado de http://dsiappsdev.semarnat.gob.mx/datos/portal/publicaciones/PNPGIR%20_2017-2018.pdf

Sindhu, R., Gnansounou, E., Rebello, S., Binod, P., Varjani, S., Thakur, I. S., ... Pandey, A. (2019). Conversion of food and kitchen waste to value-added products. *Journal of Environmental Management*, 241(February), 619–630. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.053>

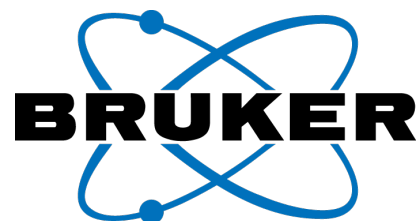
Wang, J. S., Wang, J., y Gulfranz, M. (2005). Efficient Cellulase Production from Corn Straw by *Trichoderma Reesei* LW1 Through Solid State Fermentation Process. *Ethnobotanical Leaflets*, 2005(1), 7.

Wyman, C. E. (1994), Ethanol from Lignocellulosic Biomass: technology, economics and opportunities, *Biores. Techn.* 50, 3-16.

Wyman, Charles (ed.). (1996), Handbook on Bioethanol: Production and utilization, Taylor and Francis, Washington, DC, USA.

ANEXOS

Bruker MALDI Biotyper Identification Results



Run Info:

Run Identifier: 210428-1626-1011021558
Comment:
Operator: Admin@FLEX-PC
Run Creation Date/Time: 2021-04-28T16:27:07.888
Number of Tests: 1
Type: Standard
BTS-QC: not present
BTS-QC Position:
Instrument ID: 8269944.03788
Server Version: 4.1.80 (PYTH) 102 2017-08-226_04-55-52

Result Overview

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value	Organism (second-best match)	Score Value
H10 (+) (B)	hongo elvira (Standard)	Aspergillus niger	1.72	No Organism Identification Possible	1.56

Matching Hints

Matched Pattern	Comment
Aspergillus brasiliensis CBS 101740 CBS	Species niger / brasiliensis of the genus Aspergillus have very similar patterns: Therefore distinguishing their species is difficult.
Aspergillus niger 2008_146035 MUZ	Species niger / brasiliensis of the genus Aspergillus have very similar patterns: Therefore distinguishing their species is difficult.
Aspergillus niger Asp_Nr_2 UGB	Species niger / brasiliensis of the genus Aspergillus have very similar patterns: Therefore distinguishing their species is difficult.
Aspergillus niger DSM 12634 DSM	Species niger / brasiliensis of the genus Aspergillus have very similar patterns: Therefore distinguishing their species is difficult.
Aspergillus niger DSM 22593 DSM	Species niger / brasiliensis of the genus Aspergillus have very similar patterns: Therefore distinguishing their species is difficult.
Aspergillus niger D_16_256_7_3 LLH	Species niger / brasiliensis of the genus Aspergillus have very similar patterns: Therefore distinguishing their species is difficult.
Aspergillus niger M10 RLH	Species niger / brasiliensis of the genus Aspergillus have very similar patterns: Therefore distinguishing their species is difficult.
Aspergillus niger M14 RLH	Species niger / brasiliensis of the genus Aspergillus have very similar patterns: Therefore distinguishing their species is difficult.
Aspergillus niger M16 RLH	Species niger / brasiliensis of the genus Aspergillus have very similar patterns: Therefore distinguishing their species is difficult.
Aspergillus niger e7158 LLH	Species niger / brasiliensis of the genus Aspergillus have very similar patterns: Therefore distinguishing their species is difficult.

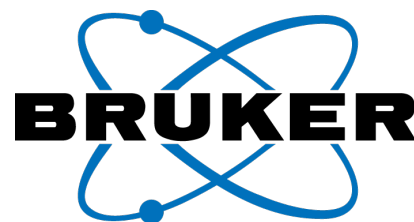
Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample 1



Sample Name: H10
Sample Description:
Sample ID: hongo elvira
Sample Creation Date/Time: 2021-04-28T16:27:07.908
Sample Type: Standard sample
Identification Method: MALDI Biotyper MSP Identification Standard Method 1.1
Preprocessing Method: MALDI Biotyper Preprocessing Standard Method 1.1
ACQ Method: D:\Methods\flexControlMethods\MBT_FC.par
ACQ Timestamp: 2021-04-28T16:36:24.802
AutoExecute Method: MBT_AutoX
Applied MSP Library(ies): Filamentous Fungi / contains 577 MSPs / 95680832-cb78-4786-9f45-d67971dd8c1e / 2020-10-28T17:29:45.309

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (+)	Aspergillus niger e7158 LLH	1.72	5061
2 (-)	Aspergillus niger M14 RLH	1.56	5061
3 (-)	Aspergillus niger 2008_146035 MUZ	1.49	5061
4 (-)	Aspergillus niger M16 RLH	1.47	5061
5 (-)	Aspergillus niger D_16_256_7_3 LLH	1.42	5061
6 (-)	Aspergillus niger DSM 22593 DSM	1.38	5061
7 (-)	Aspergillus brasiliensis CBS 101740 CBS	1.35	319629
8 (-)	Aspergillus niger Asp_Nr_2 UGB	1.31	5061
9 (-)	Aspergillus niger DSM 12634 DSM	1.15	5061
10 (-)	Aspergillus niger M10 RLH	1.09	5061