

**EVALUACIÓN DE LA COLONIZACIÓN DEL HONGO *Pleurotus ostreatus* EN
SUSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS**

CLAUDIA GIOVANNA MELO PARRA

**Proyecto integral de grado para optar al título
de INGENIERO QUÍMICO**

Directora

Diana Milena Morales Fonseca

Msc. Ingeniería Química

FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA

FACULTAD DE INGENIERÍAS

PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA

BOGOTÁ D.C

2021

NOTA DE ACEPTACIÓN

Nombre

Firma del Director

Nombre

Firma del Presidente Jurado

Nombre

Firma del Jurado

Nombre

Firma del Jurado

Bogotá, D.C. Agosto del 2021

DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. MARIO POSDADA GARCIA-PEÑA

Consejo Institucional

Dr. LUIS JAIME POSADA GARCIA-PEÑA

Vicerrectora Académica y de investigaciones

Dra. ALEXANDRA MEJÍA GUZMÁN

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. RICARDO ALFONSO PEÑARANDA CASTRO

Secretario General

Dr. JOSÉ LUIS MACÍAS RODRÍGUEZ

Decano General de la Facultad de Ingenierías

Ing. JULIO CESAR FUENTES ARISMENDI

Director del Programa de Ingeniería Química

Ing. NUBIA LILIANA BECERRA OSPINA

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a la autora.

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a mi hermosa madre, pues sin ella no hubiera llegado al lugar en el cual me encuentro hoy, todo lo que soy se lo debo a su valentía y esfuerzo, pues ha salido de muchas dificultades solo por darme un futuro mejor; también debo agradecer infinitamente a mi abuelita pues sin el apoyo de ella la vida no hubiera sido igual, su carisma y perseverancia me enseñaron a luchar y a creer en los sueños.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	12
INTRODUCCIÓN	13
OBJETIVOS	15
1.MARCO TEORICO.....	16
1.1 Materiales lignocelulósicos.....	16
1.1.1 <i>Generalidades de los materiales lignocelulósicos</i>	16
1.2 Hongos	18
1.2.1 <i>Características generales de los hongos</i>	18
1.2.2 <i>Nutrición en los hongos</i>	20
1.2.3 <i>Tipos de Reproducción</i>	22
1.2.4 <i>Clasificación de los hongos</i>	24
1.2.5 <i>División Basidiomycota</i>	25
1.3 Poliestireno expandido.....	28
1.3.1 <i>Generalidades del poliestireno expandido</i>	28
1.3.2 <i>Usos del poliestireno expandido</i>	35
1.3.3 <i>Impacto ambiental del poliestireno expandido</i>	36
2. IDENTIFICAR LAS CONDICIONES DE CRECIMIENTO DEL HONGO <i>Pleurotus ostreatus</i> PARA LA COLONIZACIÓN DE SUSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS POR REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	40
2.1 <i>Pleurotus ostreatus</i>	40
2.3 Residuos agroindustriales degradados por <i>Pleurotus ostreatus</i>	47
2.3.1 <i>Cascarilla de Café</i>	47
2.3.2 <i>Salvado de trigo</i>	55
2.4 Conclusión	62

3. ESTABLECER LA METODOLOGÍA ADECUADA PARA LA COLONIZACIÓN DEL HONGO <i>Pleurotus ostreatus</i> EN SUSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS MEDIANTE UN DISEÑO EXPERIMENTAL.	63
3.1 Metodología	63
3.1.1 <i>Obtención de la cepa</i>	63
3.1.2 <i>Obtención de la cepa madre</i>	63
3.1.3 <i>Propagación del micelio de Pleurotus ostreatus</i>	64
3.1.4 <i>Conservación de la Cepa</i>	67
3.1.5 <i>Adecuación de los sustratos</i>	69
3.1.6 <i>Obtención del Inoculo</i>	71
3.1.7 <i>Determinación de Peso seco de biomasa</i>	72
3.1.8 <i>Determinación de peso seco de los sustratos</i>	74
3.1.9 <i>Colonización de los sustratos</i>	75
3.1.10 <i>Inactivación microbiana</i>	77
3.2 Resultados y Análisis de Resultados.....	79
3.3 Conclusión	99
4. PLANTEAR EL DIAGRAMA DE FLUJO DE PROCESO (PFD) PARA LA COLONIZACION DEL HONGO <i>Pleurotus ostreatus</i> EN SUSTRATOS LIGNOCELULOSICOS A PARTIR DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES.....	101
5. CONCLUSIONES	106
BIBLIOGRAFIA	107
ANEXOS	116

LISTADO DE FIGURAS

	Pag.
Figura 1. Estructura de los materiales lignocelulósicos	16
Figura 2. Morfología general de los hongos macromicetos	20
Figura 3. Ciclo en la reproducción sexual de los hongos.	23
Figura 4. Formación de la basidióspora y el basidio	26
Figura 5.. Proceso de conformación del EPS	30
Figura 6. Grafica conductividad térmica en distintos materiales	32
Figura 7. Porcentaje de distribución del EPS	37
Figura 8. Diagrama del ciclo de vida del EPS	38
Figura 9. Aplicaciones del reciclado mecánico del EPS	39
Figura 10.. Esquemización morfología de <i>Pleurotus ostreatus</i> .	43
Figura 11.. Ciclo de vida de <i>Pleurotus ostreatus</i>	44
Figura 12.. Conformación de la cereza del café	48
Figura 13.. Distribución porcentual de la cereza del café	49
Figura 14.. Beneficio del café proceso húmedo	50
Figura 15.. Mapa regional cultivos de café en Colombia	51
Figura 16.. Estructura del trigo	56
Figura 17. Distribución morfológica del salvado de trigo	59
Figura 18. Diagrama obtención de la cepa madre.	64
Figura 19. Diagrama propagación de <i>Pleurotus ostreatus</i> en agar dextrosa sabouraud	65
Figura 20. Diagrama propagación de <i>Pleurotus ostreatus</i> en agar extracto salvado de trigo	66
Figura 21. Disco de <i>Pleurotus ostreatus</i> en medio agar	67
Figura 22. Conservación de la cepa <i>Pleurotus ostreatus</i>	68
Figura 23. Diagrama conservación de la cepa.	68
Figura 24. Muestras de los sustratos sin humedad	70
Figura 25. Determinación de humedad	70
Figura 26. Discos en medio liquido extracto salvado de trigo	71
Figura 27. Diagrama obtención del inoculo	72
Figura 28. Biomasa luego del proceso de secado	73

Figura 29. Diagrama determinación de peso seco	74
Figura 30. Sustratos luego de la determinación de peso seco	75
Figura 31. Biomasa centrifugada sobre la cascarilla de café.	76
Figura 32. Diagrama para la inoculación del sustrato.	77
Figura 33. Inactivación microbiana	78
Figura 34. Diagrama inactivación microbiana	78
Figura 35. Cepa madre hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> .	79
Figura 36. Propagación del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> .	80
Figura 37. Producción de biomasa en forma de pellets	81
Figura 38. Inoculo húmedo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .	83
Figura 39. Trayectoria de colonización del salvado de trigo.	88
Figura 40. Material obtenido antes y después de la inactivación microbiana	90
Figura 41. Trayectoria de colonización de la cascarilla de café	92
Figura 42. Inactivación microbiana en la cascarilla de café	95
Figura 43. Balance de masa del salvado de trigo	98
Figura 44. Balance de masa Cascarilla de Café	99
Figura 45. Diagrama de bloques del proceso	103
Figura 46. Diagrama PFD del proceso de obtención del biomaterial	104
Figura 47. Balance de masa para la obtención del biomaterial	105

LISTADO DE TABLAS

	Pag.
Tabla 1. Valores conductividad térmica según la densidad	33
Tabla 2. Comportamiento del EPS frente a distintos compuestos químicos	35
Tabla 3. Clasificación taxonómica	41
Tabla 4. Autores empleados en la caracterización bibliográfica	52
Tabla 5. Caracterización bibliográfica de la cascarilla de café	53
Tabla 6. Autores empleados en la caracterización bibliográfica del salvado de trigo	57
Tabla 7. Caracterización bibliográfica del salvado de trigo	58
Tabla 8. Valores porcentaje de humedad Salvado de trigo.	82
Tabla 9. Valores porcentaje de humedad cascarilla de café.	83
Tabla 10. Biomasa húmeda de <i>Pleurotus ostreatus</i>	84
Tabla 11. Resultados peso de biomasa.	85
Tabla 12. Resultados peso seco salvado del trigo	86
Tabla 13. Resultados peso seco salvado de trigo	86
Tabla 14. Datos obtenidos en la colonización del salvado de trigo.	89
Tabla 15. Valores de masa en exceso salvado de trigo colonizado.	89
Tabla 16. Resultados colonización microbiana.	90
Tabla 17. Valores de consumo de sustrato por la respiración del microorganismo	91
Tabla 18. Resultados de colonización de la cascarilla de café	93
Tabla 19. Valores de masa en exceso de la cascarilla de café colonizada.	94
Tabla 20. Resultados inactivación microbiana	95
Tabla 21. Valores de consumo de sustrato por la respiración del microorganismo	96
Tabla 22. Determinación de humedad de los materiales obtenidos.	97

LISTADO DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
°C.	Grados Centígrados
g.	Gramos
rpm.	Revoluciones por minuto
mm.	Milímetros
mL.	Militros

RESUMEN

El poliestireno expandido se caracteriza por ser un material usado como material de empaque que requiere largos periodos de degradación, generando altas tasas de contaminación para ecosistemas terrestres y acuíferos, es por ello que surge la necesidad de formular materiales alternos y biodegradables que puedan sustituir el uso de dicho material. Por ello que a lo largo del desarrollo de este documento se buscara un protocolo de colonización que permita el desarrollo de un biomaterial a base de micelio fúngico de *Pleurotus ostreatus*, microorganismo que se caracteriza por ser un microorganismo con una maquinaria enzimática que le permite degradar compuestos lignocelulósicos, lo cual permite su expansión y crecimiento a lo largo de los sustratos de estudio los cuales son salvado de trigo y la cascarilla de café, la cual es el residuo más contaminante generado en la producción de café, está dado a sus altos porcentajes de compuestos lignificados, dando paso así al crecimiento e implementación de una economía circular.

Ahora bien, para el desarrollo de este biomaterial se realiza un crecimiento en medio líquido de pellets de micelio de *Pleurotus ostreatus* los cuales serán el inóculo usado en la presente investigación, para el desarrollo del biomaterial se llevan a incubación durante 30 días a 30°C en donde ya se encuentran soportados en el material lignocelulósico, por último se realiza un proceso de inactivación microbiana, dando así como resultado la formación de bloques de micelio fúngico, material que puede llegar a sustituir el poliestireno expandido.

Palabras clave: Poliestireno expandido, Material Biodegradable, Hongos Basidiomicetos, *Pleurotus ostreatus*, Colonización, Micelio, Materiales Lignocelulósicos.

INTRODUCCIÓN

El poliestireno expandido es un material producido a partir de estireno el cual es un producto secundario de la refinación del crudo, este “material es plástico celular y rígido fabricado a partir del moldeo de perlas pre-expandidas de poliestireno expandible o uno sus copolímeros que presentan una estructura cerrada y rellena de aire” [1], la formación de la cadena polimérica junto con el uso del pentano como agente expansor hacen que su tiempo aproximado de descomposición va desde 50 hasta 500 años variando el espesor y el uso del material [2]. Según plásticos Colombia importa y produce alrededor 43.047 toneladas de poliestireno expandido destinadas para empaque y embalaje; la mayoría del poliestireno expandido va a parar a los rellenos sanitarios o los ríos y corrientes de agua cercanas a las urbes pues la gente no sabe dónde depositarlos ya que ocupan gran espacio y no tienen utilidad alguna más que su fin principal.

La eliminación del uso de este material no es fácilmente realizable, ya que en la actualidad no se cuenta con un material que cuente con las mismas características del poliestireno expandido, sin embargo investigaciones recientes han encontrado que se puede conformar un material similar con las mismas características y propiedades y 100% degradable, esto da paso a una nueva era ya que permite fabricar eliminar el uso de compuestos procedentes del petróleo y disminuir la huella que deja el hombre en el planeta.

En cuanto al material este está constituido de micelio de hongos basidiomicetos y como base se usan materiales lignocelulósicos que generalmente son denominados como desecho en la industria agrícola, entre ellos se pueden catalogar aquellos que posean altas cantidades de lignina, celulosa y hemicelulosa ya que son la fuente principal de alimento para dichos hongos. Por medio del desarrollo del micelio del hongo, el cual actúa como pegamento natural, se tiene la conformación de un material similar al poliestireno expandido, permitiendo así reemplazarlo fomentando una economía circular pues los compuestos usados para su fabricación son residuos o microorganismos que no afectan el equilibrio natural.

A lo largo del desarrollo del documento se mostraran las características principales de los hongos basidiomicetos también conocidos como hongos de podredumbre blanca, adicionalmente se hará una caracterización bibliográfica de los sustratos empleados en el desarrollo experimental, y se mostraran los resultados obtenidos de la colonización del hongo, aclarando que el objetivo principal del presente documento es mostrar si se desarrolla una colonización o no de los sustratos

seleccionados, por último se mostrará una un diagrama de flujo de proceso identificando las unidades principales para la colonización y posible obtención del material.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar la colonización del hongo *Pleurotus ostreatus* en sustratos lignocelulósicos

Objetivos Específicos

- Identificar las condiciones de hábitat, medio de cultivo y sustrato para el crecimiento adecuado del hongo *Pleurotus ostreatus* revisión bibliográfica.
- Establecer la metodología adecuada para la colonización del hongo *Pleurotus ostreatus* en sustratos lignocelulósicos mediante un diseño experimental.
- Plantear el diagrama de flujo de proceso (DFP) para la colonización del hongo *Pleurotus ostreatus* en sustratos lignocelulósico a partir de los resultados experimentales.

1. MARCO TEORICO

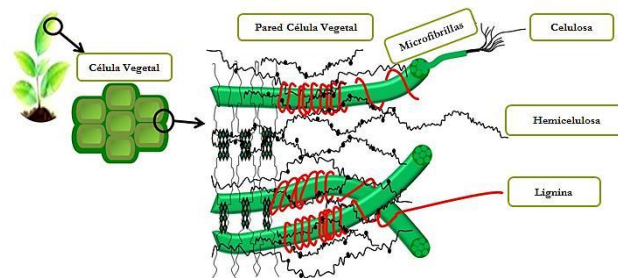
1.1 Materiales lignocelulósicos

1.1.1 Generalidades de los materiales lignocelulósicos

Los materiales lignocelulósicos se caracterizan por estar contenidos en plantas, flores, cascaras de residuos vegetales, los cuales se consideran el mayor depósito de energía fotosintética y material orgánico renovable, constituidos principalmente por celulosa, hemicelulosa, lignina y péctanos, en donde la celulosa y la lignina son considerados los biopolímeros más abundantes en la naturaleza, su degradación constituye el evento degradativo más importante en el ciclo del carbono, siendo los hongos filamentosos o basidiomicetos los organismos degradadores dado que poseen una poderosa máquina enzimática capaz de hidrolizar dichos compuestos [1]. La figura 1 muestra la relación existente entre los compuestos que conforman un material lignocelulósico. A continuación, se dará una descripción más detallada de la celulosa, hemicelulosa y lignina.

Figura 1.

Estructura de los materiales lignocelulósicos



Nota. Esta figura muestra la relación existente entre la celulosa, hemicelulosa y lignina presente en un material vegetal. Tomado de: N. Gurdo, “mejoramiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* Y138 por ingeniería evolutiva para la producción de bioetanol de segunda generación,” Instituto de investigaciones biotecnológicas, 2016.

- Celulosa: es un compuesto natural que constituye las fibras de los cuerpos vegetales, se considera un “homopolisacárido rígido, insoluble en agua conformado por D-glucosa constituido por enlaces β -1,4 glucósidos, altamente estructurados de forma lineal, es considerado la

biomolécula más abundante de la tierra puesto que se encuentra presente en toda la biomasa existente” [2]. Su linealidad y unión entre moléculas está dada por múltiples enlaces de puentes de hidrogeno en los grupo hidroxilo de la molécula, lo que la hace altamente resistente e insoluble al agua, la longitud de la celulosa varía según la biomasa, el tiempo de vida y el proceso metabólico que tenga el organismo vegetal dado que cada uno posee diversas características.

Actualmente se puede encontrar dos tipos de celulosa, la primera es conocida como celulosa cristalina o nativa la cual se caracteriza por su alto grado de ordenamiento y su insolubilidad en agua, la segunda es conocida como celulosa modificada, dado que esta es altamente soluble en agua y posee un mayor grado de cristalinidad, comercialmente se encuentra como carboximetilcelulosa [1].

- Hemicelulosa: este compuesto se encuentra presente en la mayoría del tejido vegetal presente en la tierra, está constituido principalmente por polímeros como xilosa, arabinosa, manosa, glucosa, galactosa y ácido urónico los cuales están unidos por enlaces β -1,4 glucósidos [3]. La hemicelulosa es el principal material hidrolizable de la biomasa terrestre ya que la celulosa es mucho más resistente a los procesos hidrolíticos; la hemicelulosa se caracteriza por ser un compuesto amorfo con una longitud mucho menor que la celulosa [1].
- Compuestos pécticos: son compuestos ramificados de alto peso molecular presentes en menor proporción en los materiales lignocelulósicos, su cadena principal está formada por ácidos galacturónicos, los cuales son derivados de carbohidratos de naturaleza coloidal. Algunas de sus clasificaciones son pectanos, pectinatos y protopectina [1].
- Lignina: es el segundo biopolímero más abundante del planeta, el cual es considerado como un pegamento natural pues es el encargado de unir o sujetar la celulosa a la hemicelulosa en los tallos, hojas o frutos de las plantas, adicionalmente proporciona rigidez, resistencia y dureza contra ataques microbianos al tejido vegetal. Es un polímero de alto peso molecular que se sintetiza por la polimeración oxidativa de alcoholes generalmente fenilpropano conformado por p-hidroxiben, aldehídos y siringal [1]. Es altamente insoluble y resistente al agua lo que lo hace un compuesto duradero y difícil de degradar, sin embargo, en la naturaleza existe un organismo vivo capaz de degradar la lignina los cuales son conocidos como hongos filamentosos, ya que poseen enzimas especializadas.

En la naturaleza existe una gran variedad de materiales lignocelulósicos de origen agroindustrial que pueden ser empleados como sustrato para los hongos lignocelulósicos, algunos ejemplos de estos materiales se enunciarán a continuación:

- Caña de azúcar. “Se caracteriza por ser un residuo agroindustrial rico en lignina y celulosa, con un pH de 6,1 y una composición de nitrógeno de 1,23%, adicional a ello poseen azúcares disueltos en el interior de sus fibras” [4], los cuales sirven como fuente de energía y alimento para los hongos lignocelulósicos en especial *Pleurotus ostreatus*. Generalmente para ser empleado como sustrato para el crecimiento del micelio del hongo debe ser molido, ya que su forma natural es rígida y larga lo que dificulta la colonización.
- Tallo de algodón. Los tallos de la planta de algodón se caracterizan por ser ricos en celulosa, hemicelulosa, y lignina, por lo cual es empleado en el crecimiento de hongos comestibles en especial para *Pleurotus spp*, gracias a las enzimas secretadas por el hongo se pueden romper las cadenas laterales de la lignina formando compuestos más cortos y fáciles de degradar por el microorganismo [5].
- Cascarilla de café. La cascarilla de café se caracteriza por ser un material rico en lignina, celulosa y hemicelulosa, los cuales son los compuestos principales para el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus*, esta parte del café se caracteriza por ser uno de los residuos agroindustriales más contaminantes en el proceso de obtención del café oro [6].
- Salvado de trigo. Se caracteriza por ser un residuo agroindustrial puesto que es el material que recubre el grano del trigo, es conocido como un material rico en minerales, fibra y tener gran cantidad de compuesto lignificados [7]. Una de sus aplicaciones actuales es ser usado como sustrato en la producción de hongos comestibles [8].

1.2 Hongos

1.2.1 Características generales de los hongos

Los hongos se caracterizan por ser microorganismos eucariotas que poseen núcleos divididos por membranas nucleares, adicionalmente posee una pared celular constituida por polisacáridos, polipéptidos y quitina, razón por la cual su parte externa es bastante rígida [9], adicionalmente poseen orgánulos como mitocondrias, retículo endoplasmático liso y aparato de Golgi, generalmente son filamentosos lo que indica que poseen hifas las cuales forman una red ramificada conocida como micelio, este micelio permite que el hongo se alimente por la segregación de una

serie de enzimas las cuales varían según el tipo de metabolismo del hongo y el material o compuesto del cual se alimenta.

Su importancia radica en que son agentes de biodegradación y biorremediación descomponiendo materiales orgánicos ayudando a la mitigación de los desperdicios generales, sin embargo, son los principales causantes enfermedades en plantas y varias especies de animales, esto varía dependiendo del tipo de hongo que se estudie pues existen algunos considerados como plagas y otros como hongos beneficiosos.

En cuanto a su reproducción los hongos se pueden reproducir de manera asexual o sexual en donde la reproducción sexual se ve determinada por la formación de esporas, sin embargo, varía según la especie y familia a la que pertenezca el hongo, en algunas ocasiones un hongo puede tener los dos medios de reproducción ya que su elección depende del hábitat del organismo y las condiciones que tenga para sobrevivir.

Cabe resaltar que se caracterizan por ser organismos quimioorganotrofos, lo que indica que emplean fuentes orgánicas como suministro de carbono y energía dado que en su organismo realizan reacciones bioquímicas por medio de la oxidación de compuestos orgánicos los cuales emplean para su crecimiento y obtención de energía, estas reacciones bioquímicas descomponen los compuestos orgánicos en forma de lípidos, glucógeno y alcoholes en forma de azúcar. La alimentación del hongo depende del suelo o lugar de vida en el que se encuentre, algunos hongos establecen relaciones simbióticas con plantas o animales como fuente de nutrición.

Morfológicamente se pueden identificar de manera macroscópica o microscópica según la especie, “los organismos macroscópicos poseen cuerpos fructíferos o carpóforos que están constituidos por agregaciones miceliales, en estos cuerpos fructíferos se encuentran las fuentes de reproducción para una reproducción sexual” [9]. En cuanto a su distribución morfológica generalmente están constituidos por una fructificación carnosa conocido como píleo o sombrero del hongo, este se encuentre unido a un ápice o tallo en su parte central, por último poseen un velo o volva el cual está constituido por membrana la cual recubre el cuerpo fructífero con el fin de protegerlo, la figura 2 muestra la descripción morfológica general de los hongos macromicetos y las partes que la mayoría de ellos poseen.

Figura 2.

Morfología general de los hongos macromicetos



Nota. Esta figura representa el cuerpo fructífero desarrollado por un hongo macromiceto, sin embargo, varían según el tipo de hongo. Tomada de: “Morfología de los hongos.” <https://www.lifeder.com/morfologia-hongos/> (accessed Apr. 08, 2021).

En la actualidad los hongos tienen diferentes aplicaciones, por ejemplo, algunos son empleados en procesos fermentativos, en distintos procesos industriales, otros en procesos bioquímicos, en la generación de algunos químicos por medio de síntesis de metabolitos, algunos macromicetos son empleados como alimento para las personas y animales, por último se están usando en procesos de biorremediación en distintos ecosistemas [10].

1.2.2 Nutrición en los hongos

Los hongos se caracterizan por ser organismos quimio-heterótrofos descomponiendo las fuentes orgánicas que están en su alrededor por medio de la absorción de nutrientes generada a través de los micelios que poseen dichos organismos. Su mejor crecimiento y desarrollo se da en condiciones de oscuridad, temperatura y humedad adecuada, dado que estos parámetros son fundamentales en el funcionamiento metabólico del microorganismo; los nutrientes necesarios para el crecimiento y nutrición de los hongos se clasifican en moléculas pequeñas, largas y complejas.

“Las moléculas pequeñas son absorbidas por medio de los micelios de los hongos de manera fácil por medio de la membrana plasmática, estas moléculas pequeñas se caracterizan por ser

azúcares simples y aminoácidos. Las moléculas largas y complejas son catalogadas como los polímeros, polisacáridos y proteínas” [10], estas moléculas son difíciles de degradar por los hongos, para este proceso emplean enzimas capaces de hidrolizar moléculas complejas y volverlas en moléculas más simples, estas enzimas son expulsadas del hongos por medio de las hifas, las cuales permiten la absorción de nutrientes de los hongos, estas enzimas se conocen como enzimas extracelulares ya que realizan su proceso hidrolítico fuera del hongo. Las moléculas pequeñas son aquellas moléculas esenciales necesarias para la supervivencia del microorganismo estas se clasifican en metales y no metales, “como metales se tiene el potasio, magnesio, hierro, zinc, magnesio, cobre y molibdeno; en cuanto a los no metales se tiene hidrogeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fosforo y azufre” [9]. La membrana celular es la encargada de regular el paso de moléculas hacia la célula con el fin de sintetizar o regular compuestos necesarios para generar energía.

Así misma la alimentación de los hongos se puede clasificar en:

- Hongos saprofitos: estos hongos se alimentan de tomar nutrientes de alimentos muertos, plantas o animales en descomposición. Por lo general estas especies se encuentran en bosques donde existe mayor generación de hojas y ramas muertas. Se consideran los recicladores de los ecosistemas ya que transforman el material orgánico en descomposición en material inorgánico [11].
- Hongos parásitos: el hongo se alimenta de plantas o animales vivos causando diferentes enfermedades a las plantas o animales. Por lo general causan la muerte de los animales o plantas de las cuales viven, estos hongos constituyen el 90% de los parásitos vegetales en los bosques [12].
- Hongos simbióticos: se caracterizan por ser organismos vivos que viven en relación con otro organismo, la relación es netamente beneficiosa entre el ser vivo y el hongo, un ejemplo de este tipo de hongos son los líquenes los cuales establecen una relación entre la planta y el hongo para sobrevivir.

Los hongos poseen sus propias células biológicas conocidas como hifas las cuales están constituidas por células tubular conformadas por quitina, la hifa de manera natural crece y se extiende hasta formar un gran conglomerado conocido como micelio el cual brinda resistencia y soporte al hongo, en el interior de los micelios se encuentran los orgánulos suficientes para el

funcionamiento y nutrición del hongo. Algunas hifas poseen septos que son divisiones o pliegues formados a lo largo del crecimiento de las hifas [10].

De manera general existen condiciones que no pueden faltar o ser sustituidas para el crecimiento y desarrollo del hongo, las cuales son: los nutrientes mencionados anteriormente ya sea que se encuentren en un medio natural o artificial de cultivo; la luz la cual juega un papel fundamental en su desarrollo; el pH es un factor condicionante ya que si no se ubica el pH óptimo del microorganismo este no crece; el oxígeno el cual es un compuesto propio de la respiración de los hongos, su ausencia puede limitar su desarrollo pero no impedirlo y por último se encuentra la temperatura la cual es una de las condiciones más importantes en los hongos ya que si se somete el hongo a temperaturas diferentes por debajo de su temperatura adecuada se podría causar una inhibición en el crecimiento del microorganismo [9].

1.2.3 Tipos de Reproducción

En los hongos existen dos tipos de reproducción sexual y asexual; de las cuales existen hongos que poseen las dos características o solo poseen una, eso varía según la especie. A continuación, se hará una descripción más detallada de los tipos de reproducción y el comportamiento del hongo durante este proceso.

1.3.3.a. Reproducción asexual. Esta reproducción es común en la mayoría de los hongos presentes en la tierra, estos microorganismos se caracterizan por tener esporas las cuales son células especializadas en desarrollar crecimiento cuando detectan los nutrientes y condiciones de crecimiento adecuadas, las dos esporas más conocidas en la naturaleza son conidias y esporangiosporas, la presencia de una o de la otra va en la especie del hongo de estudio, estas esporas permiten la supervivencia de los hongos que se reproducen de manera asexual. Una de las características principales que representa una reproducción asexual es que estas especies poseen un alto porcentaje de supervivencia ya que pueden realizar su reproducción en cualquier momento de su vida sin esperar la presencia de otro organismo que pueda realizar la fecundación, este ciclo reproductivo se ve desencadenado por la mitosis celular que se desarrolla por las esporas [10].

Debido a la facilidad con la que se puede generar la reproducción asexual se pueden reproducir en cualquier momento de su vida y producir gran variedad de microorganismos, ya que por lo general se forman una gran cantidad de esporas con alta probabilidad de formación de organismos vivos. Cabe resaltar que el comportamiento, formación o diseminación de la spora varía según la

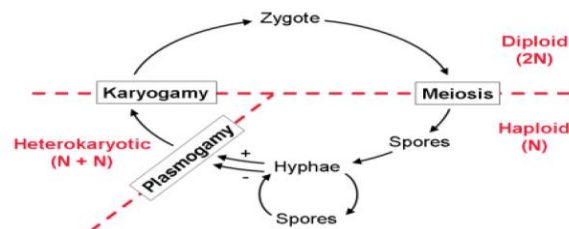
especie de hongo, dado que existen diferentes métodos de formación y ubicación de los esporas o semillas de reproducción de dichos organismos, algunos se desprenden de los hongos por la ruptura del esporangio y otros como las conidias se van desprendiendo de manera gradual de las hifas del hongo, sin embargo existe una gran variedad de conidias ya que dependen del hábitat y crecimiento del hongo [13].

1.3.3.b. Reproducción sexual. “La reproducción sexual o perfecta de los hongos se produce por los órganos sexuales los cuales son conocidos como gametangios, estos son los encargados de la formación de la células gametas en donde se contienen uno o más núcleos gaméticos” [9]. En esta clase de microorganismos su reproducción se limita una sola vez al año ya que depende de las esporas formadas y las condiciones generadas para que se puede producir la reproducción sexual. Esta reproducción se puede clasificar en tres fases: plasmogamia, cariogamia y meiosis.

La plasmogamia consiste en la fusión de dos gametos haploides, seguido esto comienza la cariogamia en donde se forma el cigoto diploide dándole paso a la fase final la cual es la meiosis la cual consiste en la división nuclear de los núcleos formados en la fase cariogamia, para que este proceso se lleve a cabo es necesario la producción de los dos órganos sexuales macho y hembra, sin embargo es muy raro encontrar por separado las órganos sexuales en dos organismos diferentes, por lo general el mismo organismo posee los dos órganos sexuales para facilitar la reproducción de estos microorganismos [10]. La figura 3 esquematiza el ciclo de manera general que se lleva en la reproducción sexual de los hongos, mostrando la transición de las fases y el papel que cumple dentro de este método de reproducción.

Figura 3.

Ciclo en la reproducción sexual de los hongos.



Nota. La figura representa el ciclo desarrollado por un hongo en una reproducción sexual. Tomada de: T. M. Abdelghany, “Mycology,” vol. 13, no. July, pp. 8012–8023, 2018.

1.2.4 Clasificación de los hongos

Los hongos se pueden clasificar de diferentes maneras una de ellas es la forma de alimentación, seguida de la forma de reproducción la cual es la clasificación más importante ya que por la gran cantidad de especies existentes es la forma más fácil de clasificar estos microorganismos. A continuación, se describirán algunas familias que toman como base su método de reproducción a la hora de realizar la clasificación.

1.2.3.a. Chytridiomycota. El filo chytridiomycota se caracteriza por organismos que viven en diferentes ecosistemas entre ellos se encuentran aguas frescas, lodos, aguas marinas y desiertos, siendo la humedad el factor condicionante para su desarrollo. Su reproducción predomina de la forma asexual realizada por medio de zoosporas con un solo flagelo, algunas especies se pueden reproducir de manera sexual pero no es muy común encontrar este tipo de hongo en este filo de clasificación [14].

Se catalogan de manera general como microorganismos parásitos ya que viven de los organismos planctónicos que se encuentran en las superficies de los cuerpos de agua, sin embargo, su existencia en los cuerpos de agua es considerada un factor importante para el sostenimiento de los ecosistemas acuáticos, ya que la producción de zoosporas sirve como alimento para el zooplancton y ayudan a descomponer material orgánico en inorgánico, siendo fundamental en la cadena trófica acuática. En cuanto a su alimentación degradan la quitina, queratina, celulosa y hemicelulosa [15].

1.2.3.b. Glomeromycota. El filo glomeromycota tiene como característica principal una reproducción de forma asexual, por medio de la producción de esporas multinucleadas las cuales son las encargadas de la supervivencia del hongo. Esta clase de hongos habita en suelos o plantas, donde se alimentan de nutrientes específicos del suelo, a medida que ha pasado el tiempo los hongos Glomeromycota se han ido adaptando a las condiciones variantes en los nutrientes de los suelos y plantas [10], [9], [14].

1.2.3.c. Zygomycota. El filo Zygomycota es uno de los más representativos en el reino fungi y se caracterizan por tener una reproducción sexual, la cual consiste en la producción de “esporas conocidas como zigosporas de paredes gruesas las cuales poseen sustancias poliméricas que le permiten a la espora resistir condiciones adversas y recuperar la viabilidad cuando estas condiciones mejoren” [9], por lo general son organismos mutualistas o saprofitos. De manera

general poseen un micelio bien desarrollado capaz de penetrar las paredes de los organismos vivo del cual se alimenta, la pared celular de dicho micelio se encuentra principalmente formado por quitina y quitosano [10], [9].

1.2.3.d. Ascomycota. Este filo genera como medio de reproducción las esporas conidias las cuales son las encargadas de la supervivencia del hongo. Dentro de esta división se encuentran más de 15.000 especies de hongos distribuidos en diferentes ámbitos de la naturaleza, algunas de ellas son levaduras, mohos negros, mohos verdes y colmenas [10], [9].

1.2.3.e Basidiomycota. Este filo representa más de 35.000 especies las cuales representa el 37% de los hongos en el planeta, de manera general comprenden una reproducción sexual por medio de las basidiósporas, y al igual que los Ascomycota poseen una clasificación muy variada la cual está comprendida desde hongos para alimento hasta hongos muy patógenos causantes de descomposición. Sin embargo el capítulo siguiente se darán más características de este filo ya que a este pertenece el hongo de estudio tratado en este documento [10], [14].

1.2.5 División Basidiomycota

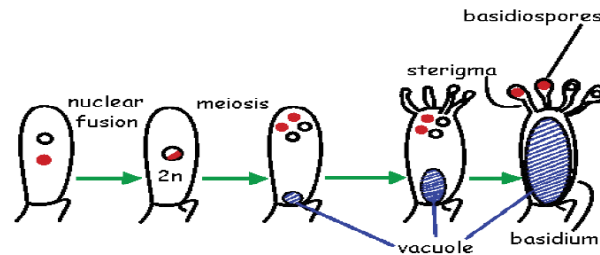
Ya que el microorganismo de estudio en la presente investigación pertenece a los basidiomicetos se realiza una profundización estos teniendo que, esta división se caracteriza por ser un grupo monofilético constituido con más de 30.000 especies de hongos y aún muchas más sin descubrir, se consideran hongos que tiene una gran capacidad de evolución por la complejidad de sus hifas y basidiósporas, lo que los convierte en organismos importantes para el funcionamiento de múltiples ecosistemas naturales, ya que ayudan con la descomposición de desechos ricos en lignina y adicional a ello son fuente de carbohidratos y proteínas para un gran número de animales [13].

Una de las características más importantes y notorias en esta clase de hongos es su reproducción, ya que presentan una reproducción sexual, constituida principalmente por la producción de basidiósporas que son las encargadas de la supervivencia de los organismos, fenómeno reproductivo que se basa en la esporulación de las basidiósporas por medio de la formación de un basidio en el cuerpo del hongo, la figura 4 esquematiza la formación de las basidiósporas, sin embargo es necesario mencionar el comportamiento de las hifas que poseen los basidiomicetos ya que posee hifas bien definidas y septos en las que se forma un dicarion el cual consiste en la unión

citoplasmática de dos núcleos sin generar fusión nuclear, estos núcleos se encuentran divididos y se forma una condición di-nucleado dentro de las hifas de los hongos [13], [16].

Figura 4.

Formación de la basidióspora y el basidio



Nota. La figura representa el ciclo desarrollado por un hongo en una reproducción sexual. Tomada de: T. M. Abdelghany, "Mycology," vol. 13, no. July, pp. 8012–8023, 2018.

Estos hongos se caracterizan por ser microorganismos degradadores de lignina empleando su maquinaria enzimática, la cual posee poca especificidad lo que permite realizar un proceso hidrolítico a diferentes compuesto, esta máquina enzimática varía según la clase de hongo estudiado, ya que no todos los basidiomicetos son degradadores de lignina, lo que conlleva una máquina enzimática menos compleja [13], [16], [10].

Adicional a esto las septas permiten la penetración al sustrato y permite absorber con mayor facilidad los nutrientes y expulsar las enzimas encargadas del proceso hidrolítico al exterior del microorganismo [17]. El micelio se puede clasificar en tres categorías, la primera es conocida como micelio primario, el cual se forma cuando la basidióspora germina luego de ser expulsada del esterigma, inicialmente es poli-nucleada, pero a medida que avanza su desarrollo se forman septos que dividen el micelio en compartimientos individuales. La segunda clasificación es conocida como micelio secundario o dicariótico, en donde se desarrolla la interacción entre dos micelios monocarióticos compatibles; y por último tenemos el micelio terciario, el cual está representado por tejidos organizados y especializados los cuales son capaces de formar cuerpos fructíferos o basidiocarpos.

Los basidiocarpos o cuerpos fructíferos en los basidiomicetos no tiene forma o composición específica ya que varían según las especie de hongo de estudio, esta parte del hongo se forma en una zona del hongo conocida como himenio donde se genera el crecimiento y formación de micelios terciarios [17].

Debido a que existe una gran variedad de especies en este filo, se pueden encontrar varias aplicaciones ya sean farmacéuticas, anti fúngicas o alimentarias, algunas serán enunciadas a continuación:

- **Antibióticos:** esta aplicación se caracteriza por ser la más conocida en este tipo de hongos dado que las células microbianas son capaces de sintetizar sustancias farmacéuticas que pueden ser utilizadas como fines médicos en las personas, de manera general la síntesis de estas sustancias se dan cuando el microorganismo realiza la producción de su metabolito secundario los cuales son ricos en terpenoides [18].
- **Aromas:** los hongos basidiomicetos en la formación de su micelio y cuerpo fructífero generan sustancias conocidas como aromáticas las cuales se sintetizan a base de un anillo aromático el cual produce una aroma dulce, es por ello que llama la atención en industrias alimentarias y cosméticas [18].
- **Productores de enzimas e inhibidores naturales:** debido a la alta producción enzimática que presentan los hongos basidiomicetos se puede encontrar una gran variedad de sustancias sintetizadas por las enzimas presentes en el hongo, dentro de estos compuestos se pueden clasificar compuestos de inhibición bacteriana ya que son generados por el sistema de defensa que posee el hongo para su protección, existen otras enzimas capaz de regular la cantidad de determinadas sustancias del hongo, las cuales son aisladas y estudiadas en laboratorios para futuras aplicaciones [18].

Los hongos basidiomicetos se caracterizan por tener tres subclases las cuales se encuentran clasificadas según la formación de sus cuerpos fructíferos, a continuación, se dará una breve descripción de las características generales que compren cada subclase.

- **Teliomycetidae.** Esta subclase se caracteriza principalmente por no tener esporas de reposo binucleados conocidas como basidiocarpos, en lugar de ello desarrolla paredes bien gruesas en las cuales almacena sus esporas conocidas como telioesporas. Adicional a ello poseen un micelio bien

formado, clasificando dentro de este subgrupo de microorganismos como las royas y los tizones. Dentro de esta subclase se pueden encontrar las familias Ustilaginales y Uredinales [10].

- **Holobasidiomycetidae.** Dentro de esta subclase se pueden encontrar gran variedad de especies y hábitats como lo son pastizales, bosques, estiércol, hojarasca y dunas de arena, gran parte de estos hongos son saprofitos y otros son destructores de la manera considerados como hongos lignocelulósicos o de pudrición blanca. En cuanto a su morfología poseen un basidio simple poco septado el cual posee una forma de garrote o cilindro y su reproducción se da por la formación de basidiosporas en los esterigmas del hongo. Dentro de esta subclase se pueden encontrar algunas de las siguientes familias: Agaricaceae, Bolbitiaceae, Coprinaceae, Pleurotaceae, Pluteaceae, entre otras [10], [19].
- **Phragmobasidiomycetidae.** Esta subclase se caracteriza por ser hongos de basidios divididos en tabiques que poseen cuerpos fructíferos blandos, gelatinosos o cremosos. Dentro de esta subclase se pueden encontrar hongos saprofitos, parásitos y simbioses [20], [10].

1.3 Poliestireno expandido

El poliestireno expandido también conocido como EPS se caracteriza por ser un material derivado del petróleo para ser más precisos es producido por la polimerización del estireno un líquido incoloro que se obtiene luego un largo proceso de alquilación y transformación de las naftas obtenidas en la refinación del crudo.

A continuación, se dará una descripción general de las características, usos, métodos de fabricación e impactos ambientales generados por el poliestireno teniendo este como función principal ser empleado como embalaje de toda clase de productos por sus condiciones de resistencia y bajo peso.

1.3.1 Generalidades del poliestireno expandido

El EPS se caracteriza por ser un material que cuenta con bajas densidades que van desde 10 kg/m³ hasta 35 kg/m³ [21], lo que lo convierte en un material de bajo peso fácil de transportar y usar, sin perder su rigidez, su composición química se basa en 98% de aire y 2% de poliestireno [22], esta composición le permite emplearse como aislante térmico, material para construcción y material de embalaje por su carácter resistente, rígido y duradero, otras cualidades que se le pueden atribuir a este material son las siguientes:

- Resistencia al envejecimiento.
- Amortigua impactos.
- Alta resistencia química.
- Alta resistencia mecánica.
- Resistencia a la humedad.

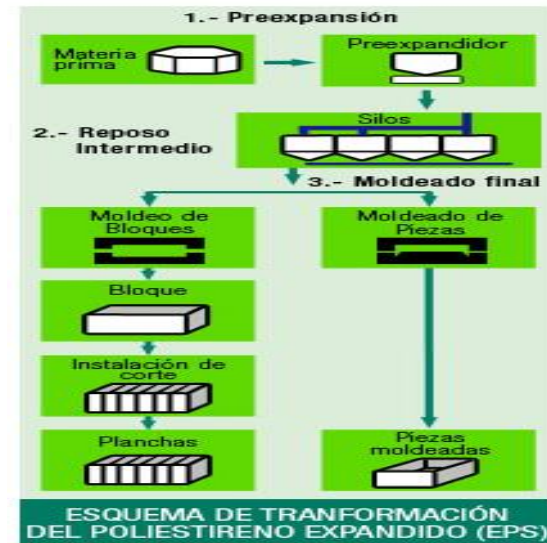
La fabricación del poliestireno se puede resumir en tres pasos importantes los cuales se basan en la transformación del estireno por medio del agente porógeno en este caso el pentano compuesto que provoca la expansión del poliestireno, estos pasos serán enunciados a continuación:

- Pre-expansión: en este paso el poliestireno expandible formado previamente por agua y estireno en un reactor, se calienta con vapor de agua aproximadamente a una temperatura entre 80°C y 100°C, el tiempo de contacto y la temperatura son factores determinantes para lograr disminuir la densidad del material de 630 kg/m³ a un rango entre 10 kg/m³ a 35 kg/m³, en este paso se logra la formación de pequeñas perlas de plástico conformada en su interior por pequeñas celdas de aire cerradas [22].
- Reposo intermedio y estabilización: una vez realizada la pre-expansión del material se somete a contacto directo con aire el cual se difundirá a través de las perlas logrando expandir en mayor proporción el material causado por la difusión del aire en las celdas internas formadas, una vez terminado el proceso de difusión se procede a secar el material, este proceso se realiza a condiciones ambiente lo cual beneficia la consolidación del material y mejora las propiedades mecánicas de este [22].
- Expansión y modelado: las perlas expandidas y secas se introducen en moldes donde en contacto con vapor de agua se unen logrando una adhesión entre moléculas tomando la forma del molde al cual fueron instaladas las perlas expandidas, en este paso se obtienen las piezas o partes de poliestireno expandido según la aplicación o uso que se le desee dar [22].

La figura 5 ilustra el paso a paso para la formación de piezas o materiales a base de poliestireno expandido, este material tiene variadas aplicaciones las cuales serán descritas posteriormente.

Figura 5.

Proceso de conformación del EPS



Nota. La figura esquematiza el paso a paso a seguir en la conformación del Poliestireno Expandido. Tomado de: “anape - Asociación Nacional de Poliestireno Expandido.” <http://www.anape.es/index.php?accion=producto> (accessed Apr. 08, 2021).

1.3.1.a. Propiedades mecánicas del poliestireno expandido. El poliestireno expandido se caracteriza por tener una amplia aplicación atribuidas a sus propiedades mecánicas siendo estas descritas a continuación:

1.3.1.a.i. Resistencia a la flexión. La resistencia a la flexión se caracteriza por ser un ensayo físico que permite determinar el comportamiento tensión-deformación de un material, este ensayo se basa en evaluar la resistencia de un material cuando se le aplica un esfuerzo perpendicular al eje longitudinal del material, el material se somete a la acción de la carga, la línea neutra se ira flexionando denominándose flecha a la distancia entre la disposición inicial de dicha línea y las posiciones instantáneas que se tomen [23], la norma ASTM C3030-98 establece los rangos que debe tener el material según la aplicación que se le quiera dar.

1.3.1.a.ii. Resistencia a la compresión. Este ensayo permite determinar la capacidad de un material para resistir las fuerzas que intentan comprimirlo. El EPS se caracteriza por ser un material visco-elástico característica que indica que solo se puede lograr una deformación del 10%, el proceso de fabricación, la densidad y la temperatura son factores que influyen de manera considerable en la deformación de la pieza de estudio [22].

Esta es una de las características principales estudiadas en los materiales de espuma rígida, esta propiedad física varía según el tiempo de fabricación pues al medir la resistencia a la compresión de materiales recién hechos poseen un 70% mientras que al cabo de 24 horas este porcentaje aumenta a un 90%, esto se debe a la relación que establece el material con la presión atmosférica del medio y la liberación del agente de expansión residual. Este ensayo se rige bajo lo establecido por la norma ASTM 1621-10 donde se dan los rangos permitidos en el material dependiendo el uso que se le quiera dar [23].

1.3.1.a.iii. Resistencia a la tracción. este ensayo mecánico permite establecer la rotura dúctil o frágil de los materiales [23], para el poliestireno expandido es necesario identificar este rango de operación dado que por medio de este se puede establecer el uso que se le dará y las condiciones bajo las cuales se puede trabajar, generalmente se estudia el comportamiento del material a temperatura ambiente realizando a su vez un segundo ensayo con temperaturas inferiores para identificar el comportamiento del material.

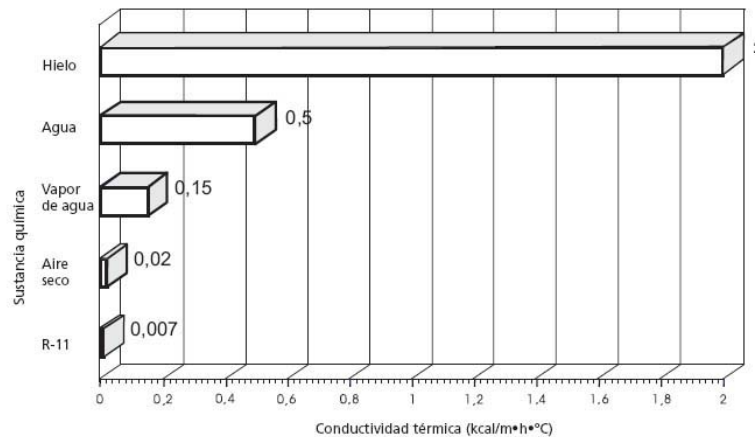
1.3.1.a.iiii Resistencia al impacto. la resistencia al impacto se realiza a materiales que en su vida útil serán sometidos a golpes o esfuerzo [24], el poliestireno expandido al ser empleado como material de embalaje debe ser sometido a este ensayo con el fin de identificar la capacidad de resistencia, por medio de este se puede establecer el valor de capacidad del material de absorber cargas instantáneas.

1.3.1.a.iiiii. Resistencia a la cizalladura o esfuerzo cortante. es esfuerzo cortante es la fuerza resultado generada por los esfuerzos horizontales y verticales aplicados al material [25], en el cual se evalúa la resistencia del material a fuerzas aplicadas en diferentes posiciones, el poliestireno expandido al tener gran aplicación industrial se hace necesario estudiar este fenómeno físico pues en la mayoría de sus usos se encontrara expuesto a esfuerzos cortantes los cuales podrían generar fracturas o daños en el material, causando problemáticas en los campos de aplicación.

1.3.1.b. Comportamiento térmico. El poliestireno expandido (EPS) se caracteriza por ser un material que posee excelentes propiedades térmicas, esto se debe a su composición dado que este material es 98% aire en reposo y el aire en reposo actúa como aislante térmico ya sea en medios calientes o fríos, una de sus mayores aplicaciones es como aislante en casas, edificios o en como recubrimiento de equipos en diferentes industrias. La figura 6 ilustra el comportamiento que presenta el aire en reposo frente al agua y el hielo en cuanto a su conductividad térmica, mostrándose como uno de los materiales que menor conductividad térmica realiza con sus alrededores [26].

Figura 6.

Grafica conductividad térmica en distintos materiales



Nota. Esta figura muestra el comportamiento de diferentes materiales frente a la conductividad térmica. Tomado de: Organización de las naciones unidas, “Materiales termoaislantes, características técnicas y criterios de selección.” <http://www.fao.org/3/y5013s/y5013s07.htm> (accessed Apr. 08, 2021).

Según la organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura (FAO), según la densidad del poliestireno expandido se tienen distintos valores de conductividad térmica reportados en la tabla 1, el tipo de poliestireno aplica según sea el uso que se le quiere dar en el ciclo de vida del material.

Tabla 1.

Valores conductividad térmica según la densidad

Tipo	Densidad (kg/m³)	Conductividad Térmica (W m-1 °C-1)/(kcal h-1 m-1 °C-1)
Espuma expandida de tipo I	10	0,057/0,049
Espuma expandida de tipo II	12	0,044/0,038
Espuma expandida de tipo III	15	0,037/0,032
Espuma expandida de tipo IV	20	0,034/0,029
Espuma expandida de tipo V	25	0,033/0,028
Espuma extruida rígida	33	0,033/0,028

Nota. Esta tabla muestra los distintos valores de conductividad térmica a una temperatura de 0°C. Tomado de: Organización de las naciones unidas, “Materiales termoaislantes, características técnicas y criterios de selección.” <http://www.fao.org/3/y5013s/y5013s07.htm> (accessed Apr. 08, 2021).

1.3.1.c. Comportamiento frente al agua y vapor de agua. El EPS es un material no higroscópico, esto quiere decir que no es afín con las moléculas de agua, las repele por completo, este fenómeno se debe al orden molecular del material, sus valores de absorción del agua va entre el 1% y el 3% en volumen, incluso sumergido durante 28 días en agua no supero estos porcentajes de absorción [22], este comportamiento ideal puede variar si es cometido a altos gradientes de temperatura haciendo que aumenten los porcentajes mencionados anteriormente. En cuanto al vapor de agua el EPS posee un carácter más afín mostrando un aumento es su porcentaje de absorción puesto que el vapor de agua si es capaz de penetrar los poros del material generando una alta difusión en las moléculas del material, esto comportamiento se magnifica cuando existe un alto gradiente de temperatura.

1.3.1.d. Estabilidad frente a altas temperaturas. La temperatura es uno de los factores más importantes en el comportamiento físico del EPS dado que este factor es el que determina la eficiencia y conservación del material. El EPS no se puede exponer a temperaturas superiores a los 100°C ya que por encima de esta comienza a sufrir cambios físicos y químicos que perjudican el funcionamiento y estabilidad del material [22], como rango mínimo de temperatura no se establece ninguno puesto que sus moléculas no generan alteraciones en su estructura a bajas temperaturas, por el contrario mantiene sus propiedades constantes, si se desea realizar exposiciones prolongadas a altas temperaturas se recomiendan temperaturas no superiores a los

80°C ya que pueden empezar a variar algunas propiedades físicas del EPS como la rigidez y la ductilidad.

1.3.1.e. Comportamiento frente a factores atmosféricos. El EPS debido a su composición química y formación es un material durado que no se ve afectado por condiciones de exposición prolongada al viento, lluvia o agua y no se degrada fácilmente, sin embargo el único factor que altera o genera algún impacto en el EPS es la radiación UV ósea la exposición prolongada a los rayos del sol, esta exposición prolongada genera desgaste superficial y cambia el color natural blanco del material tornándolo amarillo [22].

1.3.1.f. Comportamiento frente al fuego. Generalmente el poliestireno expandido tiene una temperatura de 100°C como temperatura de descomposición química, por encima de esta temperatura el EPS se comienza a reblandecer y contraer, esto se debe a que el aire en reposo se comienza a escapar provocando una contracción en el material. Cuando existe un foco de ignición cerca este material se comienza a fundir hasta quedar en estado líquido, sin foco de ignición su descomposición total se dará hasta los 400-500°C [22].

1.3.1.g. Propiedades biológicas. El EPS se caracteriza por ser un material que no genera ningún tipo de nutriente para los microorganismos ni se ve afectado por el ataque ya sea de hongos o de bacterias, es duradero, no se pudre y en especial no se descompone con facilidad por lo tanto no genera ningún tipo de gas o sustancia contaminante para el medio ambiente. Se puede disponer en los residuos sólidos llevados a los rellenos sanitarios dado que no representa peligro para el medio ambiente ni tampoco segrega algún tipo de compuesto que se pueda lixiviar a suelos o aguas [22].

1.3.1.h. Propiedades químicas. La tabla 2 muestra el comportamiento del EPS frente a distintas sustancias químicas que existen en el medio ambiente o son producidos de manera artificial por el hombre, sin embargo en términos generales el poliestireno es bastante estable frente la mayoría de compuestos químicos [22].

Tabla 2.*Comportamiento del EPS frente a distintos compuestos químicos*

Sustancia Activa	Estabilidad
Solución salina (Agua de mar)	Estable: el EPS no se destruye con acción prolongada
Jabones y soluciones de tensoactivos	Estable: el EPS no se destruye con acción prolongada
Lejías	Estable: el EPS no se destruye con acción prolongada
Ácidos diluidos	Estable: el EPS no se destruye con acción prolongada
Ácido clorhídrico (al 35%), ácido nítrico (50%)	Estable: el EPS no se destruye con acción prolongada
Ácidos concentrados	No estable: el EPS se contrae o disuelve
Soluciones alcalinas	Estable: el EPS no se destruye con acción prolongada
Disolventes orgánicos (acetona, ésteres, ...)	No estable: el EPS se contrae o disuelve
Hidrocarburos alifáticos saturados	No estable: el EPS se contrae o disuelve
Aceites de parafina, vaselina	Estable: el EPS no se destruye con acción prolongada
Aceite diésel	No estable: el EPS se contrae o disuelve
Carburantes	No estable: el EPS se contrae o disuelve
Alcoholes (metanol, etanol)	Estable: el EPS no se destruye con acción prolongada
Aceites de silicona	Relativamente estable: en una acción prolongada, el EPS puede contraerse o ser atacada su superficie.

Nota. Esta tabla muestra el comportamiento del EPS frente a diferentes sustancias químicas a temperatura ambiente y presión atmosférica. Tomado de: “anape - Asociación Nacional de Poliestireno Expandido.” <http://www.anape.es/index.php?accion=producto> (accessed Apr. 08, 2021).

1.3.2 Usos del poliestireno expandido

El poliestireno expandido se caracteriza por ser un material que posee una amplia gama de usos y aplicaciones todo esto se debe a las propiedades físicas y mecánicas que presenta el material, a continuación, se enunciarán algunas de las posibles aplicaciones que se puede dar a este material en diferentes industrias y ámbitos de la vida cotidiana.

1.3.2.a. Aplicaciones en Ingeniería Civil y/o construcciones. El EPS al ser un material ligero y duradero tiene como gran aplicación el uso en distintas construcciones ya sea como relleno o soporte, en la actualidad se está empleando en la infraestructura de líneas ferroviarias, pantallas acústicas, diques y como soporte o material intermedio en los muros de las edificaciones de este siglo, todo esto se debe a que este material ayuda a disminuir el gasto energético en lugares cerrados pues es un excelente aislante térmico y acústico [27].

1.3.2.b. Empaque y embalaje. El EPS por sus características de ligereza, resistencia y adaptabilidad es altamente usado en embalaje de distintos productos industriales, los cuales van desde un ordenador, un medicamento o algún elemento electrónico que necesite ser protegido durante su distribución y transporte, el valor agregado a este material es que no genera ningún tipo de sobre costo a la hora de realizar el transporte de los productos, haciendo que el producto se distribuya de manera segura y confiable, adicionalmente es un excelente amortiguador ya que adsorbe toda la energía producida por golpes y vibraciones asociadas a su transporte evitando el daño el producto embalado. El EPS también puede servir como empaque de alimentos en especial congelados o de mar, esto se debe al carácter aislante que este posee lo que permite mantener los productos a bajas temperaturas garantizando conservación del producto adicional esto el EPS se caracteriza por ser un material que no permite el desarrollo de microorganismos ya sean hongos o bacterias en la superficie del empaque en el cual se encuentra en alimento [22].

El uso de este material como material de empaque para alimentos fue autorizado por la FDA ya que ellos realizaron bastantes estudios que aseguraran que el contacto de los alimentos con este material no genera ningún riesgo para la salud humana [28].

Algunos ejemplos de estos productos son: cajas apilables de alimentos, embalajes de mercadería frágil, envases y embalajes para transporte aéreo, cajas de productos congelados, envases de contacto directo con productos alimenticios, vasos térmicos, entre otros.

1.3.3 Impacto ambiental del poliestireno expandido

El EPS es un material que se fabrica para ser usado por unas pocas horas o incluso durante minutos, sin embargo, el tiempo de vida útil puede llegar a tener es aproximadamente de 500 años o incluso más indicando que es un material no biodegradable. Debido a su facilidad de uso y disposición este material tiene una amplia demanda actual según Asoplasticos “Colombia genera 19,9 millones de toneladas de residuos sólidos y productos residuales al año: 58,7% por actividad industrial y 41,3% por los hogares de los cuales el 10,7% provienen de materiales plásticos” [29].

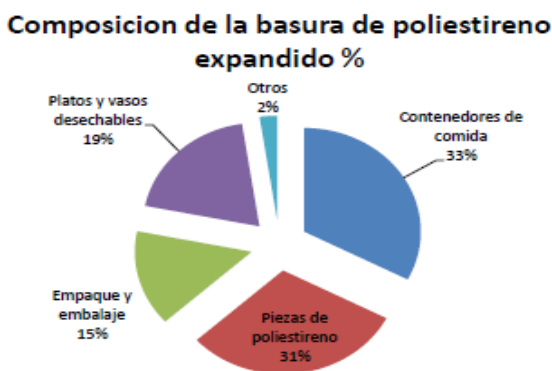
En Colombia se emplean aproximadamente 80.000 ton/año de EPS del cual el 38% es usado de las cuales únicamente 500 ton/año son recicladas esto es equivalente al 0,006% del EPS utilizado. Se estima que la demanda anual del EPS crezca un 2% debido a su carácter económico y funcional muchas compañías buscan implementarlo como material de empaque y embalaje por su facilidad de uso y bajo costo, sin embargo su disposición no se realiza de manera correcta lo que genera un

aumento en volumen en los materiales sólidos dispuestos en los rellenos sanitarios o lugares destinados para albergar dichos residuos, causando contaminación en distintos ecosistemas terrestres y en especial acuáticos, se estima que 18.000 piezas de basura plástica flotan por cada kilómetro cuadrado de océano [30], causando problemáticas ambientales en cuanto a la fauna y flora de estos ecosistemas pues este material flota en las aguas y son confundidos como alimento por animales como peces y tortugas los cuales los ingieren y les causa la muerte.

La figura 7 muestra la composición porcentual del EPS en cuanto a sus usos, cabe resaltar que el EPS puede ser reciclado pero su porcentaje no supera el 10% dado que es un proceso costoso y difícil, pues el proceso térmico realizado previamente al EPS dificulta su tratamiento y reutilización, actualmente se estudian métodos de reciclaje bien sea por adición de solventes o realizar quemas para la generación de CO₂ y vapor de agua para ser empleado como medio de combustible o energía en diferentes industrias.

Figura 7.

Porcentaje de distribución del EPS

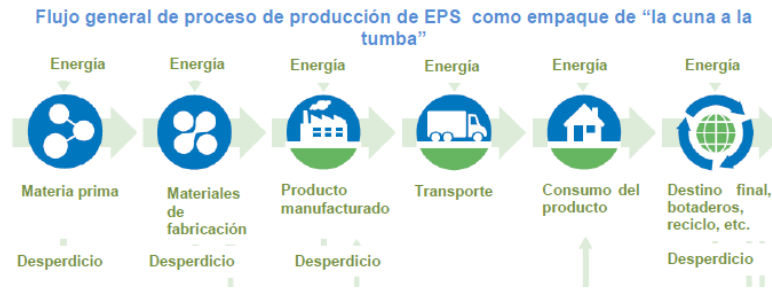


Nota. Esta figura muestra la distribución industrial del EPS. Tomado de: Tesis. E. A. Arriola Lara and F. E. Velasquez Martell, “Evaluación técnica de alternativas de reciclaje de poliestireno expandido (EPS),” p. 225, 2013, [Online]. Available: [http://ri.ues.edu.sv/5033/1/Evaluación técnica de alternativas de reciclaje de poliestireno expandido \(EPS\).pdf](http://ri.ues.edu.sv/5033/1/Evaluación_técnica_de_alternativas_de_reciclaje_de_poliestireno_expandido_(EPS).pdf).

1.3.3.a. Ciclo de vida del poliestireno expandido. El ciclo de vida de un material es aquel que permite evaluar el impacto potencial generado al medio ambiente, este análisis se realiza a lo largo de todo el ciclo de vida del material también conocido como “de la cuna a la tumba” pues se evalúan todos los aspectos relacionados con su fabricación, proceso productivo, uso y por último su disposición, para el EPS el último ciclo es el más importante pues es allí en donde se genera el mayor impacto ambiental. En este análisis se debe tener en cuenta entradas como energías, materias primas, agua y demás materiales asociados al proceso productivo y de la misma manera se evalúan las salidas en cuanto al aire, agua y suelos [30]. La figura 8 muestra el ciclo de vida general del poliestireno expandido.

Figura 8

Diagrama del ciclo de vida del EPS



Nota. Esta figura representa el ciclo de vida que lleva el EPS. Tomado de: Tesis. E. A. Arriola Lara and F. E. Velasquez Martell, “Evaluación técnica de alternativas de reciclaje de poliestireno expandido (EPS),” p. 225, 2013, [Online]. Available: [http://ri.ues.edu.sv/5033/1/Evaluación técnica de alternativas de reciclaje de poliestireno expandido \(EPS\).pdf](http://ri.ues.edu.sv/5033/1/Evaluación_técnica_de_alternativas_de_reciclaje_de_poliestireno_expandido_(EPS).pdf).

1.3.3.b. Reciclaje del poliestireno expandido. El poliestireno expandido no es un material fácil de reciclar, sin embargo se recicla el 12% del EPS dispuesto como desecho [31], el proceso de reciclaje se puede realizar de varias formas, estos métodos de transformación y uso están ilustrados en la figura 9 la cual permite tener una idea de la aplicación que se le puede dar al poliestireno expandido luego de su proceso de reciclaje.

Figura 9

Aplicaciones del reciclado mecánico del EPS



Nota. Esta figura representa el ciclo de vida que lleva el EPS. Tomado de: E. A. Arriola Lara and F. E. Velasquez Martell, “Evaluación técnica de alternativas de reciclaje de poliestireno expandido (EPS),” p. 225, 2013, [Online]. Available: [http://ri.ues.edu.sv/5033/1/Evaluación técnica de alternativas de reciclaje de poliestireno expandido \(EPS\).pdf](http://ri.ues.edu.sv/5033/1/Evaluación_técnica_de_alternativas_de_reciclaje_de_poliestireno_expandido_(EPS).pdf).

2. IDENTIFICAR LAS CONDICIONES DE CRECIMIENTO DEL HONGO *Pleurotus ostreatus* PARA LA COLONIZACIÓN DE SUSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS POR REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El hongo *Pleurotus ostreatus* el cual es la base de estudio de esta investigación se caracteriza por ser un hongo basidiomiceto capaz de degradar materiales lignocelulósicos por medio de la segregación de enzimas especializadas, que permiten al hongo realizar un proceso hidrolítico a la molécula obteniendo energía y nutrientes de estas. A continuación, se explicarán todas las características del hongo desde lo más general hasta lo más específico, iniciando con las características propias del hongo y terminando con las condiciones adecuadas para reproducción y crecimiento, ya que para poder identificar los parámetros de crecimiento es necesario identificar primero contextualizar las condiciones morfológicas y fisiológicas del microorganismo.

2.1 *Pleurotus ostreatus*

La selección del hongo *Pleurotus ostreatus* se ve asociada a su fácil tratamiento y excelente capacidad de degradar residuos lignocelulósicos, ya que la finalidad de esta investigación es realizar un material a base de micelio fúngico del hongo, partiendo de la colonización que realiza el hongo en diferentes sustratos lignocelulósicos, sin embargo para conocer mejor al hongo de estudio se realiza una revisión bibliográfica encontrando que pertenece a la familia de los basidiomicetos del orden de los Holobasidiomycetidae, el cual se caracteriza por ser un hongo saprofito de pudrición blanca, heterótrofo, descomponedor de materiales lignocelulósicos, el cual crece de manera natural en madera, aserrín, tallos de algodón, salvado de trigo, residuos de café, paja de trigo, avena, centeno, heno o cualquier otra material rico en celulosa, hemicelulosa y lignina [32]. La palabra *Pleurotus* viene del griego “pleuro” que significa en posición lateral, lo cual hace referencia a la posición en la cual crece el píleo del hongo, mientras que la palabra “*ostreatus*” en latín significa ostra el cual se refiere a la forma del cuerpo fructífero del hongo, ya que presenta una ondulación quedando con forma de ostra [32].

Con las generalidades del hongo mencionadas anteriormente se muestra en términos generales el comportamiento del hongo sin embargo es necesario conocer la clasificación taxonómica del hongo de trabajo ya que se pueden establecer condiciones más específicas, dicha clasificación se encuentra reportada en la tabla 3, lo cual permite establecer información de la procedencia del

hongo y deducir algunos comportamientos según lo estudiado en secciones anteriores del documento, ya que las divisiones de los hongos permite identificar características generales y comportamientos establecidos para las especies que la conforman encontrando un hongo basidiomiceto lo que indica que es un hongo que emplea basidiósporas para su reproducción.

Tabla 3.

Clasificación taxonómica

Clasificación taxonómica	
<i>Pleurotus ostreatus</i>	
Reino	Fungí
División	Basidiomycota
Clase	Homobacidiomicete
Orden	<i>Agaricales</i>
Familia	<i>Pleurotaceae</i>
Genero	<i>Pleurotus</i>
Especie	<i>ostreatus</i>

Nota. Esta tabla menciona la clasificación taxonómica en la que se encuentra el hongo *Pleurotus ostreatus*. Tomada de: C. A. Sánchez Vélez, “Evaluacion de la productividad del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* sobre un residuo agroindustrial del depártamento del Valle del Cauca y residuos de poda de la Universidad Autonoma de Occidente,” p. 94, 2013, [Online]. Available: <http://red.uao.edu.co/bitstream/10614/5218/1/TAA01602.pdf>.

Ya que la intención de este objetivo es identificar todas las características del hongo, se procede a realizar la descripción de las características morfológicas, resaltando que el aspecto más importante es el desarrollo del micelio, ya que es el eje central de esta investigación, sin embargo es necesario conocer el microorganismo en todos sus aspectos con el fin de no omitir nada importante para su desarrollo. Una vez dicho esto se establece que el cuerpo fructífero del hongo posee un sombrero de 5 a 12 cm de anchura el cual varia con la edad de crecimiento, es agrupado

y convexo en forma de ostra y liso, el cual cambia de color según la temperatura de crecimiento, adicionalmente posee en la parte inferior del sombrero unas laminillas delgadas dispuestas como varillas de un paraguas que va desde el pie del hongo hasta el borde del tallo del cuerpo fructífero en donde se almacenan las esporas, el sombrero puede tener color blanco o crema, en algunas ocasiones posee bifurcaciones en las cuales se producen las esporas reproductivas, las cuales son circulares y pequeñas, el pie del hongo suele ser corto, algo lateral y oblicuo, con un aspecto blanco y ligeramente duro [15], [32], [33].

Ahora bien como se mencionó la descripción del micelio es la parte más importante del hongo en este estudio, ya que es la parte física que será usada para la conformación del material, de manera general el micelio es la aglomeración de las hifas del hongo, el cual se puede clasificar en dos tipos: micelio reproductivo y micelio vegetativo, para esta investigación se llegara únicamente hasta la formación del micelio vegetativo ya que es el micelio más resistente que forma el hongo, este micelio se forma en la etapa inicial de crecimiento hasta la completa colonización del sustrato o material lignocelulósico, se caracteriza por adherirse a la parte interna del sustrato y provee de nutrientes al microorganismo fomentando su crecimiento y desarrollo, este micelio se puede extender a lo largo del sustrato tomando un tiempo de colonización completa entre 20-30 días según el suministro de nutrientes del medio, mientras que el micelio reproductor es el cuerpo fructífero del hongo encargado de la reproducción el cual fue descrito en el párrafo anterior [15], la figura 10 ilustra las partes del hongo *Pleurotus ostreatus*, mostrando su micelio vegetativo y micelio reproductivo.

Una vez establecidas las características taxonómicas y morfológicas se procede a estudiar el ciclo de vida del hongo *Pleurotus ostreatus*, ya que juega un papel importante en el entendimiento del crecimiento y desarrollo del microorganismo, encontrando que se caracteriza por ser un organismo que puede reproducirse de manera sexual o asexual dependiendo del momento de su vida y crecimiento, adicionalmente es un microorganismo eucariota el cual tiene una pared celular definida conformada por quitina y celulosa, constituido por la unión de varias hifas las cuales conforman el micelio del hongo.

Figura 10.

*Esquematación morfología de
Pleurotus ostreatus.*



Nota. La figura representa el ciclo desarrollado por un hongo en una reproducción sexual. Tomada de: N. H. Martínez, “Evaluación del crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* (Basidiomycota) en distintos sustratos lignocelulósicos (Capacho de maíz, Hoja de almendro y Aserrín de madera) en la estación ecológica las guartinajas en el municipio de Tierralta-Córdoba-Colombia,” *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 53, no. 9, pp. 1689–1699, 1981.

Es conocido por ser tetrapolar es decir que forma 4 esporas en su micelio reproductivo cada una con la cantidad de información genética suficiente para la reproducción del hongo cuando se quiere realizar su reproducción por medio sexual. Su ciclo de vida comienza cuando las esporas liberadas germinan y generan un micelio monocariótico haploide también conocido como micelio primario, el cual al encontrarse con un micelio compatible dan origen a la plasmogamia o fusión de los dos micelios, los cuales continúan creciendo formando el micelio vegetativo, esta fase formación está constituida de manera asexual, ya que por la fusión de las células se forman nuevas hifas que se van agrandando a la extensión del micelio vegetativo, es por ello que es importante entender el comportamiento reproductivo, ya que brinda un mejor entendimiento de colonización y formación del material. Una vez desarrollado completamente el micelio vegetativo, se comienza con la

producción del micelio reproductor que abarca toda la formación del cuerpo fructífero y la formación de los esporangios los cuales son los encargados de almacenar las esporas, una vez expulsadas al medio ambiente el ciclo se repite hasta la formación de un nuevo hongo [15]. Sin embargo, cabe resaltar que para el desarrollo de esta investigación el ciclo de vida del hongo llegara hasta la colonización completa por el micelio vegetativo, sin llegar al micelio reproductivo puesto no es de interés para el desarrollo del documento. La figura 11 esquematiza el ciclo de vida que lleva el hongo desde la formación del micelio hasta la expulsión de las esporas al medio ambiente.

Figura 11.

Ciclo de vida de *Pleurotus ostreatus*



Nota. La figura muestra el ciclo de vida llevado por el hongo *Pleurotus ostreatus*. Tomada de: N. H. Martínez, “Evaluación del crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* (Basidiomycota) en distintos sustratos lignocelulósicos (Capacho de maíz, Hoja de almendro y Aserrín de madera) en la estación ecológica las guartinajas en el municipio de Tierralta-Cordoba-Colombia,” *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 53, no. 9, pp. 1689–1699, 1981.

Para que el micelio vegetativo del hongo se pueda desarrollar es necesario tender condiciones adecuadas de crecimiento en temperatura, pH, humedad, nutrientes y otros factores influyentes en su desarrollo. En cuanto a la temperatura, se establece como uno de los factores más importantes

para el desarrollo de la investigación, ya que el hongo *Pleurotus ostreatus* se caracteriza por ser un microorganismo mesófilo el cual puede crecer favorablemente en rango de temperatura de 10°C a 40°C, sin embargo, su temperatura adecuada de desove se encuentra entre los 25°C a 35°C, a estas temperaturas se garantiza una excelente y rápida propagación del micelio vegetativo, buena actividad enzimática y metabólica. Es importante mencionar que a temperaturas superiores a 35°C se inactivan las enzimas que ayudan al metabolismo y crecimiento del hongo, lo que pueda causar su muerte [15],[32],[33].

Para continuar se establece a la humedad como la segunda condición más importante en el desarrollo del trabajo, ya que mantiene el crecimiento del hongo y facilita la nutrición de este, por ello es importante mantener el sustrato en un rango de 70% a 80% si se desea una buena colonización del micelio vegetativo [15], [32]. En cuanto a la formación del carpóforo se debe aumentar la humedad pero en este caso debe ser humedad del medio ambiente no del sustrato manteniendo rango entre 80% y 93% [32].

En cuanto al pH es un condición que se debe mantener controla ya el carácter iónico del medio en donde se propagara el hongo influye significativamente en su proceso y desarrollo metabólico, por ello es necesario mantenerlo en condiciones óptimas las cuales oscilan en un rango de operación de 6,5 a 7,5, en donde se garantiza la propagación correcta del micelio vegetativo en el sustrato [33], [34].

Existen más condiciones a tener en cuenta, sin embargo no son grandes limitantes para su crecimiento pero si se deben considerar a la hora de propagar micelio vegetativo o reproductor, una de ellas es la concentración de oxígeno y dióxido de carbono, ya que el hongo *Pleurotus ostreatus* es un organismo aeróbico, es necesaria la presencia de oxígeno para su crecimiento y desarrollo metabólico, para la formación del micelio vegetativo basta con el oxígeno presente en el aire, puesto que su respiración no es del todo aeróbica en esta etapa de crecimiento, ya que pueden tolerar porcentajes de CO₂ altos comparados con la generación del micelio reproductor.

Como último factor de crecimiento se estudiara la Luz cabe resalta que “esta condición no se considera un factor indispensable para el desarrollo del micelio del hongo, sin embargo se recomienda realizar el cultivo en lugares oscuros o con poca luz, ya que la oscuridad favorece la propagación del micelio vegetal” [15], de manera natural crecen en lugares con sombra o lugares oscuros en su totalidad, sin embargo si se desea obtener micelio reproductivo se recomienda una

vez terminada la propagación del micelio ubicar el hongo en lugares con mayores disponibilidad de luz ya que favorece la producción de cuerpos fructíferos.

Como se ha mencionado a lo largo del desarrollo del documento el hongo *Pleurotus ostreatus* se caracteriza por ser un microorganismo capaz de descomponer materiales lignocelulósicos, para el realizar este proceso el microorganismo cuenta con una maquina enzimática especializada las cuales son segregadas de macera extracelular por las hifas del hongo con el fin de realizar una combustión enzimática y facilitar la degradación de los compuestos lignocelulósicos.

La biodegradación de la lignina es un proceso oxidativo en el que intervienen enzimas especializadas en hidrolizar los extremos de la lignina ya que es una molécula compleja, la mayoría de los hongos lignocelulósicos segrega enzimas como lignina peroxidasa (LiP), manganeso peroxidasa (MnP) y lacasas, las cuales son las encargadas de la combustión enzimática, sin embargo *Pleurotus ostreatus* no produce LiP, pero si una combinación de enzimas que permiten la degradación de la lignina esta combinación es conocida con el nombre de peroxidasa versátil (VP). A continuación, se dará una explicación más completa de cada enzima mencionada anteriormente.

La enzima manganeso peroxidasa (MnP) es la encargada de la oxidación de la lignina dependiendo de la cantidad de peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y Mn^{+2} presente en el medio. El Mn^{+2} es el principal reductor en el ciclo catalítico de la MnP, ya que se reduce a Mn^{+3} compuesto que oxida los compuestos orgánicos no fenólicos presentes en los extremos de la lignina [35].

El microorganismo para favorecer la formación de Mn^{+3} segrega ácidos como oxalato y malato los cuales estimulan la reacción de la enzima MnP estabilizando el compuesto Mn^{+3} , lo que produce una mayor difusión de la enzima para la degradación de los compuestos insolubles de la lignina. La MnP en *P. ostreatus* es capaz de degradar los extremos de β -O-4 lignina [35].

En la actividad de las enzimas peroxidasas es necesario una presencia constante de peróxido de hidrogeno H_2O_2 extracelular el cual es producido por enzimas especializadas generadoras de este compuesto, algunas de ellas son la aril-alcohol oxidasa (AAO) y la glicol oxidasa. Sin embargo “la más abundante en los hongos de pudrición blanca es la AAO, la cual es una flavo enzima extracelular que participa en la biodegradación de la lignina. Esta enzima cataliza la oxidación extracelular de alcoholes aromáticos a los correspondientes aldehídos” [35].

La peroxidasa versátil también conocida como VP, se considera un enzima híbrida entre MnP y LiP, generalmente se encuentra en organismos que no poseen la enzima LiP como el hongo *P.ostreatus*. Esta enzima degrada los compuestos fenólicos presentes en la molécula de la lignina [35].

Las lacasas son enzimas polifenol oxidasas, las cuales emplean el cobre como agente catalítico en la oxidación de un electrón orto a un electrón para en los fenoles y aminas aromáticas, proceso realizado por la eliminación de un electrón y un protón de un grupo hidroxilo el cual da como formación un radical libre. Adicionalmente cataliza la demotoxicación de varios compuestos como la lignina. “En el hongo *P.ostreatus* se producen enzimas como la POXA 16, POXC y POXA2, las cuales crecen con mayor rapidez y mayor cantidad adicionando cobre al medio del crecimiento del hongo” [35].

2.3 Residuos agroindustriales degradados por *Pleurotus ostreatus*

Los residuos agroindustriales ricos en compuestos lignocelulósicos son los fundamentales para emplearlos como sustrato en la producción del biomaterial, es por ello que a continuación se hace la caracterización bibliográfica de la cascarilla de café y salvado de trigo los cuales fueron seleccionados por sus altos contenidos en celulosa, hemicelulosa, lignina y nutrientes que favorecen el crecimiento del micelio vegetativo del hongo *Pleurotus ostreatus*.

2.3.1 Cascarilla de Café

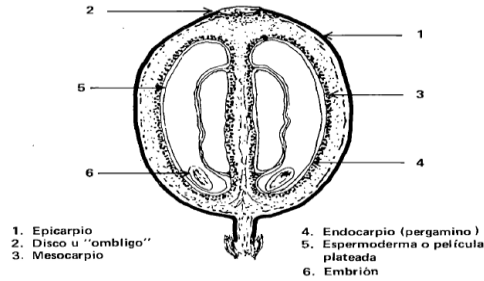
Como parte inicial antes de caracterizar la cascarilla de café bibliográficamente es necesario conocer su procedencia, teniendo así que el café crece del árbol cafetero que pertenece a la familia de las Rubiacées del género *Coffea*, este árbol puede crecer a nivel mundial, sin embargo, sus frutos maduran más rápido en climas tropicales del cual existe una gran variedad de especies, sin embargo, las más cultivadas a nivel mundial son *Coffea arabica* y *Coffea conephora*.

Colombia se caracteriza por ser el segundo productor mundial de café, cosechando café de la especie *arabica*, el cual crece de manera favorable en clima fresco y llega a una altura de 12m, sus hojas son ovaladas de color verde oscuro y produce un baya de color rojo brillante en estado de maduración la cual contiene dos semillas, sin embargo un color amarillo brillante también indica maduración del fruto, esta especie también puede ser cultivada en países como Brasil, Camerún, Costa Rica, Cuba, Ecuador, Guatemala, entre otros [36].

Para la obtención de la cascarilla de café se le debe realizar un proceso conocido como beneficio del café, en el cual se separan las distintas partes que conforman la ciruela del café como se muestra en la figura 12, la cascarilla de café se obtiene en el trillado del café, este consiste en separar el café oro de la cascarilla o pergamino que lo envuelve.

Figura 12.

Conformación de la cereza del café



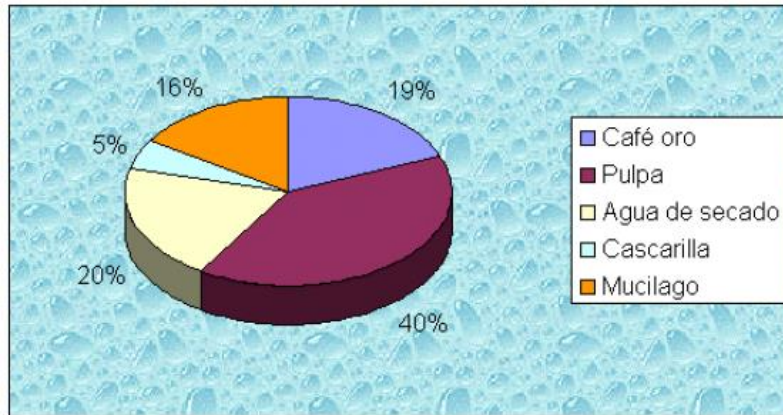
Nota. Esta figura muestra las partes de la cereza del café sin ser tratada. Tomada de: J. . Braham and R. Bressani, *Pulpa de Cafe Composición, tecnología y utilización*, Primera Ed. Bogotá: International Development Research Centre, 1978.

La distribución de la cereza del café generalmente es constante, la figura 13 muestra la composición general de la cereza del café mostrando el porcentaje atribuido a cada parte de este, identificando la pulpa como la parte de mayor composición en la cereza del café [3].

El beneficio de café está constituido por varios pasos que permiten ir obteniendo el café oro cada vez más puro, por medio de un diagrama de flujo se ilustran las etapas del beneficio del café y los productos obtenidos en cada paso, la figura 14 representa dicho diagrama.

Figura 13.

Distribución porcentual de la cereza del café

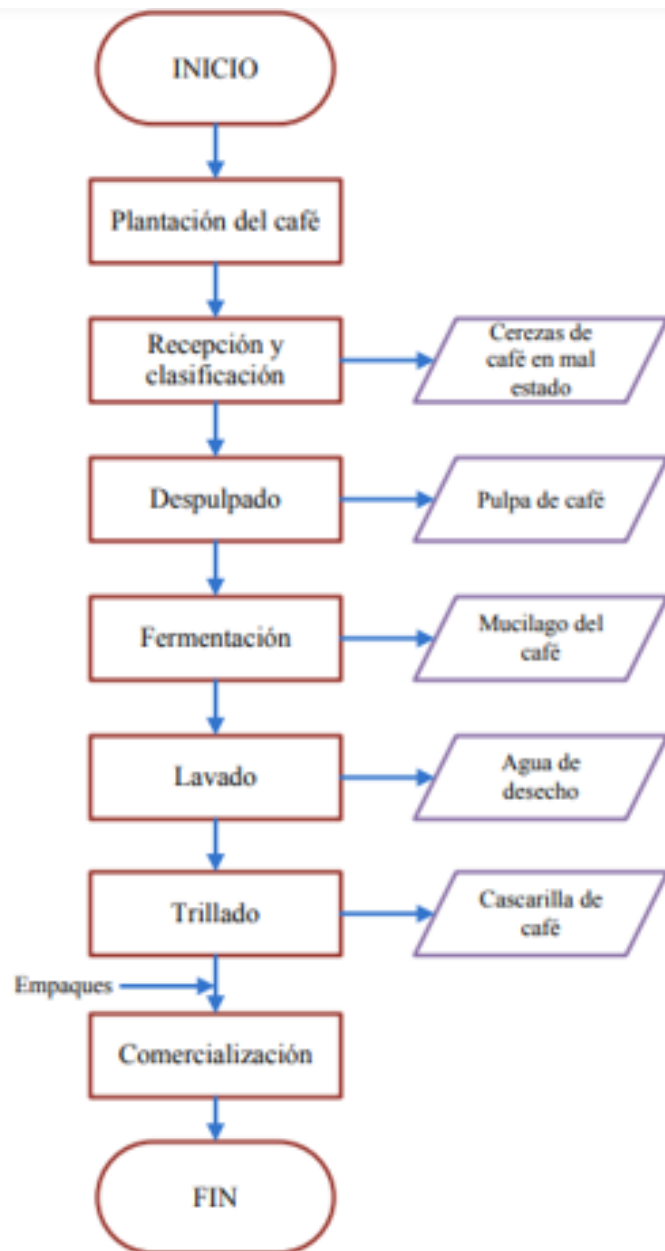


Nota. Esta figura muestra la distribución porcentual de las diferentes partes que conforman la cereza del café. Tomada de: I. Mendoza-Olmos, “Estudio de la cascarilla del café como material mejorador de sustratos hortícolas,” Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro,” 2003.

Con el fin de identificar la alta productividad de café en Colombia y demostrar así la alta productividad de cascarilla de café, realizando un estudio de las cantidad de café producidas por Colombia obteniendo que se ubica en el segundo puesto de producción mundial, en donde según la asociación internacional del café se tiene una producción de 14,8 millones de sacos de 60 kg para el final del año 2019 aumentando un 9% de lo producido durante el año 2018 en Colombia [37]. De esta producción nacional el 13,7 millones de sacos de 60 kg fueron exportados reportando un crecimiento del 7% en comparación al año 2018 según lo reportado por la federación nacional de cafeteros en Colombia, y como consumo interno se reportan 1,1 millones de sacos de 60 kg [38], representando aproximadamente el 17,6% PIB agrícola colombiano para el año 2019 [39], [40]. Por medio de la figura 15 se pueden identificar las zonas del país que presentan mayor producción café, las cuales se ven favorecidas por su ubicación geográfica ya que la temperatura es el factor condicionante a la hora de producir café.

Figura 14.

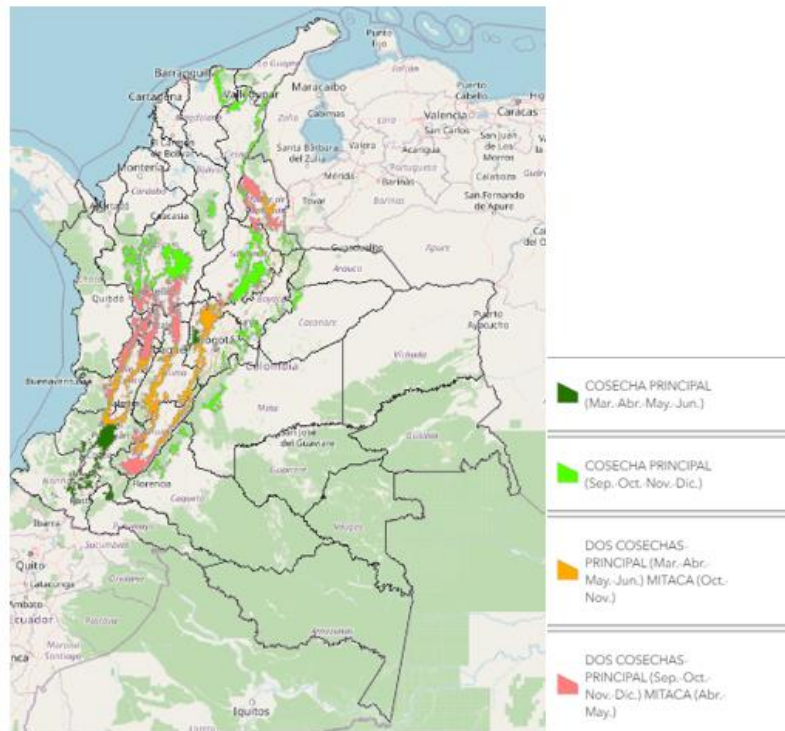
Beneficio del café proceso húmedo



Nota. Esta figura muestra el proceso desarrollado durante el beneficio del café de manera general.

Figura 15.

Mapa regional cultivos de café en Colombia



Nota. Esta figura muestra la distribución geográfica de las principales ciudades productoras de café. Tomada de: “Mapa Cosecha Cafetera - Federación Nacional de Cafeteros.” <https://federaciondecafeteros.org/wp/cosecha-cafetera/> (accessed Jun. 06, 2021).

Ahora bien, ya entrando en producto de interés la cual es la cascarilla de café esta también es conocida como cisco de café, pergamino de café o endocarpio del café, la cual se caracteriza por ser una envoltura que rodea el grano oro del café de aproximadamente 100 micrómetros de espesor con un tamaño de 0,425mm a 2,36mm. “Este subproducto del café representa el 12% en base seca del grano que es equivalente al 23% en masa de café bruto procesado, constituyendo una excelente fuente de lignina, celulosa y hemicelulosa” [6], por lo general de una tonelada de café careza se obtienen entre 40 y 45 kg de cascarilla de café, considerándose uno de los mayores residuos en el proceso del café.

La cascarilla de café se caracteriza por ser un material lignocelulósico rico en una diversidad de compuestos, con el fin de realizar su identificación se realiza una caracterización bibliográfica en donde por medio de la tabla 4 se identifican los autores y el documento referenciado para elaborar la tabla 5 del presente documento donde se presenta la composición porcentual de las diferentes sustancias presentes en este sustrato. En este caso se evidencia un rango de humedad de 7,3% al 13,1% según lo reportado por Barrera, J y Sánchez, P (2019) y Fonseca, F y et al (2011) respectivamente, un rango de capacidad calorífica de 17,5 y 18,7 (MJ/kg) según lo reportado por Arias, R; Meneses, J; Gouvea, M; et al, y Manals, E; Salas, D; Penedo, M respectivamente; de esta misma manera se puede encontrar los para la lignina, celulosa y hemicelulosa, identificando que la cascarilla de café puede ser un buen soporte para el crecimiento del microorganismo seleccionado [41], [6], [42], [43], [44], [45].

Tabla 4.

Autores empleados en la caracterización bibliográfica

Número de referencia en la tabla	Título	Autor	Año
1	Biomass briquetting and its perspectives in Brazil	Fonseca, F y et al	2011
2	Caracterización de la biomasa vegetal “cascarilla de café”	Manals, E; Salas, D; Penedo, M	2017
3	Caracterización físico-química de residuos agroindustriales (cascarilla de arroz y cascarilla de café), como materia prima potencial para la obtención de bioetanol, Laboratorios de Química UNAN-Managua I-II semestre 2016	Arias, R; Meneses, J	2016
4	Feasibility of ethanol production from coffee husks	Gouvea, M y et al	2009
5	Evaluación de la cascarilla de café como sustituto a las grasas utilizadas en la elaboración de Brownies	Barrera, J; Sanchez, P	2019
6	Semivolatile and Volatile Compound Evolution during Pyrolysis and Combustion of Colombian Coffee Husk	Conesa, J; Sanchez, N; Garrido, M; Casas, J	2014

Nota. Esta tabla muestra los autores empleados para la caracterización bibliográfica realizada a la cascarilla de café.

Tabla 5.

Caracterización bibliográfica de la cascarilla de café

	1	2	3	4	5	6
Composición Porcentual (%) Base Húmeda (B.H)						
Humedad	13,1	10,1	8,6	-	7,3	9,3
Materia seca	-	-	3,67	-	-	-
Cenizas	3,7	1,2	(B.S) 10,5 (B.S)	-	(B.S) 7	3,2
Calcio	-	-	0,25	-	-	3,01
Magnesio	-	-	(B.S) 0,05	-	-	0,33
Fosforo	-	-	(B.S) 0,1	-	-	0,07
Potasio	-	-	(B.S) 3,03	-	-	2,67
Extracto etéreo	-	-	0,44	-	-	-
Nitrógeno	-	-	-	-	-	1
Material Volátil	73,2	87	87,7	-	-	-
Carbohidratos	-	-	-	58-85	62	-
Capacidad Calorífica (MJ/kg)	18,4	18,7	17,5	-	-	18,26
Carbono Fijo	23,1	-	-	-	-	-
Carbono	47,5	50,3	-	-	-	44
Hidrogeno	6,4	5,3	-	-	-	6,1
Oxigeno	43,7	43,8	-	-	-	45,3
Proteína	-	-	-	8-11	18	-
Taninos	-	-	-	5	-	-
Materiales Lignificados						
Celulosa	-	-	36,7	43 (B.S)	19-26 (B.S)	-
Lignina	-	-	15,93	9 (B.S)	18-30 (B.S)	-
Hemicelulosa	-	-	47,37	7 (B.S)	24-45 (B.S)	-

B.S = Base Seca

Nota. Esta tabla muestra los resultados de la revisión bibliográfica realizada en diferentes documentos de investigación publicados, mostrando los diferentes compuestos y sus porcentajes respectivos, Tomado de: F. F. Fellli, J. M. Mesa P, J. D. Rocha, D. Filippetto, C. A. Luengo, and W. A. Pippo, "Biomass briquetting and its perspectives in Brazil," *Biomass and Bioenergy*, vol. 35, no. 1, pp. 236–242, 2011, doi: 10.1016/j.biombioe.2010.08.011; E. Manals-Cutiño, D. Salas-Tort, and M. Penedo-Medina, "Carcterización de la biomasa vegetal 'cascarilla de café,'" *Scielo Cuba*, vol. 38, no. 1, pp. 1–13, 2018, [Online]. Available: <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v38n1/rtq13118.pdf>; R. A. A. Ortiz and J. D. M. Cruz, "Caracterización físico-química de residuos agroindustriales (cascarilla de arroz y cascarilla de café), como materia prima potencial para la obtención de bioetanol," Universidad Autónoma de Nicaragua, Managua, 2016; B. M. Gouvea, C. Torres, A. S. Franca, L. S. Oliveira, and E. S. Oliveira, "Feasibility of ethanol production from coffee husks," *Biotechnol. Lett.*, vol. 31, no. 9, pp. 1315–1319, 2009, doi: 10.1007/s10529-009-0023-4; J. A. Barrera, I. Química, P. F. Sánchez, and I. Químico, "Evaluación de la cascarilla de café como sustituto a las grasas utilizadas en la elaboración de Brownies," pp. 1–12, 2015; J. A. Conesa, N. E. Sánchez, M. A. Garrido, and J. C. Casas, "Semivolatiles and Volatile Compound Evolution during Pyrolysis and Combustion of Colombian Coffee Husk," *Energy and Fuels*, vol. 30, no. 10, pp. 1–6, 2016, doi: 10.1021/acs.energyfuels.6b00791.

La cascarilla de café es considerada como un residuo agroindustrial no como un subproducto del proceso de café, teniendo que “la cascarilla de café constituye del 4,5% al 5% de la cereza del café, Colombia anualmente produce 0,6 millones de toneladas de cascarilla de café del cual una baja cantidad aproximadamente del 5% al 10% es usada y la demás dispuesta como residuo en cuerpos de agua o enterrada en los suelos” [45], los cuales atentan con la vida de la fauna y flora de las aguas. Esta contaminación es generada por la falta de conocimiento de los posibles usos que se lo podrían dar a los residuos trayendo consigo un beneficio económico al proceso disminuyendo paulatinamente la contaminación generada.

En base a lo mencionado anteriormente se pueden mencionar algunas aplicaciones en las cuales se le puede dar un uso a este residuo altamente contaminante, entre sus posibles aplicaciones encontramos:

- **Combustibles.** La cascarilla de café o pergamino del café se caracteriza por tener un alto poder calorífico lo que permite usar este material como fuente de energía en procesos que requieran suministro de esta, generalmente se quema en hornos en donde se genera un gas que impulsa o acciona un motor para producir electricidad. En la actualidad se están realizando investigación para usar la cascarilla de café como sustrato en procesos de fermentación para la producción de bioetanol siendo este empleado como combustible [3]. En Colombia se está aplicando este método en donde se usa la cascarilla de café como producto de combustión directa [46].
- **Abono orgánico.** La cascarilla de café genera el 60% de contaminación de las aguas de las zonas cafetaleras [42], sin embargo es un material que posee gran variedad de nutrientes y azúcares los cuales pueden ser empleados en el enriquecimiento de los suelos, estos nutrientes son liberados paulatinamente en los suelos lo que permite su uso como abono orgánico ya sea para suelos de cafetales o suelos en los cuales se realicen siembras de viveros. Algunas empresas han optado por desarrollar bioabonos a base de cascarilla de café el cual está constituido por un 26,7% de cascarilla de café, 11% de polvillo y 34% de vinaza o caña de azúcar [3], este abono es promotor en el crecimiento de agentes microbianos beneficiosos para el suelo.
- **Aglomerante.** La cascarilla de café se puede usar como medio filtrante usándolo como aglomerante, para la producción de este material se incorpora cascarilla de arroz y aserrín los cuales son molidos y mezclados con la cascarilla de café para usarlos en filtros naturales generalmente de agua, este material es empleado en Guatemala y Cuba, en el resto del mundo no

se usa de esta manera o se desconoce esta función. en la actualidad se están estudiando las posibilidades de realizar filtros con cascarilla de café para la remoción de metales pesados como plomo en los cuerpos de aguas contaminados por minería o procesos en los que exista liberación de metales pesados.

- Medio de crecimiento de hongos. Debido a la caracterización química de la cascarilla de café y su alto contenido en diferentes compuestos como lignina, celulosa y hemicelulosa se puede emplear como alimento para el crecimiento de hongos lignocelulósicos, entre ellos se encuentre el *Pleurotus ostreatus* [3], microorganismo capaz de degradar la lignina debido a la presencia de enzimas ligninasas que rompen el polímero hasta su mínima expresión molecular con el fin de que el hongo pueda emplear como medio de alimento dichos compuestos hidrolizados.

Esta última aplicación será el curso que tomará la presente investigación ya que la cascarilla de café se usará como soporte para el crecimiento de *Pleurotus ostreatus*, permitiendo así la formación de un material biodegradable, lo que permitirá darle un uso favorable a la cascarilla de café y disminuir la cantidad de cascarilla dispuesta en los ríos y suelos. En los próximos capítulos se dará la metodología apropiada para la correcta colonización del material por medio de *Pleurotus ostreatus*.

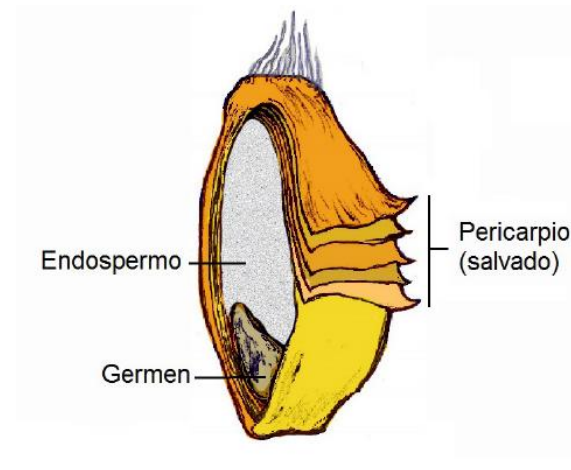
2.3.2 Salvado de trigo

El salvado de trigo se caracteriza por ser la cobertura de un cereal conocido como trigo (*Triticum aestivum L*), este cereal es cosechado desde el inicio de la cultura sedentaria siendo el 3 cereal de mayor producción a nivel mundial siendo este para el 2019 de 761 millones de toneladas anuales [47]. La figura 16 muestra la estructura morfológica del cereal obtenido luego de la recolección de las cosechas, el producto principal del trigo es el endospermo el cual representa del 81% al 84% del grano [8], este se somete al proceso de molienda por rodillos en donde se convierte en haría para ser empleada como base para la elaboración de panes, pastas, productos de repostería entre otros. Generalmente en el proceso de molienda se obtiene dos subproductos los cuales son el germen del trigo que representa entre el 2% al 3% del grano [8] siendo este el órgano reproductivo del cereal, y el salvado del trigo siendo este último el subproducto de mayor producción representando el 14%-16% del grano [8], sin embargo el porcentaje varía según el tipo de molienda que se le realice al cereal, la literatura establece que por 1 millón de toneladas de trigo se obtiene

0,25 millones de toneladas de salvado de trigo [48], siendo este el producto de interés para el desarrollo de la presente investigación.

Figura 16.

Estructura del trigo



Nota. La presente figura muestra la distribución del grano del trigo. Tomado de: G. Chaquilla-Quilca, R. R. Baladrán Quintana, A. M. Mendoza-Wilson, and J. N. Mercado-Ruiz, “Propiedades y posibles aplicaciones de las proteínas de salvado de trigo,” *CienciaUAT*, vol. 12, no. 2, 2018, doi: 10.29059/cienciauat.v12i2.883.

El salvado de trigo también conocido WB por sus siglas en inglés se caracteriza por ser un residuo agroindustrial que presenta alta cantidad de fibra lignificada insoluble factor diferencial de otros residuos agroindustriales, adicional a esto es excelente fuente de proteínas, minerales, nutrientes, conteniendo altos porcentajes en cuanto a vitamina B y E, compuestos fenólicos y algunos ácidos que ayudan a la correcta nutrición de animales y seres humanos, resaltando su contenido en celulosa, almidón, proteína β -glucano y lignina, encontrado en mayor proporción celulosa, almidón y hemicelulosa, en el cual el almidón constituye del 14% al 25% del salvado de trigo, la variación se debe al proceso de molienda al cual sea sometido [7].

Al realizar la revisión bibliográfica se identifican una gran variedad de compuestos, dentro de estos se encuentran proteínas, minerales y compuestos lignificados, para esto se estudiaron

diferentes autores los cuales son descritos en la tabla 6, en donde se muestra el título y el autor del documento referenciado.

Tabla 6.

Autores empleados en la caracterización bibliográfica del salvado de trigo

Número de referencia en la tabla	Título	Autor	Año
1	Wheat bran-based biorefinery 2: Valorization of products	Apprich, S y et al	2014
2	Propiedades y posibles aplicaciones de las proteínas de salvado de trigo	Chaquilla, G; Balandrán, R; Mendoza, A; Mercado, J	2018
3	New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: what is beyond fibre?	Fardet, A	2010
4	Composition and functionality of wheat bran and its application in some cereal food products	Oluwatoyin, O; Afam, J; Beswas, D	2015
5	Cereal brans as dietary fibre ingredients	Sibakov, J y et al	2013
6	Wheat bran: its composition and benefits to health, a European perspective	Stevenson, L; Phillips, F; O'sullivan, K; Walton, J	2012

Nota. Esta tabla muestra los autores empleados para la caracterización bibliográfica realizada al salvado de trigo.

Con los datos reportados por los autores se elabora la tabla 7 en donde se pueden identificar composiciones de humedad entre los rangos de 8,1% y 12,7% según lo reportado por Oluwatoyin, O; Afam, J; Beswas, D (2015), adicionalmente se puede identificar valores de almidon entre 9% y 38,9% según lo reportado por Sibakov, J y et al (2013) y Chaquilla, G; Balandrán, R; Mendoza, A; Mercado, J (2018); Oluwatoyin, O; Afam, J; Beswas, D (2015), finalmente se identifican los valores aproximados de lignina, celulosa y hemicelulosa obtenidos de varios estudios bibliográficos realizados [7], [8], [49], [50], [51], [52].

Tabla 7.

Caracterización bibliográfica del salvado de trigo

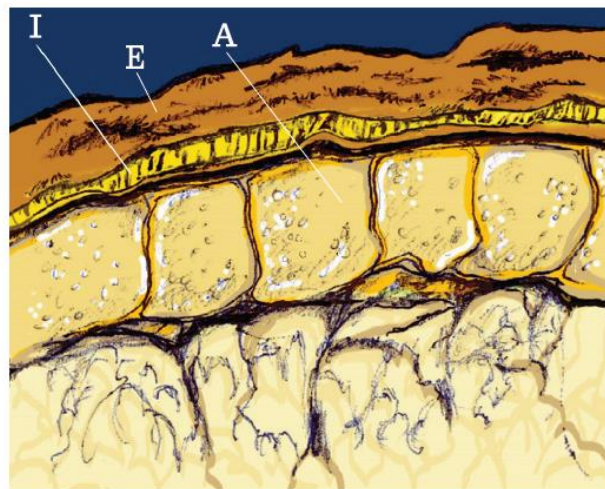
	1	2	3	4	5	6
Composición Porcentual (%) Base Húmeda (B.H)						
Humedad	12,1	11,6-12	-	8,1-12,7	-	-
Materia seca	-	-	-	3,9-8,10	-	-
Cenizas	3,4-8,1	5,7-6,5	-	-	5,5-6,5	-
Calcio	-	24-150 (mg/100g)	-	-	-	-
Magnesio	-	390-640 (mg/100g)	-	530-1030 (mg/g)	-	-
Fosforo	-	900-1500 (mg/100g)	-	-	-	-
Potasio	-	1182-1900 (mg/100g)	-	-	-	-
Fibra	-	35-53 (g/100g)	44,6	33,4-63	55	44,6
Materia seca	-	-	-	-	40-53	-
Minerales	-	-	3,39	-	-	3,39
Carbohidratos	56,8	-	-	60-75	-	-
Lípidos	-	5-6,3	-	-	-	-
Proteína	13,2-18,4	9,9-18,6	-	9,60-18,6	-	-
Almidón	-	21,1-38,9	-	9,10-38,9	9-25	-
Materiales Lignificados						
	%	g/100g				
Celulosa	11	6,5-9,9	-	-	9-12	-
Lignina	-	20,8-33	5-6	-	3-5	5,6
Hemicelulosa	-	2,2-9	-	-	-	-

Nota. Esta tabla muestra los autores empleados para la caracterización bibliográfica realizada al salvado de trigo. Tomado de: O. O. Onipe, A. I. O. Jideani, and D. Beswa, "Composition and functionality of wheat bran and its application in some cereal food products," *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 50, no. 12, pp. 2509–2518, 2015, doi: 10.1111/ijfs.12935; G. Chaquilla-Quilca, R. R. Baladrán Quintana, A. M. Mendoza-Wilson, and J. N. Mercado-Ruiz, "Propiedades y posibles aplicaciones de las proteínas de salvado de trigo," *CienciaUAT*, vol. 12, no. 2, 2018, doi: 10.29059/cienciauat.v12i2.883; S. Apprich *et al.*, "Wheat bran-based biorefinery 2: Valorization of products," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 56, no. 2, pp. 222–231, 2014, doi: 10.1016/j.lwt.2013.12.003; A. Fardet, "New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: What is beyond fibre?," *Nutr. Res. Rev.*, vol. 23, no. 1, pp. 65–134, 2010, doi: 10.1017/S0954422410000041; J. Sibakov, P. Lehtinen, and K. Poutanen, "Cereal brans as dietary fibre ingredients," in *Fibre-Rich and Wholegrain Foods: Improving Quality*, Finland: Woodhead Publishing Limited, 2013, pp. 170–192; L. Stevenson, F. Phillips, K. O'sullivan, and J. Walton, "Wheat bran: Its composition and benefits to health, a European perspective," *Int. J. Food Sci. Nutr.*, vol. 63, no. 8, pp. 1001–1013, 2012, doi: 10.3109/09637486.2012.687366.

Debido a su alto porcentaje de fibra insoluble hace que su tratamiento hidrolítico sea más demandante dado que tiende a ser un producto duradero y de difícil descomposición natural. Cabe resaltar que el salvado de trigo a pesar de ser la cobertura del trigo se subdivide en 5 diferentes capas, de las cuales tres son las más importantes por su alto contenido en proteínas, minerales, fibra o aminoácidos, la primera es conocida como pericarpio la cual es la capa más externa, la segunda es el pericarpio interior la cual se encuentra en la mitad de las capas y la última conocida como capa aleurona la cual está en contacto directo con el endospermo y germen del trigo, la figura 17 muestra la distribución descrita anteriormente del salvado de trigo, sin embargo a continuación se hará una descripción más detallada de la conformación de cada capa del salvado de trigo.

Figura 17.

Distribución morfológica del salvado de trigo



Nota. Esta figura muestra la distribución morfológica del trigo sin realizar previo a la molienda. Tomado de: G. Chaquilla-Quilca, R. R. Balandrán Quintana, A. M. Mendoza-Wilson, and J. N. Mercado-Ruiz, “Propiedades y posibles aplicaciones de las proteínas de salvado de trigo,” *CienciaUAT*, vol. 12, no. 2, 2018, doi: 10.29059/cienciauat.v12i2.883.

- Pericarpio exterior: es la capa que se encuentra en contacto directo con el medio exterior, se caracteriza por estar compuesta de la epidermis, hipodermis y un fragmento de la capa interna dado que son difíciles de superar en su unión [48], “se caracteriza por tener un espesor de 15 a 20 micrómetros comprendiendo el 1% del grano de trigo, se compone principalmente por lignina, arabinoxilano y un bajo porcentaje en celulosa” [51].
- Pericarpio interior: es la capa encargada de proporcionar el color al grano, está constituida por células tubulares y cruzadas dentro de las cuales están ubicadas las moléculas generadoras de pigmentos, adicionalmente brindan soporte y rigidez al grano, no tiene un alto contenido de compuestos representativos puesto que generalmente están distribuidos entre la capa exterior y la capa aleurona, por lo tanto, no es fuente de investigación.
- Capa aleurona: se caracteriza por ser la capa más interna del salvado de trigo por lo tanto está en contacto directo con el germen de trigo y el endospermo, representa el 7% del grano [48], constituida por un alto contenido de lignanos y ácidos fenólicos compuestos antioxidantes que evitan la rápida degradación del grano y al mismo tiempo permiten la eliminación de radicales libre presentes [48], contiene la mitad de los minerales asociados al salvado de trigo y a su vez es bastante rica en vitaminas B y E.

Ya que el salvado de trigo posee una composición muy variada se le pueden atribuir a estas distintas aplicaciones las cuales van desde complemento alimenticio para animales y humanos hasta producción de bioetanol empleándolo como sustrato, sin embargo, a continuación, se dará una descripción más detallada a las distintas aplicaciones.

- Producción de biodiesel. El salvado de trigo se suele emplear como sustrato fermentativo para la producción de bioetanol con el cual se busca sustituir los combustibles fósiles empleados en la actualidad, el salvado de trigo se toma como la biomasa del proceso el cual se somete a tratamientos hidrolíticos con el fin de llegar a hidrolizar las largas cadenas de celulosa, hemicelulosa y lignina presentes en este para obtener cadenas pequeñas de glucosa, para esta hidrólisis generalmente el salvado de trigo es sometido a tratamiento térmicos, ácidos y enzimáticos que logren la ruptura total de las cadenas, sin embargo en comparación a otras biomásas los materiales lignocelulósicos como lo es el salvado de trigo genera costos asociados al proceso por el largo pretratamiento al que debe ser sometido.

- Producción de alimentos para animales. Generalmente el salvado de trigo es usado como alimento para cerdos y vacas dado que ayuda a tener una alta calidad de vida de estos animales pues aumenta su metabolismo y mejora su digestión por la alta presencia de minerales, fibra, proteína y carbohidratos, el salvado de trigo es mezclado con pajilla o salvado de arroz como complemento dietario, más de la mitad de la producción de salvado de trigo es empleado para este fin, dado que estos animales son capaces de degradar enzimáticamente los compuestos lignocelulósicos presentes en dicho alimento.
- Producción de metabolitos y biorremediación. En la biorremediación es usado en la fabricación de filtros que ayudan a la eliminación de metales pesados presentes en aguas residuales de diferentes industrias, estos metales son Pb II, Cd II y Cu II, esta remoción o fijación se da gracias a la presencia de compuestos lignocelulósicos en el salvado de trigo capaces de atrapar dichos compuestos en sus estructuras y retirándolos de las aguas que son purificadas.

Ahora bien, el salvado de trigo también es empleado como medio de producción de distintos metabolitos en la industria de la biotecnología dado que se caracteriza por ser un sustrato rico en minerales, proteínas, carbohidratos y aminoácidos que ayudan al crecimiento de microorganismos o producción de metabolitos de varios microorganismos.

- Aditivo para alimentos. Debido a la composición rica en minerales, nutrientes y fibra del salvado de trigo se considera un complemento adecuado en la alimentación humana dado que ayuda a mejorar el metabolismo y combatir enfermedades como cáncer de colon, diabetes tipo y fallas cardiovasculares. En la actualidad se está empleado como aditivo o complemento en panes o productos de repostería, incluso se están fabricando suplementos dietarios ricos en fibra a base de salvado de trigo con el ánimo de mejorar las condiciones intestinales de las personas, adicionalmente a esto se está estudiando la capacidad que tienen los lignanos y fitatos en la remoción de radicales libres que afectan el cuerpo humano y son los principales causantes de cáncer [48].
- Industria fermentativa. Con el desarrollo industrial y la búsqueda de minimizar el impacto ambiental generado por los desechos agroindustriales, el salvado de trigo se está implementando como sustrato para el crecimiento de diferentes microorganismos como hongos filamentosos comestibles entre ellos *Pleurotus ostreatus* capaz de degradar la lignina y celulosa presente en el salvado de trigo [53], es preciso mencionar que también facilita el crecimiento de los hongos por

la capacidad que presenta de mantener la humedad factor importante para el crecimiento de los microorganismo, adicionalmente posee una gran variedad de minerales y nutrientes necesarios para el crecimiento de estos y por ultimo posee compuestos ricos en nitrógeno que hace innecesario la adición de suplementos o complementos nutricionales.

Esta última aplicación es la que se explotara a lo largo del desarrollo de la presente investigación ya que es un sustrato que permite un excelente crecimiento de microorganismo, cualidad atribuida a su variedad de compuestos y carbohidratos, en capítulos siguientes se buscara esquematizar el camino a seguir para la colonización completa de *Pleurotus ostreatus* en salvado de trigo.

2.4 Conclusión

Se establecen como condiciones óptimas de crecimiento del micelio vegetativo de *Pleurotus ostreatus* en un rango de temperatura de 25°C a 30°C, con un porcentaje de humedad en el sustrato entre 70% a 80%, a un pH de 6,5 a 7,5 y un lugar de incubación oscuro, con esto se garantiza la propagación y/o crecimiento del micelio vegetativo de manera asexual.

En cuanto a los sustratos la caracterización bibliográfica permite identificar que son apropiados para el desarrollo del micelio vegetativo del hongo, ya que poseen altos porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina, compuestos principales para el crecimiento de *Pleurotus ostreatus*, adicionalmente son ricos en nutrientes y aminoácidos que ayudaran al metabolismo del hongo, también cabe resaltar que la cascarilla de café al emplearse en aplicaciones de biomateriales ayuda a reducir el impacto ambiental que esta genera en los ríos. El salvado de trigo será empleado como material de soporte, ya que en la literatura se identificó que *Pleurotus ostreatus* presenta un buen crecimiento en el salvado de trigo.

3. ESTABLECER LA METODOLOGÍA ADECUADA PARA LA COLONIZACIÓN DEL HONGO *Pleurotus ostreatus* EN SUSTRATOS LIGNOCELULÓSICOS MEDIANTE UN DISEÑO EXPERIMENTAL.

Para poder realizar los ensayos experimentales es necesario como primer paso identificar la metodología a desarrollar para llevar a cabo una buena metodología experimental, ya que partiendo de la metodología planteada se podrá obtener un biomaterial de calidad.

3.1 Metodología

3.1.1 Obtención de la cepa

El hongo *Pleurotus ostreatus* fue adquirido sembrado en semillas de sorgo de trigo por un distribuidor comercial de setas comestibles conocido como los Hongos de Merlín, el hongo fue adquirido en fase de desarrollo del micelio vegetativo, como no se tenía certeza de la inocuidad del cultivo, se esperó a que el hongo fructificara, con el fin de tomar tejido vegetal y poder realizar la propagación del hongo de manera segura e inocua.

3.1.2 Obtención de la cepa madre

Para la obtención de la cepa madre se preparan medios de cultivos de agar sabouraud, para este caso se realizar cinco cajas de Petri, para ello se preparan 100mL de agar, en donde se disuelven 9g de agar sabouraud en 100mL de agua destilada en un erlenmeyer, se pone en plancha de calentamiento con constante agitación hasta completa disolución, posteriormente se sella con tapón de algodón y aluminio, y se lleva a un autoclave por 15min a 121°C o 15 psi de presión, con el fin de conseguir un medio completamente estéril, para identificar si se logró esterilizar se marca con cinta indicadora.

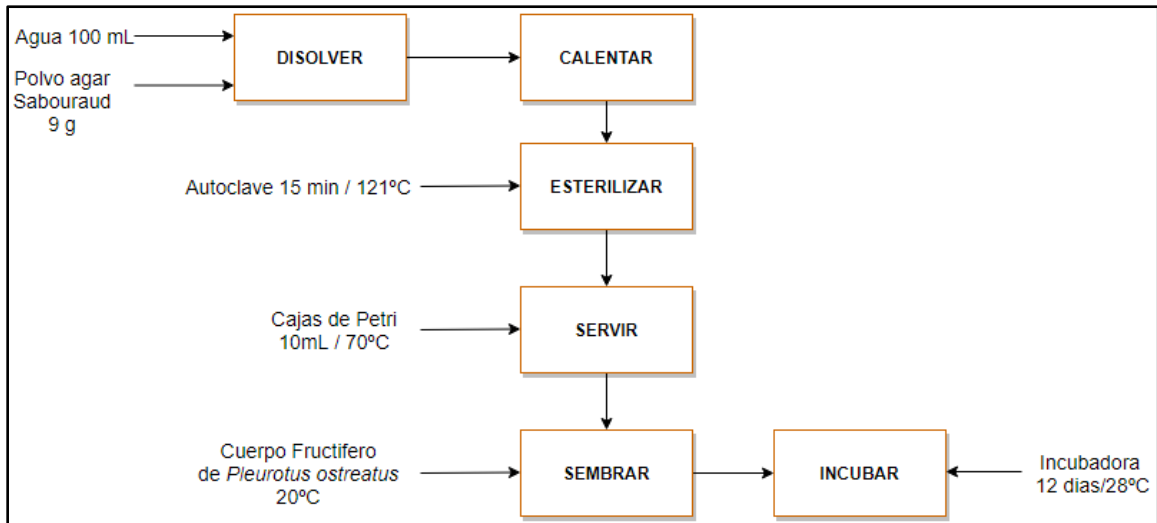
Una vez esterilizado el medio de cultivo se lleva a una cabina de flujo laminar, la cual fue descontaminada previamente, ya que se deben mantener el ambiente de cultivo lo más estéril posible. En la cámara de flujo laminar se sirve el medio en las cajas de Petri, este procedimiento se debe realizar caliente con el fin de que el medio no se solidifique en el erlenmeyer.

Una vez solidificado y a temperatura ambiente, se procede a realizar el corte del cuerpo fructífero del hongo *Pleurotus ostreatus*, esto con el fin de obtener el micelio puro del hongo; las cajas de Petri solidificadas se dividen en 4 secciones, en cada una se pone un trozo de cuerpo fructífero de aproximadamente 2mm de espesor, todo se realiza con los materiales previamente esterilizados. Una vez terminados los cortes se procede a sellar la caja de Petri con papel parafilm

y se lleva a la incubadora a 28°C por 12 días. Por medio de la figura 18 se pueden identificar los pasos generales para la obtención de la cepa madre.

Figura 18.

Diagrama obtención de la cepa madre



Nota. Esta figura muestra de una manera general como se puede realizar la obtención de la cepa madre y sus condiciones más importantes de operación.

Una vez desarrollado el micelio se procede a identificar las características morfológicas del hongo y pureza del cultivo, con el fin de establecer la mejor cepa y a partir de ella realizar la propagación de la biomasa fúngica.

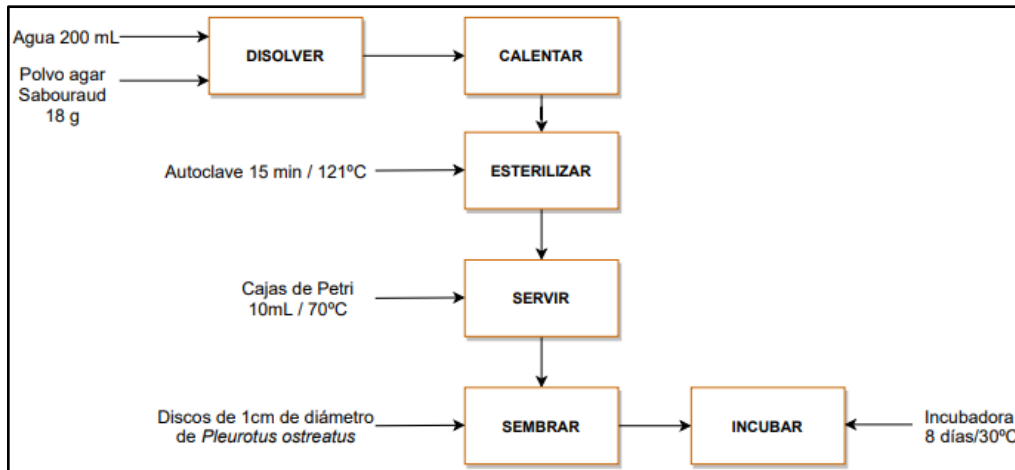
3.1.3 Propagación del micelio de *Pleurotus ostreatus*

Para la propagación del hongo primero de deben realizar la preparación de los medios de cultivo, en este caso se realizará medio de cultivo de agar dextrosa sabouraud y agar de extracto de salvado de trigo. Para el agar dextrosa sabouraud se realiza la preparación según la indicación del fabricante, se elaboran 10 cajas para un total de 200mL, la preparación consiste en disolver 18g de agar dextrosa sabouraud en 200mL de agua destilada, la mezcla se realiza en un Erlenmeyer de 250mL, se debe someter a calentamiento con agitación constante hasta solubilidad constante, una vez realizada la preparación se procede a esterilizar el medio en un autoclave a 121°C o 15 psi durante 15 minutos. Cuando se encuentre completamente estéril se deja enfriar en una cámara de flujo laminar hasta aproximadamente unos 70-80°C, al llegar a dicha temperatura se sirve en las

cajas de Petri hasta solidificación. La figura 19 ilustra de manera general los pasos a seguir para la elaboración del medio y la siembra del hongo en dicho medio.

Figura 19.

*Diagrama propagación de *Pleurotus ostreatus* en agar dextrosa sabouraud*

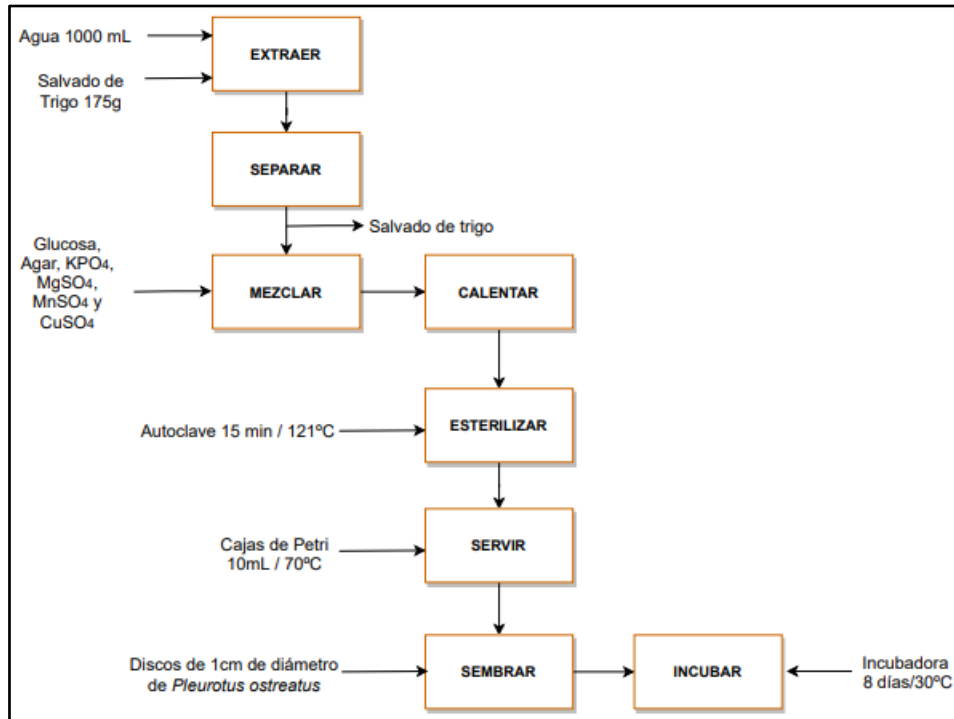


Nota. Esta figura muestra de una manera general como se puede realizar la propagación de *Pleurotus ostreatus* en medio agar dextrosa sabouraud.

En el caso de agar extracto salvado de trigo, se realiza siguiendo lo establecido en la referencia [48] de la cual se toman los porcentajes propios de cada compuesto para la correcta formulación y elaboración del medio, como paso inicial se pesan 175g de salvado de trigo y se dejan en reposo por 1 hora en 1 litro de agua desionizada, transcurrida la hora se procede colar y establecer el volumen real del extracto de salvado de trigo, ya que ese volumen será la base para determinar la cantidad de los compuestos formulados para el medio obteniendo 250mL de extracto, posterior a ello se procede a pesar y agregar 1,25g de nitrato de amonio el cual actúa como fuente de nitrógeno, 0,5g de extracto de levadura actúa como fuente de nutrientes, 2,5g de glucosa la cual actúa como fuente de energía, 4,5 g de agar el cual actuara como agente solidificante del medio, 0,025g de fosfato de potasio, 0,00125g de sulfato de magnesio, 0,02125g de sulfato de manganeso y 0,02125g de sulfato de cobre, los últimos compuestos fueron pesados en balanza analítica. Se mezcla en constante calentamiento y agitación hasta ebullición. Para realizar la esterilización y solidificación del medio en las cajas de Petri se realiza el procedimiento descrito en la elaboración de agar dextrosa sabouraud. La figura 20 muestra de manera general los pasos a seguir para la elaboración del medio y la siembra en dicho medio.

Figura 20.

*Diagrama propagación de *Pleurotus ostreatus* en agar extracto salvado de trigo*

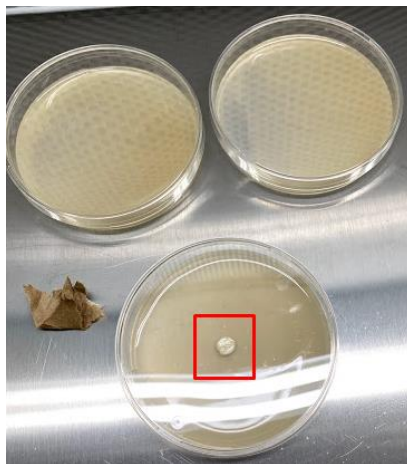


Nota. Esta figura muestra de una manera general como se puede realizar la propagación de *Pleurotus ostreatus* en medio agar extracto salvado de trigo.

Para la siembra se toma de la cepa madre en un disco de aproximadamente 1cm de diámetro, el cual contiene micelio del hongo, se pone en el centro del medio de cultivo de la caja de Petri y lleva a incubación por 8 días a 30°C condiciones que favorece el crecimiento del hongo, este mismo procedimiento se realiza para los medios de agar dextrosa sabouraud y agar extracto salvado de trigo. La figura 21 permite identificar el tamaño del disco y la disposición dentro de la caja Petri, esto se puede observar en el recuadro rojo que se presenta en la figura.

Figura 21.

Disco de Pleurotus ostreatus en medio agar



Nota. Esta figura muestra el tamaño del disco del hongo puesto en agar extracto salvado de trigo. Tomado de Patiño Valentina, 2021

3.1.4 Conservación de la Cepa

Con el fin de tener siempre micelio del hongo viable y activo metabólicamente se realiza un banco de trabajo, en donde inicialmente se realiza una mezcla de glicerol y caldo sabouraud, el porcentaje de glicerol atribuido a la solución será del 30% con el cual se garantiza la viabilidad de la cepa, permitiendo que el microorganismo disminuya su tasa metabólica por medio de la crio refrigeración. En este caso se realizan 120mL de caldo sabouraud y 40mL de glicerol, los cuales son esterilizados en autoclave a 121°C o 15 psi de presión durante 15 minutos, con el fin de garantizar la inocuidad de la mezcla.

Luego del proceso de esterilización se realiza la mezcla entre el glicerol y el caldo sabouraud, posteriormente se toman tubos eppendorf estériles, en los cuales se pone 1,5mL de la mezcla realizada, dentro de estos tubos se pone adicionalmente un disco de aproximadamente 1cm de micelio joven de *Pleurotus ostreatus*, el cual es tomado de las cajas de Petri sembradas y en las cuales ya se encuentra desarrollado el micelio vegetativo del hongo, la figura 22 permite identificar la forma de almacenar los discos, en esta conservación se almacenan aproximadamente 40 tubos eppendorf. La figura 23 muestra el proceso general para hacer la conservación de la cepa.

Figura 22.

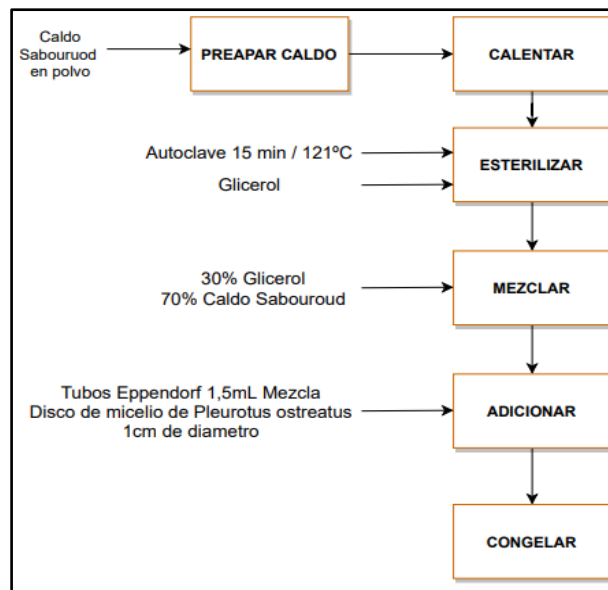
Conservación de la cepa Pleurotus ostreatus



Nota. Esta figura muestra la forma de realizar la conservación de la cepa y el tamaño de los discos del hongo. Tomado de Patiño Valentina, 2021

Figura 23.

Diagrama conservación de la cepa



Nota. Esta figura muestra de una manera general como se puede realizar la conservación de la cepa por criorefrigeración.

3.1.5 Adecuación de los sustratos

Los sustratos empleados para la presente investigación son salvado de trigo y cascarilla de café, el salvado de trigo es adquirido de un distribuidor comercial y la cascarilla de café es adquirida de un distribuidor comercial conocido como CAFÉ MONTAÑA ROJA S.A.S, la especie que comercializan es conocida como Castillo Caturra (genero *Coffea arábica*) proveniente del Huila.

La adecuación de los sustratos es un paso importante para poder suministrarle al microorganismo las condiciones óptimas de crecimiento, en este caso el parámetro que se desea regular es la humedad, para ello los dos sustratos son sumergidos en agua la cual es proporcional a la cantidad de sustrato, para este experimento se realizaran 100g de cada sustrato los cuales se dispondrán en bolsas estériles de polipropileno y se sellaran con tapones de gasa y un aro de tubo de PCV de dos pulgadas de diámetro, se establece relación 1:1 en donde se agregaran 100mL de agua desionizada; para que la humedad se distribuya de manera homogénea es necesaria realizar una buena mezcla y dejar en reposo por 12 horas para garantizar la absorción total del agua por parte de los sustratos.

Transcurridas las 12 horas se realiza la determinación de humedad de los sustratos con el fin de garantizar el porcentaje optimo el cual se encuentra en un rango de 70% - 80%, esto se realiza tomando 5g de la muestra en un crisol libre de humedad, esta muestra es llevada por 2 horas a una estufa a 110°C en donde se garantiza la remoción total de la humedad de los sólidos [54], una vez culminado el tiempo la muestra se pone en un desecador hasta alcanzar temperatura ambiente, alcanzada temperatura ambiente se procede a pesar y realizar el cálculo correspondiente para la determinación de la humedad en las muestras, la ecuación 1 representa la forma de determinar el porcentaje de humedad. Adicionalmente la figura 24 muestra las muestras obtenidas luego del proceso de secado y la figura 25 muestra el paso a paso general para la determinación de humedad de los sustratos.

Ecuación 1.

Determinación del porcentaje de humedad

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso inicial (g)} - \text{Peso final (g)}}{\text{Peso inicial (g)}} * 100$$

Figura 24.

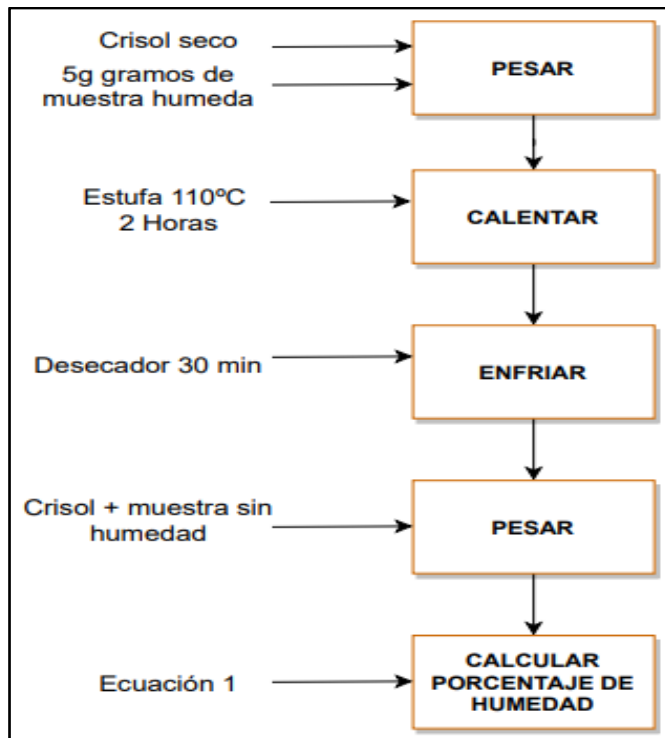
Muestras de los sustratos sin humedad



Nota. Esta figura muestra los sustratos sin humedad.

Figura 25.

Determinación de humedad



Nota. Esta figura muestra de una manera general como se puede determinar la humedad en los sustratos.

3.1.6 Obtención del Inoculo

Para la obtención del inoculo se toman 5 discos de medio solido los cuales tienen 1 cm de diámetro aproximadamente, estos discos son inoculados en medio liquido de extracto de salvado de trigo con un volumen de 100mL extracto en un Erlenmeyer de 250mL, el cual se elabora de la forma explicada en la sección 3.1.3 la diferencia radica en que en su formulación no es necesario agrega agar, cabe resaltar que antes del proceso de inoculación el medio debe ser esterilizado a 121°C o 15 psi durante 15 minutos. La inoculación se realiza en cámara de flujo laminar, el medio líquido con los discos en suspensión es llevado a un Sheaker a 120 rpm por 8 días a una temperatura de 30°C, esto con el fin de obtener Pellets que son conglomerados de micelio de *Pleurotus ostreatus*, en este caso se realizaran seis medios líquidos ya que se desean realizar 3 réplicas por cada sustrato y para obtener la biomasa suficiente se debe destinar un medio líquido para cada replica. En la figura 26 se evidencian los discos en suspensión en el medio liquido de extracto de salvado de trigo, adicionalmente la figura 27 muestra el paso a paso de forma general para la elaboración del inoculo.

Figura 26.

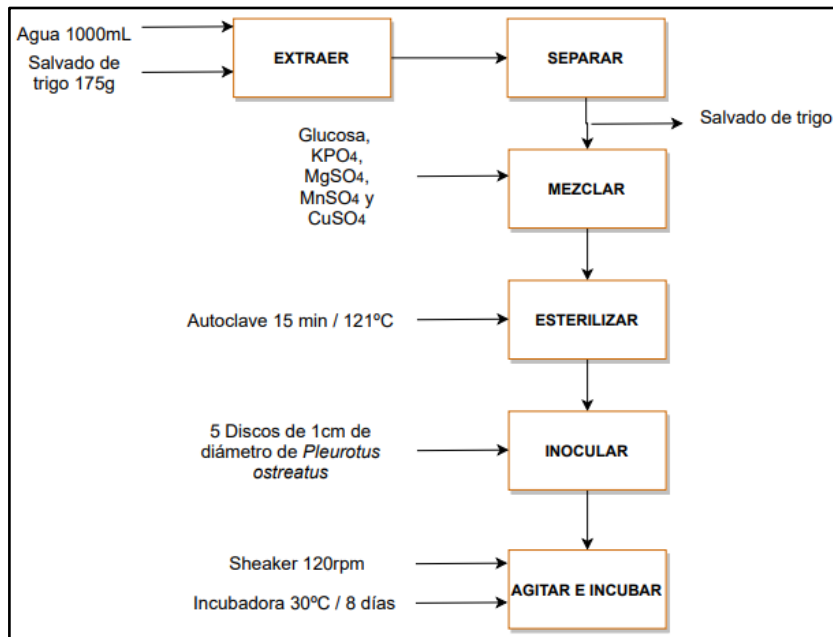
Discos en medio liquido extracto salvado de trigo



Nota. Esta figura los discos del hongo en suspensión en medio líquido de extracto de salvado de trigo. Tomado de Valentina Patiño, 2021.

Figura 27.

Diagrama obtención del inóculo



Nota. Esta figura representa el paso a paso para la elaboración del inóculo.

3.1.7 Determinación de Peso seco de biomasa

La determinación de peso seco se realiza una vez culmina el tiempo de incubación del medio líquido de extracto de salvado de trigo, esto se realiza con el fin de identificar la cantidad de biomasa presente al pasar 8 días de incubación; inicialmente se toman los 100mL de extracto de salvado de trigo con formación de biomasa, se ponen en tubos centrífugos de 13mL para un total de 6 tubos, ya que la finalidad es determinar la cantidad de biomasa presente, se centrifuga a 5000rpm por 8 minutos con lo cual se garantiza la separación del extracto de salvado de trigo de la biomasa formada.

El sedimento es separado del sobrenadante, el cual queda en el fondo de los tubos centrífugos, este sedimento junto con los tubos es llevado a una estufa a 60°C durante 48 horas con el fin de garantizar la remoción de la humedad y obtener únicamente la biomasa, transcurridas las 48 horas se pesa y establece la cantidad de biomasa producida por el microorganismo, posterior a ello se deja en desecador por 30 minutos. Cabe aclarar que los tubos centrífugos fueron pesados vacíos y

sin humedad para poder realizar los cálculos pertinentes. La ecuación que se emplea para la determinación de biomasa se describe en la ecuación 2.

Ecuación 2.

Ecuación determinación de peso seco

$$\text{Peso seco (g)} = \text{Peso tubo con biomasa(g)} - \text{Peso del tubo vacío(g)}$$

La figura 28 muestra la biomasa obtenida luego del proceso de secado y la figura 29 esquematiza el paso a paso para obtener el peso seco de la biomasa producida por el hongo *Pleurotus ostreatus*.

Figura 28.

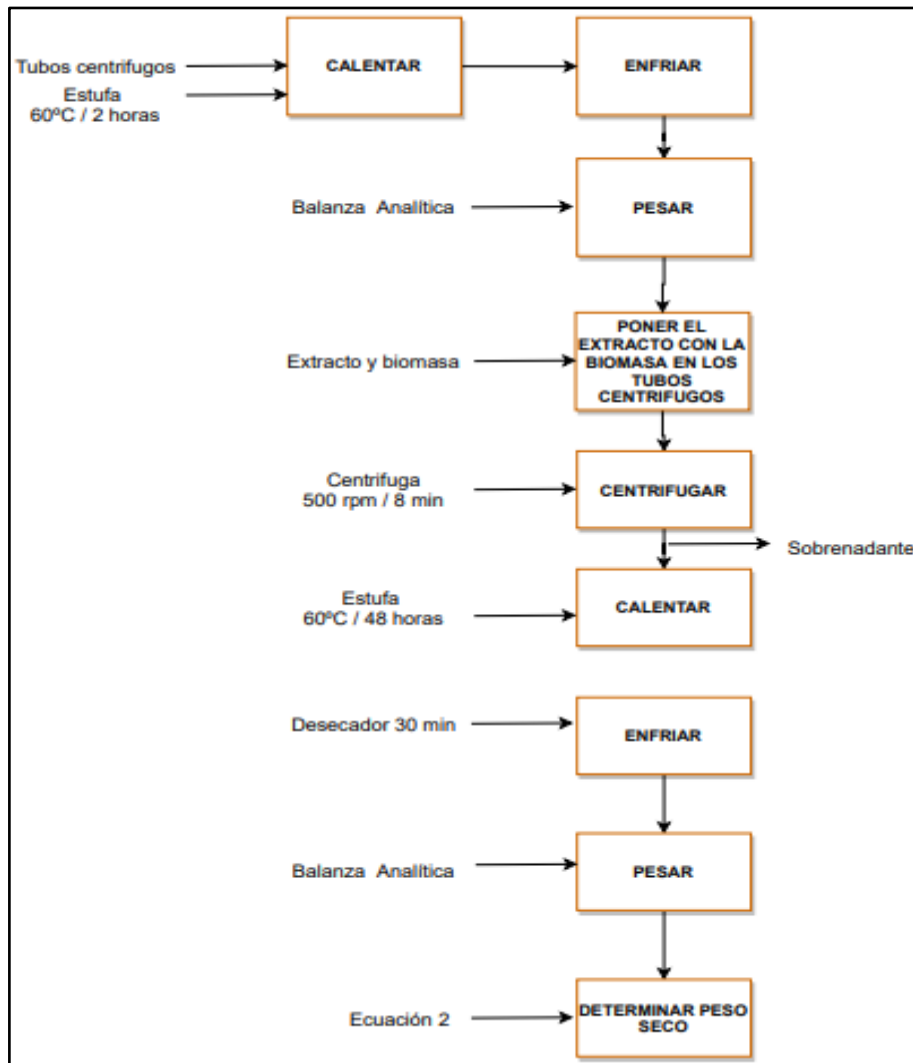
Biomasa luego del proceso de secado



Nota. Esta figura muestra la biomasa obtenida por peso seco.

Figura 29.

Diagrama determinación de peso seco



Nota. Esta figura muestra el paso a paso para poder determinar la cantidad de biomasa real por medio del ensayo de peso seco.

3.1.8 Determinación de peso seco de los sustratos

Para obtener de manera correcta el peso total de la biomasa es necesario tener el peso de los sustratos sin humedad, por ello se pone la misma cantidad de sustrato en la que será sembrada la biomasa, para ello se toman 100g tanto de salvado de trigo como cascarilla de café, se deja por 48 horas en estufa, lo cual garantiza la remoción total de la humedad. Una vez culminado el tiempo

se deja en desecador y se pesa a temperatura ambiente, determinando el valor real del sustrato por medio de la ecuación 3. La figura 31 muestra los sustratos luego de su proceso de secado.

Ecuación 3.

Ecuación peso seco de los sustratos

$$\text{Peso seco (g)} = \text{Peso sustrato humedo(g)} - \text{Peso sustrato seco(g)}$$

Figura 30.

Sustratos luego de la determinación de peso seco



Nota. Esta figura muestra el salvado de trigo y la cascarilla de café luego del proceso de peso seco.

3.1.9 Colonización de los sustratos

Para realizar la colonización de los sustratos es necesario inicialmente realizar la obtención de la biomasa del medio líquido, esto se realiza por medio de la centrifugación de la mezcla heterogénea obtenida, para esto los tubos centrífugos deben ser esterilizados ya que todo se debe manejar de la manera más inocua posible, por ello son llevados a un autoclave por 15 minutos a 121°C o 15 psi de presión, posteriormente se distribuyen los 100mL de cada medio líquido en los tubos estériles de 13mL para una totalidad de 6 tubos, los cuales son centrifugados a 5000rpm durante 8 minutos, tiempo en el cual se garantiza la completa separación de la biomasa y el extracto. El sobrenadante el cual es el extracto es desechado y se conserva el sedimento del tubo, se debe mencionar que antes de hacer uso del sustrato se debe esterilizar a 121°C o 15 psi de presión durante 30 minutos, una vez las bolsas con los sustratos se encuentren a temperatura ambiente se procede a sembrar los

6 tubos de biomasa en los 100g de cada replica. La figura 31 muestra la biomasa en contacto con la cascarilla de café, la cual se distribuye homogéneamente en el sustrato.

Figura 31.

Biomasa centrifugada sobre la cascarilla de café

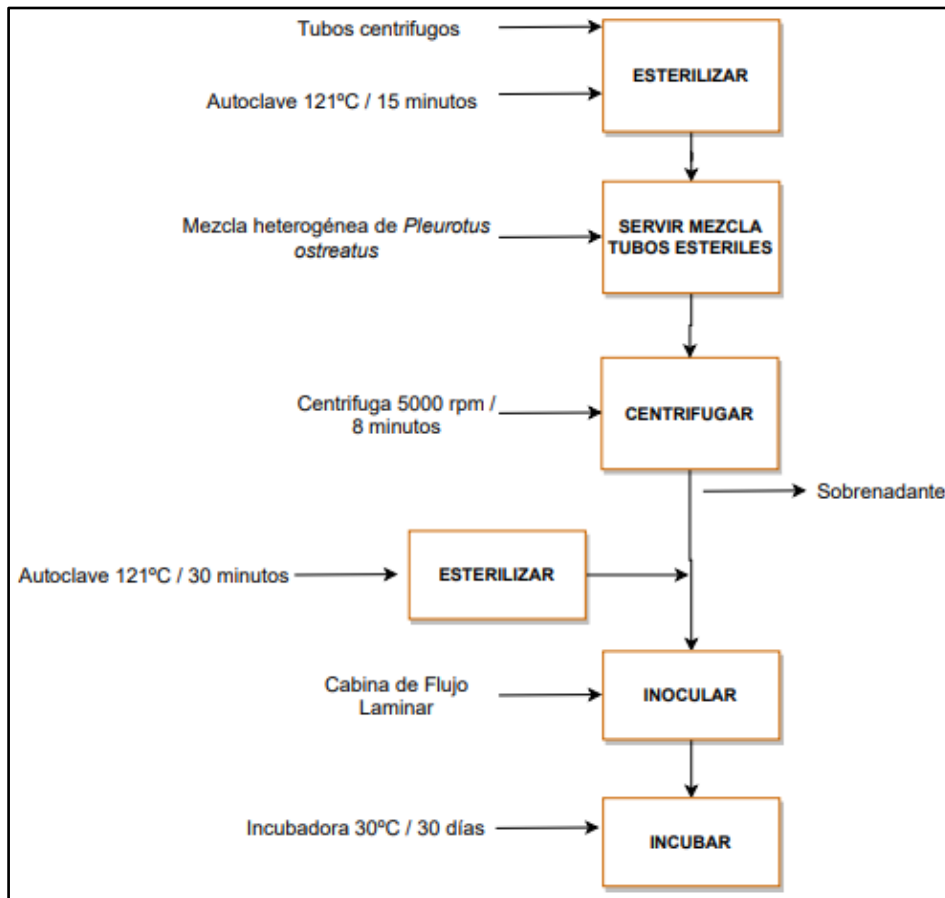


Nota. Esta figura en la imagen de izquierda la biomasa centrifugada y en la imagen de la izquierda la biomasa en contacto con la cascarilla de café.

Todo lo descrito anteriormente se debe realizar en cabina de flujo laminar garantizando completa inocuidad, ya finalizada la siembra en la bolsa de polietileno con el sustrato y la biomasa, son puestas en las láminas de aluminio y selladas por completo con papel aluminio, con el fin de garantizar oscuridad total, dejándolo totalmente sellado en la incubadora a una temperatura de 30°C por 30 días. La figura 32 muestra el paso a paso realizado para la inoculación de los sustratos.

Figura 32.

Diagrama para la inoculación del sustrato



Nota. Esta el paso a paso para la inoculación de los sustratos con la biomasa centrifugada.

3.1.10 Inactivación microbiana

La inactivación microbiana se realiza sometiendo el sustrato colonizado por el hongo a una estufa a 70°C durante 48 horas para retirar humedad y provocar la muerte del microorganismo [55], [56]. Se pesa el material obtenido, por medio de la figura 33 se muestra lo realizado con el sustrato colonizado para su inactivación microbiana. La figura 34 esquematiza el paso a paso para la inactivación microbiana del sustrato colonizado.

Figura 33.

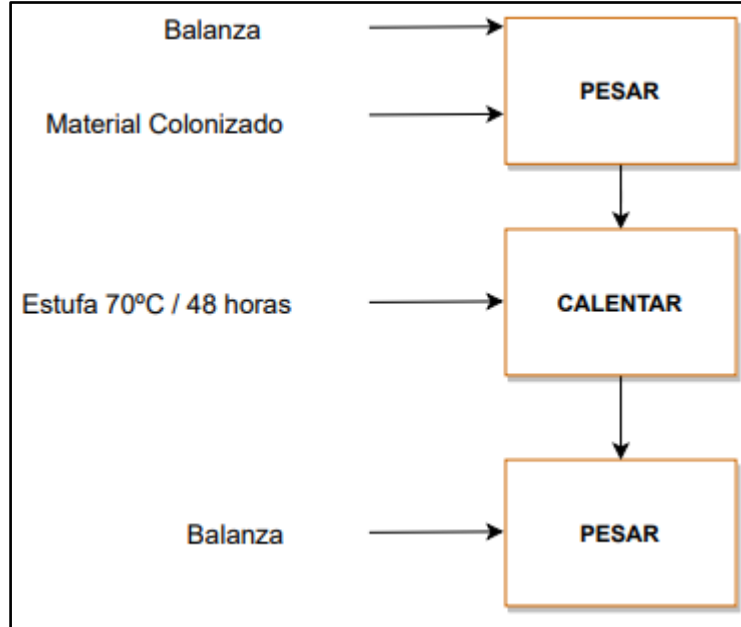
Inactivación microbiana



Nota. Esta figura muestra el material para iniciar la inactivación microbiana.

Figura 34.

Diagrama inactivación microbiana



Nota. Esta figura muestra el paso a paso de la inactivación microbiana.

3.2 Resultados y Análisis de Resultados

La obtención de la cepa madre fue favorable realizarla por medio del cuerpo fructífero del hongo ya que permitió tener un crecimiento micelial inocuo y favorable, la figura 35 muestra la cepa obtenida luego de la siembra en el medio de cultivo, obteniendo el micelio del hongo inocuo y activo metabólicamente, lo que permitirá que sea empleada en la continuación de la presente investigación.

Figura 35.

Cepa madre hongo Pleurotus ostreatus



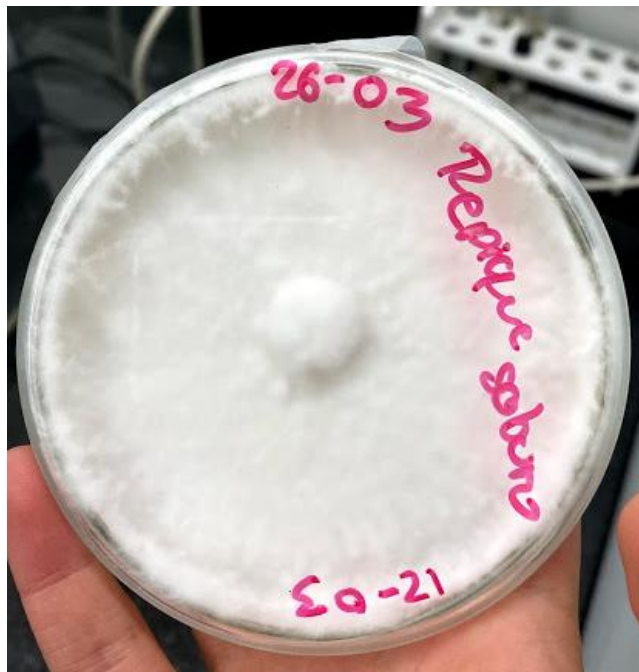
Nota. Esta figura muestra la cepa madre seleccionada del hongo *Pleurotus ostreatus*.

Con la obtención favorable de la cepa se realizan diferentes siembras para la propagación del hongo, esto se realiza en medio sólido de agar extracto de salvado de trigo obteniendo un micelio inocuo y activo metabólicamente, esto es determinado por la rapidez de crecimiento y la propagación de este en el micelio sembrado como se observa en la figura 36, comportamiento que Kshitij y colaboradores, encontró en su estudio ya que evalúa el crecimiento del micelio vegetativo en distintos sustratos entre estos el salvado de trigo, encontrando que este favorece el crecimiento y desarrollo del micelio en corto tiempo, resaltando que este comportamiento se debe a su alto contenido en nutrientes facilitando el crecimiento de microorganismo [57].

Complementando lo mencionado anteriormente la degradación del sustrato también se deba a que *Pleurotus ostreatus* es un hongo que crece favorablemente en el medio mencionado, pues posee la enzimas necesarias para hidrolizar los compuestos y realizar su proceso de nutrición, se debe aclarar que el crecimiento del hongo se realizó en 8 días, tardando menor tiempo en comparación a la obtención de la cepa madre, demostrando que a medida que se hacen nuevas siembras tomando micelio joven, se permite al hongo tener un mejor desarrollo metabólico, aumentando su velocidad de expansión y crecimiento en los medios sembrados.

Figura 36.

Propagación del hongo Pleurotus ostreatus



Nota. Esta figura muestra el hongo *Pleurotus ostreatus* obtenido en la propagación realizada en el medio sólido agar extracto salvado de trigo. Tomado de Patiño Valentina, 2021.

El crecimiento de los discos de micelio en el medio líquido de extracto de salvado de trigo fue favorable ya que se obtuvo una abundante producción de biomasa, representada en pellets los cuales estas conformados por micelio del hongo *Pleurotus ostreatus*, sin embargo, el resultado real

de la cantidad de biomasa obtenida se identificará más adelante en el documento, por medio de la figura 37 se muestra la cantidad y forma de los pellets de *Pleurotus ostreatus* obtenidos.

Figura 37.

Producción de biomasa en forma de pellets



Nota. Esta figura muestra los pellets de micelio del hongo *Pleurotus ostreatus* el cual será usado como inóculo.

Como bien se describió en la metodología para la inoculación de la biomasa obtenida por medio de los pellets es necesario adecuar el sustrato con la humedad pertinente, para ello se establece una relación 1:1 entre cantidad de agua y sustrato, procedimiento que realiza Soh y colaboradores, en la adecuación de su sustrato identificando que esta relación si permite obtener el porcentaje óptimo de humedad para el crecimiento de *Pleurotus ostreatus*, sin embargo este resultado no se obtuvo en la presente investigación esto se debe a que el sustrato empleado por Soh y colaboradores, es residuo bambú, sustrato que tiene un porcentaje de humedad mayor al salvado y cascarilla de café, por lo tanto se obtienen resultado diferentes a lo reportado [58].

Por medio de tabla 8 y 9 se reportan los datos obtenidos para el salvado de trigo y cascarilla de café respectivamente, encontrando que para el salvado de trigo el porcentaje de humedad promedio es de 56,38% y para la cascarilla de café un valor promedio de 43,004%, estableciendo así que el salvado de trigo es el sustrato que mejor humedad atrapa, esperando así que sea el que mejor para

la colonización del hongo, es claro que los porcentajes encontrados no son los establecidos bibliográficamente para el crecimiento del microorganismo, por lo tanto se debe evaluar si el microorganismo tomo humedad del ambiente para poder obtener los rangos necesarios para su crecimiento.

Tabla 8.

Valores porcentaje de humedad Salvado de trigo

PORCENTAJE DE HUMEDAD PARA EL SALVADO DE TRIGO				
Peso Crisol Seco (g)	Peso Salvado de Trigo (g)	Peso Crisol + Salvado de Trigo seco (g)	Salvado Trigo sin Humedad (g)	% Humedad
Replica 1				
86,54	5,23	88,96	2,42	53,73
23,84	4,96	26,17	2,32	53,14
Porcentaje de humedad promedio (%)				53,43
Replica 2				
53,44	5,80	55,71	2,27	60,82
23,42	5,20	25,61	2,19	57,87
Porcentaje de humedad promedio (%)				59,35
Replica 3				
23,47	5,41	25,84	2,37	56,20
29,08	5,38	31,41	2,34	56,50
Porcentaje de humedad promedio (%)				56,35

Nota. Esta tabla muestra los datos obtenidos en la determinación de humedad realizada al salvado de trigo.

Con la humedad establecida del sustrato se procede a empacar y esterilizar, para este se emplean bolsas de polietileno como se describió en la metodología y se realizan tapones especiales de gasa los cuales permitirán la respiración del microorganismo teniendo en cuenta que *Pleurotus ostreatus* es un microorganismo aerobio, el cual encontrará el suministro de oxígeno necesario del aire que entre por el tapón, así mismo podrá adquirir también humedad del ambiente si lo necesita para complementar su porcentaje de humedad, el porcentaje absorbido será el necesario para lograr las condiciones adecuadas de crecimiento [14].

Se debe resaltar que la siembra se realiza con sustrato húmedo y biomasa húmeda como se muestra en la figura 38, ya que se debe tener en cuenta esto pues el valor estimado del material resultante de la colonización será estimado con humedad presente. La tabla 10 muestra los valores obtenidos en 3 Erlenmeyers luego de realizar el proceso de centrifugación, obteniendo valores

Tabla 9.

Valores porcentaje de humedad cascarilla de café

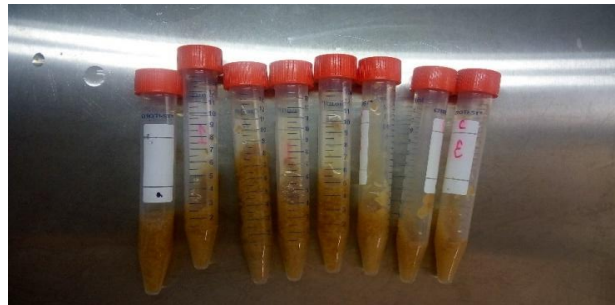
PORCENTAJE DE HUMEDAD PARA LA CASCARILLA DE CAFE				
Peso Crisol Seco (g)	Peso Salvado de Trigo (g)	Peso Crisol + Salvado de Trigo seco (g)	Salvado de Trigo sin Humedad (g)	% Humedad
Replica 1				
29,08	5,28	31,98	2,90	44,99
21,49	5,39	24,59	3,10	42,45
Porcentaje de humedad promedio (%)				43,72
Replica 2				
23,42	5,60	26,64	3,22	42,41
23,83	5,96	27,28	3,45	42,02
Porcentaje de humedad promedio (%)				42,22
Replica 3				
23,47	5,72	26,76	3,29	42,44
25,33	6,01	28,71	3,38	43,71
Porcentaje de humedad promedio (%)				43,08

Nota. Esta tabla muestra los datos obtenidos en la determinación de humedad realizada a la cascarilla de café.

promedios para cada uno, sin embargo, por su variación se decide promediar los valores obtenidos para cada uno con el fin de poder establecer un valor único ya que será el empleado para realizar la determinación del peso inicial antes de la colonización de los sustratos, el valor establecido será de 5,688g de biomasa húmeda (pellets recuperados húmedos), este será considerado el inóculo de la presente investigación.

Figura 38. *Inoculo húmedo de Pleurotus ostreatus.*

Inoculo húmedo de Pleurotus ostreatus



Nota. La figura muestra la biomasa recuperada luego del proceso de centrifugación.

Tabla 10.*Biomasa húmeda de Pleurotus ostreatus*

DETERMINACIÓN DE BIOMASA HÚMEDA		
Replica 1		
Tubo Vacío (g)	Tubo + Biomasa (g)	Biomasa Húmeda (g)
7,16	9,67	2,51
7,06	12,89	5,83
7,15	12,42	5,27
7,13	10,99	3,86
7,10	11,36	4,27
7,03	15,56	8,53
Promedio de Biomasa Húmeda (g)		5,04
Replica 2		
Tubo Vacío (g)	Tubo + Biomasa (g)	Biomasa Húmeda (g)
7,12	13,76	6,65
7,11	13,32	6,21
7,15	13,58	6,42
7,08	12,52	5,45
7,03	11,12	4,09
7,04	13,09	6,04
Promedio de Biomasa Húmeda (g)		5,81
Replica 3		
Tubo Vacío (g)	Tubo + Biomasa (g)	Biomasa Húmeda (g)
7,10	13,49	6,40
7,01	14,17	7,15
7,15	14,56	7,41
7,13	12,79	5,65
7,10	12,74	5,64
7,03	12,04	5,01
Promedio de Biomasa Húmeda (g)		6,21
Valor Promedio de la Biomasa (g)		5,69

Nota. La tabla muestra los valores obtenidos a tres replicas realizadas para la obtención de la biomasa húmeda promedio recuperada.

Con el fin de poder cuantificar con certeza la cantidad de biomasa empleada en la colonización se establecen los valores de peso seco de la biomasa reportados en la tabla 11, identificando que aproximadamente se tiene un valor de 1,21g de biomasa seca, correspondiente al valor real de biomasa con la cual se generara la colonización de los sustratos. Así mismo se reportan los resultados de peso seco obtenidos para el sustrato ya que serán empleados en cálculos posteriores del presente documento, obteniendo como resultado lo reportado en la tabla 12 y 13 para el salvado de trigo y cascarilla de café respectivamente. Cabe resaltar que los valores presentes de humedad

en los sustratos son bastante bajos mientras que en la biomasa se presenta un alto contenido de humedad comparado con lo reportado en la tabla anterior.

Tabla 11.

Resultados peso de biomasa

RESULTADOS BIOMASA SECA		
PESO TUBO SIN TAPA SECO (g)	PESO TUBO + BIOMASA SECA (g)	PESO BIOMASA (g)
Replica 1		
5,48	5,64	0,15
5,63	5,69	0,063
5,56	5,88	0,32
5,59	5,94	0,35
5,59	5,84	0,25
5,63	5,74	0,12
Biomasa en 100mL (g)		1,25
Replica 2		
5,60	5,62	0,013
5,58	5,70	0,12
5,56	5,98	0,42
5,56	5,88	0,33
5,48	5,54	0,061
5,56	5,79	0,23
Biomasa en 100mL (g)		1,17
Valor Biomasa Promedio (g)		1,21

Nota. La tabla muestra los valores obtenidos a la hora de realizar la determinación de peso seco de la biomasa obtenida.

Tabla 12.*Resultados peso seco salvado del trigo*

PESO SECO DEL SALVADO DE TRIGO			
Cajas de aluminio secas (g)	Salvado de Trigo (g)	Cajas de Aluminio + Salvado de Trigo (g)	Salvado de Trigo sin Humedad (g)
Replica 1			
5,06	100,11	97,68	92,63
Replica 2			
4,97	100,47	97,93	92,96
Replica 3			
5,04	100,51	97,72	92,68
Peso Seco Promedio del Salvado de Trigo (g)			92,75

Nota. La tabla muestra los valores obtenidos a la hora de estudiar el peso seco del salvado de trigo.

Tabla 13.*Resultados peso seco cascarilla de café*

PESO SECO DE LA CASCARILLA DE CAFÉ			
Cajas de aluminio secas (g)	Cascarilla de Café (g)	Cajas de Aluminio + Cascarilla de Café (g)	Cascarilla de Café sin Humedad (g)
Replica 1			
5,02	101,46	98,66	93,64
Replica 2			
5,0023	101,39	98,52	93,52
Replica 3			
4,98	101,42	98,54	93,55
Peso Seco Promedio de la Cascarilla de Café (g)			93,57

Nota. La tabla muestra los valores obtenidos a la hora de estudiar el peso seco de la cascarilla de café.

Con la obtención del peso húmedo del inóculo se realiza la siembra en el sustrato, la figura 40 muestra la trayectoria que se llevó desde el sustrato inoculado hasta la obtención de la completa colonización del sustrato representado por la sección 4, mostrando en la sección señalada como 1 el sustrato en su primer día de inoculación donde no se observa la presencia del micelio del hongo; la sección señalada como 2 el sustrato pasados 8 días de colonización, en donde se observa unos puntos blancos en la superficie del salvado que es el indicio del crecimiento del hongo en el salvado de trigo; la sección señalada como 3 muestra el sustrato pasado 25 días de colonización en donde ya se observa bastante formación de micelio vegetativo y completa colonización del salvado de trigo, y por último la sección señalada como 4 pasados 30 días de colonización fuera de la bolsa

de incubación, en donde se puede apreciar un sustrato colonizado por completo, con alto producción de micelio vegetativo del hongo, bastante rígido y resistente, de primera mano tiene una textura suave atribuida a la alta presencia de micelio sobre el salvado de trigo.

Se debe resaltar que esta metodología empleada no se ha descrito en las revisiones bibliográficas realizadas ya que autores como Bautista y colaboradores (2018), Soh y colaboradores (2020), Haneef y colaboradores (2017) y Ching y colaboradores (2020) realizan siembre en materiales de soporte como semillas de sorgo con micelio y luego realizan la inoculación del sustrato, tardando mayor tiempo en el proceso de formación del biomaterial, mientras que al realizan el paso directo al sustrato por medio de la biomasa en forma de pellets se puede reducir el tiempo de producción y evitar contaminación cruzada por microorganismo competidores que puedan retrasar el desarrollo de *Pleurotus ostreatus* [55], [56], [58], [59].

La obtención completa de la colonización del sustrato se pudo realizar gracias al proceso hidrolítico que realizaron las enzimas que segrega el hongo *Pleurotus ostreatus* las cuales son la lignina peroxidasa (LiP), manganeso peroxidasa (MnP) y lacasas, enzimas que permitieron la ruptura de los compuestos lignocelulósicos generando así el crecimiento del micelio vegetativo del hongo, dando como resultado la colonización completa del sustrato, cabe resaltar que los resultados mostrados en la figura 39 son para el salvado de trigo, infiriendo así que este, es un material viable con el cual se puede realizar la producción de un material sustituto al poliestireno expandido pues el salvado de trigo es un sustrato que posee bastantes nutrientes y alto porcentaje de polisacáridos como la lignina.

Figura 39.

Trayectoria de colonización del salvado de trigo



Nota. La figura muestra la evolución de la colonización del hongo en el salvado de trigo. Sección 1: sustrato sin colonizar; Sección 2: sustrato con 8 días de colonización; Sección 3: Sustrato con 25 días de colonización; Sección 4: sustrato con 30 días de colonización.

Cabe resaltar que no solo la presencia de las enzimas permite la colonización completa, factores como la temperatura son cruciales para lograr el crecimiento del micelio vegetativo, manteniendo así una temperatura constante y monitoreada de 30°C, esta temperatura se controló durante los 30 días de colonización del sustrato. Por medio de la tabla 14 se muestran los datos obtenidos durante el proceso de colonización, tomando como datos de partida, el sustrato seco, la cantidad de agua suministrada y la cantidad de biomasa húmeda inoculada y ya como datos de salida la masa bloque colonizado húmedo.

Tabla 14.*Datos obtenidos en la colonización del salvado de trigo*

RESULTADOS DE LA COLONIZACION DEL SALVADO DE TRIGO					
Replic a	Peso Inicial Sustrato (g)	Peso agua (g)	Peso Biomasa promedio (g)	Peso Inicial Material Húmedo (g)	Peso Final del material Húmedo(g)
1	100,23	110,00	5,69	215,92	240,13
2	100,02	110,00	5,69	215,70	232,78
3	100,10	110,00	5,69	215,79	232,08
Peso final promedio del material húmedo (g)					235,00

Nota. La tabla muestra los valores obtenidos luego de los 30 días de colonización del salvado de trigo.

Evaluando los datos obtenidos se identifica una masa mayor al final de la colonización, cosa que se le atribuye a la absorción de humedad por parte del hongo durante su crecimiento ya que los porcentajes suministrados inicialmente de humedad no son los óptimos para el crecimiento del hongo, este atrapa humedad del ambiente por medio del tapón con el cual realiza el proceso de respiración, la humedad relativa del lugar de incubación se obtuvo de 42% que permite que el microorganismo pueda realizar absorción de la humedad presente en el ambiente, la tabla 15 muestra la masa adicional atribuida a la humedad capturada del ambiente y el porcentaje de aumento.

Tabla 15.*Valores de masa en exceso salvado de trigo colonizado.*

RESULTADOS DEL SALVADO DE TRIGO COLONIZADO				
Replica	Peso Inicial Material Húmedo (g)	Peso Final del Material Húmedo (g)	Masa Sobrante	% Masa Sobrante
1	215,92	240,13	24,21	11,21
2	215,70	232,78	17,08	7,92
3	215,79	232,08	16,29	7,55
% Masa sobrante promedio				8,89

Nota. La tabla muestra los valores en exceso de masa obtenidos al final de la colonización del salvado de trigo.

Como etapa final del proceso se realiza la inactivación del crecimiento microbiano. El sustrato ya colonizado ingresa a la estufa como un material pesado y suave, esta última característica atribuida al crecimiento del microorganismo, al salir se obtiene un material seco, liviano y mucho más rígido al inicial (figura 40), adicionalmente se observa una pérdida de peso relacionada con la cantidad de agua que posee el material, ya que por medio del calentamiento realizado se evapora el mayor porcentaje de agua contenida, en la tabla 16 se muestran los datos obtenidos, identificando que más del 60% del material corresponde a agua que es la masa que se evapora.

Tabla 16.

Resultados colonización microbiana.

RESULTADOS INACTIVACION MICROBIANA			
Replica	Peso del Material Húmedo (g)	Peso del Material Seco (g)	Porcentaje de Reducción (%)
1	240,13	78,94	67,13
2	232,78	76,65	67,07
3	232,08	77,58	66,57
Porcentaje de reducción promedio (%)			66,92

Nota. La tabla muestra los valores en exceso de masa obtenidos al final de la colonización del salvado de trigo.

Figura 40.

Material obtenido antes y después de la inactivación microbiana



Nota. La figura muestra los cambios físicos del material luego de la inactivación microbiana.

Como la materia no se crea ni se destruye como valor mínimo de peso del material se debería obtener el valor del salvado de trigo en peso seco inicial, sin embargo se obtiene un valor menor atribuido a la respiración microbiana realizado por *Pleurotus ostreatus*, ya que en este proceso consume carbono el cual no se ve reflejado en la biomasa producida, pues según la bibliografía los hongos filamentosos emplean el carbono presente en el sustrato en distintas rutas metabólicas una de ellas es su ruta de respiración en el cual se produce dióxido de carbono como proceso de oxidación completa [60], en la presente investigación el porcentaje de carbono aproximado consumido en dicho proceso es de 22,96%, los valores se encuentra reportado en la tabla 17.

Tabla 17.

Valores de consumo de sustrato por la respiración del microorganismo

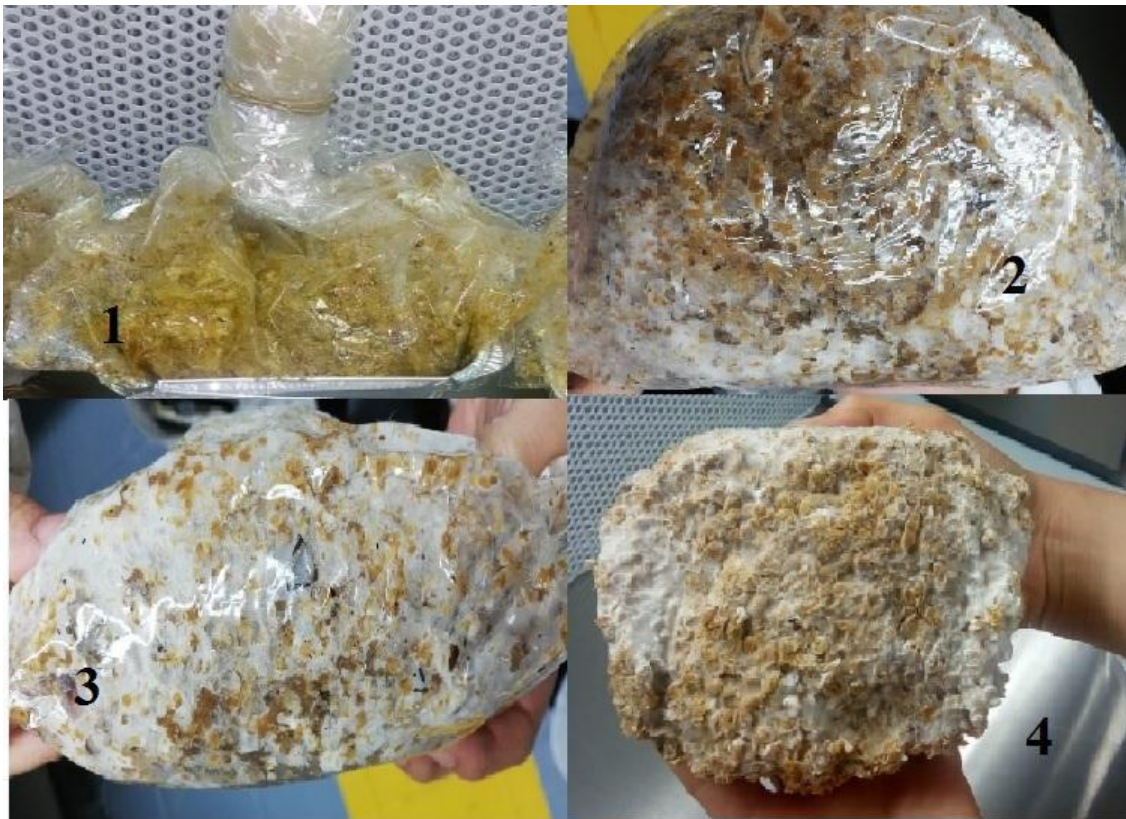
Salvado de Trigo			
Replica	Valor Inicial Material Seco (g)	Valor Final Material seco (g)	Porcentaje de Sustrato Consumido (%)
1	92,62	72,57	21,65
2	92,96	70,47	24,19
3	92,68	71,33	23,04
Porcentaje promedio del sustrato consumido (%)			22,96

Nota. La tabla muestra los porcentajes de consumo del sustrato usado por el microorganismo para el proceso de respiración.

Posterior a los resultados obtenidos en el salvado de trigo (material de referencia) se somete a un protocolo de colonización similar en la cascarilla de café que es el material de interés en la presente investigación (figura 41). En la sección 1 muestra la cascarilla de café en su primer día de inoculación, en la sección 2 se puede observar el material luego de 12 días de colonización en el que se destaca el crecimiento del micelio vegetativo sobre la cascarilla de café, la sección 3 permite ver el sustrato luego de 22 días identificando casi el 100% de colonización del bloque, por último la sección 4 describe el material luego de 27 días de incubación obteniendo como resultado una colonización completa de la superficie del bloque sin ser abundante.

Figura 41.

Trayectoria de colonización de la cascarilla de café



Nota. La figura muestra la trayectoria de colonización, esta figura se encuentra dividida en 4 secciones, en donde en la sección 1 se observa el sustrato en el primer día de incubación, en la sección 2 se observa el sustrato pasados 12 días de colonización, la sección 3 se observa el sustrato pasado 22 días de colonización y en la sección 4 se observa el sustrato pasados 27 días de colonización.

Sin embargo en comparación con el salvado de trigo en el que la biomasa además de extenderse por el bloque fue abundante, en la cascarilla de café no se observó el mismo nivel de propagación, teniendo como consecuencia un material poco rígido y estable debido a que en el interior del bloque se hayan zonas sin colonización de *Pleurotus ostreatus*, esto se puede atribuir al tamaño de partícula que presenta la cascarilla de café y al tiempo de incubación, identificando así que para este tipo de material lignocelulósico es necesario tener un mayor tiempo de incubación, con lo que se le permitirá al hongo formar mayor cantidad de micelio vegetativo, logrando una mejor sujeción del sustrato ya que dicho micelio actúa como pegamento por medio de la degradación de este.

El proceso de colonización es una prueba de la expresión de enzimas degradadoras de materiales lignocelulósicos que le permiten usarlos como fuente de carbono y energía, aun así en el caso de la cascarilla, al estudiar en detalle el material conformado se identifica que existen algunas zonas que presentan menor presencia de micelio vegetativo así como se indica en la figura 43, esta no heterogeneidad en la colonización puede deberse a que en este sustrato se requiere tiempos de incubación mayores con el fin de lograr la rigidez y extensión del micelio similar a lo encontrado al salvado de trigo. En la tabla 18 se referencian los datos obtenidos en el proceso de colonización de la cascarilla de café, identificando una masa final del material húmedo similar a la obtenida en el salvado de trigo (tabla 14), pero como se mencionó la distribución de la biomasa fúngica no fue homogénea.

Tabla 18.

Resultados de colonización de la cascarilla de café

RESULTADOS DE LA COLONIZACION DE LA CASCARILLA DE CAFÉ					
Replic a	Peso Inicial Sustrato (g)	Peso agua (g)	Peso Biomasa promedio (g)	Peso Inicial Material Húmedo (g)	Peso Final del material Húmedo(g)
1	101,13	100	5,69	206,82	230,53
2	101,05	100	5,69	206,74	220,81
3	101,35	100	5,69	207,04	231,92
Peso final promedio del material húmedo (g)					227,75

Nota. La tabla muestra los valores obtenidos luego de los 30 días de colonización de la cascarilla de café.

Como se evidencia en los datos obtenidos la cantidad de material húmedo al final de la colonización supera la cantidad de material húmedo al inicio de la colonización, estableciendo este valor adicional como la humedad retenida del ambiente por el microorganismo para realizar su proceso de crecimiento, ya que la cantidad de humedad suministrada por el sustrato se encuentra por debajo del valor óptimo de crecimiento, variable que puede afectar de manera significativa la colonización del sustrato, en la tabla 19 se observan los porcentajes en exceso que se presentan en el material, con el fin de establecer un valor exacto se promedió los datos obtenidos teniendo como resultado un valor de 10,10% el cual es el porcentaje de agua adicionado al material, en donde esta humedad es suministrada por el ambiente de incubación ya que el lugar en el cual se incubo posee una humedad relativa del 42% de la cual puede absorber durante su proceso de respiración.

Tabla 19.

Valores de masa en exceso de la cascarilla de café colonizada

RESULTADOS DE LA CASCARILLA DE CAFÉ COLONIZADA				
Replica	Peso Inicial Material Húmedo (g)	Peso Final del Material Húmedo (g)	Masa Sobrante	% Masa Sobrante
1	206,82	230,53	23,71	11,46
2	206,74	220,81	14,07	6,81
3	207,04	231,92	24,88	12,02
Porcentaje de masa promedio sobrante (g)				10,10

Nota. La tabla en exceso de masa obtenida al final de la colonización de la cascarilla de café.

Como fase final en la obtención del material a base de cascarilla de café, se realiza un proceso de inactivación microbiana, en donde se detiene la viabilidad metabólica del microorganismo. Previo al proceso de secado en estufa se evidencio un bloque poco rígido y frágil, posterior a las 48 horas de secado el material final fue más frágil, menos pesado y una fijación reducida del micelio fúngico en la superficie del bloque (figura 42), este comportamiento fue descrito también por Bautista y colaboradores (2018) pues en su investigación identifica que la cascarilla de café a pesar de presentar un buen crecimiento del micelio vegetativo, no posee las características apropiadas de compactación y ligereza que debe tener el bloque al final de la colonización, por ello en dicha investigación lo descartan en etapas iniciales de los ensayos realizados, resultado que es corroborado con lo obtenido en el presente documento, esto permite decir que no solo el crecimiento del micelio vegetativo del hongo es importante ya que se debe tener en cuenta la compactación pues sin esta no se podría llegar a obtener un material así exista colonización del sustrato [55].

Como se observa un cambio en peso luego del proceso de secado se procesó a estimar la tasa de pérdida del material obteniendo, resultado que son mostrados en la tabla 20 en donde se muestra el valor promedio obtenido, identificando una disminución superior al 60% del material, masa atribuida a la humedad retenida.

Tabla 20.

Resultados inactivación microbiana

RESULTADOS INACTIVACION MICROBIANA			
Replica	Peso del Material Húmedo (g)	Peso del Material Seco (g)	Porcentaje de Reducción (%)
1	230,53	89,30	61,26
2	220,81	83,45	62,21
3	231,92	84,34	63,63
Porcentaje de reducción promedio (%)			62,37

Nota. La tabla muestra los valores en exceso de masa obtenidos al final de la colonización de la cascarilla de café. E

Figura 42.

Inactivación microbiana en la cascarilla de café



Nota. La figura muestra los cambios físicos del material luego de la inactivación microbiana.

Al comparar el peso seco obtenido luego de la inactivación microbiana y el peso seco inicial del sustrato se evidencia una disminución en masa, esto se le atribuye al proceso de respiración del microorganismo que tiene como resultado la producción de CO₂, el porcentaje promedio de este proceso de respiración es de 11,41% según los datos obtenidos en la tabla 21, cabe aclarar que el porcentaje varía según el grado de colonización del microorganismo, al comparar con los resultados obtenidos en el material de salvado de trigo se identifica un menor porcentaje ya que se evidencia una formación de biomasa mucho menor en la cascarilla de café.

Tabla 21.

Valores de consumo de sustrato por la respiración del microorganismo

Cascarilla de Café			
Replic a	Valor Inicial Material Seco (g)	Valor Final Material Seco(g)	Porcentaje de Sustrato Consumido (%)
1	93,64	86,30	7,84
2	93,52	80,75	13,65
3	93,55	81,62	12,75
Porcentaje promedio del sustrato consumido (g)			11,41

Nota. La tabla muestra los porcentajes de consumo del sustrato usado por el microorganismo para el proceso de respiración.

Con el fin de poder establecer el porcentaje de humedad de los materiales obtenidos se somete un fragmento de cada a calentamiento a 105°C durante 2 horas, en donde se garantiza la remoción total del agua presente en el material, los datos encontrados son reportados en la tabla 22, encontrado un valor aproximado de 8,06% para el salvado de trigo y 3,24% para la cascarilla de café.

Para establecer una relación en los datos obtenidos tanto en el salvado de trigo como en la cascarilla de café se realiza un balance de masa con los resultados obtenidos experimentalmente, planteado un balance general, un balance de agua y un balance de materia seca tanto para el salvado de trigo y la cascarilla de café, los cuales se pueden observar en el las figuras 43 y 44 respectivamente. Encontrando que la producción de CO₂ es un indicador indirecto lineal de abundancia de biomasa en los sustratos, el salvado de trigo se encontró un mayor porcentaje de producción de dicho compuesto, esto relacionado con la propagación del micelio vegetativo pues entre mayor biomasa exista mayor porcentaje de respiración se dará, teniendo como resultado una menor cantidad de sustrato en peso seco pues este es consumido en la ruta metabólica de respiración generando un incremento en la masa de CO₂ producida por el microorganismo.

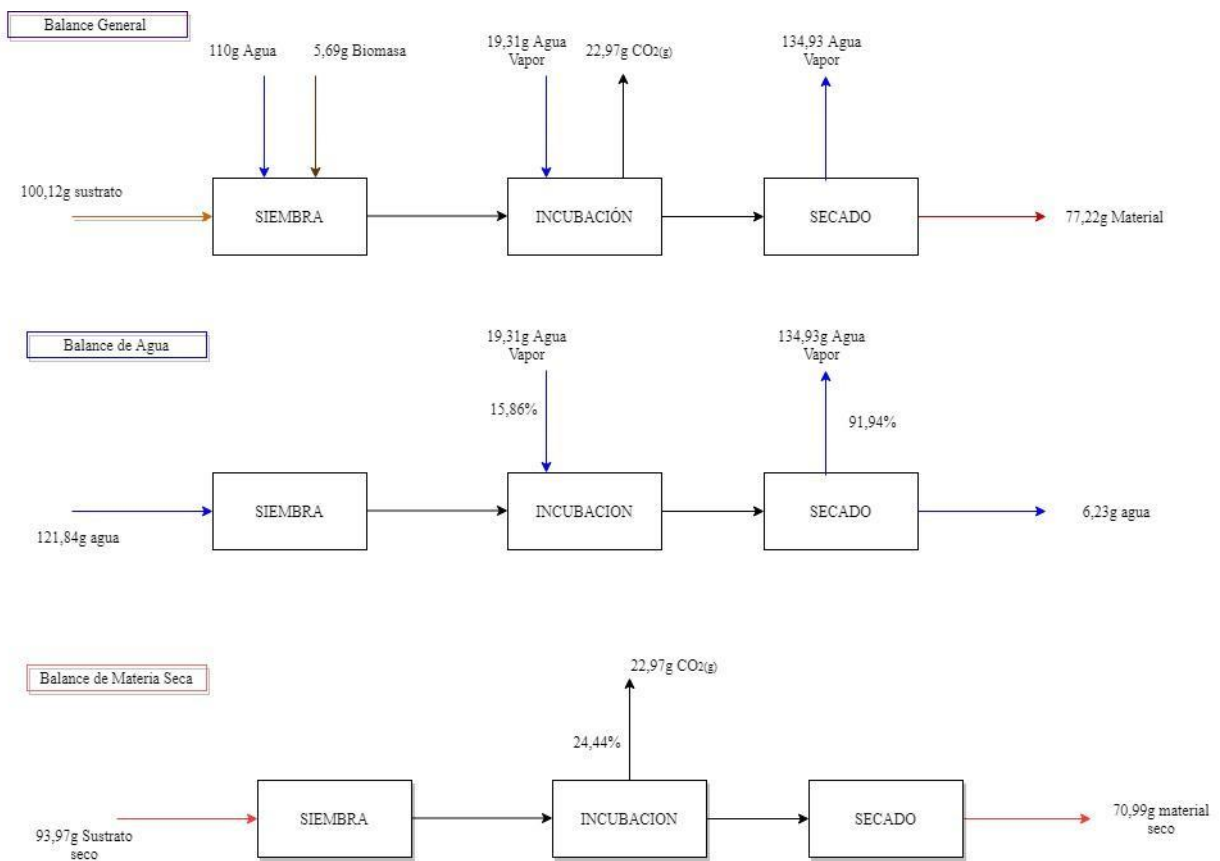
Tabla 22.*Determinación de humedad de los materiales obtenidos.*

PORCENTAJE DE HUMEDAD DE LOS MATERIALES OBTENIDOS					
Replicas	Peso Crisol Seco (g)	Peso de Sustrato (g)	Peso Final Sustrato + Crisol (g)	Sustrato Seco (g)	Porcentaje de Humedad (%)
Salvado de Trigo					
1	23,40	4,53	27,53	4,13	8,80
2	53,41	5,15	58,15	4,74	7,83
3	29,06	4,99	33,66	4,60	7,94
4	21,28	5,81	26,65	5,37	7,67
Porcentaje de Humedad Promedio (%)					8,06
Cascarilla de Café					
1	21,48	6,07	27,35	5,87	3,45
2	23,83	6,73	30,34	6,51	3,32
3	25,31	5,77	30,93	5,62	2,67
	23,46	5,27	28,54	5,09	3,51
Porcentaje de Humedad Promedio (%)					3,24

Nota. La tabla muestra los porcentajes de humedad determinados para los dos materiales luego del proceso de inactivación microbiana.

Figura 43.

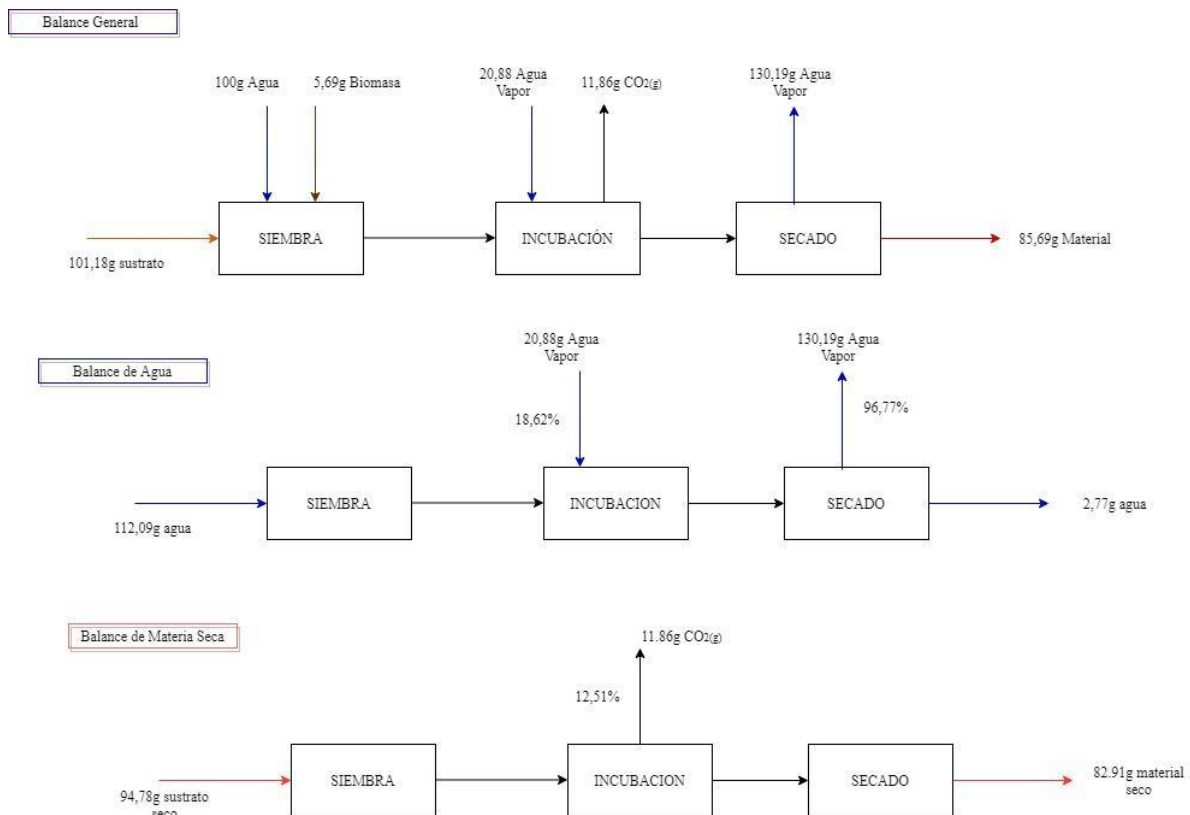
Balance de masa del salvado de trigo



Nota. La figura muestra el balance de masa realizado con los datos experimentales obtenidos en la formación de material usando como sustrato salvado de trigo.

Figura 44.

Balance de masa Cascarilla de Café



Nota. La figura muestra el balance de masa realizado con los datos experimentales obtenidos en la formación de material usando como sustrato la cascarilla de café.

3.3 Conclusión

Para concluir este capítulo se establece que el salvado de trigo si se puede emplear como sustrato guía ya que el hongo *Pleurotus ostreatus* crece favorablemente en el tiempo estimado, adicionalmente las características de este sustrato permiten un fácil crecimiento del micelio puesto que posee altas cantidades de micro y macro nutrientes estimulando la actividad metabólica del microorganismo, soportado en una colonización homogénea de las unidades experimentales y en la obtención de un material con buena resistencia y compactación, resultado que puede ser comparado con lo obtenido por Bautista y colaboradores, quienes obtienen materiales con apariencia similar a lo obtenido con el salvado pero en este caso, utilizando como sustrato bagazo de caña de azúcar, aserrín y pasto y a su vez la mezcla entre estos. Esta misma investigación cataloga lo obtenido como materiales viables para sustituir el poliestireno expandido [55]. En el

caso de la cascarilla de café es un sustrato de mayor complejidad en el que la presencia de taninos y una menor concentración de macro y micro nutrientes en comparación al sustrato anterior (salvado de trigo) que dificulta el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* en los tiempos estipulados y una colonización heterogénea de las unidades experimentales, en consecuencia, la poca rigidez y baja uniformidad del material.

4. PLANTEAR EL DIAGRAMA DE FLUJO DE PROCESO (PFD) PARA LA COLONIZACION DEL HONGO *Pleurotus ostreatus* EN SUSTRATOS LIGNOCELULOSICOS A PARTIR DE LOS RESULTADOS EXPERIMENTALES

En este capítulo se busca integrar los resultados obtenidos de manera experimental y las condiciones de operación probadas por medio de la elaboración de un diagrama de flujo de proceso, sin embargo, se planteará inicialmente el diagrama de bloques del proceso, con el fin hacer una identificación preliminar de las condiciones de operación identificadas en la fase experimental.

El proceso inicia con el crecimiento de la cepa en medio sólido, el cual está hecho a base de extracto de salvado de trigo, este medio es incubado a 30°C por 8 días, seguido de esta se hace la siembra en medio líquido el cual está basado igualmente al medio sólido en extracto de salvado de trigo y otros compuestos químicos que garanticen el desarrollo del micelio de *Pleurotus ostreatus*, este medio líquido es el promotor de la formación de pellets del hongo los cuales son la biomasa que se pondrá en contacto con el sustrato, este medio líquido es incubado a 30°C durante 8 días en los cuales se garantiza la formación de biomasa y se tiene cepa joven y activa metabólicamente la cual se encuentra en forma de pellets.

Transcurridos los 8 días la mezcla heterogénea formada en el medio líquido es llevada a centrifugación en donde se separa la biomasa del extracto líquido de salvado de trigo, este proceso se realiza a 5000 rpm durante 8 minutos, el sobrenadante es desechado y se usa el sedimento el cual es biomasa húmeda para la colonización del sustrato, de manera simultánea al sustrato ya sea cascarilla de café o salvado de trigo se le realiza una adecuación la cual consiste en tamizar los productos con el fin de retener sustancias sólidas grandes como piedras o en el caso de la cascarilla de café granos del café, seguido de esto se adecua la humedad por medio de la adición de agua en relación 1:1, cabe resaltar que el sustrato es esterilizado a 121°C por 30 minutos, quedando así un sustrato húmedo que será inoculado.

Ahora bien, la biomasa húmeda es sembrada en el sustrato húmedo, llevándolos a incubación para iniciar la colonización del hongo *Pleurotus ostreatus* en el sustrato, esta incubación se realiza por 30 días a 30°C, terminado el proceso de incubación el producto de la colonización es sometido a un proceso de inactivación microbiana, el cual es sometido a 70°C en una estufa por 48 horas.

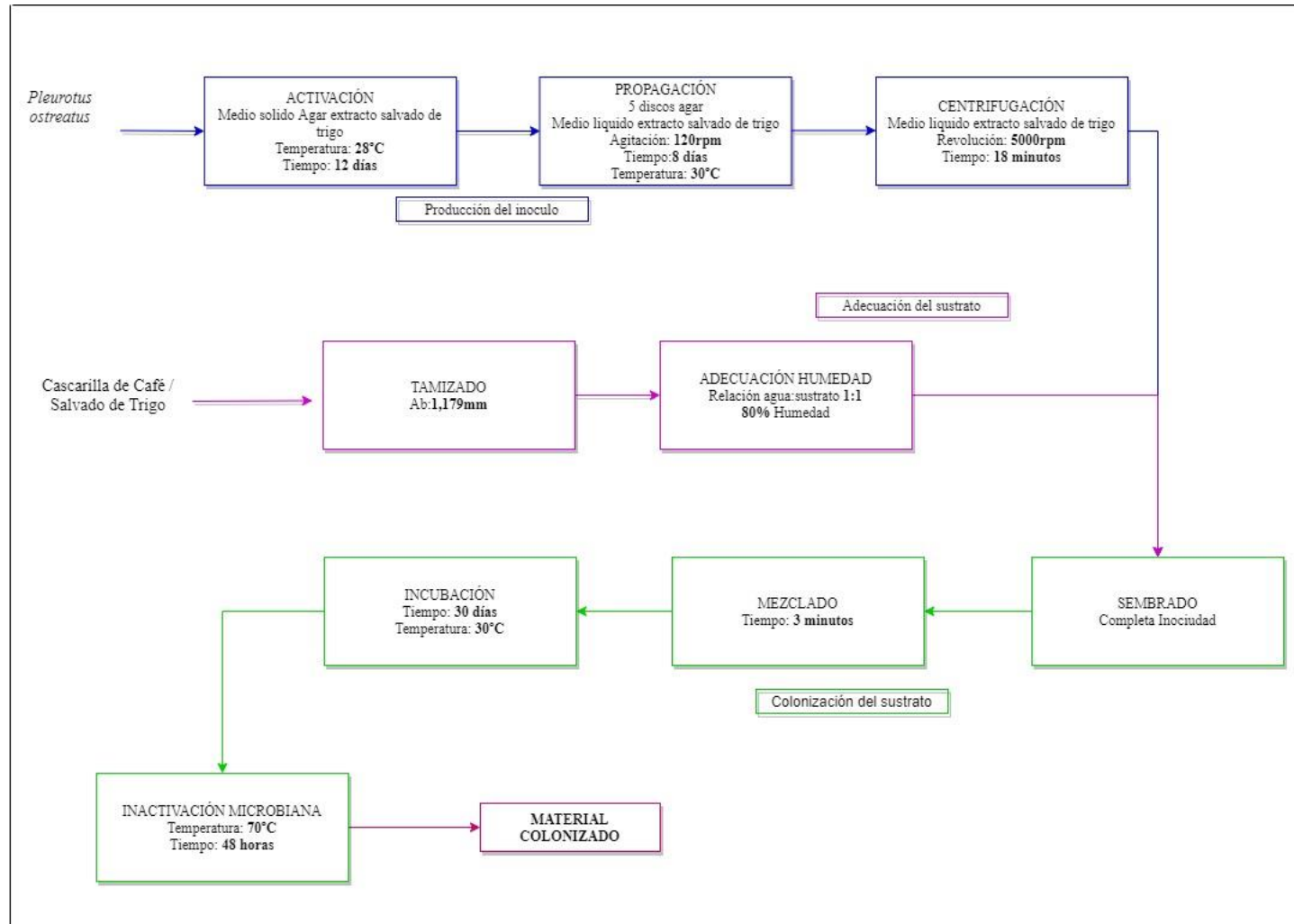
La figura 45 representa el diagrama de bloques del proceso (BFD) representando las etapas anteriormente descritas, adicionalmente las figuras 46 y 47 esquematizan el diagrama de flujo de proceso (PFD) con su respectivo balance de masa, esto con el fin de dar acercamiento a la ingeniería conceptual, paso que no se ha realizado en la bibliográfica consultada para el desarrollo del presente documento.

Cabe resaltar que para poder realizar un escalamiento se debe realizar un pre inóculo a nivel laboratorio y luego proceder al proceso escalado, proceso que representa un escalamiento hacia una planta piloto, en donde se debe evaluar el comportamiento del proceso pues al tener un mayor volumen frente a las condiciones experimentales reportadas es posible que se deban ajustar algunas variables para el desarrollo adecuado del proceso. Como parte fundamental en el desarrollo de esta objetivo se realiza un PFD en donde se muestran las operaciones principales y el proceso de pre inóculo elaborado a escala laboratorio el cual es una fase fundamental para la producción del biomaterial, pues de allí se parte para la propagación y crecimiento del microorganismo, el proceso formulado espera dar respuesta al 1% de la cantidad de cascarilla de café producida en Colombia para un total de 1863kg/año [44], en donde se establece un proceso por lotes, con una base de cálculo de 155250 g/mes con el fin de realizar el balance de masa correspondiente.

Para la elaboración de dicho balance de masa se asume una producción de CO₂ del 24,44%, un consumo de sustrato del 50% y una formación de biomasa de 5,69g por cada 100mL de extracto de salvado de trigo, todas estas suposiciones son soportadas en los datos experimentales obtenidos en el capítulo anterior basados en el proceso elaborado con el salvado de trigo.

Figura 45.

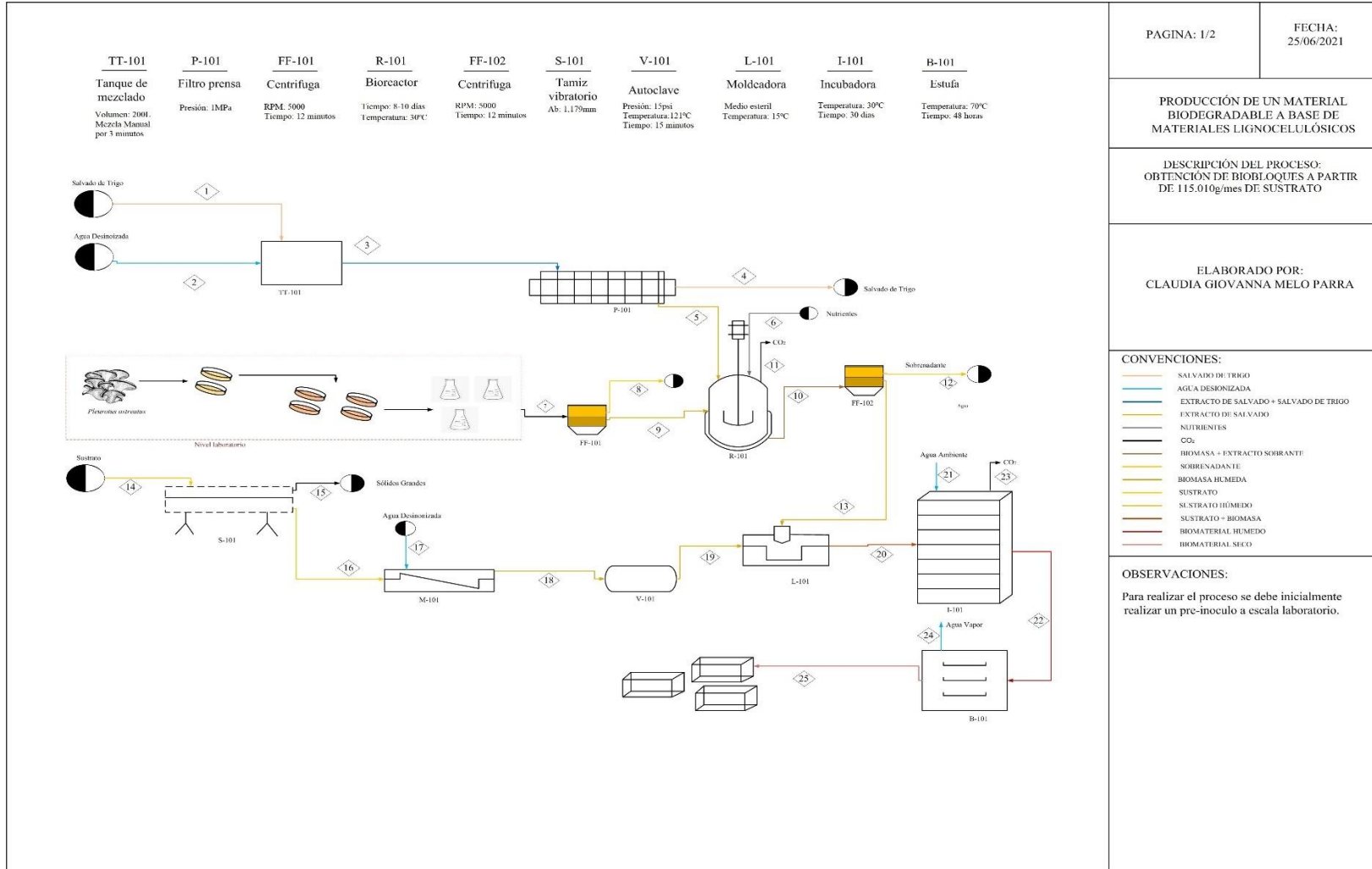
Diagrama de bloques del proceso



Nota. La figura muestra el diagrama de bloques del proceso de obtención del material.

Figura 46.

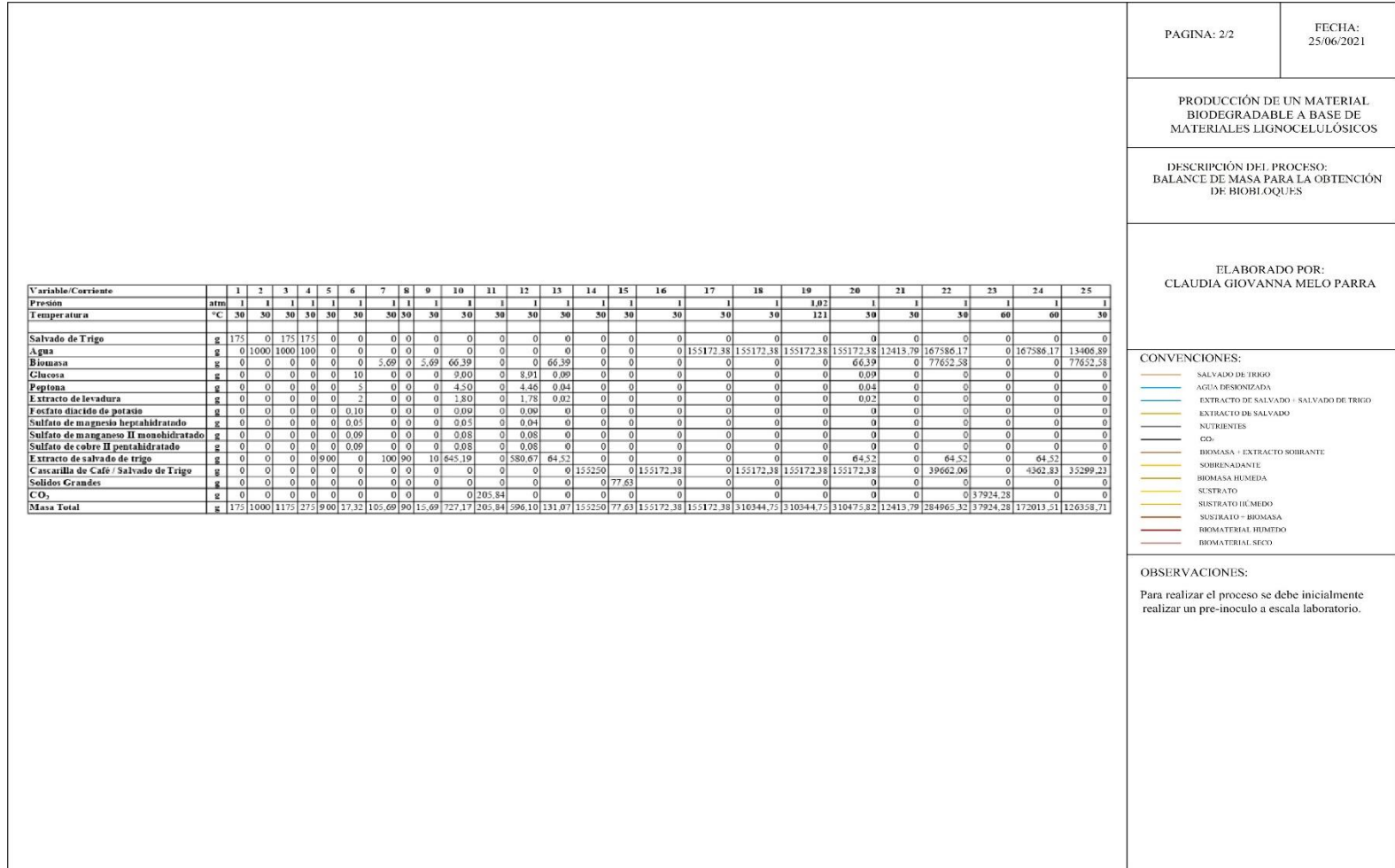
Diagrama PFD del proceso de obtención del biomaterial



Nota. La figura muestra el diagrama de flujo de proceso de la obtención del material.

Figura 47.

Balace de masa para la obtención del biomaterial



Nota. La figura muestra el balance de masa realizado para la obtención del biomaterial.

5. CONCLUSIONES

A partir de la revisión bibliográfica realizada se determinaron las condiciones de crecimiento adecuadas para la expansión del micelio vegetativo, teniendo como rango de temperatura entre 28 a 30°C, porcentaje de humedad del sustrato entre un 70 y 80%, pH entre 6,5 y 7,5 y preferiblemente en condiciones oscuras para el crecimiento de *Pleurotus ostreatus*.

A partir de los resultados experimentales, se pudo identificar que por medio del salvado de trigo se puede realizar la obtención de un biomaterial a base de micelio fúngico, soportado en la capacidad de biodegradación que tiene *Pleurotus ostreatus* en sustratos lignocelulósicos, generando así la expansión del micelio vegetativo y la degradación del salvado de trigo, manteniendo las condiciones óptimas de temperatura y humedad para que el microorganismo siempre se encuentre metabólicamente activo. Teniendo en cuenta lo anterior se puede desarrollar un biomaterial con características similares al poliestireno expandido, lo cual permitiría sustituir dicho material.

Se estableció que la cascarilla de café puede llegar a ser un sustrato viable, pero se le deben hacer tratamientos previos sobre tamaño de partícula y humedad, pues sin esto se dificulta la colonización del microorganismo *Pleurotus ostreatus* sobre este sustrato. Adicionalmente se identificó que en este tipo de sustratos el tiempo de colonización juega un factor importante para obtener un biomaterial consistente y estable.

El uso de la biomasa directa sin realizar el crecimiento de está en un soporte previo, mostro ser una metodología favorable, ya que de esta manera se evita contaminación y favorece el crecimiento del micelio vegetativo de *Pleurotus ostreatus* a lo largo del sustrato base reduciendo los tiempos de colonización. Cabe resaltar que esta metodología no ha sido reportada en los documentos consultados en este estudio.

Los hallazgos obtenidos en la presente investigación permitieron reconocer las condiciones de operación y las etapas del proceso planteadas en un diagrama de flujo de proceso (PFD), con el fin de identificar los porcentajes y flujos apropiados para el balance de masa.

BIBLIOGRAFIA

- [1] L. N. Levin, “biodegradación de materiales lignocelulósicos por trametes trogii (aphyllophorales, basidiomycetes),” pp. 8–12, 1998, [Online]. Available: http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_3078_Levin.pdf.
- [2] Anonimo, “la cascarilla de café como materia prima para elaboracion papel,” *Наука Из Первых Рук*, no. 6 (18), pp. 1–13, 2007.
- [3] I. Mendoza-Olmos, “estudio de la cascarilla del café como material mejorador de sustratos hortícolas,” Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro,” 2003.
- [4] B. Comercial and D. E. P. Pesqueros, “cultivo de orella (*Pleurotus ostreatus*) en cinco sustratos generados en los procesos productivos agropecuarios, en dos épocas de siembra, en el municipio de ituango” 2014.
- [5] Y. Hadar, Z. Kerem, and B. Gorodecki, “biodegradation of lignocellulosic agricultural wastes by *Pleurotus ostreatus*,” *J. Biotechnol.*, vol. 30, no. 1, pp. 133–139, 1993, doi: 10.1016/0168-1656(93)90034-K.
- [6] E. Manals-Cutiño, D. Salas-Tort, and M. Penedo-Medina, “caracterización de la biomasa vegetal ‘cascarilla de café,’” *Scielo Cuba*, vol. 38, no. 1, pp. 1–13, 2018, [Online]. Available: <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v38n1/rtq13118.pdf>.
- [7] O. O. Onipe, A. I. O. Jideani, and D. Beswa, “composition and functionality of wheat bran and its application in some cereal food products,” *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 50, no. 12, pp. 2509–2518, 2015, doi: 10.1111/ijfs.12935.
- [8] G. Chaquilla-Quilca, R. R. Balandrán Quintana, A. M. Mendoza-Wilson, and J. N. Mercado-Ruiz, “propiedades y posibles aplicaciones de las proteínas de salvado de trigo,” *CienciaUAT*, vol. 12, no. 2, 2018, doi: 10.29059/cienciauat.v12i2.883.
- [9] G. Estrada Salazar and M. Ramírez Galeano, “micología general”. 2019.
- [10] T. M. Abdelghany, “mycology,” vol. 13, no. July, pp. 8012–8023, 2018.
- [11] “proyecto biosfera.” <http://recursos.cnice.mec.es/biosfera/alumno/1bachillerato/organismos/contenidos11.htm>

- (accessed Apr. 08, 2021).
- [12] “biodiversidad fúngica » biodiversidad fúngica,” 2007. <http://www.adesper.com/projects/biodiversidadfungica/index.php> (accessed Apr. 08, 2021).
- [13] T. N. Taylor, M. Krings, and E. L. Taylor, “basidiomycota,” *Foss. Fungi*, pp. 173–199, 2015, doi: 10.1016/b978-0-12-387731-4.00009-8.
- [14] E. Garcés *et al.*, “morfología y clasificación de los hongos.” 2003.
- [15] N. H. Martinez, “evaluación del crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* (basidiomycota) en distintos sustratos lignocelulósicos (capacho de maíz, hoja de almendro y aserrín de madera) en la estación ecológica las guartinajas en el municipio de Tierralta-Córdoba-Colombia,” *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 53, no. 9, pp. 1689–1699, 1981.
- [16] R. Ramírez and L. R. Ramírez, “los basidiomicetos: una herramienta biotecnológica promisorio con impacto en la agricultura,” *Fitosanidad*, vol. 17, no. 1, pp. 49–55, 2013.
- [17] “basidiomycetes. características generales,” 2004. <https://www.asturnatura.com/articulos/hongos/basidiomycetes.php> (accessed Apr. 11, 2021).
- [18] M. A. Brizuela, L. García, L. Pérez, and M. Mansur, “basidiomicetos: nueva fuente de metabolitos secundarios,” *Rev. Iberoam. Micol.*, vol. 15, no. 2, pp. 69–74, 1998.
- [19] Allaby Michael, *A Dictionary of Plant Science*. 2006.
- [20] “phragmobasidiomycetidae - oxford reference.” <https://www.oxfordreference.com/view/10.1093/oi/authority.20110803100324855> (accessed Apr. 11, 2021).
- [21] F. J. González Madariaga, “EPS (expanded polystyrene) recycled bends mixed with plaster or stucco, some applications in building industry,” *Inf. la Construcción*, vol. 60, no. 509, pp. 35–43, 2008, doi: 10.3989/ic.2008.v60.i509.589.
- [22] “anape - asociación nacional de poliestireno expandido.” <http://www.anape.es/index.php?accion=producto> (accessed Apr. 08, 2021).

- [23] G. Barrera, “caracterización de las propiedades mecánicas y térmicas de muestras de EPS pos consumo, utilizadas en la industria de alimentos y sometidas a un proceso de recuperación,” *Univ. Nac. Colomb.*, p. 143, 2016, [Online]. Available: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/55471>.
- [24] G. C. NIETO and D. P. AVENDAÑO, “ensayo de impacto,” *Guía Lab. Resist. Mater.*, vol. 57, no. 23096, pp. 44–53, 2018, doi: 10.2307/j.ctt1zgw9p.8.
- [25] M. BERMUDEZ, “definición de la metodología de ensayos para elementos reforzados a cortante,” pp. 49–72, 2000, [Online]. Available: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/6151/07CAPITOL4.pdf?sequence=7>.
- [26] Organización de las Naciones Unidas, “materiales termoaislantes, características técnicas y criterios de selección.” <http://www.fao.org/3/y5013s/y5013s07.htm> (accessed Apr. 08, 2021).
- [27] “anape Construcción.” <http://www.construccion-eps.com/index.php?accion=ingenieria-civil> (accessed Jun. 06, 2021).
- [28] “¿qué es el poliestireno? | usos, beneficios e información sobre la seguridad,” 2021. <https://www.chemicalsafetyfacts.org/es/poliestireno/> (accessed Apr. 08, 2021).
- [29] N. Garcia, “evaluación del impacto ambiental de la aplicación de un plan de gestión posconsumo de poliestireno expandido (EPS) utilizado en el envase de alimentos en Colombia,” 2019.
- [30] E. A. Arriola Lara and F. E. Velasquez Martell, “evaluación técnica de alternativas de reciclaje de poliestireno expandido (EPS),” p. 225, 2013, [Online]. Available: [http://ri.ues.edu.sv/5033/1/Evaluación técnica de alternativas de reciclaje de poliestireno expandido \(EPS\).pdf](http://ri.ues.edu.sv/5033/1/Evaluación%20técnica%20de%20alternativas%20de%20reciclaje%20de%20poliestireno%20expandido%20(EPS).pdf).
- [31] L. Arthuz-López and W. Pérez-Mora, “alternativas de bajo impacto ambiental para el reciclaje del poliestireno expandido a nivel mundial,” *Inf. Técnico*, vol. 83, no. 2, pp. 209–219, 2019, doi: 10.23850/22565035.1638.
- [32] J. G. B. Guarín Barrero and R. A. Andrés A, “evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de

- Cundinamarca.,” 2004.
- [33] C. A. Sánchez Vélez, “evaluacion de la productividad del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* sobre un residuo agroindustrial del departamento del Valle del Cauca y residuos de poda de la universidad autonoma de occidente,” p. 94, 2013, [Online]. Available: <http://red.uao.edu.co/bitstream/10614/5218/1/TAA01602.pdf>.
- [34] J. A. Guarín Barrero and A. A. Ramírez Álvarez, “estudio de la factibilidad tecnico-financiero de un cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*,” 2004.
- [35] R. Cohen, L. Persky, and Y. Hadar, “biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 58, no. 5, pp. 582–594, 2002, doi: 10.1007/s00253-002-0930-y.
- [36] E. A. Rodríguez Jaramillo and V. A. Cardenas Hernández, “evaluación de la producción de bioetanol a partir de la pulpa de café,” Universidad de la Salle, 2009.
- [37] Federación de Cafeteros, “producción de café de Colombia cerró el 2019 en 14,8 millones de sacos - federación nacional de cafeteros,” 2019. <https://federaciondecafeteros.org/wp/listado-noticias/produccion-de-cafe-de-colombia-cerro-el-2019-en-148-millones-de-sacos/> (accessed Apr. 12, 2021).
- [38] International Coffee Organization, “proyectos de desarrollo cafetero,” 2020. https://www.ico.org/es/what_we_doc.asp?section=Reuniones_y_documentos (accessed Apr. 12, 2021).
- [39] Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, “caficultura crece 9,5% en 2019, tres veces más que la economía nacional - federación nacional de cafeteros,” 2019. <https://federaciondecafeteros.org/wp/listado-noticias/caficultura-crece-95-en-2019-tres-veces-mas-que-la-economia-nacional/> (accessed Apr. 12, 2021).
- [40] “mapa cosecha cafetera - federación nacional de cafeteros.” <https://federaciondecafeteros.org/wp/cosecha-cafetera/> (accessed Jun. 06, 2021).
- [41] F. F. Felfli, J. M. Mesa P, J. D. Rocha, D. Filippetto, C. A. Luengo, and W. A. Pippo, “biomass briquetting and its perspectives in Brazil,” *Biomass and Bioenergy*, vol. 35, no. 1, pp. 236–242, 2011, doi: 10.1016/j.biombioe.2010.08.011.

- [42] R. A. A. Ortiz and J. D. M. Cruz, “caracterización físico-química de residuos agroindustriales (cascarilla de arroz y cascarilla de café), como materia prima potencial para la obtención de bioetanol,” Universidad Autónoma de Nicaragua, Managua, 2016.
- [43] B. M. Gouvea, C. Torres, A. S. Franca, L. S. Oliveira, and E. S. Oliveira, “feasibility of ethanol production from coffee husks,” *Biotechnol. Lett.*, vol. 31, no. 9, pp. 1315–1319, 2009, doi: 10.1007/s10529-009-0023-4.
- [44] J. A. Barrera, I. Química, P. F. Sánchez, and I. Químico, “evaluación de la cascarilla de café como sustituto a las grasas utilizadas en la elaboración de brownies,” pp. 1–12, 2015.
- [45] J. A. Conesa, N. E. Sánchez, M. A. Garrido, and J. C. Casas, “semivolatile and volatile compound evolution during pyrolysis and combustion of colombian coffee husk,” *Energy and Fuels*, vol. 30, no. 10, pp. 1–6, 2016, doi: 10.1021/acs.energyfuels.6b00791.
- [46] N. Rodríguez Valencia and D. Zambrano Franco, “los subproductos del café: fuente de energía renovable,” *Av. Técnicos Cenicafé*, no. 3, p. 8, 2010, [Online]. Available: <http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/351/1/avt0393.pdf>.
- [47] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, “nota informativa de la FAO sobre la oferta y la demanda de cereales,” *Situación Alimentaria Mundial*, 2015. <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/es/> (accessed Apr. 12, 2021).
- [48] M. Mohsin Javed, S. Zahoor, S. Shafaat, I. Mehmooda, and A. Gul, “wheat bran as a brown gold: nutritious value and its biotechnological applications,” *African J. Microbiol. Res.*, vol. 5, no. 17, 2011, doi: 10.5897/ajmr11.035.
- [49] S. Apprich *et al.*, “wheat bran-based biorefinery 2: valorization of products,” *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 56, no. 2, pp. 222–231, 2014, doi: 10.1016/j.lwt.2013.12.003.
- [50] A. Fardet, “new hypotheses for the health-protective mechanisms of whole-grain cereals: what is beyond fibre?,” *Nutr. Res. Rev.*, vol. 23, no. 1, pp. 65–134, 2010, doi: 10.1017/S0954422410000041.
- [51] J. Sibakov, P. Lehtinen, and K. Poutanen, “cereal brans as dietary fibre ingredients,” in *Fibre-Rich and Wholegrain Foods: Improving Quality*, Finland: Woodhead Publishing Limited, 2013, pp. 170–192.

- [52] L. Stevenson, F. Phillips, K. O'sullivan, and J. Walton, "wheat bran: Its composition and benefits to health, a European perspective," *Int. J. Food Sci. Nutr.*, vol. 63, no. 8, pp. 1001–1013, 2012, doi: 10.3109/09637486.2012.687366.
- [53] L. R. Reyes Frías, "desarrollo de una técnica que incremente el contenido de fibra dietética soluble en el salvado de trigo (*Triticum spp.*)," Universidad Técnica de Ambato, 2011.
- [54] "determinación del porcentaje de humedad." <https://es.slideshare.net/eduardobobadillaatao35/determinacin-del-porcentaje-de-humedad> (accessed Jun. 07, 2021).
- [55] C. E. B. L. O. Cleomary, "material ecológico con fines de embalaje a partir del hongo *Pleurotus ostreatus* y residuos organicos agroindustriales," vol. 30, no. April 2019, 2018.
- [56] M. Haneef, L. Ceseracciu, C. Canale, I. S. Bayer, J. A. Heredia-Guerrero, and A. Athanassiou, "advanced materials from fungal mycelium: fabrication and tuning of physical properties," *Sci. Rep.*, vol. 7, 2017, doi: 10.1038/srep41292.
- [57] K. Joshi, M. K. Meher, and K. M. Poluri, "fabrication and characterization of Bioblocks from agricultural waste using fungal mycelium for renewable and sustainable applications," *ACS Appl. Bio Mater.*, vol. 3, no. 4, pp. 1884–1892, 2020, doi: 10.1021/acsabm.9b01047.
- [58] E. Soh, Z. Y. Chew, N. Saeidi, A. Javadian, D. Hebel, and H. Le Ferrand, "development of an extrudable paste to build mycelium-bound composites," *arXiv*, vol. 195, pp. 1–8, 2020.
- [59] S. C. Khoo *et al.*, "development of formaldehyde-free bio-board produced from mushroom mycelium and substrate waste," *J. Hazard. Mater.*, vol. 400, no. June, p. 123296, 2020, doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123296.
- [60] L. C. Cruz Martínez, "estandarizacion del proceso de produccion masiva del hongo *Trichoderma koningii* Th003 mediante fermentación bifásica a escala piloto," 2001.
- [61] N. Attias *et al.*, "mycelium bio-composites in industrial design and architecture: Comparative review and experimental analysis," *J. Clean. Prod.*, vol. 246, 2020, doi: 10.1016/j.jclepro.2019.119037.
- [62] B. A. Goodman, "utilization of waste straw and husks from rice production: A review," *J.*

- Bioresour. Bioprod., vol. 5, no. 3, pp. 143–162, 2020, doi: 10.1016/j.jobab.2020.07.001.
- [63] G. P. Boswell, H. Jacobs, F. A. Davidson, G. M. Gadd, and K. Ritz, “growth and function of fungal mycelia in heterogeneous environments,” *Bull. Math. Biol.*, vol. 65, no. 3, pp. 447–477, 2003, doi: 10.1016/S0092-8240(03)00003-X.
- [64] C. Bruscato, E. Malvessi, R. N. Brandalise, and M. Camassola, “high performance of macrofungi in the production of mycelium-based biofoams using sawdust — sustainable technology for waste reduction,” *J. Clean. Prod.*, vol. 234, pp. 225–232, 2019, doi: 10.1016/j.jclepro.2019.06.150.
- [65] K. Cerimi, K. C. Akkaya, C. Pohl, B. Schmidt, and P. Neubauer, “fungi as source for new bio-based materials: A patent review,” *Fungal Biol. Biotechnol.*, vol. 6, no. 1, pp. 1–10, 2019, doi: 10.1186/s40694-019-0080-y.
- [66] H. N. Chanakya, S. Malayil, and C. Vijayalakshmi, “cultivation of *Pleurotus* spp. on a combination of anaerobically digested plant material and various agro-residues,” *Energy Sustain. Dev.*, vol. 27, pp. 84–92, 2015, doi: 10.1016/j.esd.2015.04.007.
- [67] Y. I. González Silva, “generación de un material plástico conformado por *Pleurotus ostreatus* y plagas vegetales,” Universidad Iberoamericana León, 2017.
- [68] J. López, “desarrollo de biomateriales alternativos al poliestireno expandido a partir de hongos y cubiertas comestibles,” pp. 1–50, 2014, [Online]. Available: [http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7531/López Nava%2C José Alberto.pdf?sequence=3&isAllowed=y](http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7531/López%20José%20Alberto.pdf?sequence=3&isAllowed=y).
- [69] Z. (Joey) Yang, F. Zhang, B. Still, M. White, and P. Amstislavski, “physical and 114 mechanical properties of fungal mycelium-based biofoam,” *J. Mater. Civ. Eng.*, vol. 29, no. 7, p. 04017030, 2017, doi: 10.1061/(asce)mt.1943-5533.0001866.
- [70] “colonización. diccionario médico. Clínica Universidad de Navarra.” <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/colonizacion> (accessed Jun. 23, 2021).
- [71] “traducción y terminología médicas – inóculo, inoculación.” <https://temas.sld.cu/traduccion/2014/09/15/inoculo-inoculacion-2/> (accessed Jun. 23, 2021).

[72] Manual Estructuración del Trabajo de Grado. Fundación Universidad de América, 2021.
[PDF].

GLOSARIO

Colonización. Acción por la cual los microorganismos se asientan establemente en un nuevo nicho biológico. La colonización del hospedador por parte un microorganismo es la primera etapa en una asociación simbiótica, ya sea esta comensalista, mutualista o parasítica [70].

Inoculación. Introducción de tejido vivo de un microorganismo en medios de cultivo [71].

Inóculo. Es la sustancia que es inoculada [71].

Micelio Vegetativo. Este micelio es la conformación de hifas que aparece en la etapa de crecimiento del microorganismo, se forma de manera asexual y permite la absorción de los nutrientes desde el sustrato ya que lo penetra hasta lograr completa colonización [17].

ANEXO 1

RECOMENDACIONES

Algunas recomendaciones que se podrían tener en cuenta serían:

- Reducir el tamaño de partícula de la cascarilla de café, para evaluar si se realiza mejor la colonización del micelio vegetativo.
- Aumentar el tiempo de incubación sobre el sustrato de cascarilla de café, haciendo seguimiento constante de la evolución de la colonización del hongo *Pleurotus ostreatus*.
- Hacer una caracterización de los sustratos empleados al inicio y al final de la colonización para evidenciar el cambio en composición y establecer correctamente los porcentajes de consumo y los flujos de carbono.
- Realizar pruebas mecánicas como resistencia a la compresión y flexión, y determinar si cumplen las normas ASTM estipuladas para estas variables en el poliestireno expandido.
- Evaluar si aumentando la aireación en el proceso de incubación pueda tener resultados favorables sobre la propagación de la biomasa.
- Realizar un seguimiento más profundo sobre la incidencia del porcentaje de colonización en el desarrollo del biomaterial en los sustratos, identificando si a un mayor al adecuado puede generar mayor abundancia del micelio vegetativo.
- Evaluar diferentes porcentajes de humedad, realizando seguimiento constante identificando si favorece o no la formación del biomaterial.
- Realizar un análisis más detallado en el proceso de escalado, evaluando cada condición de operación y la incidencia que tiene esta sobre la formación del biomaterial.
- Estudiar el color que adopta el material y la incidencia comercial que llegaría a tener este en su distribución.