

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y
AGROINDUSTRIA**

**EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DEL HONGO *Pleurotus
ostreatus* CON EL USO DE UN SUSTRATO DE RASTROJO DE
MAÍZ CON COMPOSICIÓN VARIABLE DE PAPEL**

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA
QUÍMICA**

CARINA VERÓNICA TIPÁN POZO

DIRECTORA: ING. NEYDA FERNANDA ESPÍN FÉLIX, MSc.

Quito, agosto 2016

© Escuela Politécnica Nacional (2016)
Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo, Carina Verónica Tipán Pozo, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

Carina Verónica Tipán Pozo

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Carina Verónica Tipán Pozo, bajo mi supervisión.

Ing. Neyda Espín
DIRECTORA DE PROYECTO

AUSPICIO

La presente investigación contó con el auspicio financiero del Proyecto semilla PIS 14-15 “Evaluación del crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* con el uso de un sustrato de rastrojo de maíz con composición variable de papel”, que se ejecuta en el Departamento de Bioprocesos de la Escuela Politécnica Nacional.

AGRADECIMIENTOS

A mi mami Bertha y a mi papi Guido, por apoyarme durante toda la carrera y sobre todo por su paciencia y ayuda durante la realización de este proyecto. No habría llegado a ningún lado sin su apoyo.

A mis abuelitos Maruja y Abelardo por su ayuda con la materia prima y su apoyo.

A mi ñaño Patricio por su amistad y voz de aliento para no rendirme.

A mi tía Carmela por ayudarme con todo su conocimiento sobre el diseño experimental.

A Majo L., Majo V., Jenny O, Katty A. y Katty C. por sus conocimientos tesísticos.

A los “chéveres” por su amistad y apoyo durante todo este camino.

A José Luis Z. por su mano solidaria a la hora de trabajar en el laboratorio.

A la Ingeniera Neyda Espín por sus valiosos conocimientos y ayuda prestada durante la realización del proyecto.

A la Ingeniera Jenny Ávila por su apoyo en los trámites de manera rápida y eficaz.

A Carlita M. por sus indicaciones y ayuda para encontrar información.

Y a todos los que en alguna forma pusieron un granito de arena para conseguir este objetivo.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	x
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
1.1. Características del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	1
1.1.1. Condiciones de cultivo	2
1.1.2. Técnicas de cultivo	4
1.1.3. Importancia del cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	5
1.2. Características y componentes de los residuos lignocelulósicos del rastrojo de maíz	8
1.2.1. Residuos lignocelulósicos	9
1.2.2. Degradación de residuos lignocelulósicos	11
1.3. Características y componentes del papel	13
1.3.1. Historia	13
1.3.2. Papel bond	13
1.3.3. Papel periódico	14
1.3.4. Descomposición del papel	16
2. PARTE EXPERIMENTAL	19
2.1. Determinación del porcentaje de sustitución de rastrojo de maíz con papel bond en el sustrato que permita obtener los mayores valores de eficiencia biológica (EB) y rendimiento (R) en el cultivo del hongo comestible <i>Pleurotus ostreatus</i>	19
2.1.1. Materiales	19
2.1.2. Selección de la cepa de <i>Pleurotus ostreatus</i>	20
2.1.3. Selección del sustrato de trigo para preparación del inóculo	20
2.1.4. Proceso de siembra en los biorreactores	21
2.1.5. Fructificación y cosecha	21
2.1.6. Medición del diámetro de los carpóforos	22
2.1.7. Caracterización del sustrato	23
2.1.8. Diseño experimental para los tratamientos con papel bond	24
2.1.9. Eficiencia biológica y rendimiento	25
2.2. Determinación del porcentaje de sustitución de rastrojo de maíz con papel periódico en el sustrato que permita obtener los mayores valores de eficiencia biológica (EB) y rendimiento (R) en el cultivo del hongo comestible <i>Pleurotus ostreatus</i>	26
2.2.1. Diseño experimental para tratamientos con papel periódico	26
2.2.2. Análisis global del efecto de papel bond y papel periódico en el sustrato	27

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
3.1.	Selección de la cepa de <i>Pleurotus ostreatus</i>	28
3.2.	Selección del sustrato de trigo para preparación del inóculo	29
3.3.	Caracterización inicial del sustrato	30
	3.3.1. Composición química	30
	3.3.2. Humedad inicial	31
3.4.	Condiciones de temperatura y humedad relativa durante el cultivo del hongo	33
3.5.	Tiempos de cultivo	34
3.6.	Efecto del sustrato con papel bond en el rendimiento del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> 2191	36
3.7.	Efecto del sustrato con papel bond en la eficiencia biológica del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> 2191	38
3.8.	Efecto del sustrato con papel para periódico en el rendimiento del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> 2191	41
3.9.	Efecto del sustrato con papel para periódico en la eficiencia biológica del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> 2191	42
3.10.	Efecto del contenido de papel bond y papel para periódico en el rendimiento del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> 2191	44
3.11.	Efecto del sustrato con papel bond y papel para periódico en la eficiencia biológica del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> 2191	46
3.12.	Efecto de los distintos sustratos sobre el tamaño de los carpóforos	48
3.13.	Caracterización final del sustrato	50
	3.13.1. Composición química final	50
	3.13.2. Humedad final	51
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	53
4.1.	Conclusiones	53
4.2.	Recomendaciones	55
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
	ANEXOS	64

ÍNDICE DE TABLAS

		PÁGINA
Tabla 2.1.	Reactivos empleados en la experimentación	19
Tabla 2.2.	Reactivos empleados en la experimentación (Continuación)	20
Tabla 2.3.	Composición de papel bond en los sustratos	24
Tabla 2.4.	Composición de papel periódico en los sustratos	26
Tabla 3.1.	Cepas de <i>Pleurotus ostreatus</i> en medio de malta agar	28
Tabla 3.2.	Cepas de <i>Pleurotus ostreatus</i> sembradas en trigo	30
Tabla 3.3.	Composición inicial de los sustratos	31
Tabla 3.4.	Condiciones de temperatura y humedad relativa de la primera repetición en cámara oscura	33
Tabla 3.5.	Condiciones de temperatura y humedad relativa de la primera repetición cámara clara	33
Tabla 3.6.	Condiciones de temperatura y humedad relativa de la segunda repetición en cámara oscura	33
Tabla 3.7.	Condiciones de temperatura y humedad relativa de la segunda repetición en cámara clara	34
Tabla 3.8.	Tiempo de fructificación primera repetición	35
Tabla 3.9.	Tiempo de fructificación segunda repetición	35
Tabla 3.10.	Rendimiento para los sustratos con papel bond	37
Tabla 3.11.	ANOVA del contenido de papel bond en el rendimiento	38
Tabla 3.12.	Eficiencia biológica para los sustratos con papel bond	40
Tabla 3.13.	ANOVA del contenido de papel bond en la eficiencia	40
Tabla 3.14.	Rendimiento para los sustratos con papel periódico	42
Tabla 3.15.	ANOVA del contenido de papel periódico en el rendimiento	42
Tabla 3.16.	Eficiencia biológica para los sustratos con papel periódico	43

Tabla 3.17.	ANOVA del contenido de papel periódico en la eficiencia	44
Tabla 3.18.	Rendimiento para los sustratos con papel bond y periódico	46
Tabla 3.19.	ANOVA del contenido de papel bond y periódico en el rendimiento	46
Tabla 3.20.	Eficiencia biológica para los sustratos con papel bond y periódico	48
Tabla 3.21.	ANOVA del contenido de papel bond y periódico en la eficiencia	48
Tabla 3.22.	Diámetro promedio de los carpóforos	49
Tabla 3.23.	ANOVA del tamaño de los carpóforos	49
Tabla 3.24.	Composición final de los sustratos	50
Tabla AIII. 1.	Peso de cada cosecha en el sustrato 90:10 PB	70
Tabla AIII. 2.	Peso de cada cosecha en el sustrato 80:20 PB	71
Tabla AIII. 3.	Peso de cada cosecha en el sustrato 70:30 PB	72
Tabla AIII. 4.	Peso de cada cosecha en el sustrato 100 RM	73
Tabla AIII. 5.	Peso de cada cosecha en el sustrato 90:10 PP	74
Tabla AIII. 6.	Peso de cada cosecha en el sustrato 80:20 PP	75
Tabla AIII. 7.	Peso de cada cosecha en el sustrato 70:30 PP	76
Tabla AIV. 1.	Valores de eficiencia biológica por cada funda	77
Tabla AV. 1.	Valores de rendimiento por cada funda	78
Tabla AVI. 1.	Condiciones para los biorreactores T1,T2,T3,T4 primera repetición	79
Tabla AVI. 2.	Condiciones para los biorreactores T5,T6,T7 primera repetición	81
Tabla AVI. 3.	Condiciones los biorreactores T7,T5,T2,T6 segunda repetición	83
Tabla AVI. 4.	Condiciones para los biorreactores T1,T3,T4 segunda repetición	85

ÍNDICE DE FIGURAS

		PÁGINA
Figura 1.1.	<i>Pleurotus ostreatus</i> con sus partes principales. (Gaitán, 2006, p. 9)	1
Figura 1.2.	Crecimiento atrofiado por exceso de CO ₂ (MushWorld, 2005, p. 2)	3
Figura 1.3.	Estructura química de la lignina (Dávila y Vázquez-Duhalt, 2006)	10
Figura 2.1.	Medición de los carpóforos de los hongos	22
Figura 2.2.	Disposición de los biorreactores con papel bond	25
Figura 2.3.	Disposición de los biorreactores con papel periódico	27
Figura 3.1.	Porcentaje de humedad inicial de los sustratos con papel periódico	32
Figura 3.2.	Porcentaje de humedad inicial de los sustratos con papel bond	32
Figura 3.3.	Rendimiento para tratamientos con papel bond	36
Figura 3.4.	Eficiencia biológica para tratamientos con papel bond	39
Figura 3.5.	Rendimiento para tratamientos con papel periódico	41
Figura 3.6.	Eficiencia biológica para tratamientos con papel periódico	43
Figura 3.7.	Rendimiento para tratamientos con papel bond y periódico	44
Figura 3.8.	Eficiencia biológica para tratamientos con papel bond y periódico	47
Figura 3.9.	Humedad final de los sustratos con papel bond	52
Figura 3.10.	Humedad final de los sustratos con papel periódico	52
Figura AIV. 1.	Crecimiento del hongo en tubos con agar	87
Figura AIV. 2.	Crecimiento del <i>Pleurotus ostreatus</i> en cajas Petri	87
Figura AIV. 3.	Crecimiento del hongo en frascos con trigo	88
Figura AIV. 4.	Mezclado del inóculo con el sustrato de rastrojo de maíz y	

	papel	88
Figura AIV. 5.	Biorreactores de 1,25 kg de rastrojo de maíz con papel inoculados con <i>Pleurotus ostreatus</i>	89
Figura AIV. 6.	Aparecimiento de los primordios de <i>Pleurotus ostreatus</i> en los biorreactores de rastrojo de maíz y papel	89
Figura AIV. 7.	Cuerpo fructífero de <i>Pleurotus ostreatus</i> listo para la cosecha	90

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
ANEXO I Determinación de resinas, ceras y grasas	65
ANEXO II Determinación de lignina y celulosa	67
ANEXO III Peso de cada cosecha en los respectivos sustratos	70
ANEXO IV Valores de eficiencia biológica por cada funda	77
ANEXO V Valores de rendimiento por cada funda	78
ANEXO VI Condiciones de temperatura y humedad para cada repetición	79
ANEXO VII Procedimiento de siembra del hongo	87

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de la sustitución de rastrojo de maíz con papel en la eficiencia biológica y en el rendimiento del hongo *Pleurotus ostreatus*, para lo cual se realizó un diseño experimental de bloques completamente al azar, con dos repeticiones. Los datos se analizaron mediante una prueba de Tukey de comparación de medias con significancia del 5 %. La variable de análisis fue el porcentaje de papel bond PB o papel periódico PP (10 %, 20 % y 30 %) en el sustrato rastrojo de maíz y las variables de respuesta fueron la eficiencia biológica y el rendimiento. Se trabajó con seis tratamientos y un control. Los tratamientos fueron 90:10 PB, 80:20 PB, 70:30 PB, 90:10 PP, 80:20 PP, 70:30 PP.

Cada tratamiento fue probado en por 10 unidades experimentales, en un biorreactor de polietileno de baja densidad con 1,25 kg de sustrato húmedo. Una vez que los carpóforos se desarrollaron, se procedió a la cosecha, pesado y secado para la determinación de la eficiencia biológica y el rendimiento.

La eficiencia biológica EB fue determinada dividiendo el peso húmedo del hongo para el peso seco del sustrato en el biorreactor y multiplicado por cien. Por otra parte el rendimiento R se obtuvo de la división del peso húmedo de los hongos para el peso del sustrato utilizado en base húmeda y multiplicado por cien.

Se encontró que para los sustratos compuestos por papel bond, la mayor eficiencia biológica se presentó en el tratamiento 80:20 PB, con un valor de 113,70 %. Para los sustratos compuestos por papel periódico, se obtuvo la mayor eficiencia en el sustrato 90:10 PP, con un valor de 71,91 %. El mayor valor de rendimiento para los sustratos con papel bond correspondió al tratamiento 80:20 PB con un valor de 22,96 %, mientras que para los sustratos con papel periódico el mayor rendimiento se obtuvo con el tratamiento 90:10 PP con un valor de 15,76 %.

En todos los casos, el papel bond presentó mejores resultados, probablemente por la mayor concentración de celulosa que aportó al sustrato.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuicultura y Pesca, anualmente la actividad agroindustrial produce cerca de seis toneladas de residuos con altos contenidos de lignina y celulosa (MAGAP, 2015, p. 3). Muchos de ellos al ser quemados constituyen una fuente de contaminación al aire (Ramos, 2007, pp. 63-73), otros terminan en los botaderos de basura para acumularse, ya que por su estructura celular, son recalcitrantes a la biodegradación en medio de las condiciones de los rellenos sanitarios (Defín y Durán, 2003, pp. 37-45).

Uno de estos desechos es el rastrojo de maíz, que constituye un problema para el pequeño agricultor al no degradarse fácilmente. Sus hojas no se pueden aprovechar como alimento para el ganado y su presencia en el suelo dificulta las labores de campo para la siguiente siembra (Díaz, 2004, p. 15).

Por otra parte, el papel constituye una fuente de celulosa importante sin que haya sido tomado en cuenta como sustrato para la producción de hongo ostra. Resultados de estudios anteriores han demostrado que sustratos ricos en celulosa tal como papel-paja tienen la capacidad de alcanzar una eficiencia biológica del 128 % (Castañeda, López y Barba, 2012, p. 81) en relación con la eficiencia biológica del 122 % lograda al usar como sustrato únicamente rastrojo de maíz (Barba, 1998, p. 47).

La fermentación de sustratos lignocelulósicos es una alternativa para el tratamiento de desechos con el fin de obtener enzimas, alimento rico en proteína y como residuo un abono capaz de integrarse fácilmente al ciclo de carbono en la naturaleza.

Con base en los antecedentes mencionados, se justifica un estudio que determine las condiciones óptimas para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* con el uso de sustratos combinados para ofrecer una alternativa de manejo a los desechos agroindustriales del pequeño agricultor.

El presente trabajo tiene como objetivo determinar la factibilidad técnica del crecimiento del hongo en un sustrato con composición variable de papel bond y papel periódico sin tinta, cuyo resultado se evalúa con los valores de eficiencia biológica y rendimiento.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. CARACTERÍSTICAS DEL HONGO *Pleurotus ostreatus*

El hongo ostra es uno de los tipos de hongos comestibles más populares, perteneciente al género *Pleurotus* y la familia *Pleurotaceae*. Habitualmente se los encuentra como descomponedores de trozas de maderas duras. Los hongos silvestres del género *Pleurotus* se encuentran distribuidos mundialmente en zonas tropicales y subtropicales de forma natural, excepto en Corea y Japón, donde el hongo se cultiva de forma comercial. La especie es fácilmente adaptable a una gran variedad de climas y sustratos, lo que hace que sea el segundo hongo cultivado comercialmente después del champiñón (MushWorld, 2005, p. 2).

Morfológicamente, la seta está constituida de tres partes: sombrero (píleo), pie reducido (estípite) y láminas (himenio), que se observan en la Figura 1.1.

El sombrero tiene forma, en forma de ostra u oreja, de ahí su nombre que deriva del griego *pleura* o *pleurón* y del latín *otus*, oreja (Gaitán, 2006, p. 9).

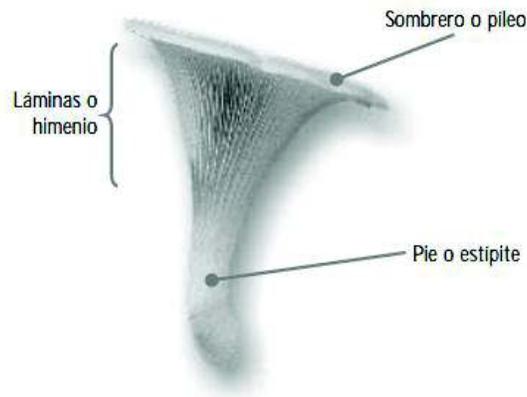


Figura 1.1. *Pleurotus ostreatus* con sus partes principales (Gaitán, 2006, p. 9)

La edad influye en el tamaño, el cual puede oscilar entre mínimo 5 cm. y máximo 15 cm. Su coloración es variada, crema, blanco, gris o pardo asociada a la cantidad de luz recibida. La seta posee un olor fuerte, es carnosa al principio del crecimiento y a medida que madura se torna fibrosa (Hernández y López, 2006, p. 27).

Las láminas o himenio están ubicadas como varillas de paraguas y van desde el tallo hasta el borde de coloración blanca o crema. Dichas láminas son el lugar donde se lleva a cabo la esporulación.

El pie o estipe es corto y grueso. Tiene como dimensiones aproximadas 0,5 a 3,0 cm de longitud y 0,5 a 2,0 cm de espesor. Se encuentra a un costado, es más lateral que céntrico; es firme, ligeramente duro y con vellosidades en la base (Ardón, 2004, p. 19).

1.1.1. CONDICIONES DE CULTIVO

Las condiciones ambientales son primordiales para mantener el desarrollo adecuado del hongo y asegurar buenos rendimientos. A continuación se detalla las condiciones óptimas para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*:

- **Iluminación**

La iluminación está en relación con la coloración durante el período de fructificación. Una iluminación reducida está asociada a una producción de cuerpos fructíferos baja, sin embargo se requiere que dicha iluminación sea indirecta para evitar una reducción brusca de la humedad en el hongo. Si la luz es insuficiente el hongo toma una coloración blanquecina con troncos alargados (Garzón y Cuervo, 2008, p. 3).

- **Temperatura**

Para el desarrollo del micelio se ha determinado que la temperatura óptima es de 20 a 25 °C. El desarrollo de los primordios se obtiene entre los 10 y 20 °C y la formación de los cuerpos fructíferos ocurre óptimamente entre los 13 y 16 °C (MushWorld, 2005, p. 63).

- **Ventilación**

Si la ventilación es deficiente durante el recubrimiento y fructificación, los hongos ostra muestran un crecimiento atrofiado por el dióxido de carbono. Sin embargo un exceso de ventilación produce grandes pérdidas de humedad y endurecimiento del sustrato. Es importante mantener los niveles de CO₂ en valores menores a 1 000 ppm para evitar pedicelos demasiado largos y sombreros minúsculos tales como los mostrados en la Figura 1.2. (MushWorld, 2005, p. 64).



Figura 1.2. Crecimiento atrofiado por exceso de CO₂ (MushWorld, 2005, p. 2)

- **Humedad**

El contenido de humedad relativa es una de las condiciones más importantes. Durante la incubación la humedad relativa debe mantenerse entre 65 y 70 % y durante la fructificación debe mantenerse entre 80 y 95 % (MushWorld, 2005, p. 55). Humedades muy bajas retrasan el desarrollo de los cuerpos fructíferos, mientras que humedades muy altas favorecen el desarrollo de plagas o la

formación de cuerpos fructíferos mucilaginosos y con sensación de humedad (Carvajal, 2010, p. 38).

1.1.2. TÉCNICAS DE CULTIVO

Existen diferentes técnicas comunes de cultivo que se pueden elegir de acuerdo con el tipo de sustrato y tipo de contenedor. Los sustratos más comúnmente empleados son: cascarilla de arroz o trigo, rastrojo de maíz, troncos, residuos de maíz, desechos de café y hojas de banano. Las técnicas de cultivo, de acuerdo con el recipiente contenedor, son: cultivo en estantes, en bolsas, botellas y bandejas. La técnica más utilizada para el cultivo de hongo ostra es la de siembra en bolsas, que consiste en introducir el sustrato previamente esterilizado con el inóculo en biorreactores de polietileno de baja densidad; dependiendo del sustrato se escoge el tamaño del biorreactor. La ventaja principal del cultivo en bolsas es la posible cosecha regular que no depende de las condiciones ambientales externas ya que puede realizarse en pequeños invernaderos. También es beneficioso debido a costos relativamente bajos de materia prima. La inversión se hace solo en los biorreactores de polietileno y en los costos de la cepa, que en comparación con el cultivo en bandejas, requiere menor cantidad de inóculo (Gaitán, 2006, p.19-21).

El cultivo en botellas se realiza de la misma manera, sin embargo, requiere de mayor inversión, aunque tiene la ventaja de poder automatizarse. Se trata de una técnica de cultivo propia de los japoneses. Se prepara el sustrato que tiene como componente base aserrín de madera dura, sea de álamo, aliso o plantas de algodón. A este aserrín se le añaden suplementos para mejorar su valor nutricional. Se homogeniza el sustrato en una mezcladora con agua hasta alcanzar una humedad de aproximadamente 65 %. Esta mezcla pasa a una llenadora automática que vierte el contenido en botellas de polipropileno de 100 mL.

Se esterilizan las botellas con vapor a 121 °C durante 70 min. Posteriormente, se dejan enfriar hasta alcanzar una temperatura de 20 °C, a la cual se realiza la

inoculación. La inoculación se hace con un orificio vertical que ayuda a retener la humedad y se agregan entre 5 y 8 g de inóculo de forma automática.

Las botellas inoculadas se mantienen a 18 °C y humedad de 65 a 70 %. El tiempo de inoculación suele ser de 20 a 25 días. Cuando han sido colonizadas por completo, las botellas pasan a la cámara de fructificación donde se mantienen a temperaturas entre 13 y 15 °C y humedad de 85 a 95 %. Transcurridos de 6 a 8 días desde el brote, se alcanza la madurez del primordio para la cosecha (Kwon, 2005, pp. 181-186).

Finalmente, se tiene el cultivo en bandejas, que aunque presenta mayores rendimientos, corre mayores riesgos de contaminación. La esterilización se realiza de la misma manera que para el cultivo en bolsas. Para la inoculación se coloca sustrato e inóculo en capas de forma sucesiva y se compacta el sustrato de manera que el crecimiento sea uniforme, se forra con una lámina plástica la bandeja para evitar contaminaciones y retener humedad.

1.1.3. IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus*

El cultivo de *Pleurotus ostreatus* es importante en la reconversión de la materia orgánica en la naturaleza y en la nutrición de muchas plantas y animales. El hongo ostra ha tenido un gran desarrollo y gran aceptación por sus propiedades nutricionales, sabor, los amplios sustratos en los que es capaz de desarrollarse así como por su adaptación a un amplio rango de temperaturas (Chiroro, 2005, p. 224). A continuación se detallan varias de las aplicaciones y beneficios de su cultivo.

- **Nutrición humana**

El hongo ostra es en mayor parte conocido en la región oriental del Ecuador por poseer un alto valor nutritivo (Muñoz, 2010, p. 1).

Las proteínas que contiene, poseen un valor nutricional más alto que las proteínas de las plantas, pues tienen características similares a la proteína de origen animal (Sánchez y Royse, 2001, p. 175).

El hongo ostra además posee en su estructura 57 % de carbohidratos y 14 % de fibra cruda; de este porcentaje, el 47 % es fibra dietética (Miles y Chang, 2004, p. 315).

El contenido de vitamina C en el hongo es muy alto, va de 90 a 144 mg/100 g del peso seco, razón por la cual es una buena fuente de antioxidantes (Miles y Chang, 2004, p. 315). Son particularmente ricos en tiamina (B1), riboflavina (B2), así como en ácido pantoténico (B3), ácido ascórbico (C) y biotina (Sánchez y Royse, 2001, p. 175).

- **Propiedades medicinales**

Se ha verificado que el consumo de *Pleurotus ostreatus*, que tiene en su estructura varios tipos de estatinas, previene el aumento de colesterol (Sánchez y Royse, 2001, p. 175).

Sus bajos contenidos de grasa y sodio, junto al elevado nivel de potasio, hacen que tenga trascendencia para trastornos cardiovasculares e hipertensión, así como para reducir la obesidad (Hernández y López, 2006, p. 30).

- **Alimentación de ganado**

Una vez cultivado y cosechado el hongo, el sustrato residual tiene mayor cantidad de proteínas en comparación con el sustrato original. Adicionalmente tiene la característica de ser acarreador de nutrientes líquidos y tener mejor retención de agua (Sánchez y Royse, 2010, p. 266). La lignina del desecho usado como sustrato es degradada por el hongo y convertida en una sustancia más digerible para alimentación de ganado. El sustrato degradado puede ser

reciclado y su proteína recuperada para alimentación animal, siempre que se encuentre libre de patógenos y micotoxinas (Sánchez y Royse, 2001, p. 175).

- **Control biológico**

Se ha descrito a los hongos que pudren la madera, como agentes capaces de contrarrestar y alimentarse de nematodos debido a que usan los nutrientes de dichos parásitos como complemento nutricional, dada la escases de N aprovechable en la madera. Las especies de *Pleurotus* producen cantidades minúsculas de toxinas que, al contacto con los nematodos, producen una reacción inmediata que los vuelve inmóviles (Sánchez, J. y Royse, 2001, p. 175).

- **Degradación de residuos agroindustriales**

Los productos más cultivados a nivel mundial son el trigo, el arroz, el mijo, el maíz, la caña de azúcar, las frutas, las hortalizas, el té, el cacao, el café, el tabaco, las plantas de aceite, el algodón y las plantas de fibras. Todos estos productos generan enormes cantidades de rastrojos, tallos, y desechos, de los cuales una parte es quemada para utilizar las cenizas como fertilizante y otra es incorporada al suelo para abonarlo como materia orgánica; sin embargo, la mayoría se deja podrir (FAO, 2003, p. 165).

El cultivo de *Pleurotus* sobre desechos agrícolas es una buena opción para producir alimentos. Los hongos comestibles convierten los desechos agrícolas en alimentos, lo que los vuelve una fuente de proteína de bajo costo. El desarrollo del cultivo de hongos a pequeña escala en países en desarrollo necesita una tecnología sencilla. Después del cultivo y cosecha de los hongos, la relación entre carbono y nitrógeno del sustrato disminuye y puede utilizarse como abono para el suelo o alimento para el ganado (Sánchez y Royse, 2001, p. 175).

- **Degradación de pesticidas**

La principal característica de los hongos es la capacidad de realizar una degradación externa de los nutrientes, para lo cual se sirven de la secreción de enzimas al medio extracelular. Dichas enzimas transforman el sustrato en moléculas más sencillas de fácil asimilación (Mendoza, 2012, p. 8).

Los hongos de pudrición blanca tienen la capacidad de descomponer pesticidas muy tóxicos y químicos de naturaleza poco frecuente. En 1993 se verificó la habilidad del hongo ostra para degradar el herbicida atrazina. El *Pleurotus ostreatus* mineraliza el DDT, uno de los insecticidas más resistentes en el ambiente, y de desdoblar una gran cantidad de hidrocarburos poliaromáticos como el fenantreno, más eficientemente que *Phanerochaete chrysosporium* (Sánchez y Royse, 2001, p. 175).

1.2. CARACTERÍSTICAS Y COMPONENTES DE LOS RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS DEL RASTROJO DE MAÍZ

La actividad agroindustrial en el Ecuador produce anualmente cerca de seis toneladas de desechos con altos contenidos de lignina y celulosa. Muchos de ellos son quemados, constituyendo una fuente de contaminación al aire (MAGAP, 2015, p. 3). Otros van a los botaderos de basura para acumularse, ya que por su estructura celular son recalcitrantes a la biodegradación en medio de las condiciones de los rellenos sanitarios debido a que las paredes celulares de la planta, en la madera, están constituidas por celulosas y hemicelulosas unidas por lignina (Defín y Durán, 2003, pp. 37-45).

El rastrojo de maíz está constituido por tallo, hojas, además de la tusa. Una cantidad importante de minerales del maíz se encuentran presentes en el material residual que queda en el campo. Aproximadamente del 30 % de los minerales N, P, K y Ca son parte de la estructura del rastrojo. El tallo y hojas de

maíz poseen en menor grado Ca, P, N y K, siendo bajo el Na. Las tusas de maíz son bajas en Ca y Mg (Josifovich, 1988, p. 2).

El contenido de lignina presente en el rastrojo de maíz oscila entre el 14,6 % y el 17,9 % mientras que el valor de celulosa está entre 57,0 % y 59,2 % (Moya, Durán y Sibaja, 1992, p. 46). Dichos componentes le brindan estabilidad y rigidez a la planta de maíz, sin embargo, estos mismos lo vuelven un inconveniente para el pequeño agricultor pues no se degradan fácilmente. Sus hojas no se pueden aprovechar como alimento para el ganado y su presencia en el suelo dificulta las labores de campo para la siguiente siembra (Díaz, 2004, p. 15).

1.2.1. RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS

La celulosa es el componente estructural de mayor importancia en las paredes celulares de las plantas. Se presenta en forma de fibras largas y filamentos. En las células de las plantas maduras, las microfibrillas de celulosa están rodeadas de una matriz constituida en su mayor parte de hemicelulosa y lignina. Esta matriz le suministra la rigidez necesaria a la planta (Casey, 1990, p. 35).

Su estructura química se define como un polisacárido lineal formado por monómeros de glucosa, acoplados por enlaces beta 1-4. La configuración beta le da la capacidad a la celulosa de formar cadenas largas y lineales unidas entre sí por puentes de hidrógeno, originando la formación de microfibrillas en regiones cristalinas. Las microfibrillas le proporcionan la característica de insolubilidad, rigidez y que sea de difícil acceso al ataque enzimático (Chávez y Domine, 2013, p. 17).

En la naturaleza, el hongo *Pleurotus ostreatus* se desarrolla sobre diferentes sustratos y en diferentes condiciones ambientales, haciendo que produzca distintas formas enzimáticas capaces de degradar las microfibrillas (Vaca, 2014, p. 11).

La Figura 1.3. muestra una disposición química representativa de la lignina en la que aproximadamente el 10-20 % son grupos hidroxilo fenólicos responsables de la dureza de la pared celular y que protegen a los carbohidratos susceptibles a la degradación enzimática microbiana. Se trata de un polímero heterogéneo, amorfo, ópticamente inactivo y altamente ramificado (Dávila y Vázquez-Duhalt, 2006, p. 32).

La lignina es diferente de otras macromoléculas componentes de la pared celular, se trata de un polímero aromático tridimensional, con algunos enlaces covalentes a la hemicelulosa. Es poco reactiva al agua, de ahí que su misión dentro de la planta sea la de reducir la permeabilidad del agua a través de las paredes celulares. Su unidad básica constitutiva es un fenilpropano (Segura, Echeverri, Patiño y Mejía, 2007, p. 74).

Por otra parte, la hemicelulosa constituye un polisacárido no celulósico flexible. No es soluble en agua caliente pero si en soluciones alcalinas. Es un biopolímero homólogo a la celulosa ya que tienen una estructura central compuesta por los mismos carbohidratos unida por los mismos enlaces (Obembe, Jacobsen, Visser y Vicken, 2006, p. 76).

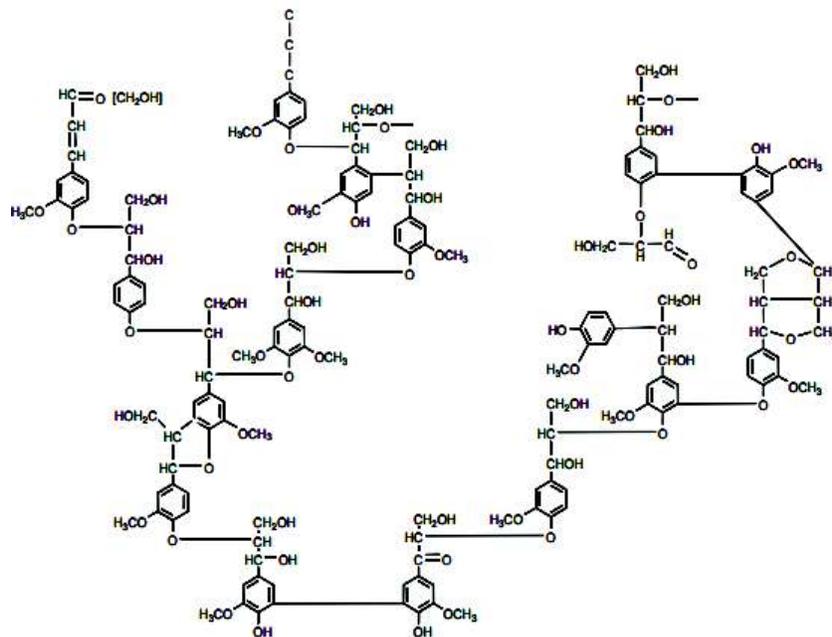


Figura 1.3. Estructura química de la lignina (Dávila y Vázquez-Duhalt, 2006, p. 32)

1.2.2. DEGRADACIÓN DE RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS

La lignina es un biopolímero aromático complejo capaz de ser biodegradado por un pequeño número de microorganismos, de los cuales los hongos de pudrición blanca constituyen el grupo más importante, gracias a la producción de enzimas ligninolíticas extracelulares, lignino peroxidasa (LiP) y manganeso peroxidasa (MnP) (Quintero, Feijoo y Lema, 2006, p. 62).

En la descomposición enzimática de la lignina actúan un conjunto de reacciones no específicas que dan origen a la formación de radicales libres en el biopolímero y resultan en la desestabilización de los enlaces y posteriormente en la disolución de la macromolécula en dióxido de carbono y agua (Quintero et al, 2006, p. 62).

En su mayoría los hongos ligninolíticos son parte del grupo *Basidiomycetes* y son los microorganismos más eficaces para degradar en su totalidad a la lignina. Producen distintas enzimas extracelulares que son básicas para la transformación inicial de la lignina y que en conjunto logran su mineralización (Dávila y Vásquez-Duhalt, 2006, p. 32).

Debido al impacto económico y ecológico, los estudios previos sobre degradación de residuos lignocelulósicos reflejan el interés actual en la degradación biológica de la lignina.

A finales de 1983, Kirk y colaboradores, del Forest Products Laboratory, descubrieron la ligninasa, enzima con acción biológica capaz de degradar la lignina. Así mismo determinaron las condiciones fisiológicas a las cuales su acción es más favorable. Se comprobó que la degradación de la lignina se inicia, únicamente, cuando en el medio de cultivo del hongo existe restricción de uno de los nutrientes básicos para su crecimiento. En este período estacionario, los organismos sintetizan la ligninasa, con el objetivo de alcanzar a la celulosa u otro nutriente, al cual la lignina impide el acceso (Agosin, 1986, p. 1).

Con los hongos, la degradación de la lignina parece iniciarse con una oxidación fenólica inducida enzimáticamente por oxidasas fenólicas tales como la lacasa o la peroxidasa. Dicho ataque resulta en la polimerización y la despolimerización, la desmetilación y la formación de quinona. Sin embargo, las oxidasas fenólicas en sí parecen incapaces de degradar los compuestos aromáticos. La degradación subsecuente ocurre por la acción de otra enzima, la celobiasa: quinona oxidorreductasa (Casey, 1990, pp. 117-118).

Durante el crecimiento de un hongo de pudrición blanca sobre un sustrato de celulosa se secretan dos celobiasa oxidorreductasas: celobiasa quinona oxidorreductasa (CBQ) y celobiasa oxidasa. Las dos enzimas, transforman la celobiasa en δ -Lactona que a su vez se reconvierte en ácido celobiónico del cual se obtiene glucosa y ácido glucónico (Montoya, 2008, p. 29).

Por otra parte, al tener los nutrientes en exceso, se desarrollan mecanismos represores de la actividad lignolítica. Los principales represores son el nitrógeno y el carbono, razón por la cual para iniciar la síntesis de ligninasa deben encontrarse en estado mínimo. Si se desarrolla al hongo en un medio carente de lignina, siempre habrá síntesis de ligninasa durante la fase estacionaria y en caso de adicionarse lignina al cultivo, la síntesis será mayor. Sin embargo, se ha observado que los hongos lignolíticos no crecen cuando la fuente de carbono proviene únicamente de la lignina. Por lo tanto, los hongos requieren, en un principio, de un cosustrato simple de degradar, como la glucosa o la celulosa, para ser capaces de desdoblar a la lignina (Agosin, 1986, p. 1).

La degradación de la celulosa ocurre cuando la espora del hongo germina en la madera y produce la disolución de la pared primaria, resultado de la secreción de enzimas al penetrar en la pared celular por perforaciones en la madera o por degradación previa de la lignina. La hidrólisis de la celulosa dependerá del grado de accesibilidad de las enzimas. Los dos factores más importantes que limitan dicho acceso son la lignina y el carácter cristalino de la celulosa. Debido a que la celulosa es un sustrato insoluble y complejo, el contacto puede

lograrse únicamente mediante la difusión de la enzima por la matriz estructural compleja de la celulosa (Casey, 1990, pp. 54-55).

1.3. CARACTERÍSTICAS Y COMPONENTES DEL PAPEL

1.3.1. HISTORIA

A lo largo de la historia se desarrolló el lenguaje escrito desde los símbolos hasta llegar al alfabeto, producto de este desarrollo, surgió la necesidad de un medio de soporte para el mismo, que sea fácil de transportar, resistente y de fácil acceso. Pasaron milenios hasta que el humano encuentre materiales adecuados para sus grabados, como el papiro, el pergamino y, finalmente el papel (Asenjo e Hidalgo, 2000, p. 2).

La historia comienza en China, donde Ts'ai Lun, inventor del papel, desintegró fibras vegetales y trapos en un triturador de piedra. La forma se le suministraba con la ayuda de un recuadro de madera en el que se ataba un tejido fino de bambú. Para mantener la cohesión de las fibras y suministrarle impermeabilidad, se usaba agar. Se desconoce con exactitud de qué materiales se fabricaron las primeras hojas, pero se supone que al conocer los botones de seda, la primera pasta de papel fuera a partir de hoja de morera (Asenjo e Hidalgo, 2000, p. 3).

1.3.2. PAPEL BOND

Básicamente la pasta y el papel son una trama de hebras de celulosa que se unen mediante puentes de hidrógeno. Para la elaboración del papel se separan todos los componentes no celulósicos, para obtener fibras de alta resistencia a la tracción y se adicionan las cargas para transformar la pasta en papel y cartón (Keefe y Teschke, 2000, p. 5).

La fibra de la celulosa es un material vegetal extraído de plantas. A partir del siglo XIX, se empezó a usar la madera. Sin embargo cualquier sustancia que contenga celulosa en un porcentaje abundante, se puede utilizar para fabricar papel. Los dos tipos de fibra existente son: la fibra larga y la fibra corta (González, 2007, p. 1).

La fibra larga se saca del pino y el abeto. Esta fibra se caracteriza por aportar alta rigidez y resistencia mecánica (mayor resistencia para ser acuñado y troquelado). La fibra corta se saca del abedul, haya y eucalipto. Este tipo de fibra ayuda a obtener una superficie más uniforme. Ambas fibras son utilizadas en la manufactura del papel, en una proporción de acuerdo al tipo de papel deseado (González, 2007, p. 1).

Los elementos minerales que quedan retenidos entre las fibras se denomina cargas y son sustancias como: talco, calcio y caolín. Le otorgan el peso específico al papel al quedar retenidos entre las fibras. Su porcentaje debe ser controlado de acuerdo al tipo de papel a fabricar. Disminuyen su transparencia, mejoran su blancura, su imprimibilidad y disminuye el grado de absorción de agua por parte del papel. El encolado impermeabiliza el papel, mientras que los colorantes y los blanqueadores ópticos dan más blancura al papel (González, 2007, p. 1).

1.3.3. PAPEL PERIÓDICO

Es el tipo de papel fabricado principalmente sobre la base de papel recuperado o de pasta mecánica. La recolección de diarios y revistas antiguas, sobrantes y devoluciones de editoriales, constituyen la base de la pasta fabricada a partir de fibra recuperada.

La etapa inicial de producción combina una cantidad fija de diarios y revistas con una solución de jabón de ácido graso y gran cantidad de agua caliente, mezcla que se hace rotar dentro de un tanque hasta elaborar una solución. El objetivo de este proceso es el destintar la pulpa y deshacer la unión entre tintas

y fibras. La pasta se limpia en múltiples etapas de lavado en las cuales se extrae más del 99 % de la tinta adherida a las fibras. Se aplica aire comprimido desde el fondo del recipiente hasta la superficie, para generar burbujas de jabón de ácido graso que atraen las partículas de tinta. Las burbujas sucias ascienden a la superficie y se eliminan con el agua residual, este procedimiento es repetido en múltiples tanques hasta la depuración total de la pasta (SCA Publication Papers, 2015, p. 6).

Solo el 80 % de la fibra reciclada se puede recuperar durante el destintado. El reciclaje sucesivo resulta en fibras cada vez más cortas y débiles, que finalmente se desechan dentro del proceso de recuperación. Existe un límite de papel periódico que puede fabricarse y está definido en un valor máximo de cinco veces ya que la fibra a medida que se recicla va sufriendo daños, por lo cual se requiere que en cada proceso se adicione fibra virgen para mantener su estabilidad y resistencia (Friends of the Earth, 2008, p. 3).

El factor más importante para la elaboración de papel periódico es la fuente del reciclado, ya que esto determina la cantidad de fibra secundaria a adicionar en cada calidad y tipo de papel. En la mayor parte las fibras secundarias constituyen una mezcla de diversos tipos de fibras, y otros materiales utilizados en las etapas de conversión además de haber recibido en varias ocasiones tratamientos mecánicos de secado y de envejecimiento (Aguilar, 2004, p. 54).

El papel reciclado posee baja resistencia por (Aguilar, 2004, p. 54):

- Hornificación producida durante el primer secado, asociada a un bajo enlace interfibrilar.
- Acumulación de fibras finas, por los continuos repulpeos.
- Purificación incorrecta de la pulpa.
- Acumulación de cargas (caolines, pigmentos, etc.), que incrementan el gramaje y reducen la resistencia.
- Depósito de materiales extraños (aceites, almidón seco, resina/alúmina, tintas etc.) que envuelven a las fibras obstruyendo los enlaces.

1.3.4. DESCOMPOSICIÓN DEL PAPEL

Los soportes del papel sufren transformaciones químicas debido a factores intrínsecos y extrínsecos, lo que da origen a efectos de deterioro. Para el fabricante de papel constituye simultáneamente una ayuda y un inconveniente. Estos factores son:

- **Hidrólisis**

Este tipo de degradación consiste en la separación de la unión glicosídica entre el carbono y el oxígeno mediante un ácido. La unión entre las unidades de glucosa lleva el nombre de enlace beta-acetal (B-acetal) y se presenta entre los carbonos 1 y 4 de dichas unidades. Cuando el proceso se lleva a término el resultado final es la unidad monomérica constitutiva, glucosa. La hidrólisis ácida se puede llevar a cabo como un proceso homogéneo con ácidos fuertes, o como un proceso heterogéneo, con ácidos débiles (Odor, 2008, p. 1).

En el proceso heterogéneo, la celulosa conserva su estructura fibrosa, y la reacción ocurre en dos etapas distintas, una inicial rápida seguida por una reacción mucho más lenta. Las regiones fácilmente accesibles son las que se hidrolizan en primer lugar. Comercialmente, el proceso de la hidrólisis heterogénea se utiliza para producir hidrocélulosa y celulosa microcristalina con formación de gel. La pérdida de resistencia del papel cuando envejece, y en particular cuando el pH del papel es bajo, es otro ejemplo de la degradación ácida (Casey, 1990, p. 50).

El proceso homogéneo es una reacción más simple y se produce a un ritmo uniforme. El producto principal que se obtiene de la reacción es D-glucosa, que puede convertirse en una amplia variedad de productos mediante fermentación e hidrogenación. El proceso consiste en llevar a cabo un tratamiento breve con ácido sulfúrico fuerte, seguido por un tratamiento con ácido diluido caliente para completar la hidrólisis (Casey, 1990, p. 50).

- **Oxidación y fotoxidación**

La celulosa es muy susceptible de los agentes oxidantes. La amplitud de la degradación depende del reactor y de las situaciones en las cuales se da la oxidación. Los grupos hidroxílicos y los extremos terminales reductores son los puntos más susceptibles de ataque (Casey, 1990, p. 35).

La oxidación, producto de la reacción con el oxígeno ambiental, provoca en el papel reacciones que generan grupos cromóforos (con dobles enlaces), que aportan coloración al papel (amarillamiento). Los agentes inductivos tales como humedad, temperatura, luz, contaminantes atmosféricos, oxígeno y cationes metálicos, son los responsables de la oxidación (Casey, 1990, p. 35).

Ante la oxidación, la celulosa pierde sus puentes de hidrógeno, lo cual provoca la fragilización. En los soportes de papel se oxidan primero los contenidos de lignina después la hemicelulosa y finalmente la celulosa. En la fotoxidación no sólo influye el oxígeno, sino que interviene también la luz, lo cual disminuye la resistencia del papel. La oxidación de la celulosa se da por la fotoxidación de otros componentes del papel, como grasas, ceras, resinas, gelatinas, colas o resina colofonia (Casey, 1990, p. 35).

- **Procesos metabólicos**

Hay muchas enzimas en hongos, bacterias, plantas y animales, que pueden causar la descomposición hidrolítica de la celulosa y la hemicelulosa. Las enzimas hidrolizantes de la celulosa se denominan celulasas, y las enzimas hidrolizantes de las hemicelulosa se llaman hemicelulasas (Casey, 1990, p. 54).

Debido a su impacto y potencial económico, las celulasas de los microorganismos han sido las que más se han investigado. Cuando una espora de hongo germina en un compuesto de celulosa, se produce una disolución

general de la pared primaria, ocasionada por la hifa que segrega enzimas (Casey, 1990, p. 54).

La susceptibilidad de la celulosa ante la hidrólisis enzimática depende en gran medida de su accesibilidad. Es indispensable que exista contacto físico entre la celulosa y la enzima durante la hidrólisis enzimática. Como la celulosa es un sustrato insoluble, el contacto puede lograrse únicamente mediante la difusión de la enzima por la matriz estructural de la celulosa (Casey, 1990, p. 55).

- **Degradación alcalina**

Hay tres tipos fundamentales de degradación alcalina de la celulosa. Un tipo constituye un proceso oxidante que se produce cuando las soluciones alcalinas de la celulosa se ponen en contacto con el aire. Este proceso ocurre únicamente a temperaturas relativamente elevadas; y da por resultado una rotura de la cadena y la introducción de grupos carboxílicos. Los otros dos procesos constituyen procesos no oxidantes (Casey, 1990, p. 51).

El tipo más importante de la degradación alcalina se denomina “reacción de descortezado”. Esta reacción involucra el acortamiento gradual de las cadenas de celulosa mediante un mecanismo de β -eliminación. Habitualmente ésta reacción parte del extremo reductor de la molécula, aunque, si la celulosa ha sido oxidada en otro punto de la molécula, la degradación alcalina se iniciará en dicho punto (Casey, 1990, p. 51).

Otra reacción del carbohidrato con álcalis es la hidrólisis alcalina de los enlaces glicosídicos. Esta reacción produce el acortamiento de las cadenas polisacáridas. Este tipo de degradación alcalina se produce a temperaturas alrededor de 160-180 °C, independientemente de la presencia de pequeñas cantidades de oxígeno (Casey, 1990, p. 53).

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE SUSTITUCIÓN DE RASTROJO DE MAÍZ CON PAPEL BOND EN EL SUSTRATO QUE PERMITA OBTENER LOS MAYORES VALORES DE EFICIENCIA BIOLÓGICA (EB) Y RENDIMIENTO (R) EN EL CULTIVO DEL HONGO COMESTIBLE *Pleurotus ostreatus*

2.1.1. MATERIALES

Se utilizaron las cepas *Pleurotus ostreatus* 2191, 2171, 896 y 201 proporcionadas por el Laboratorio de Bioprocesos de la Escuela Politécnica Nacional.

El bagazo de maíz se obtuvo en la parroquia de Quitumbe, ubicada en el sur de la ciudad de Quito. Se picó con una trituradora forrajera Trapp TRF 300 con el tamiz 12 mm. El residuo de papel bond y papel periódico se obtuvo de la Imprenta Ediciones Vallejo, ubicada en la ciudad de Quito. El residuo de papel consistió en tiras delgadas sin tinta y sin recubrimientos. El trigo pelado y sin pelar empleado para el inóculo se obtuvo en el mercado Mayorista. Los reactivos utilizados en la parte experimental se detallan en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Reactivos empleados en la experimentación

Reactivo	Marca	Grado
Etanol	Merck	ACS
Ácido clorhídrico	J.T. Baker	36,5 – 38,0 %
Ácido oxálico dihidratado	Lobal Chemie	99,5 %
Permanganato de potasio	Baker analyzed	99,3 %
Nitrato férrico nanohidratado	Lobal Chemie	98,0 %
Nitrato de plata	César Vásquez	99,0 %
Ácido acético glacial	Fisher scientific	99,9 %

Tabla 2.2. Reactivos empleados en la experimentación (Continuación...)

Reactivo	Marca	Grado
Butanol	Lobal Chemie	99,5 %
Malta agar	J. T. Baker Inc	
Papa dextrosa agar	J. T. Baker Inc	
Acetato de potasio	Lobal Chemie	99,0 %

2.1.2. SELECCIÓN DE LA CEPA DE *Pleurotus ostreatus*

Se duplicaron en medios de malta agar las cepas 2191, 2171, 896 y 201 en tubos de ensayo a 25 °C, por 15 días. Posteriormente, se duplicó el micelio del hongo en el mismo medio en cajas Petri con el fin de observar cuál cepa alcanzaba el mayor recubrimiento dentro de un lapso de 15 días, a 25 °C.

2.1.3. SELECCIÓN DEL SUSTRATO DE TRIGO PARA PREPARACIÓN DEL INÓCULO

Para seleccionar el sustrato requerido en la preparación del inóculo se evaluó la presencia de contaminación en dos sustratos: trigo pelado y trigo sin pelar, después de 4 semanas de incubación a 25 °C. Para esto, se trabajó con frascos de 500 mL con 240 mL de agua y 120 g de trigo pelado o trigo sin pelar (Molina, 2013, p. 39). Los frascos se agitaron manualmente para evitar el aglutinamiento del trigo y se esterilizaron a 121 °C durante 15 min. Se retiraron los frascos del autoclave para enfriarlos a temperatura ambiente, hasta que en su interior se registraron aproximadamente 30 °C. Se trasladaron a la cámara de flujo laminar previamente desinfectada.

Los grumos de trigo se desmenuzaron con una espátula estéril, para mejorar la distribución del inóculo en el frasco.

Para la inoculación de la cepa de *Pleurotus ostreatus* seleccionada, se tomaron 2 de 4 partes opuestas del micelio junto con el agar. El hongo se colocó sobre

el trigo y se mezcló con la espátula para mejorar el contacto con los granos. Los frascos se cerraron parcialmente para favorecer el intercambio de gases, y se llevaron a incubación por un periodo de 4 semanas a 25 °C en una estufa Precision Scientific Thelco Model 28 (Molina, 2013, p. 39).

2.1.4. PROCESO DE SIEMBRA EN LOS BIORREACTORES

El sustrato utilizado fue rastrojo de maíz previamente picado, mezclado con papel bond. El proceso al que se sometió se detalla a continuación:

El sustrato se colocó en una funda tipo costal para llevarse a ebullición en agua a 90 °C durante 2 h, después de las cuales se escurrió el agua sobrante de los sacos hasta que se detuvo el goteo. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente sobre una mesa de acero inoxidable desinfectada.

Una vez que el sustrato alcanzó una temperatura aproximada de 30 °C, se introdujo en los biorreactores junto con capas sucesivas de inóculo del hongo hasta alcanzar un peso de 1,25 kg y una relación de 15 % en peso de inóculo (Molina, 2013, p. 41). Los biorreactores empleados fueron bolsas de polietileno de baja densidad con dimensiones de 17,78 x 25,20 cm, que una vez llenos con el peso requerido se cerraron con cinta adhesiva.

Se determinó el contenido de humedad de cada sustrato tomando 2 g por cada costal y se analizaron con una termobalanza Ohaus Trooper.

2.1.5. FRUCTIFICACIÓN Y COSECHA

Los biorreactores se llevaron a la cámara oscura de dimensiones 3,75 m x 2,25 m x 2,05 m. Al tercer día posterior a la siembra, en cada funda se realizaron tres cortes en cruz de 2 x 2 cm con la ayuda de un bisturí estéril. A partir de ese momento realizó la humidificación y la ventilación de la cámara dos veces al día. La humidificación se realizó con la ayuda de aspersores de niebla, hasta

alcanzar un valor de humedad relativa próxima al 90 % (Mandeel, Al-Laith y Mohamed, 2005, p. 602). La ventilación se realizó simultáneamente al riego con ayuda de un ventilador y se registraron los valores con un termohigrómetro marca Oakton.

Los biorreactores pasaron en la cámara oscura hasta que el micelio cubrió toda la funda; luego se transportaron a la cámara claro-oscuro de dimensiones 4,32 m x 2,06 m x 2,05 m. Se inició con la ventilación y humidificación durante tres veces al día con el fin de mantener las condiciones de humedad y temperatura constantes a lo largo del día. Así mismo se registraron los valores de temperatura ambiental y humedad relativa con el termohigrómetro.

Al alcanzar el desarrollo total de los primordios en cuerpo fructíferos se procedió a la cosecha; para ello se cortó la base del hongo al ras de la bolsa con ayuda de un bisturí y se pesó en una balanza OHAUS-Scott. Se realizó la cosecha y se evaluó la eficiencia y el rendimiento.

2.1.6. MEDICIÓN DEL DIÁMETRO DE LOS CARPÓFOROS

El tamaño promedio de los carpóforos se obtuvo de las mediciones sucesivas del diámetro mayor de todos los carpóforos.

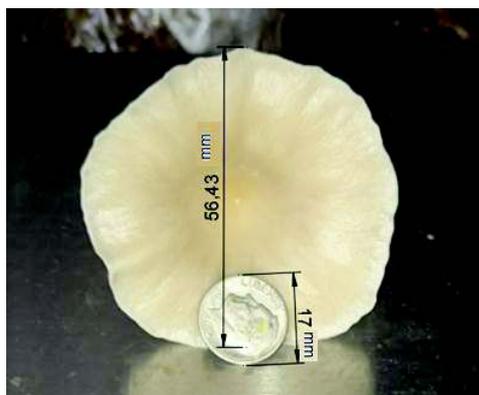


Figura 2.1. Medición de los carpóforos de los hongos

Se realizó la medición de forma indirecta a través de una fotografía tomada con un objeto de referencia, en este caso una moneda de tamaño conocido que proporciona un factor de escala para la determinación del tamaño del carpóforo. Se sumaron los valores y se dividió para los elementos medidos obteniéndose así el tamaño promedio. Se observa la medición del diámetro en la Figura 2.1.

2.1.7. CARACTERIZACIÓN DEL SUSTRATO

La caracterización del sustrato se realizó antes de la siembra y luego de la cosecha. En los dos casos se determinaron:

- **Ceras y grasas**

El contenido de ceras y grasas se determinó de acuerdo con la norma TAPPI-T-6-os-59 que tiene como principio la solubilidad de grasas en una mezcla etanol benceno en un equipo de extracción soxhlet. El incremento de peso del balón impregnado de grasas corresponde al contenido de grasa presente en la muestra; el método detallado se presenta en el Anexo I.

- **Lignina y celulosa**

El contenido de lignina y celulosa se determinó con el método del permanganato, cuyo principio es el fraccionamiento de la lignina y celulosa para determinarse por gravimetría el peso de cada uno. Inicialmente la lignina se oxida y solubiliza dejando en el residuo sólido la celulosa; la pérdida de peso tras la solubilización y secado corresponde al valor de lignina presente. El contenido de celulosa se determina con la pérdida de peso de la muestra al ser incinerada. El proceso detallado se muestra en el Anexo II.

2.1.8. DISEÑO EXPERIMENTAL PARA LOS TRATAMIENTOS CON PAPEL BOND

Para determinar el efecto de la sustitución de rastrojo de maíz por papel bond en la eficiencia biológica y el rendimiento, se trabajó con un diseño experimental de bloques completamente al azar, con dos repeticiones, en el cual la variable de análisis fue el porcentaje de papel en el sustrato y las variables de respuesta fueron la eficiencia biológica y el rendimiento. Se trabajó con cuatro tratamientos y un control, con dos repeticiones cuya composición se observa en la Tabla 2.3.:

Tabla 2.3. Composición de papel bond en los sustratos

Tratamiento	Tipo de papel	Papel (%)	Rastrojo de maíz (%)
T1	Papel bond (PB)	10	90
T2	Papel bond (PB)	20	80
T3	Papel bond (PB)	30	70
T4	Control	0	100

Cada tratamiento estuvo constituido por 10 unidades experimentales, la unidad experimental fue un biorreactor de polietileno con 1,25 kg de sustrato húmedo (Pazos, 2005, pp. 46, 61, 79). En total se contó con 30 unidades experimentales por cada sustrato.

El bloque de control 100 RM se formó de biorreactores con sustrato únicamente constituido de rastrojo de maíz, con el fin de establecer la viabilidad técnica del proceso, al comparar un sustrato con composición variable de papel respecto al sustrato empleado tradicionalmente.

En las cámaras, los tratamientos de la primera repetición y segunda repetición se colocaron en las camas como se indica en la Figura 2.2.



Figura 2.2. Disposición de los biorreactores con papel bond

Para la evaluación de la eficiencia biológica (EB) y el rendimiento (R) se cosecharon, pesaron y deshidrataron los cuerpos fructíferos.

Con el programa Statgraphics Centurion se aplicó un ANOVA con significancia del 5 % para todos los tratamientos y se aplicó el método de comparación de medias de Tukey al 95 %.

2.1.9. EFICIENCIA BIOLÓGICA Y RENDIMIENTO

Para la determinación de la EB se empleó la ecuación [2.1], la misma que considera a la EB como la relación entre el peso de hongo obtenido dividido para el peso de sustrato seco de cada biorreactor y multiplicado por 100 (Mandeel, Al-Laith y Mohamed, 2005, pp. 601-607). El R se obtuvo de la división del peso de los hongos frescos para el peso del sustrato húmedo y multiplicado por 100, según la ecuación [2.2] (Toledo, 2008, p. 68).

$$Eficiencia\ biológica = \frac{\text{peso húmedo del hongo}}{\text{peso seco del sustrato en el biorreactor}} * 100 \quad [2.1]$$

$$Rendimiento = \frac{\text{peso húmedo del hongo}}{\text{peso húmedo del sustrato en el biorreactor}} * 100 \quad [2.2]$$

2.2. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE SUSTITUCIÓN DE RASTROJO DE MAÍZ CON PAPEL PERIÓDICO EN EL SUSTRATO QUE PERMITA OBTENER LOS MAYORES VALORES DE EFICIENCIA BIOLÓGICA (EB) Y RENDIMIENTO (R) EN EL CULTIVO DEL HONGO COMESTIBLE *Pleurotus ostreatus*

2.2.1. DISEÑO EXPERIMENTAL PARA TRATAMIENTOS CON PAPEL PERIÓDICO

Para determinar el efecto de la sustitución de rastrojo de maíz por papel periódico en la eficiencia biológica y el rendimiento, se trabajó con un diseño experimental de bloques completamente al azar, con dos repeticiones, en el cual la variable de análisis fue el porcentaje de papel en el sustrato y las variables de respuesta fueron la eficiencia biológica y el rendimiento. Se trabajó con cuatro tratamientos y un control cuyas composiciones se observan en la Tabla 2.4.:

Tabla 2.4. Composición de papel periódico en los sustratos

Tratamiento	Tipo de papel	Papel (%)	Rastrojo de maíz (%)
T4	Control	0	100
T5	Papel periódico (PP)	10	90
T6	Papel periódico (PP)	20	80
T7	Papel periódico (PP)	30	70

Para la determinación del porcentaje de sustitución de rastrojo de maíz con papel periódico, se trabajó con 10 unidades experimentales por cada tratamiento, obteniéndose un total de 30 unidades experimentales.

Del mismo modo que en el acápite 2.1., el bloque control estuvo constituido por biorreactores de rastrojo de maíz.

En la Figura 2.3. se presenta la distribución de los tratamientos en las camas para la primera repetición y segunda repetición, respectivamente.

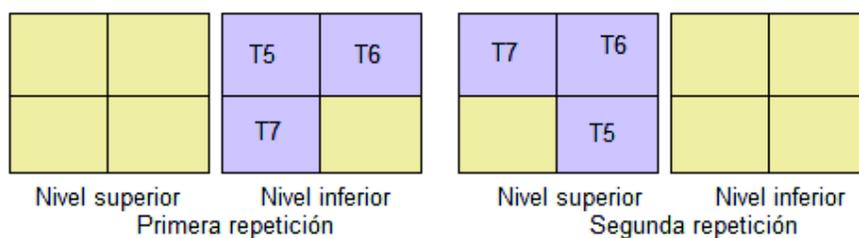


Figura 2.3. Disposición de los biorreactores con papel periódico

El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa Statgraphics Centurion, para un ANOVA con significancia del 5 % para los tratamientos con papel periódico y se aplicó el método de comparación de medias de Tukey.

2.2.2. ANÁLISIS GLOBAL DEL EFECTO DE PAPEL BOND Y PAPEL PERIÓDICO EN EL SUSTRATO

Una vez cosechados y pesados los cuerpos fructíferos de los tratamientos con papel bond, papel periódico y el control, se efectuó al análisis estadístico en el programa Statgraphics Centurion, con un ANOVA significativo al 5 % y se aplicó el método de comparación de medias de Tukey, con el objetivo de estudiar la influencia del tipo de papel en el rendimiento y la eficiencia biológica del hongo.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. SELECCIÓN DE LA CEPA DE *Pleurotus ostreatus*

En la Tabla 3.1. se presenta el resultado del crecimiento de las diferentes cepas sobre malta agar a los 15 días de incubación.

Tabla 3.1. Cepas de *Pleurotus ostreatus* en medio de malta agar

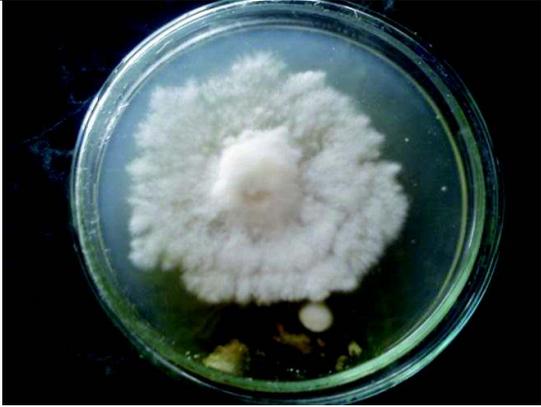
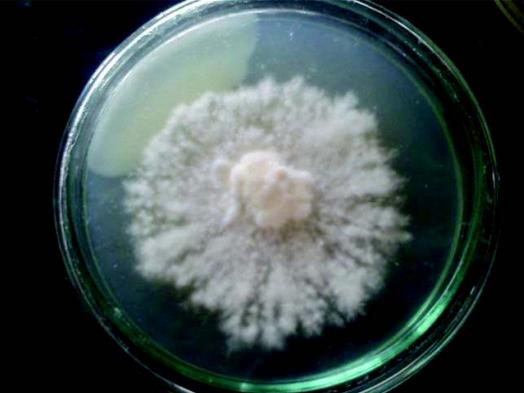
Cepa	Crecimiento
2191	
2171	

Tabla 3.1. Cepas de *Pleurotus ostreatus* en medio de malta agar (continuación...)

896	
201	

Tras 15 días en cajas Petri, se observó que las cepas 2171, 896 y 201 presentaron un crecimiento similar, la cobertura del micelio fue de aproximadamente la mitad de la caja Petri, mientras que la cepa 2191 logró cubrir todo el agar en el mismo tiempo de incubación, por esta razón se seleccionó a esta cepa para el trabajo posterior.

3.2. SELECCIÓN DEL SUSTRATO DE TRIGO PARA PREPARACIÓN DEL INÓCULO

En la Tabla 3.2. se presentan los resultados de la siembra sobre trigo pelado y trigo sin pelar posterior a la incubación de 4 semanas en la estufa a 25 °C.

Se seleccionó el trigo sin pelar como sustrato para la preparación del inóculo ya que el hongo tuvo un mejor desarrollo y una menor contaminación comparado con el trigo pelado que presentó diversas contaminaciones.

Tabla 3.2. Cepas de *Pleurotus ostreatus* sembradas en trigo

Sustrato	Número de frascos sembrados	Número de frascos contaminados	Número de frascos sin contaminación
Trigo pelado	20	16	4
Trigo sin pelar	20	2	18

Se atribuye que el mejor desarrollo del hongo en el trigo sin pelar se debería a la presencia de cáscara que es una fuente de lignina, nutriente esencial para el hongo *Pleurotus ostreatus* y factor limitante para otros microorganismos que no son de metabolismo lignocelulósico (Dávila y Vásquez-Duhalt, 2006, p. 31).

3.3. CARACTERIZACIÓN INICIAL DEL SUSTRATO

3.3.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA

En la Tabla 3.3. se presenta la composición inicial de los sustratos en relación al sustrato control.

Tanto para el papel bond como para el papel periódico se nota que en cuanto se incrementó el contenido de papel en los sustratos, hubo un aumento tanto de celulosa como de lignina, lo que sugiere que el papel, a más de contener celulosa, llevaría en su estructura compuestos de origen similar a la lignina que ocasionan este incremento. En el caso de ceras, grasas y resinas, al igual que para otros compuestos, se observa que hubo una reducción en sus valores, lo que sugiere que el papel no aportó con estas sustancias al sustrato.

Si se compara la variación de la composición del sustrato debido al tipo de papel, se observa que el aporte de celulosa y lignina a los sustratos fue menor cuando se trabaja con papel periódico, pero el porcentaje de otros compuestos es mayor al que presentan los sustratos con papel bond; esto podría deberse a la cantidad de cargas (caolín, aceite, pigmentos y resina) que tiene el papel periódico, con el fin de darle estabilidad a sus fibras (Aguilar, 2004, p. 54).

Tabla 3.3. Composición inicial de los sustratos

Nombre	Celulosa (%)	Lignina (%)	Ceras, grasas y resinas (%)	Otros (%)
100 M	32,0950	18,1550	4,4250	45,3250
90:10 PB	42,2808	30,4318	4,2038	23,0838
80:20 PB	49,0713	38,6163	2,3478	9,9647
70:30 PB	52,4665	42,7085	1,8934	2,9316
90:10 PP	38,8855	26,3395	3,7613	31,0138
80:20 PP	45,6760	34,5240	2,4667	17,3333
70:30 PP	48,9624	38,2275	1,4972	11,3129

3.3.2. HUMEDAD INICIAL

En la Figura 3.1. se presentan los resultados de la humedad inicial medida para cada sustrato compuesto por rastrojo de maíz con diferente porcentaje de papel bond y en la Figura 3.2. se observan los resultados de la humedad inicial medida para cada sustrato compuesto por rastrojo de maíz con diferente porcentaje de papel periódico.

Para los dos tipos de sustrato se nota que en cuanto se incrementó la cantidad de papel la humedad disminuyó debido, posiblemente, a que el papel presenta impermeabilidad por la presencia de resinas y aprestos (Monar, 2006, p. 38).

La humedad en los sustratos con papel periódico fue menor en comparación a la humedad de los sustratos con papel bond, esto posiblemente se deba a la cantidad de cargas (caolín, aceite, pigmentos y resina) que tiene el papel periódico, con el fin de darle estabilidad a sus fibras (Aguilar, 2004, p. 54).

Para un desarrollo óptimo del hongo, autores como Castañeda de León, López y Barba (2012), sugieren valores de humedad cercanos al 85 %, valor que se alcanza con el sustrato compuesto solo por rastrojo; ya que la adición de papel disminuye la humedad inicial. Sin embargo, esta disminución fue de alrededor del 10 %, lo que haría suponer que el desarrollo del hongo no se vería muy afectado, tomando en cuenta que durante las etapas de cultivo se realizaron

riegos frecuentes con el objetivo de mantener la humedad relativa del ambiente.

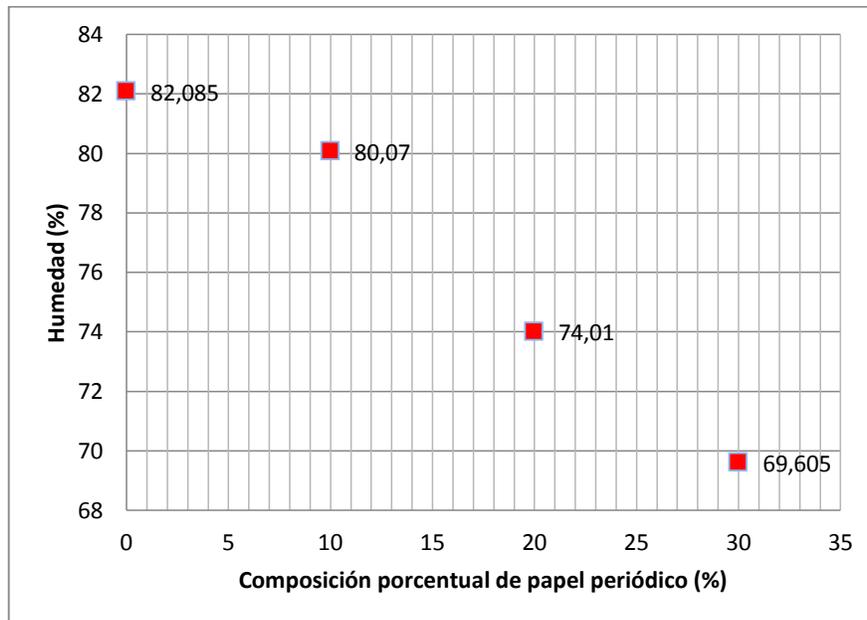


Figura 3.1. Porcentaje de humedad inicial de los sustratos con papel periódico

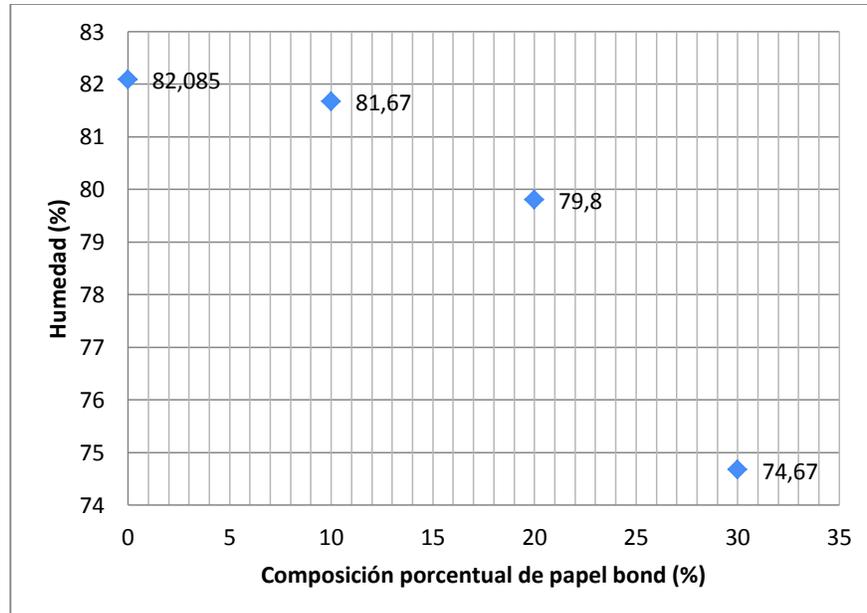


Figura 3.2. Porcentaje de humedad inicial de los sustratos con papel bond

3.4. CONDICIONES DE TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA DURANTE EL CULTIVO DEL HONGO

En la Tabla 3.4., Tabla 3.5., Tabla 3.6. y Tabla 3.7. se presentan las condiciones de temperatura y humedad relativa a las cuales se realizó la experimentación. Los valores reportados se obtuvieron a través de un termohigrómetro marca Oakton.

Tabla 3.4. Condiciones de temperatura y humedad relativa de la primera repetición en cámara oscura

	Tratamiento	T mínima (°C)	T máxima (°C)	Humedad relativa (%)
Crecimiento en rastrojo de maíz (cámara oscura)	T1 y T2	16,1	19,5	76,8
	T3 y T4	16,1	19,7	76,6
	T5 y T6	15,4	19,5	77,7
	T7	15,3	19,3	77,8

Tabla 3.5. Condiciones de temperatura y humedad relativa de la primera repetición en cámara clara

	Tratamiento	T mínima (°C)	T máxima (°C)	Humedad relativa (%)
Crecimiento en rastrojo de maíz (cámara clara)	T1 y T3	17,9	21,2	92,8
	T2 y T6	17,9	21,2	92,8
	T4	17,8	21,2	93,4
	T5 y T7	18,3	20,4	97,5

Tabla 3.6. Condiciones de temperatura y humedad relativa de la segunda repetición en cámara oscura

	Tratamiento	T mínima (°C)	T máxima (°C)	Humedad relativa (%)
Crecimiento en rastrojo de maíz (cámara oscura)	T1 y T2	17,2	19,6	75,2
	T3 y T4	17,2	19,6	75,2
	T5 y T6	17,8	19,8	75,1
	T7	17,8	19,8	75,1

Tabla 3.7. Condiciones de temperatura y humedad relativa de la segunda repetición en cámara clara

	Tratamiento	T mínima (°C)	T máxima (°C)	Humedad relativa (%)
Crecimiento en rastrojo de maíz (cámara clara)	T1 y T3	20,1	22,4	95,1
	T2 y T6	20,1	22,5	94,0
	T4	20,1	22,5	95,1
	T5 y T7	20,1	22,5	93,8

Se observa que la temperatura mínima y máxima de la primera y segunda repetición en la cámara oscura, se encontraron bajo el rango óptimo de 25 °C a 30 °C para el desarrollo del hongo, lo que pudo ocasionar que el micelio se tarde entre 2 y 3 días más en cubrir por completo el sustrato (Vaca, 2011, p. 32). Por otra parte, la temperatura de la cámara clara para el desarrollo de los primordios fue muy próxima a los valores óptimos definidos en bibliografía, entre 17 °C y 22 °C, razón por la cual el crecimiento se presentó en el tiempo esperado, que es aproximadamente de 11 días desde el traslado a la cámara de fructificación (Flores, 2004, p. 79). Los valores de temperatura y humedad relativa para cada día de desarrollo se pueden observar en el Anexo VI.

La humedad relativa para la cámara oscura se encontró en valores próximos a los de bibliografía de 78,07 % (Flores, C., 2004, p. 79). Sin embargo, las humedades relativas de la cámara clara fueron superiores al valor de bibliografía de 74,47 %, no obstante se debe recordar que el sustrato tenía una menor humedad que la óptima, por lo que una alta humedad relativa compensaría en parte el requerimiento de agua del sustrato. Sin embargo se debe considerar que humedades muy altas ocasionan la compactación del medio, dificultando la transferencia de oxígeno u ocasionan la formación de cuerpos fructíferos mucilaginosos con sensación de humedad (Carvajal, 2010, p. 38).

3.5. TIEMPOS DE CULTIVO

En la Tabla 3.8. y Tabla 3.9. se presentan los tiempos globales del cultivo de hongos en los diferentes sustratos hasta la tercera cosecha. Para cada

tratamiento se cuantificaron los días hasta la fructificación de las bolsas obteniéndose los resultados de las tablas mencionadas.

Tabla 3.8. Tiempo de fructificación primera repetición

Sustrato	Cubrimiento del micelio (d)	Tiempo de fructificación		
		Primera cosecha (d)	Segunda cosecha (d)	Tercera cosecha (d)
100 RM	23	30	43	60
90:10 PB	23	30	43	60
80:20 PB	22	30	43	60
70:30 PB	21	30	43	60
90:10 PP	25	30	43	58
80:20 PP	23	30	43	58
70:30 PP	23	30	44	58

Tabla 3.9. Tiempo de fructificación segunda repetición

Sustrato	Cubrimiento del micelio (d)	Tiempo de fructificación		
		Primera cosecha (d)	Segunda cosecha (d)	Tercera cosecha (d)
100 RM	24	30	43	58
90:10 PB	22	30	43	58
80:20 PB	22	30	43	60
70:30 PB	21	30	43	58
90:10 PP	23	30	43	60
80:20 PP	22	30	43	60
70:30 PP	24	30	43	60

El tiempo de desarrollo del micelio para todos los tratamientos estuvo entre 21 y 25 días, tanto en la primera como en la segunda repetición, valores que están dentro de los rangos reportados por bibliografía, los mismos que van de 19 a 21 días (Vaca, 2011, p. 32) y pueden incluso situarse entre los 28 a 34 días (Flores, 2004, pp. 74-79).

Para todos los tratamientos, el tiempo requerido desde que los biorreactores ingresan a la cámara clara es de 30 días. El tiempo de inicio de la segunda cosecha se observa que varía entre 43 y 44 días y el tiempo de inicio de la tercera cosecha estuvo entre 58 y 60 días. Sin embargo, la duración de cada cosecha fue de aproximadamente 4 días, estos resultados se pueden observar de forma detallada en el Anexo VI.

El tiempo total del cultivo, desde el ingreso a la cámara oscura y hasta la culminación de la tercera cosecha, osciló entre los 83 y 88 días.

3.6. EFECTO DEL SUSTRATO CON PAPEL BOND EN EL RENDIMIENTO DEL HONGO *Pleurotus ostreatus* 2191

En la Figura 3.3. se presentan los resultados de rendimiento obtenidos tras aproximadamente 60 días de siembra y luego de tres cosechas para cada tratamiento realizado con papel bond.

Se observa que el tratamiento con mayor rendimiento fue el 80:20 PB con un valor de 22,96 %, seguido por el tratamiento 70:30 PB con un valor de 19,49 %. Dichos valores muestran que el enriquecimiento con celulosa proveniente del papel posiblemente favoreció al desarrollo del hongo en comparación con el tratamiento 100 RM que tuvo un rendimiento de 10,59 %, valor inferior a cualquiera de los tratamientos con papel bond.

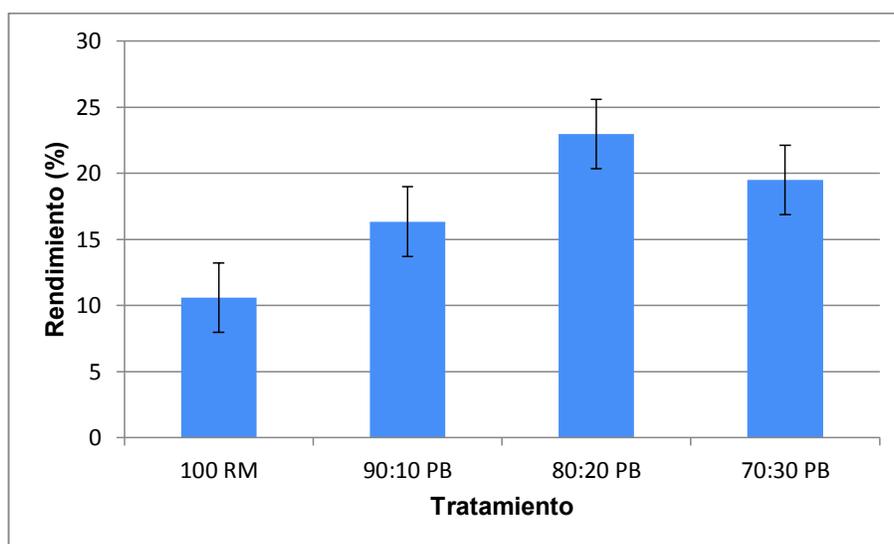


Figura 3.3. Rendimiento para tratamientos con papel bond

El rendimiento del tratamiento 80:20 PB fue el más alto de todos y superó al rendimiento del tratamiento 100 RM en un 12,37 %, lo que sugeriría que al

sustituir parcialmente el rastrojo de maíz con papel bond se obtienen mayores rendimientos que con rastrojo solo.

Se nota que si bien el porcentaje de sustitución de papel bond incrementa el rendimiento, este no obedece a una relación lineal, ya que al sustituir el 30 % el rendimiento disminuyó comparado con el valor obtenido con el 20 %.

Los resultados obtenidos para el tratamiento 100 RM difieren de los valores experimentales reportados por Barba (1998), que se encuentran entre 16,93 % y 21,34 %, comparado con el rendimiento del *Pleurotus ostreatus* en el tratamiento 100 RM que presenta un valor de 10,59 %. Esta diferencia puede deberse a que las condiciones de siembra no fueron las mismas. Una de las características que difieren es el tamaño del rastrojo, mientras que Barba trabajó con un tamaño de 2 cm a 4 cm, en el presente estudio se trabajó con un tamaño de 1,5 cm a 2 cm. Otra característica diferente es el tamaño del biorreactor, mientras que Barba trabajó con bolsas de 1 kg de sustrato, en el presente proyecto se trabajó con bolsas de 1,25 kg. La edad de la cepa también podría influir en el rendimiento a pesar de haberse cultivado en el mismo sustrato. Todas estas características diferentes hacen que el rendimiento del sustrato control sea menor que el de Barba; sin embargo el rendimiento obtenido con el sustrato 80:20 PB, es similar al reportado por Barba.

El análisis del efecto del sustrato en el desarrollo del hongo desde el punto de vista estadístico se presenta en la Tabla 3.10.

Tabla 3.10. Rendimiento para los sustratos con papel bond

Tratamiento	Composición	Rendimiento (%)
T4	100 RM	10,59 ± 3,04 ^a
T1	90:10 PB	16,34 ± 5,26 ^b
T2	80:20 PB	22,96 ± 3,40 ^c
T3	70:30 PB	19,49 ± 8,90 ^b

Letras distintas revelan diferencias significativas entre tratamientos

Se observa que existieron diferencias estadísticamente significativas entre el control y los sustratos con papel. El tratamiento 80:20 PB tuvo el valor más alto de rendimiento y fue estadísticamente diferente a todos los demás tratamientos. El tratamiento 100 RM es el que presenta menor valor de rendimiento lo que indica que la presencia de papel bond en el sustrato sí influye en el incremento del rendimiento.

En la Tabla 3.11. se presenta el resultado del ANOVA para este experimento.

Tabla 3.11. ANOVA del contenido de papel bond en el rendimiento

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	321,884	3	107,295	32,96	0,0000
Bloque	46,4039	1	46,6039	14,32	0,0003
Residual	244,146	75	3,25528		
Total	612,634	79			

Se observa que los tratamientos entre sí son estadísticamente diferentes porque su valor de P es menor a 0,05. Esto indica que la variación en la composición de los sustratos, sí influye en los valores de rendimiento. La diferencia entre bloques se explicaría con base en la temperatura de trabajo ya que la experimentación se realizó en distintas temporadas del año, lluviosa y seca, razón por la cual las condiciones de temperatura ambiental en la cámara clara no se pudieron replicar de la misma manera para los dos bloques.

3.7. EFECTO DEL SUSTRATO CON PAPEL BOND EN LA EFICIENCIA BIOLÓGICA DEL HONGO *Pleurotus ostreatus* 2191

En la Figura 3.4. se presentan los valores de eficiencia biológica obtenidos tras 60 días de siembra.

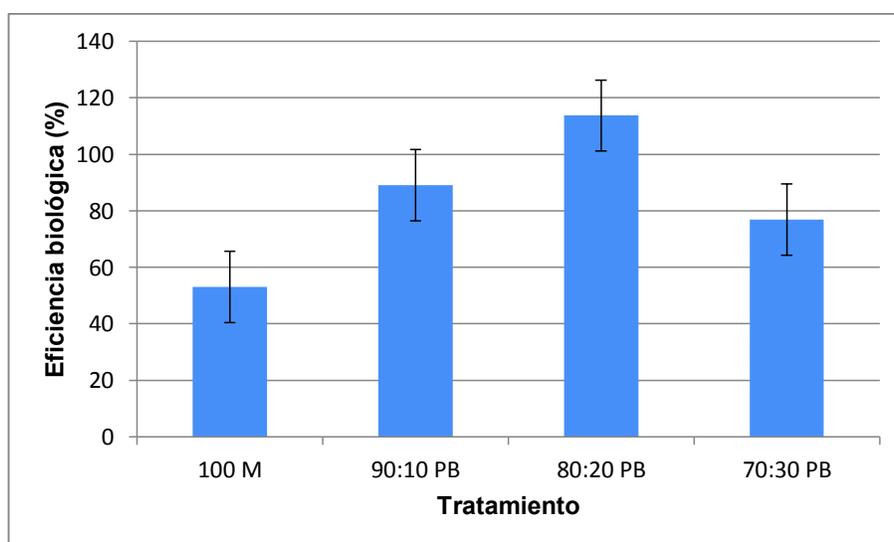


Figura 3.4. Eficiencia biológica para tratamientos con papel bond

Se observa un comportamiento similar al del rendimiento. Hasta la composición 80:20 PB se observa una tendencia creciente de la eficiencia, lo que indica una relación proporcional entre el contenido de papel en el sustrato y la eficiencia biológica; sin embargo, una vez que se supera la composición 80:20 PB la eficiencia disminuye, posiblemente a que el exceso de papel disminuye la retención de humedad, lo que no proporciona un buen soporte al inóculo (Carvajal, 2010, p. 38).

Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los valores experimentales esperados en comparación con otros autores que han realizado procedimientos similares. El sustrato 100 RM presenta un valor de 53,12 % de eficiencia biológica, resultado próximo a los reportados por Pazos (2004), que tienen una eficiencia biológica entre 52,18 % y 54,40 %.

En la Tabla 3.12. se muestran los resultados del análisis estadístico que se realizó en el programa Statgraphics Centurion con el test de Tukey de rangos múltiples, con un nivel de confianza del 95 %.

Se observa que los tratamientos 90:10 PB y 70:30 PB son estadísticamente iguales. La prueba de Tukey mostró al tratamiento 80:20 PB como estadísticamente mayor a todos los demás sustratos, además de poseer el

valor más alto de eficiencia biológica, lo cual indica que esta composición contó con las características nutricionales apropiadas para fructificar. En comparación al sustrato control 100 RM, existió una diferencia de 60,58 %, indicativo de que el suministro de papel en el sustrato mejoró la eficiencia notablemente.

Tabla 3.12. Eficiencia biológica para los sustratos con papel bond

Tratamiento	Composición	Eficiencia biológica(%)
T4	100 M	53,12 ± 15,28 ^a
T1	90:10 PB	89,14 ± 28,74 ^b
T2	80:20 PB	113,70 ± 16,88 ^c
T3	70:30 PB	76,96 ± 36,17 ^b

Letras distintas revelan diferencias significativas entre tratamientos

Se considera que la composición 80:20 PB es la que tiene mayor eficiencia biológica, respecto a el tratamiento 90:10 PB ya que el contenido de celulosa posiblemente es insuficiente, mientras que el tratamiento 70:30 PB tiene una menor eficiencia biológica debido al exceso de celulosa en el sustrato que no cumple con los requerimientos nutricionales para el desarrollo del hongo que tiene metabolismo lignocelulósico.

En la Tabla 3.13. se presenta el ANOVA del efecto del contenido de papel bond en la eficiencia biológica. Al igual que en el rendimiento para los sustratos con papel bond, se observa que los tratamientos entre sí son estadísticamente diferentes porque su valor de P es menor a 0,05. Esto indica que la variación en la composición de los sustratos sí influye en los valores de eficiencia biológica.

Tabla 3.13. ANOVA del contenido de papel bond en la eficiencia

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	38 194,5	3	12731,5	21,60	0,0000
Bloque	4 864,08	1	4864,08	8,25	0,0053
Residual	4 4196,8	75	589,291		
Total	87 255,3	79			

3.8. EFECTO DEL SUSTRATO CON PAPEL PARA PERIÓDICO EN EL RENDIMIENTO DEL HONGO *Pleurotus ostreatus* 2191

En la Figura 3.5. se observa el rendimiento obtenido tras aproximadamente 60 días de siembra y luego de tres cosechas.

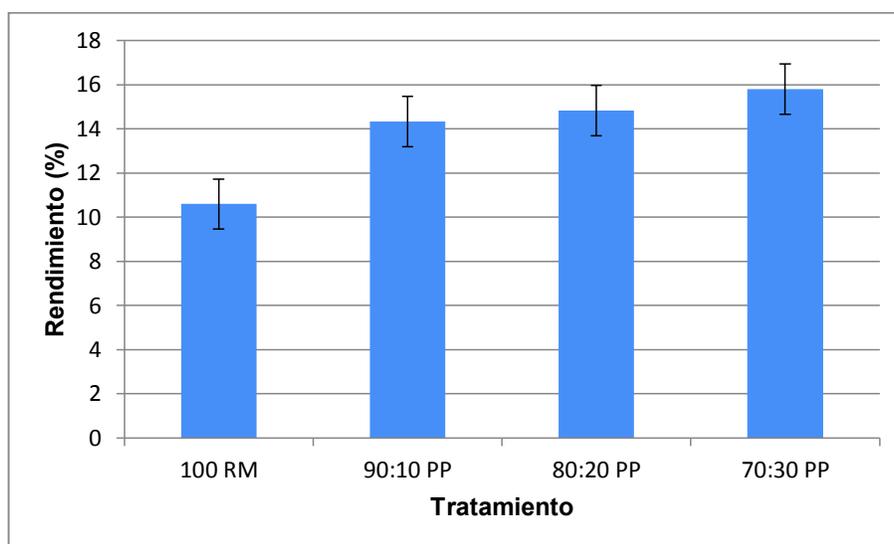


Figura 3.5. Rendimiento para tratamientos con papel periódico

Se observa que el mayor rendimiento se presenta para el tratamiento 70:30 PP, con un valor de 15,79 %, superior en un 5,20 % al tratamiento control, lo que indicaría que el papel periódico actúa como suplemento para el desarrollo del hongo. Posiblemente el rendimiento con papel periódico se incrementó directamente con la composición, ya que la fibra es pequeña debido a los procesos mecánicos de reciclaje, lo que hace que haya mayor área de contacto del hongo con la celulosa del papel (Aguilar, 2004, p. 54).

En la Tabla 3.14. se muestra el resultado del test de Tukey de rangos múltiples, con un nivel de confianza del 95 %.

Los tratamientos 90:10 PP, 80:20 PP y 70:30 PP fueron estadísticamente similares. A pesar de que parecía haber una tendencia creciente del rendimiento respecto al porcentaje de papel periódico. El tratamiento control 100 RM tuvo el menor rendimiento y fue estadísticamente diferente a los

demás tratamientos. Al igual que con el papel bond, el sustrato de 100 RM fue estadísticamente diferente a los otros sustratos y el rendimiento fue menor.

Tabla 3.14. Rendimiento para los sustratos con papel periódico

Tratamiento	Composición	Rendimiento (%)
T4	100 RM	10,59 ± 3,04 ^a
T5	90:10 PP	14,33 ± 3,74 ^b
T6	80:20 PP	14,82 ± 2,60 ^b
T7	70:30 PP	15,79 ± 7,62 ^b

Letras distintas revelan diferencias significativas entre tratamientos

En la Tabla 3.15. se presenta el ANOVA del contenido de papel periódico en el rendimiento.

Tabla 3.15. ANOVA del contenido de papel periódico en el rendimiento

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	311,375	3	103,792	4,74	0,0044
Bloque	32,4575	1	32,4575	1,48	0,2273
Residual	1 642,46	75	21,8994		
Total	1 986,29	79			

Los valores de la tabla revelan que los tratamientos son estadísticamente diferentes porque su valor de P es menor a 0,05.

3.9. EFECTO DEL SUSTRATO CON PAPEL PARA PERIÓDICO EN LA EFICIENCIA BIOLÓGICA DEL HONGO *Pleurotus ostreatus 2191*

En la Figura 3.6. se muestra la eficiencia biológica para tratamientos con papel periódico.

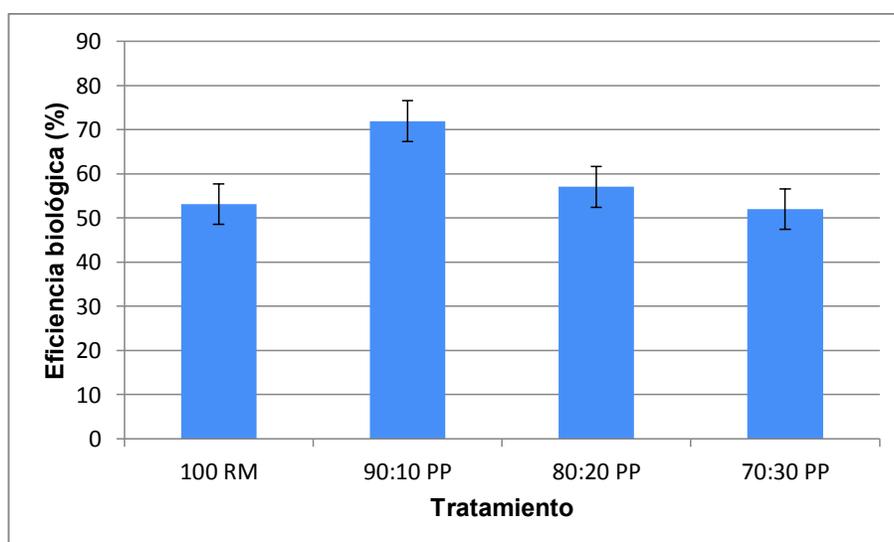


Figura 3.6. Eficiencia biológica para tratamientos con papel periódico

Se observa que el tratamiento con el valor más alto de eficiencia biológica fue el tratamiento 90:10 PP. Los tratamientos 90:10 PP, 80:20 PP y 70:30 PP presentan una reducción en la eficiencia, posiblemente asociada a la reducción de la humedad inicial del sustrato que da un porcentaje mayor de sólidos. De acuerdo a la fórmula de eficiencia biológica, si el peso seco se incrementa el valor de eficiencia disminuye.

$$\text{Eficiencia biológica} = \frac{\text{peso húmedo del hongo}}{\text{peso seco del sustrato en el biorreactor}} * 100$$

El análisis estadístico para determinar el efecto del sustrato con papel periódico en la eficiencia biológica se muestra en la Tabla 3.16.

Tabla 3.16. Eficiencia biológica para los sustratos con papel periódico

Tratamiento	Composición	Eficiencia biológica (%)
T4	100 RM	53,12 ± 15,28 ^a
T5	90:10 PP	71,91 ± 18,76 ^b
T6	80:20 PP	57,02 ± 10,02 ^a
T7	70:30 PP	51,97 ± 25,07 ^a

Letras distintas revelan diferencias significativas entre tratamientos

Se observa que entre los tratamientos 100 RM, 80:20 PP y 70:30 PP no existen diferencias significativas en la eficiencia, lo que quiere decir que con los tres tratamientos se obtienen valores similares de eficiencia.

Los resultados del ANOVA realizado en el programa Statgraphics Centurion se muestran en la Tabla 3.17.

Tabla 3.17. ANOVA del contenido de papel periódico en la eficiencia

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	5 071,21	3	1 690,4	5,16	0,0027
Bloque	428,321	1	428,321	1,31	0,2564
Residual	24 560,0	75	327,478		
Total	30 060,4	79			

Los datos revelan que los tratamientos entre sí son estadísticamente diferentes porque su valor de P es menor a 0,05. La diferencia entre tratamientos reafirma la idea de que la celulosa proveniente del papel para periódico sí tiene un efecto sobre la eficiencia.

3.10. EFECTO DEL CONTENIDO DE PAPEL BOND Y PAPEL PARA PERIÓDICO EN EL RENDIMIENTO DEL HONGO *Pleurotus ostreatus 2191*

En la Figura 3.7. se muestran los valores del rendimiento del hongo ostra para los siete tratamientos llevados a cabo.

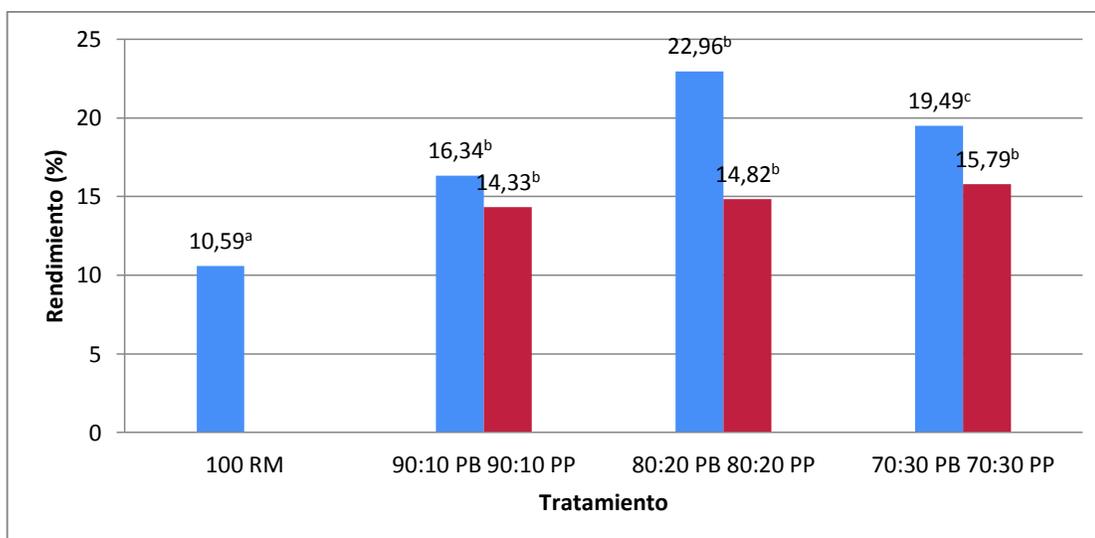


Figura 3.7. Rendimiento para tratamientos con papel bond y periódico

Se observa que el control 100 RM tuvo el menor rendimiento entre todos los tratamientos, seguido por los tratamientos con papel periódico 70:30 PP, 80:20 PP y 90:10 PP. Al comparar los tratamientos de papel bond con los de papel periódico, existe la menor diferencia entre los tratamientos 90:10 PB y 90:10 PP, con un valor de 2,01 %. Para el tratamiento 80:20 PB y 80:20 PP se observa que existe la mayor diferencia entre los valores de rendimiento con un valor de 8,14 %. Esta diferencia posiblemente se presenta debido a la mayor disponibilidad de celulosa en el papel bond que en el papel periódico, lo que favorecería para un rendimiento alto. Finalmente, se concluye que el tratamiento con mayor rendimiento es el tratamiento 80:20 PB con un valor de 22,96 %. Para el tratamiento 70:30 PB y 70:30 PP, la diferencia entre los dos tratamientos es del 3,70 % valor intermedio respecto a las comparaciones de los demás tratamientos.

Para determinar la significancia estadística se aplicó un test de Tukey de comparación de medias cuyos resultados se presentan en la Tabla 3.18.

Se observa que el tratamiento 80:20 PB fue el que presentó mayor rendimiento con un valor de 22,96 % representativamente superior al tratamiento control, lo que indica que la sustitución de papel bond en el sustrato favoreció el rendimiento del hongo. El rendimiento del tratamiento 80:20 PB es el mejor

posiblemente debido a que la cantidad de celulosa disponible, no fue excesiva ni deficiente respecto a los demás sustratos. En comparación con su composición similar en papel periódico 80:20 PP, sigue siendo superior debido posiblemente a que en la estructura del papel bond existe menor cantidad de sustancias de relleno.

Tabla 3.18. Rendimiento para los sustratos con papel bond y periódico

Tratamiento	Composición	Rendimiento (%)
T1	90:10 PB	16,34 ± 5,26 ^b
T2	80:20 PB	22,96 ± 3,40 ^d
T3	70:30 PB	19,49 ± 8,90 ^c
T4	100 RM	10,59 ± 3,04 ^a
T5	90:10 PP	14,33 ± 3,74 ^b
T6	80:20 PP	14,82 ± 2,60 ^b
T7	70:30 PP	15,79 ± 7,62 ^b

Letras distintas revelan diferencias significativas entre tratamientos

Tabla 3.19. ANOVA del contenido de papel bond y periódico en el rendimiento

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	377,287	6	62,8811	24,64	0,0000
Bloque	32,1191	1	32,1191	12,58	0,0005
Residual	336,922	132	2,55244		
Total	746,327	139			

En la Tabla 3.19. se presenta el ANOVA del contenido de papel bond y papel periódico en el rendimiento. Como se observa, los dos valores-P son menores que 0,05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el rendimiento con un 95 % de nivel de confianza.

3.11. EFECTO DEL SUSTRATO CON PAPEL BOND Y PAPEL PARA PERIÓDICO EN LA EFICIENCIA BIOLÓGICA DEL HONGO *Pleurotus ostreatus* 2191

Los valores comparativos de eficiencia biológica para los siete tratamientos se muestran en la Figura 3.8.

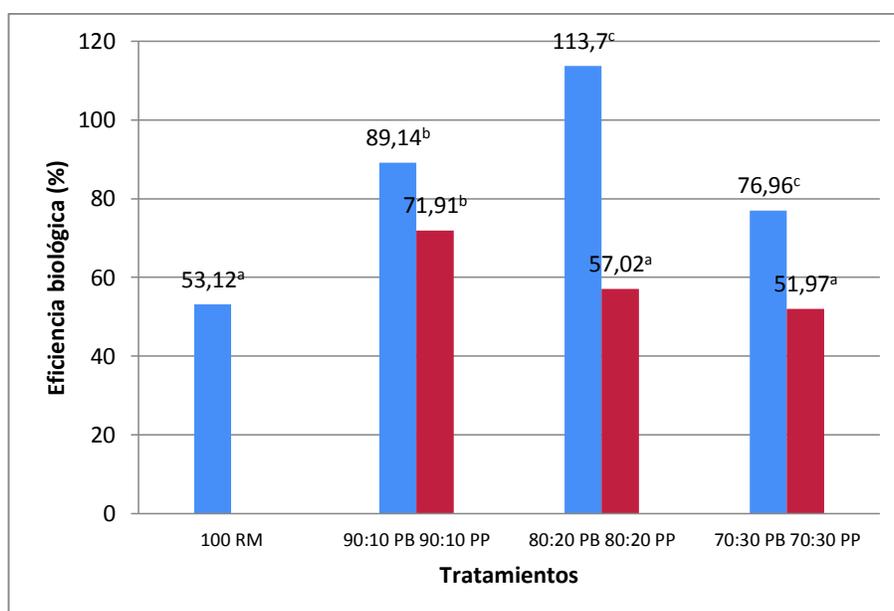


Figura 3.8. Eficiencia biológica para tratamientos con papel bond y periódico

La eficiencia biológica del tratamiento 80:20 PB con un valor de 113,70 % fue superior a todos los valores de eficiencia tanto de papel bond como de papel periódico.

Para todos los tratamientos se observa que el papel periódico presentó menor eficiencia que el papel bond, posiblemente debido a los materiales de relleno que tuvo en su estructura (Aguilar, 2004, p. 54). Al tratamiento 80:20 PB le sigue el tratamiento 90:10 PB con una eficiencia biológica de 89,14 % y a continuación por el tratamiento 70:30 PB con una eficiencia de 76,96 %. Los tres tratamientos superan en eficiencia biológica a los sustratos compuestos por papel periódico, resultado esperado ya que los sustratos compuestos por papel bond tienen una humedad mayor respecto a los sustratos con papel periódico, lo que hace que el cociente de eficiencia biológica se incremente.

El análisis estadístico para determinar el efecto del sustrato con papel bond y papel periódico se presenta en la Tabla 3.20.

Se observa que no existieron diferencias significativas para los tratamientos 100 RM, 80:20 PP y 70:30 PP; entre los tratamientos 90:10 PP y 90:10 PB y entre los tratamientos 80:20 PB y 70:30 PB.

Tabla 3.20. Eficiencia biológica para los sustratos con papel bond y periódico

Tratamiento	Composición	Eficiencia biológica (%)
T1	90:10 PB	89,14 ± 28,74 ^b
T2	80:20 PB	113,70 ± 16,88 ^c
T3	70:30 PB	76,96 ± 36,17 ^c
T4	100 RM	53,54 ± 14,78 ^a
T5	90:10 PP	71,91 ± 18,76 ^b
T6	80:20 PP	57,02 ± 10,02 ^a
T7	70:30 PP	51,97 ± 25,07 ^a

Letras distintas revelan diferencias significativas entre tratamientos

En la Tabla 3.21. se presenta el ANOVA del contenido de papel bond y papel periódico en la eficiencia.

Tabla 3.21. ANOVA del contenido de papel bond y periódico en la eficiencia

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	60 516,6	6	10086,1	20,25	0,0000
Bloque	3 868,31	1	3868,31	7,77	0,0061
Residual	65 742,7	132	498,051		
Total	130 128	139			

Los datos revelan que los tratamientos entre sí fueron estadísticamente diferentes porque su valor de P es menor a 0,05. Esto indica que la variación en la composición de los sustratos sí influye en los valores de eficiencia.

3.12. EFECTO DE LOS DISTINTOS SUSTRATOS SOBRE EL TAMAÑO DE LOS CARPÓFOROS

Los resultados del test de Tukey de rangos múltiples aplicado al diámetro de los carpóforos se presentan en la Tabla 3.22.

El mayor tamaño de carpóforo se presentó con el tratamiento 70:30 PB. También se observa que el tratamiento control fue el que tiene menor tamaño, sin embargo no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

Tabla 3.22. Diámetro promedio de los carpóforos

Tratamiento	Composición	Tamaño promedio cm
T1	70:30 PB	5,91 ± 0,021 ^a
T2	80:20 PB	5,53 ± 0,12 ^a
T3	90:10 PB	5,58 ± 0,14 ^a
T4	100 RM	5,28 ± 0,09 ^a
T5	70:30 PP	5,40 ± 0,24 ^a
T6	80:20 PP	5,61 ± 0,17 ^a
T7	90:10 PP	5,72 ± 0,33 ^a

Letras distintas revelan diferencias significativas entre tratamientos

En cuanto al tamaño de los hongos cosechados, se compararon con los valores del estudio de Hernández y López (2006) en los que se reporta un diámetro promedio de 5,53 cm para los carpóforos cultivados en tusa de mazorca, similar a los valores de la presente investigación.

Del análisis comparativo entre muestras se determinó que no existió diferencia significativa entre los tamaños de los carpóforos, por lo cual se puede afirmar que el tamaño se mantuvo independientemente de los diferentes sustratos.

En la Tabla 3.23. se presenta el ANOVA del tamaño de los carpóforos.

Tabla 3.23. ANOVA del tamaño de los carpóforos

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Tratamiento	0,514243	6	0,0857071	2,13	0,1901
Bloque	0,00600714	1	0,00600714	0,15	0,7127
Residual	0,241643	6	0,0402738		
Total	0,761893	13			

Como se observa, los dos valores-P son mayores que 0,05, es decir, no hubo influencia de las variaciones en la composición de los sustratos sobre el tamaño de los carpóforos.

3.13. CARACTERIZACIÓN FINAL DEL SUSTRATO

3.13.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA FINAL

En la Tabla 3.24. se presenta la composición final de los sustratos compuestos por papel bond en relación al sustrato control.

Se observa que el contenido de celulosa se redujo en aproximadamente 2 % para cada uno de los sustratos. Lo que sugiere que hubo un consumo de celulosa desde el inicio hasta el final del proceso.

La variación entre los valores iniciales y finales de lignina fue de aproximadamente 5 % para cada tipo de sustrato. El incremento no implica que hubo generación de lignina, sino que existe reducción de celulosa y por lo tanto un incremento de los otros componentes para compensar los porcentajes.

Tabla 3.24. Composición final de los sustratos

Nombre	Composición	Celulosa (%)	Lignina (%)	Ceras, grasas y resinas (%)	Otros (%)
100 RM	Inicial	32,0950	18,1550	4,4250	45,3250
	Final	30,0850	24,1950	2,4068	43,3132
90:10 PB	Inicial	42,2808	30,4318	4,2038	23,0838
	Final	40,5723	35,5658	2,5097	21,3523
80:20 PB	Inicial	49,0713	38,6163	2,3478	9,9647
	Final	47,5638	43,1463	1,3334	7,9566
70:30 PB	Inicial	52,4665	42,7085	1,8934	2,9316
	Final	51,0595	46,9365	1,5160	0,4880
90:10 PP	Inicial	38,8855	26,3395	3,7613	31,0138
	Final	37,0765	31,7755	2,1035	29,0445
80:20 PP	Inicial	45,6760	34,5240	2,4667	17,3333
	Final	44,0680	39,3560	1,6441	14,9319
70:30 PP	Inicial	48,9624	38,2275	1,4972	11,3129
	Final	46,3275	42,9835	1,1360	9,5530

Se observa que existió una reducción de ceras posiblemente por el incremento de lignina que hace que la proporción cambie y el porcentaje de ceras baje; sin

embargo, la reducción es mínima por lo que no se considera un cambio representativo.

En la columna de “otros” se observa que existió un gran incremento en su porcentaje, como resultado de la fermentación del sustrato por parte del hongo; podría decirse que es parte de la celulosa metabolizada, taninos, glúcidos, proteínas simples, pentosanos, hexosanos, fragmentos de lignina desdoblada, biomasa y cenizas (Rodríguez y Torres, 1994, p. 47).

3.13.2. HUMEDAD FINAL

En la Figura 3.9. se presentan los resultados de la humedad medida para los sustratos compuesto por rastrojo de maíz con diferente porcentaje de papel bond.

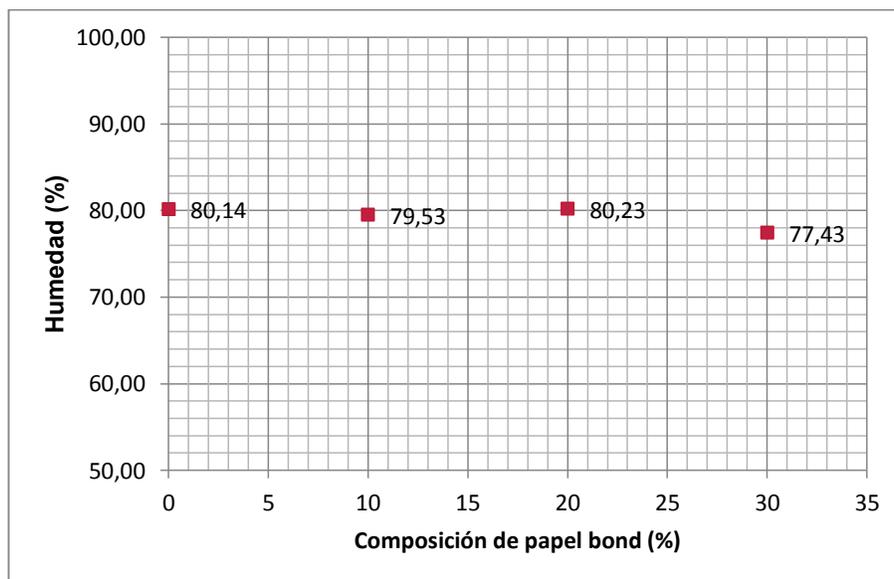


Figura 3.9. Humedad final de los sustratos con papel bond

En la Figura 3.10. se presentan los resultados de la humedad medida para los sustratos compuesto por rastrojo de maíz con diferente porcentaje de papel periódico.

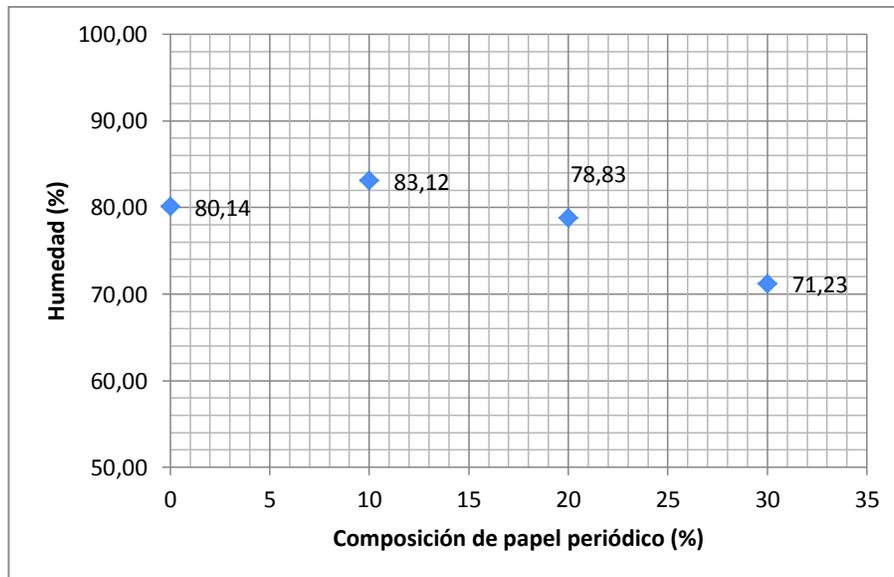


Figura 3.10. Humedad final de los sustratos con papel periódico

Se observa que la humedad final en ambos casos se mantiene similar a los valores de humedad inicial reportados en la Figura 3.1. y Figura 3.2. para cada sustrato, con lo que se verifica que el control de humedad se llevó a cabo de forma adecuada.

La determinación de la humedad final es importante ya que permite observar en qué medida fue posible mantener el control sobre la humedad del sustrato durante la experimentación.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

1. La sustitución de papel bond o papel periódico en el sustrato de rastrojo de maíz incrementó el rendimiento y la eficiencia biológica del hongo *Pleurotus ostreatus* lo que verifica la suposición de que la celulosa proveniente del papel aporta nutrientes necesarios para el desarrollo del hongo.
2. Presentó mayor eficiencia biológica el sustrato compuesto por 80 % rastrojo de maíz y 20 % papel bond con un valor de eficiencia biológica de $113,70 \pm 16,88$ %. Ninguna de las composiciones extremas, 70 % rastrojo de maíz, 30 % de papel bond y 90 % de rastrojo de maíz, 10 % de papel bond alcanzaron la máxima eficiencia biológica, lo que sugiere que el exceso o la escases de celulosa influyen en la eficiencia biológica.
3. Presentó mayor eficiencia biológica el sustrato 90 % rastrojo de maíz y 10 % papel para periódico con un valor de eficiencia biológica de $71,91 \pm 18,76$ %. Al ser la composición más baja de papel periódico, sugiere que la presencia de sustancias de relleno presentes, reducen la eficiencia a medida que aumentan en el sustrato.
4. Se obtuvo el mayor valor de rendimiento con el sustrato 80 % rastrojo de maíz y 20 % papel bond con un valor de $22,96 \pm 3,40$ %. Ninguna de las composiciones extremas, 70 % rastrojo de maíz, 30 % de papel bond y 90 % de rastrojo de maíz, 10 % de papel bond, alcanzaron el máximo rendimiento, lo que sugiere que el exceso o la escases de celulosa influyen en el rendimiento.
5. Se obtuvo el mayor valor de rendimiento con el sustrato 70 % rastrojo de maíz y 30 % papel para periódico, con un valor de $15,79 \pm 7,62$ %. Para

el rendimiento se verificó que a mayor contenido de celulosa, mayor rendimiento.

4.2. RECOMENDACIONES

1. Determinar la cinética de crecimiento del *Pleurotus ostreatus* 2191 en fermentación sobre sustratos de composición variable con papel bond y periódico.
2. Realizar experimentaciones similares con composiciones de papel mayores para observar el efecto sobre la eficiencia y el rendimiento del *Pleurotus ostreatus* 2191.
3. Determinar la influencia del tamaño de biorreactor sobre la eficiencia y el rendimiento, al trabajarse con sustratos de composición variable.
4. Realizar un estudio sobre la eficiencia biológica y rendimiento del *Pleurotus ostreatus* 2191 en sustratos con composición variable de papel con tinta.
5. Realizar estudios posteriores con otros hongos lignocelulósicos sobre sustratos de composición variable para evaluar la eficiencia biológica y rendimiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agosin, E. (1986). Lignina, un recurso que promete. *Revista Creces*.
2. Aguilar, N. (2004). El reciclado de papel y cartón. *Elementos, Ciencia y cultura*, 11(53), 54.
3. Ardón, C. (2004). *Evaluación del pericarpio de jacaranda (Jacaranda mimosaeifolia) y pasto estrella africana (Cynodon plectostachyus) para el cultivo artesanal del hongo ostra (Pleurotus ostreatus)*. (Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo). Universidad de San Carlos De Guatemala, Guatemala, Guatemala.
4. Ardón, C. (2007). *La producción de los hongos comestibles*. (Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Master en Docencia Universitaria). Universidad de San Carlos De Guatemala, Guatemala, Guatemala.
5. Asenjo, J. e Hidalgo, M. (2000). *El papel: 2.000 años de historia*. Exposición Itinerante de la Asociación Hispánica de Historiadores del Papel. Recuperado de http://entreprenor.iggesund.com/Main.aspx?ID=17044_811-8018-4166-84ea-fd8d85b60872 (Octubre, 2015)
6. Barba, G. (1998). *Influencia de la antigüedad de la cepa en el rendimiento del hongo comestible Pleurotus ostreatus. Ensayos de fructificación del hongo comestible Lentinus edodes*. (Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Químico). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.
7. Cabezas, K. (2014). *Obtención de un extracto enzimático con actividad lacásica por fermentación líquida del hongo Pleurotus Ostreatus en un medio con bagazo de maíz a escala laboratorio para decoloración de colorantes textiles*. (Proyecto de titulación previo a la obtención

del título de Ingeniero Químico). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.

8. Carrión, J. (2000). *Estudio del efecto de la adición de azúcar y rastrojo de maíz en el rendimiento del cultivo del hongo comestible *Lentinus edodes* en dos sustratos*. (Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Químico). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.
9. Carvajal, G. (2010). *Evaluación de la producción del hongo *Pleurotus ostreatus* sobre cinco tipos de sustratos (tamo de trigo, tamo de cebada, tamo de vicia, tamo de avena y paja de páramo); enriquecidos con tuza molida, afrecho de cebada y carbonato de calcio*. (Informe de tesis). Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ibarra, Ecuador.
10. Casey, J. (1990). *Pulpa y Papel. Química y Tecnología Química, Volumen 1*, México, México: Sistemas Editoriales Técnicos.
11. Castañeda de León, V., López, J. y Barba, J. (2012). Crecimiento de *Pleurotus ostreatus* sobre una mezcla de papel-paja y cartón-paja como una alternativa de cultivo. *El cultivo de setas *Pleurotus spp.* en México*, 1(1): 81.
12. Chávez M. y Domine M. (2013). Lignina, estructura y aplicaciones: métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial. *Avances en ciencias e ingeniería*, 4(4), 15-46.
13. Chiroro, C. (2005). Industria de hongos en Zimbabwe. *Manual del cultivador de hongos 1*. Recuperado de <http://www.hongoscomestibles-latinoamerica.com/P/P/oysterbien/222.pdf> (Marzo, 2016)

14. Cruz, D., López de León, E., Pascual, L. y Battaglia, M. (2010). *Guía técnica de producción de hongos comestibles de la especie Pleurotus ostreatus*. Journal of Agriculture and Environment for International Development 2010, 104 (3-4): 139 – 154.
15. Dávila, G. y Vásquez-Duhalt, R. (2006). Enzimas lignolíticas fúngicas para fines ambientales. *Mensaje Bioquímico*, 29-55. Recuperado de http://www.researchgate.net/publication/259781277_ENZIMAS_LIGNOLITICAS_FNGICAS_PARA_FINES_AMBIENTALES (Octubre, 2015)
16. Defín, I. y Durán C. (2003). Biodegradación de residuos urbanos lignocelulósicos por *Pleurotus*. *Revista Internacional de contaminación ambiental*, 19(1) ,37-45.
17. Díaz, B. (2004). Los desperdicios agroindustriales: Alimento para el ganado. *Desafío*, pp. 14-17.
18. FAO. (2003). Residuos secos de los cultivos. *Conservación de heno y paja para pequeños productores y en condiciones pastoriles*, 29, 165-168.
19. Flores, C. (2004). *Estudio de la cinética de crecimiento del hongo Pleurotus ostreatus 2191 en rastrojo de maíz*. (Proyecto previo a la obtención del título de Ingeniero Químico). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.
20. Forero, C., Hoyos, O., Basante, W. (2008). Evaluación de residuos de ají (*capsicum spp.*) como sustrato en la producción de setas comestibles (*pleurotus ostreatus*). *Facultad de ciencias agropecuarias*, 6(1), 42-53. Recuperado de <http://revistabiotecnologia.unicauca.edu.co/revista/index.php/biotecnologia/article/viewFile/77/62> (Diciembre, 2015)

21. Friends of the Earth. (2008). Recycling: Why it's important and how to do it. *Briefing*. Recuperado de <http://www.foe.co.uk/sites/default/files/downloads/recycling.pdf> (Octubre 2015)
22. Gaitán, R. (2006). *Manual práctico del cultivo de setas. Aislamiento, siembra y producción*. (1era. ed.). Veracruz, México: Instituto de Ecología.
23. Garzón, J. y Cuervo J. (2008). Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. *Nova*, 6(10), 126-140. Recuperado de http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA10_ARTO_RIG2_pleur.pdf (Marzo, 2016)
24. Gea, F. (2011). Cultivo de setas *Pleurotus*. *Tecnología agroalimentaria*, 1(9), 41-48. Recuperado de http://www.serida.org/publicaciones_detalle.php?id=4820 (Diciembre, 2015)
25. González, H. (2007). ¿Cómo está compuesto el papel?. *Capacitación Gravent – gráfica y papel*. Recuperado de <https://graventvirtual.wordpress.com/2007/10/09/como-esta-compuesto-el-papel/> (Octubre, 2015)
26. Hernández, R. y López, C. (2006). *Evaluación del crecimiento y producción de Pleurotus ostreatus sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca*. (Proyecto previo a la obtención del título de Microbiólogo Industrial). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
27. Josifovich, J. (1988). Rastrojos y residuos en la producción de carne bovina. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 1-5. Recuperado de http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_reservas/reservas_pasturas_diferidas/38-rastrojos_y_residuos.pdf (Marzo, 2016)

28. Keefe, A. y Teschke, K. (2000). Industria del papel y de la pasta de papel. *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo*. Recuperado de <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo3/72.pdf> (Diciembre, 2015)
29. MAGAP. (2015). *Desarrollar un estudio de factibilidad sobre la producción y venta de ensilaje a partir de los residuos orgánicos del cultivo de maíz, que apoyen la sostenibilidad financiera de los centros de acopio de maíz de la provincia de Los Ríos*. Recuperado de http://balcon.MAGAP.gob.ec/mag01/pdfs/aministerial/2015/2015_141.PDF (Febrero, 2016)
30. Mandeel, Q., Al-Laith y Mohamed S. (2005). Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus spp.*) on various lignocellulosic wastes. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 21: 601-607.
31. Martínez, C., Balcázar, E., Dantán, E. y Folch, J. (2008). Celulasas fúngicas: Aspectos biológicos y aplicaciones en la industria energética. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 50(3y4), 119-131.
32. Mendoza, G. (2012). *Estudio de enzimas ligninolíticas producidas por Pleurotus ostreatus y Lentinus edodes usando diferentes inductores*. (Tesis de maestría no publicada). Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España.
33. Miles, P. y Chang, S. (2004). Mushrooms. Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. (2da. ed.). Estados Unidos de Norteamérica: CRC Press.
34. Molina, C. (2013). Obtención de extractos enzimáticos con actividad ligninolítica y celulolítica a partir del crecimiento del hongo *Lentinus edodes* (shiitake) en aserrín tropical. (Proyecto previo a la obtención

del título de Ingeniera Química). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.

35. Monar R. (2006). *Auditoría energética en el sistema de vapor de una planta de papel*. (Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero Mecánico). Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.
36. Montoya, S. (2008). Actividad enzimática, degradación de residuos sólidos orgánicos y generación de biomasa útil del macromiceto *Grifola frondosa*. (Tesis de grado para la obtención de la maestría en Ingeniería Química). Universidad Nacional de Colombia, Manizales, Colombia.
37. Moore, R., Dennis, W. y Stern K. (1995). *Botany*. Brown Publishers.
38. Moreno, N. y Ospina X. (2008). *Evaluación de inductores metálicos y co-substratos para la remoción de negro reactivo 5 empleando Pleurotus ostreatus inmovilizado en fique*. (Proyecto previo a la obtención del título de Microbiólogo Industrial). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
39. Moya, M., Durán, M. y Sibaja, M. (1992). Obtención de lignina y celulosa de residuos de maíz. *Uniciencia*, 9, 45-50.
40. Muñoz, V., (2010). Hongos de Sumaco atraen el turismo y los negocios. Recuperado de <http://emprendimientosdeecuador.blogspot.com/2010/06/21-hongos-de-sumaco-atraen-el-turismo-y.html> (Marzo, 2016)
41. MushWorld. (2005). *Mushroom Growers' Handbook 1: Oyster Mushroom Cultivation*. (1ra. ed.). Seoul, República de Corea: Seoul.

42. Niladevi, K. (2009). Ligninolytic Enzymes. En P. Singh and Nigam, A. Pandey (Ed.). *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilization* (398-410). DOI:10.1007/978-1-4020-9942-7_22
43. Pazos, D. (2005). *Estudio de la influencia del tamaño del reactor en el crecimiento del Hongo Pleurotus ostreatus 2191 sobre rastrojo de maíz*. (Proyecto previo a la obtención del título de Ingeniero Químico). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.
44. Quintero, J., Feijoo, C. y Lema, J. (2006). Producción de enzimas ligninolíticas con hongos basidiomicetos cultivados sobre materiales lignocelulósicos. *Vitae. Revista de la facultad de Química Farmacéutica*, 13(2), 61-67.
45. Ramos, G. (2007). *Pleurotus ostreatus Cultivado en residuos de palma aceitera como importante fuente de proteína para la dieta humana*. (Proyecto previo a la obtención del título de Ingeniero en Biotecnología Ambiental). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
46. Rodríguez, S. y Torres, M. (1994). Análisis cuantitativo de componentes principales y secundarios en la corteza de diversas especies nativas y exóticas de la provincia de Llanquihue, X Región, Chile. *Bosque*, 15(2), 45-48.
47. Sánchez, J. y Royse, D., *La biología y el cultivo de Pleurotus spp. III Crecimiento y Fructificación*. (1era. ed.). Chiapas, México: El colegio de la Frontera Sur.
48. SCA Publication Papers. Fabricación de papel. *Soporte técnico de los papeles*. Recuperado de http://www.sca.com/global/publication/papers/pdf/brochures/papermaking_es.pdf (Diciembre, 2015)

49. Segura, F., Echeverri, R., Patiño, A. y Mejía, A. (2007). Descripción y discusión acerca de los métodos de análisis de fibra y del valor nutricional de forrajes y alimentos para animales. *Vitae. Revista de la facultad de Química Farmacéutica*, 14(1), 72-81.
50. Toledo, M. (2008). *Residuos de maíz y quinua como potenciales sustratos para el cultivo de hongos comestibles Pleurotus ostreatus*. (Proyecto previo a la obtención del título de Ingeniero en Biotecnología Ambiental). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.
51. Vaca, M. (2011). Obtención de extractos con actividad celulolítica y ligninolítica a partir del hongo *Pleurotus ostreatus* 404 y 2171 en rastrojo de maíz. (Proyecto previo a la obtención del título de Ingeniera Química). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.
52. Vaca, M., Izurieta B. y Espín, N. (2014). Obtención de extractos con actividad celulolítica y ligninolítica a partir del hongo *Pleurotus ostreatus* 404 y 2171 en rastrojo de maíz. *Revista Politécnica*. 33(2): 40-46.

ANEXOS

ANEXO I DETERMINACIÓN DE RESINAS, CERAS Y GRASAS

Para la determinación de resinas, ceras y grasas se empleó la norma TAPPI-T-6-os-59.

Materiales

1. Crisoles filtrantes
2. Aparato de extracción soxhlet
3. Desecador
4. Rotavapor
5. Balanza analítica
6. Estufa

Solvente

Mezcla alcohol benceno. Mezclar 1 volumen de etanol al 95 % con 2 volúmenes de benceno.

Muestra para análisis

Se prepara una muestra representativa de tamaño de partícula entre 0,25 y 0,40 mm de diámetro.

Se determina el contenido de humedad de una muestra de $2 \pm 0,1 g$ colocándola en una estufa a 105 °C por 12 horas, se enfría la muestra en el desecador y se pesa la muestra resultante para obtener la humedad con la siguiente fórmula:

$$\%Humedad = \frac{Masa_{inicial} - Masa_{final}}{Masa_{inicial}}$$

Método:

Para la determinación de lignina y celulosa es necesario inicialmente realizar la extracción de materia grasa, para lo cual inicialmente se pesan los balones previamente tarados tomando en cuenta hasta el cuarto dígito decimal. Se pesa los $2 \pm 0,1$ g de muestra que es colocada en el capuchón filtrante previamente tarado (para tarar el cartucho y los balones se mantienen en la estufa durante 5 horas a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$).

ANEXO II

DETERMINACIÓN DE LIGNINA Y CELULOSA

Para la determinación de lignina y celulosa se usó el método del permanganato.

Materiales

Crisoles filtrantes de cerámica

Bandeja de vidrio

Varillas de agitación

Bomba de vacío

Mufla

Reactivos

50 g de KMnO_4 grado reactivo por litro de agua destilada.

Solución buffer de lignina: 6 g de Nitrato férrico nanohidratado $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ y 0,15 g de nitrato de plata disueltos en 100 mL de agua destilada. Mezclar con 500 mL de ácido acético glacial y 5 g de acetato de potasio grado reactivo. Agregar 400 mL de alcohol butílico terciario grado reactivo.

Solución de permanganato combinada: Mezclar en relación 2:1 la solución de permanganato y la solución de lignina.

Solución desmineralizadora. 50 g de ácido oxálico dihidratado en 700 mL de alcohol etílico de 95 %. Agregar 50 mL de HCl concentrado (aprox 12 N) y 250 mL de agua destilada.

Alcohol etílico al 80 %. 155 mL de agua destilada y 845 mL de alcohol etílico de 95 %.

Método:

- Pesar 0,5 g de la muestra.
- Se coloca el crisol en un horno de incineración a 500 °C por una hora o más y luego se enfría y se pesa.
- Realizar la extracción de grasas, determinar la cantidad de grasa.
- Colocar los crisoles en una bandeja de vidrio de poca profundidad que tenga una capa de 1 cm de espesor de agua fría. La fibra dentro de los crisoles no debe mojarse.
- Agregar 25 mL de la solución combinada de permanganato de potasio, sin que se llene demasiado. Ajustar el nivel de agua en la bandeja a manera de reducir la corriente de solución a través de los crisoles. Colocar una varilla de vidrio en cada crisol, con el objeto de revolver su contenido y bañar todas las partículas que se adhieren a las paredes del crisol.
- Dejar reposar a los crisoles 90 ±10 minutos a temperatura de 25 °C. Agregar solución combinada de permanganato si fuera necesario. Debe mantener el color morado constantemente.
- Filtrar el líquido remanente, colocar los crisoles a una bandeja de porcelana o vidrio y llenarlos hasta la mitad con solución desmineralizadora. después de 5 min, filtrar la porción líquida remanente y llenar nuevamente con solución desmineralizadora hasta la mitad. Tener precaución de no derramar ya que se produce espuma. Si se nota que el filtrado del segundo tratamiento se encuentra de color café oscuro, agregar solución desmineralizadora por tercera vez. El color de la muestra debe ser blanco. El tiempo total requerido en este paso es de 20 a 30 min.
- Llenar y lavar los crisoles con alcohol etílico de 80 %. Filtrar y repetir este lavado por dos veces consecutivas.

Para obtener el contenido de lignina

Secar los crisoles a 105 °C durante la noche, luego dejarlos enfriar en un desecador y pesarlos. La diferencia de pesos del paso 3 al 9 es la cantidad de lignina.

Contenido de celulosa

Incinerar la muestra procedente de la determinación de lignina a 500 °C durante 3 horas; déjese enfriar en un desecador y pésese. La pérdida de peso equivale al contenido de celulosa.

ANEXO III

Tabla AIII. 1. Peso de cada cosecha en el sustrato 90:10 PB

90:10 PB			
Funda	Peso g	Funda	Peso g
1	86	13	93
1	48	13	61
1	141	13	27
2	109	14	133
2	73	14	28
2	29	14	16
3	112	15	129
3	55	15	60
3	19	16	38
4	166	16	69
4	55	16	31
4	60	17	73
5	141	17	121
5	38	17	23
6	112	18	99
6	55	18	28
6	19	18	35
6	166	19	127
7	182	19	53
7	91	19	24
8	164	20	107
8	64	20	92
8	32	20	46
9	27		
9	9		
10	55		
10	60		
10	134		
11	182		
11	47		
12	125		
12	65		
12	21		

Tabla AIII. 2. Peso de cada cosecha en el sustrato 80:20 PB

80:20 PB			
Funda	Peso	Funda	Peso
1	169	11	216
1	46	11	152
1	57	11	68
2	156	12	49
2	51	12	44
2	40	12	48
2	36	12	61
3	132	12	38
3	77	13	54
3	73	13	161
4	97	13	63
4	92	13	51
4	41	14	121
5	206	14	80
5	73	14	78
5	42	15	95
6	214	15	68
6	97	15	102
7	175	16	140
7	40	16	77
7	19	16	60
7	14	17	88
7	9	17	93
8	165	17	127
8	78	18	99
8	37	18	106
9	183	18	61
9	46	19	122
9	26	19	77
9	17	19	70
10	183	20	173
10	65	20	82
10	39	20	22

Tabla AIII. 3. Peso de cada cosecha en el sustrato 70:30 PB

70:30 PB			
Funda	Peso g	Funda	Peso g
1	220	11	44
1	57	11	100
1	22	11	26
1	48	12	17
2	216	12	43
2	74	12	72
2	4	13	93
3	154	13	52
3	54	13	21
3	36	14	112
3	48	14	67
4	151	14	32
4	10	15	45
4	70	15	107
4	27	15	22
5	174	16	87
5	93	16	44
5	44	16	25
6	144	17	28
6	96	17	92
6	31	17	43
7	129	18	89
7	177	18	75
7	89	18	12
7	69	19	56
7	70	19	39
7	31	19	22
8	170	20	75
8	39	20	32
8	17	20	21
9	184		
9	67		
10	165		
10	75		
10	60		

Tabla AIII. 4. Peso de cada cosecha en el sustrato 100 RM

100 RM			
Funda	Peso g	Funda	Peso g
1	51	13	76
1	19	13	57
1	56	13	50
2	97	14	58
2	36	14	47
3	92	14	13
3	108	15	45
4	59	15	33
4	56	15	21
5	48	16	37
5	32	16	47
6	12	16	8
6	105	17	60
7	82	17	54
7	56	17	11
7	56	18	66
8	45	18	53
8	120	18	15
8	27	19	53
9	37	19	45
9	38	19	12
10	107	20	76
10	54	20	48
10	22	20	28
11	57		
11	34		
11	42		
12	65		
12	37		
12	22		

Tabla AIII. 5. Peso de cada cosecha en el sustrato 90:10 PP

90:10 PP			
Funda	Peso g	Funda2	Peso g
1	282	12	104
1	98	12	56
1	98	12	15
2	95	13	117
2	31	13	37
2	40	13	17
3	81	14	77
3	14	14	53
4	66	14	30
4	20	15	108
5	153	15	42
5	131	16	56
5	30	16	90
5	23	16	41
5	83	17	87
6	88	17	65
6	139	17	32
6	43	18	122
7	124	18	73
7	50	18	12
7	17	19	98
8	58	19	47
8	47	19	34
8	11	20	32
9	81	20	117
9	45	20	21
9	54		
10	129		
10	50		
10	28		
11	104		
11	43		
11	10		

Tabla AIII. 6. Peso de cada cosecha en el sustrato 80:20 PP

80:20 PP			
Funda	Peso g	Funda2	Peso g
1	84	12	82
1	87	12	78
1	29	12	24
2	134	13	83
2	49	13	45
2	26	13	41
3	39	14	110
3	154	14	76
3	37	14	25
4	59	15	109
4	103	15	36
4	78	15	14
5	23	16	20
5	18	16	67
5	110	16	51
6	87	17	73
6	31	17	61
6	112	17	57
7	75	18	109
7	13	18	51
7	27	18	39
8	92	19	72
8	49	19	70
8	14	19	25
9	76	20	105
9	63	20	70
9	41	20	37
10	108		
10	39		
10	26		
11	98		
11	72		
11	22		

Tabla AIII. 7. Peso de cada cosecha en el sustrato 70:30 PP

70:30 PP			
Funda	Peso g	Funda2	Peso g
1	282	12	104
1	98	12	56
1	98	12	15
2	95	13	117
2	31	13	37
2	40	13	17
3	81	14	77
3	14	14	53
4	66	14	30
4	20	15	108
5	153	15	42
5	131	16	56
5	30	16	90
5	23	16	41
5	83	17	87
6	88	17	65
6	139	17	32
6	43	18	122
7	124	18	73
7	50	18	12
7	17	19	98
8	58	19	47
8	47	19	34
8	11	20	32
9	81	20	117
9	45	20	21
9	54		
10	129		
10	50		
10	28		
11	104		
11	43		
11	10		

ANEXO IV

Tabla AIV. 1. Valores de eficiencia biológica por cada funda

	100 M	90:10 PB	90:10 PP	80:20 PB	80:20 PP	70:30 PB	70:30 PP
R1	50,55	58,48	90,72	107,72	61,56	109,59	125,83
	53,36	79,43	52,58	112,08	64,33	92,85	43,70
	80,24	81,18	55,80	111,68	70,80	92,22	25,01
	46,14	122,64	29,30	91,09	73,87	81,48	22,64
	32,10	78,12	109,18	127,13	46,48	98,22	110,56
	46,94	153,63	99,15	123,17	70,80	85,59	71,08
	77,83	119,15	71,45	101,78	35,40	178,44	50,28
	77,03	113,48	72,65	110,89	47,71	71,38	30,54
	30,09	15,71	65,83	107,72	55,41	131,46	47,38
	73,42	108,67	57,40	113,66	53,25	94,88	54,49
R2	53,35	99,95	67,44	172,67	59,10	53,69	41,33
	49,87	92,09	71,45	95,05	56,64	41,69	46,07
	73,44	79,00	83,09	130,30	52,02	52,43	45,01
	47,22	77,25	59,01	331,49	64,95	66,64	42,12
	39,57	82,49	90,32	314,85	48,94	54,95	39,49
	36,76	60,23	59,81	329,90	42,48	49,27	49,23
	50,12	94,71	73,06	243,96	58,79	51,48	48,44
	53,67	70,70	71,05	316,04	61,25	55,59	54,49
	43,98	89,03	96,74	320,00	51,40	36,95	47,12
	46,72	106,93	62,22	304,95	65,26	40,43	44,75

ANEXO V

Tabla AV. 1. Valores de rendimiento por cada funda

	100 M	90:10 PB	90:10 PP	80:20 PB	80:20 PP	70:30 PB	70:30 PP
R1	10,08	10,72	18,08	21,76	16	27,76	38,24
	10,64	14,56	10,48	22,64	16,72	23,52	13,28
	16	14,88	11,12	22,56	18,4	23,36	7,6
	9,2	22,48	5,84	18,4	19,2	20,64	6,88
	6,4	14,32	21,76	25,68	12,08	24,88	33,6
	9,36	28,16	19,76	24,88	18,4	21,68	21,6
	15,52	21,84	14,24	20,56	9,2	45,2	15,28
	15,36	20,8	14,48	22,4	12,4	18,08	9,28
	6	2,88	13,12	21,76	14,4	33,29	14,4
	14,64	19,92	11,44	22,96	13,84	24,03	16,56
R2	10,63	18,32	13,44	34,88	15,36	13,6	12,56
	9,94	16,88	14,24	19,2	14,72	10,56	14
	14,64	14,48	16,56	26,32	13,52	13,28	13,68
	9,41	14,16	11,76	22,32	16,88	16,88	12,8
	7,89	15,12	18	21,2	12,72	13,92	12
	7,32	11,04	11,92	22,21	11,04	12,48	14,96
	9,99	17,36	14,56	24,64	15,28	13,04	14,72
	10,70	12,96	14,16	21,28	15,92	14,08	16,56
	8,76	16,32	19,28	21,54	13,36	9,36	14,32
	9,31	19,6	12,4	22,17	16,96	10,24	13,6

ANEXO VI
CONDICIONES DE TEMPERATURA Y HUMEDAD PARA CADA
REPETICIÓN

Tabla AVI. 1. Condiciones para los biorreactores T1, T2, T3, T4 primera repetición

Día	Tmin	Tmáx	Hr	Observación
1	15	19	80	
2	17	21	76	
3	16	19	76	
4	15	21	76	
5	15	18	75	
6	18	22	80	
7	17	22	74	
8	14	17	75	
9	17	20	76	
10	14	17	76	
11	16	18	78	
12	16	18	80	
13	17	19	80	
14	15	18	76	
15	20	25	75	
16	16	19	75	
17	12	15	76	
18	18	22	80	
19	17	21	76	
20	16	22	75	
21	17	20	76	
22	16	18	78	
23	15	18	79	
24	18	21	78	
25	15	18	77	
26	17	20	74	
27	15	21	80	
28	13	19	79	
29	15	18	76	
30	15	18	76	Primera cosecha T1 y T2
31	17	20	80	Primera cosecha T1 y T2/ T3 y T4
32	15	19	79	Primera cosecha T1 y T2/ T3 y T4
33	15	20	78	Primera cosecha T1 y T2/ T3 y T4
34	14	19	75	Primera cosecha T3 y T4
35	15	20	80	
36	14	20	78	

37	15	18	79	
38	16	21	80	
39	14	19	76	
40	16	19	75	
41	13	19	81	
42	15	18	81	
43	15	21	82	Segunda cosecha T1 y T2
44	16	18	80	Segunda cosecha T1 y T2/ T3 y T4
45	16	19	78	Segunda cosecha T1 y T2/ T3 y T4
46	15	19	77	Segunda cosecha T1 y T2/ T3 y T4
47	14	18	79	Segunda cosecha T3 y T4
48	14	19	76	
49	14	17	75	
50	15	17	79	
51	15	17	80	
52	14	18	77	
53	16	18	76	
54	14	16	75	
55	15	18	82	
56	14	18	83	
57	16	18	81	
58	13	17	79	
59	14	17	80	
60	16	18	77	Tercera cosecha T1 y T2
61	16	18	77	Tercera cosecha T1 y T2/ T3 y T4
62	15	17	82	Tercera cosecha T1 y T2/ T3 y T4
63	14	17	81	Tercera cosecha T1 y T2/ T3 y T4
64	16	18	79	Tercera cosecha T3 y T4

Día 1: Ingresan los biorreactores del T1 y T2

Día 2: Ingresan los biorreactores del T3 y T4

Día 20: Se traslada el T1 y T2 a la cámara clara

Día 21: Se traslada el T3 y T4 a la cámara clara

Día 30: Primera cosecha T1 y T2

Día 31: Primera cosecha T3 y T4

Día 43: Segunda cosecha T1 y T2

Día 44: Segunda cosecha T3 y T4

Día 60: Tercera cosecha T1 y T2

Día 61: Tercera cosecha T3 y T4

Tabla AVI. 2. Condiciones para los biorreactores T5, T6, T7 primera repetición

Día	Tmin	Tmáx	Hr	Observación
20	19	21	87	
21	20	21	88	
22	19	22	89	
23	19	22	90	
24	20	21	92	
25	17	21	95	
26	16	22	91	
27	16	21	93	
28	16	21	92	
29	17	22	92	
30	17	21	92	
31	19	21	96	
32	19	22	96	
33	19	22	94	
34	18	22	93	
35	18	21	93	
36	18	20	98	
37	17	20	96	
38	16	20	97	
39	18	21	97	
40	19	21	98	
41	16	20	98	
42	17	20	99	
43	16	20	99	
44	17	20	98	
45	19	21	97	
46	18	21	97	
47	18	21	98	
48	17	22	99	
49	19	20	96	Primera cosecha T5 y T6
50	18	19	97	Primera cosecha T5 y T6 / T7
51	19	18	98	Primera cosecha T5 y T6 / T7
52	18	20	99	Primera cosecha T5 y T6 / T7
53	18	21	98	Primera cosecha T7
54	17	21	96	
55	16	21	95	
56	19	22	97	
57	17	20	98	
58	17	19	98	
59	17	19	97	
60	16	19	97	

61	18	19	97	
62	20	20	98	Segunda cosecha T5 y T6
63	19	20	98	Segunda cosecha T5 y T6 / T7
64	20	20	99	Segunda cosecha T5 y T6 / T7
65	20	20	98	Segunda cosecha T5 y T6 / T7
66	18	19	97	Segunda cosecha T7
67	18	21	98	
68	18	21	98	
69	19	21	98	
70	21	21	97	
71	21	19	96	
72	21	21	98	
73	19	21	95	
74	18	21	97	
75	21	21	98	
76	19	21	99	
77	19	22	96	Tercera cosecha T5 y T6
78	18	22	98	Tercera cosecha T5 y T6 / T7
79	18	20	98	Tercera cosecha T5 y T6 / T7
80	19	20	97	Tercera cosecha T5 y T6 / T7
81	20	21	96	Tercera cosecha T7

Día 20: Ingresan los biorreactores del T5 y T6

Día 21: Ingresan los biorreactores del T7

Día 39: Se traslada el T5 y T6 a la cámara clara

Día 40: Se traslada el T7 a la cámara clara

Día 49: Primera cosecha T5 y T6

Día 50: Primera cosecha T7

Día 62: Segunda cosecha T5 y T6

Día 64: Segunda cosecha T7

Día 77: Tercera cosecha T5 y T6

Día 78: Tercera cosecha T7

Tabla AVI. 3. Condiciones los biorreactores T7, T5, T2, T6 segunda repetición

Día	Tmin	Tmáx	Hr	Observaciones
1	17	21	78	
2	20	23	74	
3	18	21	75	
4	17	21	76	
5	16	18	73	
6	20	22	77	
7	19	22	72	
8	15	17	73	
9	19	20	74	
10	15	17	75	
11	17	18	77	
12	17	18	78	
13	18	19	78	
14	17	18	74	
15	22	25	73	
16	18	19	72	
17	14	15	75	
18	20	22	78	
19	20	21	74	
20	21	22	73	
21	19	20	75	
22	17	18	77	
23	17	18	76	
24	19	21	74	
25	16	18	73	
26	19	20	71	
27	17	21	78	
28	15	19	77	
29	16	18	75	
30	17	18	74	Primera cosecha T7 y T5
31	18	20	78	Primera cosecha T7 y T5 / T2 y T6
32	16	19	77	Primera cosecha T7 y T5 / T2 y T6
33	16	20	76	Primera cosecha T7 y T5 / T2 y T6
34	15	19	74	Primera cosecha T2 y T6
35	17	20	78	
36	16	20	76	
37	17	21	74	
38	18	21	73	
39	16	20	72	
40	17	20	71	
41	15	18	79	

42	16	19	79	
43	18	21	80	Segunda cosecha T7 y T5
44	17	18	78	Segunda cosecha T7 y T5 / T2 y T6
45	17	21	76	Segunda cosecha T7 y T5 / T2 y T6
46	18	21	75	Segunda cosecha T7 y T5 / T2 y T6
47	17	18	73	Segunda cosecha T2 y T6
48	16	19	72	
49	16	18	71	
50	18	19	76	
51	17	19	77	
52	16	19	75	
53	16	18	74	
54	17	18	72	
55	17	20	80	
56	15	20	81	
57	16	18	79	
58	15	19	76	
59	16	19	77	
60	17	18	75	Tercera cosecha T7 y T5
61	18	21	74	Tercera cosecha T7 y T5 / T2 y T6
62	17	19	75	Tercera cosecha T7 y T5/ T2 y T6
63	16	19	76	Tercera cosecha T7 y T5/ T2 y T6
64	18	21	75	Tercera cosecha T2 y T6

Día 1: Ingresan los biorreactores del T7 y T5

Día 2: Ingresan los biorreactores del T2 y T6

Día 20: Se traslada el T7 y T5 a la cámara clara

Día 21: Se traslada el T2 y T6 a la cámara clara

Día 30: Primera cosecha T7 y T5

Día 31: Primera cosecha T2 y T6

Día 43: Segunda cosecha T7 y T5

Día 44: Segunda cosecha T2 y T6

Día 60: Tercera cosecha T7 y T5

Día 61: Tercera cosecha T2 y T6

Tabla AVI. 4. Condiciones para los biorreactores T1, T3, T4 segunda repetición

Día	Tmin	Tmáx	Hr	Observaciones
20	21	23	85	
21	22	24	86	
22	22	23	87	
23	22	23	88	
24	21	23	89	
25	18	22	95	
26	18	23	93	
27	18	21	92	
28	18	22	91	
29	18	23	90	
30	18	24	88	
31	21	23	95	
32	21	23	93	
33	22	24	92	
34	21	24	91	
35	21	23	89	
36	21	22	98	
37	19	21	97	
38	18	21	95	
39	19	21	96	
40	21	23	95	
41	18	20	96	
42	19	21	97	
43	18	22	97	
44	19	23	96	
45	22	24	95	
46	20	22	94	
47	19	21	95	
48	20	22	96	
49	21	23	97	Primera cosecha T1 y T3
50	19	21	95	Primera cosecha T1 y T3 / T4
51	20	22	96	Primera cosecha T1 y T3 / T4
52	21	23	97	Primera cosecha T1 y T3 / T4
53	19	21	96	Primera cosecha T4
54	20	22	94	
55	19	22	93	
56	21	23	95	
57	19	21	96	
58	19	20	96	
59	18	21	95	
60	18	23	93	

61	19	23	96	
62	22	24	97	Segunda Cosecha T1 y T3
63	21	24	97	Segunda Cosecha T1 y T3 / T4
64	21	23	95	Segunda Cosecha T1 y T3 / T4
65	22	23	98	Segunda Cosecha T1 y T3 / T4
66	19	21	96	Segunda Cosecha T4
67	22	24	97	
68	19	23	95	
69	20	23	94	
70	22	24	93	
71	19	21	91	
72	19	22	92	
73	21	24	91	
74	21	23	91	
75	22	23	93	
76	23	24	97	
77	22	24	96	Tercera cosecha T1 y T3
78	21	23	95	Tercera cosecha T1 y T3 / T4
79	21	22	98	Tercera cosecha T1 y T3/ T4
80	22	23	97	Tercera cosecha T4
81	22	23	95	Tercera cosecha T4

Día 20: Ingresan Los biorreactores del T1 y T3

Día 21: Ingresan los biorreactores del T4

Día 39: Se traslada el T1 y T3 a la cámara clara

Día 40: Se traslada el T4 a la cámara clara

Día 49: Primera cosecha T1 y T3

Día 50: Primera cosecha T4

Día 62: Segunda cosecha T1 y T3

Día 63: Segunda cosecha T4

Día 77: Tercera cosecha T1 y T3

Día 78: Tercera cosecha T4

ANEXO VII

PROCEDIMIENTO DE SIEMBRA DEL HONGO



Figura AIV. 1. Crecimiento del hongo en tubos con agar



Figura AIV. 2. Crecimiento del *Pleurotus ostreatus* en cajas Petri



Figura AIV. 3. Crecimiento del hongo en frascos con trigo



Figura AIV. 4. Mezclado del inóculo con el sustrato de rastrojo de maíz y papel



Figura AIV. 5. Biorreactores de 1,25 kg de rastrojo de maíz con papel inoculados con *Pleurotus ostreatus*



Figura AIV. 6. Aparecimiento de los primordios de *Pleurotus ostreatus* en los biorreactores de rastrojo de maíz y papel.



Figura AIV. 7. Cuerpo fructífero de *Pleurotus ostreatus* listo para la cosecha