



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

“APROVECHAMIENTO DEL CRECIMIENTO MICELIAL DEL HONGO “*Pleurotus ostreatus*” SEMBRADO EN PAJA DE TRIGO “*Tricum spp*” PARA LA OBTENCIÓN DE BIOMATERIAL DE EMPAQUETAMIENTO”

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

AUTOR: VÍCTOR PATRICIO ARÉVALO MEDINA

DIRECTORA: Dra. YOLANDA DÍAZ HEREDIA MSc.

Riobamba – Ecuador

2022

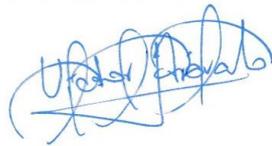
© 2020, Víctor Patricio Arévalo Medina

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho del Autor.

Yo, Víctor Patricio Arévalo Medina, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 1 de enero del 2020



Víctor Patricio Arévalo Medina

060407830-3

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de titulación; tipo: Proyecto de Investigación, “**APROVECHAMIENTO DEL CRECIMIENTO MICELIAL DEL HONGO “*Pleurotus ostreatus*” SEMBRADO EN PAJA DE TRIGO “*Tricum spp*” PARA LA OBTENCIÓN DE BIOMATERIAL DE EMPAQUETAMIENTO**”, realizado por el señor: **VÍCTOR PATRICIO ARÉVALO MEDINA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

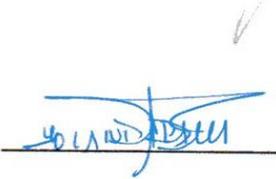
	FIRMA	FECHA
Ing. Sofía Carolina Godoy Ponce Msc. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2022-03-22
Ing. Yolanda Dolores Díaz Heredia PhD. DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN		2022-03-22
Ing. Ana Rafaela Pacurucu Reyes MSc. MIEMBRO DEL TRIBUNAL		2022-03-22

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	ix
SUMMARY.....	x
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I	
1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	4
1.1. Antecedentes	4
1.2. Marco Conceptual.....	5
1.2.1. <i>Pleurotus ostreatus</i>	5
1.2.2. <i>Residuos agroindustriales de la producción de trigo</i>	8
1.2.3. <i>Fermentación en estado sólido de residuos lignocelulósicos con Pleurotus ostreatus</i>	10
1.2.4. <i>Compuestos de micelio</i>	11
1.2.5. <i>Packaging o Empaquetamiento</i>	12
1.2.6. <i>Empaquetamiento con compuestos de micelio</i>	13
1.2.7. <i>Biodegradabilidad de los compuestos de micelio</i>	13
1.3. Marco Legal.....	13
1.3.1. <i>Acuerdo Ministerial N° 019: Expedir Las Políticas Generales Para La Gestión Integral De Plásticos En El Ecuador</i>	13
CAPÍTULO II	
2. MARCO METODOLÓGICO	15
2.1. Obtención del micelio de <i>P. ostreatus</i>	15
2.2. Preparación del sustrato	15
2.3. Inoculación del micelio de <i>P. ostreatus</i> en el sustrato.....	16
2.4. Creación de probetas.....	17
2.5. Pruebas de Compresión y Flexión según las normas ASTM.....	17
CAPÍTULO III	
3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	18
3.1. Crecimiento micelial.....	18
3.2. Pruebas de compresión según la norma ASTM C	19
3.3. Pruebas de flexión según la norma ASTM C203.....	21
3.4. Análisis estadístico.....	22
3.5. Discusión	24
CONCLUSIONES.....	26
RECOMENDACIONES.....	27
BIBLIOGRAFÍA	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Porcentajes de los componentes principales presentes en la Paja de Trigo.....	9
Tabla 1-3: Masa en gramos de las probetas para pruebas de resistencia a la compresión.....	18
Tabla 2-3: Densidad en kg/m ³ de las probetas para pruebas de resistencia a la compresión.....	18
Tabla 1-2: Masa en gramos de las probetas para pruebas de resistencia a la flexión.....	18
Tabla 4-3: Densidad en kg/m ³ de las probetas para pruebas de resistencia a la flexión.....	19
Tabla 5-3: Valores de resistencia a la compresión “S” en pascales al 10% deformación.....	20
Tabla 6-3: Valores de resistencia a la compresión “S” en pascales al 25% de deformación.....	20
Tabla 7-3: Valores de resistencia máxima a la flexión “Smax” para alcanzar la ruptura.....	21
Tabla 8-3: Test de Shapiro – Wilks para las pruebas de compresión y flexión.....	22
Tabla 9-3: Prueba de Levene para los ensayos de compresión y flexión.....	23
Tabla 10-3: ANOVA para la resistencia a la compresión al 10% de deformación.....	23
Tabla 11-3: ANOVA para la resistencia a la compresión al 25% de deformación.....	24
Tabla 12-3: ANOVA para la resistencia a la flexión.....	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-2: Semillas de trigo invadidas por el micelio del hongo <i>P. ostreatus</i>	15
Figura 1-1: Sustrato: A) 1mm - 5mm, B) 6mm - 10mm, C) 11mm - 15mm y D) Preparación..	16
Figura 3-2: Inoculación del micelio de <i>P. ostreatus</i> en el sustrato y etapas de colonización.....	16
Figura 4-2: Probetas en el proceso de secado.....	17

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3: Curvas de esfuerzo – deformación de la prueba de resistencia a la compresión....	19
Gráfico 2-3: Comparación de medias de “S” al 10 y 25 % de deformación.....	20
Gráfico 1-3: Comparación de medias de “Smax” para la resistencia a la flexión.....	21

RESUMEN

El uso indiscriminado de productos plásticos derivados del petróleo los ha convertido en componentes mayoritarios de la basura urbana y marina, uno de los principales elementos de este tipo son las poliespumas, las cuales no son reciclables ni biodegradables. Éstas deberían ser sustituidas urgentemente por otros elementos que cumplan con las mismas características. La opción de usar el micelio de los hongos y residuos agroindustriales se palpa como una solución viable, relativamente poco costosa, amigable con el ambiente y que se mantiene dentro de los principios propuestos en la economía circular y sostenibilidad. En este estudio se examinan las propiedades de resistencia a la compresión y resistencia a la flexión, según las normas ASTM C165 y ASTM C203, en un material hecho moldeando el crecimiento micelial del hongo *Pleurotus ostreatus* en paja de trigo, variando la granulometría de este sustrato. Los resultados obtenidos muestran que no existe una diferencia significativa en la variación de la granulometría del sustrato, en los rangos propuestos para la prueba de resistencia a la compresión, sin embargo, se encuentra una diferencia significativa cuando el material es sometido a la prueba de resistencia a la flexión. Las condiciones del procedimiento en el que se encontraban partículas más finas de sustrato arrojaron datos al 10 y 25 % de deformación que alcanzaron la cantidad de 51,67 y 193,13 kPa respectivamente; y para el ensayo de flexión se lograron máximo 91,3 kPa de resistencia. Las propiedades que expresa el material es un indicativo de que puede ser usado como reemplazo de la espuma de poliestireno expandido, tomando en cuenta que para este fin existen diferentes tipos de EPS, lo cual se podría igualar variando otros factores que no han sido cambiados en este caso.

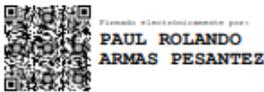
PALABRAS CLAVE: <COMPUESTOS DE MICELIO>, <MATERIALES BIOBASADOS>, <RESISTENCIA DEL MICELIO>, <EMPAQUE BIODEGRADABLE>, <MICELIO>, <POLIESPUMAS>



SUMMARY

The indiscriminate use of petroleum-derived plastic products has turned them into a major component of urban and marine waste, one of the main elements of this type being polyfoams, which are neither recyclable nor biodegradable. These should be urgently replaced by other elements that meet the same characteristics. The option of using mushroom mycelium and agro-industrial waste is seen as a viable solution, relatively inexpensive, environmentally friendly and within the principles proposed in the circular economy and sustainability. This study examines the properties of compressive strength and flexural strength, according to ASTM C165 and ASTM C203, in a material made by molding the mycelial growth of *Pleurotus ostreatus* mushroom on wheat straw, varying the granulometry of this substrate. The results obtained show that there is no significant difference in the variation of the granulometry of the substrate, in the ranges proposed for the compressive strength test, however, a significant difference is found when the material is subjected to the flexural strength test. The conditions of the procedure in which finer substrate particles were found yielded data at 10 and 25 % deformation that reached the amount of 51.67 and 193.13 kPa respectively; and for the flexural test a maximum of 91.3 kPa of resistance was achieved. The properties expressed by the material are an indication that it can be used as a replacement for expanded polystyrene foam, considering that for this purpose there are different types of EPS, which could be matched by varying other factors that have not been changed in this case.

KEYWORDS: <MYCELIUM COMPOSITES>, <BIOBASED MATERIALS>, <MYCELIUM RESISTANCE>, <BIODEGRADABLE PACKAGING>, <MYCELIUM>, <POLYFOAM> .



INTRODUCCIÓN

El plástico es un material inmensamente versátil, ideal para una amplia gama de aplicaciones industriales y de consumo, sin embargo su uso indiscriminado está contaminando el planeta, trayendo consigo una serie de problemáticas ambientales por la forma en que este es desechado o eliminado, el mal manejo de este tipo de desechos plásticos puede llevar a la generación de diferentes productos tóxicos que se emiten a la atmósfera, así como también la contaminación de recursos hídricos, degradación de la fauna, entre otros, debido a su acumulación y a que pueden permanecer cientos de años en nuestro entorno. En todo el mundo las personas están buscando alternativas al consumo de este tipo de contaminantes, para suplir esta necesidad sin afectar la comodidad y el estilo de vida actual de toda la población mundial, los investigadores e ingenieros de todo el mundo permanecen en la búsqueda constante de nuevas alternativas. Uno de los principales problemas que se debe resolver es el uso de plásticos de empaquetamiento como la Espuma de Poliestireno Expandido, que se emplea casi siempre en el embalaje y transporte de muchos productos de consumo común, para protegerlos en caso de que estos sean frágiles, los fabricantes requieren como envoltorio un material que tenga características especiales y comúnmente resulta ser el plástico antes mencionado; de acuerdo al informe anual sobre contaminación y cambio climático, emitido por la Organización De Las Naciones Unidas en el 2017, alrededor de 13 millones de toneladas de plástico son tiradas al océano cada año, de las cuales aproximadamente 3 millones de toneladas corresponden al poliestireno expandido, cifra que se va incrementando anualmente en un 6% (United Nations 2016), según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, en nuestro país cada año se emplean alrededor de 1777,05 toneladas de EPS. Estas cifras son un reflejo claro de que se debe encontrar una solución para evitar una catástrofe que pueda comenzar a mermar exponencialmente la prosperidad de cualquier forma de vida. Una opción para resolver esta situación es la biotecnología que nos ayudará a encontrar alternativas ecológica y económicamente viables que puedan reemplazar este tipo de materiales dañinos para nuestro ambiente y que agotan nuestros recursos no renovables constantemente; aquí es donde surge la siguiente pregunta. ¿Se puede obtener por medio de la biotecnología un material biodegradable que cumpla con las características necesarias para ser utilizado en el empaquetamiento de productos frágiles y así dejar de usar plásticos?

JUSTIFICACIÓN

En todo el mundo se han generado políticas que prohíben el consumo y utilización de materiales que generan contaminación, e incentivan el uso de alternativas amigables con el ambiente, para el Ecuador todavía no se han generado leyes que limiten al consumidor o a las empresas que los utilizan a dejar de adquirirlos de forma definitiva, según el (INEC 2013) en nuestro país el material de empaquetamiento más común es la Espuma de Poliestireno, estos empaques después de cumplir con su función son descartados y en muy poca cantidad reciclados. El propósito de este trabajo es crear el material adecuado para reemplazar a este tipo de contaminante, que afecta de forma grave a nuestro entorno. Las tecnologías actuales nos permiten obtener empaques plásticos que cumplen un tiempo de vida más corto, sin embargo, siguen contaminando porque este tiempo se reduce muy poco en relación con la cantidad tan alta de producción y consumo que sigue existiendo. Los materiales manufacturados que utilizan biotecnología tienen una menor permanencia en el ambiente, lo que los hace ideales para cumplir con la misión de devolverle la estabilidad a la naturaleza. Una característica muy importante que podría adquirir este material es que su tiempo de duración sea prolongado, mientras se encuentre en condiciones adecuadas para ello, y bajo las condiciones adversas que se pueden encontrar en la naturaleza, este tenga un tiempo de vida muy corto, algo increíblemente beneficioso para nuestro ambiente en comparación con lo que tarda en degradarse el material de empaquetamiento de plástico usado comúnmente que puede ser de cien a mil años. Se han realizado varias investigaciones con respecto a materiales biodegradables obtenidos a partir del compuesto que forma el crecimiento micelial de algunos hongos filamentosos sembrados en diferentes sustratos, con lo que se busca establecer nuevas aplicaciones entre las que se está investigando reemplazar ladrillos en las actividades de construcción, textiles, materia prima usada en la manufactura de calzado deportivo, utensilios de belleza e incluso se le pretende dar a este material características conductoras para que pueda ser usado en la electrónica. La amplia gama de sustratos y micelios de hongos que pueden ser utilizados es vasta y cada combinación, que puede parecer infinita, le otorgará al material una característica diferente y es necesario estudiarlo ya que su versatilidad y modo de obtención pueden ser la solución definitiva a los problemas de contaminación globales. Con este tipo de estudios y aplicación de los conocimientos en biotecnología comenzarán a generarse muchos beneficios ambientales e incluso económicos para nuestro país y para las empresas que lo realicen.

OBJETIVOS

Objetivo general

Aprovechar el crecimiento micelial del hongo *Pleurotus ostreatus* en residuos lignocelulósicos de la agroindustria del trigo para la obtención de material biodegradable de empaquetamiento a nivel de laboratorio.

Objetivos específicos

- Obtener inóculo del micelio del hongo *Pleurotus ostreatus* utilizando los medios de cultivo adecuados.
- Elaborar, mediante el moldeo del crecimiento micelial del hongo *P. ostreatus*, probetas similares al poliestireno expandido para realizar las pruebas físicas.
- Determinar las propiedades de resistencia a la compresión y a la flexión del material obtenido según las normas ASTM

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes

El plástico se encuentra en todos los lugares del planeta y no hay duda de que es un material muy útil, con este se pueden obtener envoltorios, bolsas, botellas, juguetes y muchos otros productos, el problema es que una vez que cumplió su función, se convierte en un peligro que amenaza las playas y la profundidad de los mares y no sólo cuando la infinidad de objetos de plástico que nos rodean son abandonados en la naturaleza. También contribuye al calentamiento global por la manera en que es producido, ya que todos los plásticos provienen de combustibles fósiles, sin embargo, su industria es de las más boyantes. ¿Es posible entonces reemplazarlo? Científicos en todo el mundo trabajan para desarrollar materiales menos dañinos para el medio ambiente que puedan ser una alternativa (BBC 2013).

Los bioplásticos están en el mercado desde hace más de cuarenta años, pero su producción a escala industrial ha comenzado en los dos o tres últimos años. Ya están demostrando que son materiales alternativos a los plásticos tradicionales en aplicaciones como envases para alimentos y agricultura. También existe una tendencia creciente en grandes marcas en reconocer los potenciales beneficios comerciales derivados de la utilización de envases “verdes”, ya que los ciudadanos están cada vez más concienciados con la protección del medio ambiente y, para muchas aplicaciones, son los consumidores los que determinan el éxito de los bioplásticos en el mercado (Centro de Desarrollo Tecnológico 2007).

Otra alternativa a los plásticos, que es amigable con el ambiente, fue propuesta por Eben Bayer y Gavin McIntyre, alumnos del Rensselaer Polytechnic Institute (Troy, New York) a quienes en el 2007 se les ocurrió utilizar un material orgánico, cómo es el micelio de los hongos, para moldear materiales rígidos de modo rápido y barato. Los hongos son de los organismos con mayor velocidad de crecimiento y son capaces de utilizar en su alimentación cualquier fuente de nutrientes, además su pared celular compuesta por quitina les proporciona resistencia (Illana 2016).

Una característica muy importante de este material a base de micelios es que se lo puede crear usando residuos de la agroindustria como la paja de trigo cuya disposición común es la incineración “in situ”, con un impacto ambiental negativo por la emisión de partículas en suspensión (PM10) y gases de efecto invernadero (Espino et al. 2018).

1.2. Marco Conceptual

1.2.1. *Pleurotus ostreatus*

Pleurotus ostreatus es uno de los hongos con mayor porcentaje de cultivo alrededor del mundo y valorado principalmente por sus propiedades medicinales y ecológicas. El tiempo de crecimiento de este hongo es mucho menor que otros hongos comestibles, además requiere sustratos de bajo costo, lo cual los convierte en una alternativa rentable (Sánchez 2010). Su baja tasa de control ambiental asociado con su alta resistencia ante enfermedades y plagas lo posesionan como una gran oportunidad de producción a gran escala debido a que su reproducción a nivel industrial se hace más accesible por la fácil clonación al micelio (Magae y Magae 1993).

1.2.1.1. Características Morfológicas

Pleurotus ostreatus se caracteriza por tener una superficie lisa con leves escamas hacia la base, generalmente poseen un ancho de 5 cm y puede llegar a los 15 cm dependiendo de factores ambientales. Tienden a un color gris o marrón y laminas entrelazadas de color blanco o amarillo de bordes lisos que no se unen entre sí, en la base. Los bordes del sombrero son irregulares y se modifican con el paso del tiempo; en etapas juveniles el borde presenta enrollamiento. y en etapas adultas aparece desenrollado y abierto. El color y sabor de este tipo de hongos es muy agradable y altamente perceptible. Ordinariamente crecen sobre troncos descompuestos o arboles de zonas tropicales o subtropicales. Poseen un alto valor gastronómico y estas setas suelen ser muy apetecidas en varias partes del mundo (Perez, Briceyda 2006).

1.2.1.2. Micelio de *Pleurotus ostreatus*

Los micelios que forman parte de *Pleurotus ostreatus* son de color blanco, con una longitud de tipo radial y una textura tipo algodón cuando el micelio recién comienza a formarse. A medida que el micelio de estas setas comienza a envejecer se torna de color amarillo o marrón (Perez, Briceyda 2006). También hay que mencionar que el micelio está formado por hifas dicarióticas, es decir que poseen 2 núcleos que están divididos por un septo que impide su unión, esto es importante puesto que permite la formación de un basidiocarpo para que en las condiciones ambientales favorables estos faciliten el crecimiento del cuerpo fructífero del hongo (T et al. 2004). Los basidios que conforman el micelio son células encargadas de la formación de esporas que facilitan un entrecruzamiento genético, por medio de la meiosis generando estas basidiósporas que son haploides que se liberan para reproducirse pues generan un micelio primario, que a posterior madura y repite el ciclo haciendo que el micelio se mantenga siempre en crecimiento. La presencia de quitina en la estructura de las hifas permite que este micelio prolifere en un medio alcalino, por las proteínas que la conforman que son integradas por la mayoría de los aminoácidos

esenciales. El crecimiento del micelio es de 15 a 30 días, alcanzando su punto de maduración y cosecha de entre los 45 a 60 días (Perez, Briceda 2006).

1.2.1.3. Condiciones Ambientales para el desarrollo del micelio

El cultivo de hongos en el mundo ha tenido un significativo impacto en la producción de alimentos y ha ayudado a resolver el problema de la disposición de desechos orgánicos no comestibles (Holgado-Rojas et al. 2019). Para que el micelio logre desarrollarse con mayor facilidad es importante contar con condiciones ambientales óptimas, la incubación tarda de 22 a 30 días (Hernandez y López 2004).

Temperatura: *Pleurotus ostreatus* necesita un rango de temperatura entre 23 y 24°C (Hernandez y López 2004).

Humedad del sustrato: La humedad del sustrato debe permanecer entre el 50 y 80% (Taniguchi et al. 2005).

Humedad ambiental: El área donde se mantiene el micelio debe permanecer cerrado y mantener una humedad relativa entre 70 y 80 % (Hernandez y López 2004).

Luz: El micelio de *Pleurotus ostreatus* debe reposar en un lugar oscuro y fresco para que tenga un crecimiento idóneo (Hernandez y López 2004).

Aireación: Para que exista un crecimiento ideal los hongos deben estar en presencia del 20% de oxígeno y una concentración de CO₂ no mayor a los 800 ppm presentes en el ambiente (Taniguchi et al. 2005).

1.2.1.4. Aplicaciones biotecnológicas

Obtención de enzimas

La fermentación en medios sólidos es una buena alternativa para la producción de diversas enzimas fúngicas, logrando mejores resultados que la fermentación líquida. La producción de enzimas extracelulares a partir de hongos filamentosos se ha desarrollado ampliamente mediante el uso de FMS. Para ser una alternativa más adecuada para la producción de enzimas se consideran las características fisiológicas y morfológicas de los hongos filamentosos (Coello Paredes 2011).

Es por esto que el uso global y racional de los residuos agrícolas como sustrato en la producción de enzimas de interés industrial se convierte en una alternativa sumamente interesante debido a la presencia en estos compuestos de grandes cantidades de celulosa, hemicelulosa, pectina y lignina, que actúan como inductores para la síntesis de enzimas hidrolíticas y fenoloxidasas (Coello Paredes 2011).

Industria textil

Este tipo de industria ocupa las dos terceras partes del mercado total de colorantes, además de que consume grandes volúmenes de agua y sustancias químicas para el procesamiento húmedo de textiles. Debido a su estructura química y origen sintético, el tinte es resistente a la decoloración cuando se expone a la luz y al agua. El uso de lacasas en la industria textil ha crecido rápidamente y se han utilizado para blanquear textiles y, en ocasiones, para sintetizar tintes (Paredes-Juárez et al. 2017).

Industria papelera

El proceso industrial de fabricación de papel requiere la separación y descomposición de la lignina en la pulpa. Por lo general, este proceso se logra utilizando oxidantes químicos basados en contaminantes que se desinfectan con cloro y oxígeno. Los procesos de esterilización con oxígeno se han introducido en la industria en los últimos años para reemplazar los métodos de cloración convencionales, pero el pretratamiento de la pulpa con enzimas ligninolíticas puede proporcionar estrategias de esterilización más limpias. Una razón importante para reemplazar el blanqueo químico con cloro por el blanqueo biológico es eliminar los compuestos organoclorados del medio ambiente, ya que son altamente cancerígenos (Paredes-Juárez et al. 2017).

Industria alimenticia

En la industria alimentaria, la lacasa se utiliza para eliminar compuestos fenólicos indeseables en la producción de jugos, en la estabilización de vinos y en el tratamiento biológico de aguas residuales. Los recintos mejoran no solo la función sino también las propiedades sensoriales de los productos en los que se utilizan. En la industria cervecera, la lacasa no solo brinda estabilidad, sino que también prolonga la vida útil. En esta bebida, la formación de nubes es estimulada por las proantocianidinas naturales, a temperatura ambiente o superior, el calentamiento de la cerveza puede disolver el complejo, pero después de cierto tiempo, los núcleos de fenol se reemplazan por un grupo sulfhidrilo y la turbidez se vuelve permanente, insoluble nuevamente (Paredes-Juárez et al. 2017).

Industria biotecnológica

Una de las mayores dificultades de la actualidad, es la contaminación de las esferas ambientales por compuestos químicos tóxicos. Con la industrialización y el uso extensivo de pesticidas para mejorar la productividad agrícola, la polución se ha convertido en un problema que se agrava con el tiempo que pasa y compuestos como bifenilos policlorados, benceno, tolueno, etano y trinitrotolueno, son sustancias conocidas por su efecto carcinogénico y mutagénico y por su persistencia en el medio ambiente. Por lo cual la capacidad de los hongos para transformar una

amplia variedad de productos químicos peligrosos ha causado gran interés en los investigadores para su uso en la biorremediación. Normalmente se aplican en forma de micelio crecido sobre viruta de madera, paja de trigo o de maíz, o de algún otro material lignocelulósico similar. Otro uso es aquel que permite la remoción natural de los xenobióticos aromáticos de suspensiones acuosas (Shraddha et al. 2011).

Industria de Empaquetado

La industria del empaquetado ha desarrollado biomateriales que usa el micelio de los hongos de *Pleurotus ostreatus* ya que aprovechan la densidad, porosidad y sus propiedades mecánicas asimétricas que permiten la conformación de ladrillos y paneles de micelio; estos son cultivados en sustratos como las cascaras o pulpas de maderas. Algunas empresas como las vinícolas están comenzando a usar estos envases puesto que tienen propiedades mecánicas adecuadas para proteger sus productos, lo que las vuelve un sustituto con respecto a otros empaques de espuma de poliestireno expandido y madera (Aguilar Pumahuilca, Huamán Huamán y Holgado Rojas 2019).

Industria de la Construcción

Por la preocupación del impacto ambiental que genera la construcción, se ha comenzado a investigar métodos para implementar una construcción sostenible que incorpora materiales biodegradables en los que se destacan los productos provenientes del micelio del *Pleurotus osteratus* puesto que estos materiales se presentan como aislantes que principalmente sustituyen el poliestireno ya que en relación al costo beneficio estos para producirse solo necesitan desechos orgánicos de tipo lignocelulósico, destacando el uso de este material principalmente para la técnica de construcción de panel sándwich que permite un mejor acoplamiento de las paredes en la incorporación de una casa de madera, además que satisface las condiciones que menciona la NEC para una mejor conservación de la temperatura dentro de la estructura de esta manera los costos se reducen, por lo que son los más destacados en la actualidad (Fernández et al. 2020).

1.2.2. Residuos agroindustriales de la producción de trigo

El trigo es uno de los cereales más cultivados del mundo por su idoneidad para el consumo humano. En 2009, el área nacional de siembra de trigo fue de 705,678 hectáreas, con un rendimiento de 3,515,392 toneladas. Así, el trigo es uno de los principales cereales sembrados con mayor superficie cultivada del país. La paja de trigo resultante es el principal residuo de la cosecha, de la cual solo el 15% tiene otros usos y el 85% restante se considera como residuo sólido cuya disposición se quema en el sitio (González et al. 2011).

Dichos valores representan una interesante opción de biomasa residual, desde el punto de vista energético, debido al gran volumen disponible y alto contenido energético de la paja de trigo

generada. Por ello, una estimación del uso de la paja de trigo como fuente de energía térmica para generar electricidad, o convertirla en diversas formas de biocombustibles como el biogás o el bioetanol, es una alternativa rentable y con una gran proyección futura en la economía circular (González et al. 2011).

Sin embargo los residuos presentan una característica esencial para el crecimiento de hifas miceliales primarias por su elevada presencia de compuestos lignocelulósicos de entre ellos, tiene una fibra detergente acida, lignina, celulosa y hemicelulosa, también poseen una humedad relativa que va desde el 9% siendo su menor valor, mientras que el valor más elevado es 91% lo cual facilita al crecimiento de las hifas; fomentando una reproducción asexual que es esencial para la formación del micelio, que son importantes dentro de las industrias de la construcción, acústica, empaquetado por las características que presenta el micelio que se desarrolla en este residuo. (Fuentes-Cantillana 2020).

1.2.2.1. Paja de trigo

La paja de trigo posee un bajo contenido de proteínas lo que la vuelve indigestible desde el punto de vista nutricional para los animales de pastoreo. Su estructura está conformada en su mayoría por compuestos lignocelulósicos, además de que su reproducción cumple con 2 ciclos por lo que, en la agricultura, luego de estos periodos se desecha la planta (Ruilova 2014).

Teniendo en cuenta las características de cada transición energética, se han obtenido las cantidades porcentuales de Componentes disponibles en la paja de trigo (González et al. 2011).

Tabla 1-1: Porcentajes de los componentes principales presentes en la Paja de Trigo.

(%)	Humedad	Nitrógeno	Fibra	Celulosa	Lignina	Hemicelulosa
Paja de trigo	13,61	0,46	57,71	52,11	10,68	20,09

Fuente: Ruilova M, 2014.

La composición de la paja cumple con los requerimientos nutritivos que necesita el *Pleurotus ostreatus* para su desarrollo hasta formar un micelio fructífero, ya que al poseer una humedad baja este hongo en sus primeras etapas puede generar las suficientes hifas para iniciar un proceso reproductivo asexual, además de que la gran presencia de celulosa facilita la conformación del micelio primario, como menciona Ruilova en 2014 en su comparación de crecimiento micelar en residuos lignocelulósicos siendo de los más eficientes el de paja de trigo alcanzando un cuerpo maduro en tan solo 22 días (Ruilova 2014).

1.2.3. Fermentación en estado sólido de residuos lignocelulósicos con *Pleurotus ostreatus*

La Fermentación se define principalmente como el crecimiento de microorganismos en sustratos de tipo sólido sin la presencia de agua libre. Esta técnica se ha desarrollado para la transformación de los compuestos presentes en alimentos o residuos, ya que los microorganismos son los que realizan este proceso pues aprovechan todos los recursos que pueden tener a su disposición como los nutrientes y la cantidad de agua. En cuanto a las condiciones ambientales, la temperatura y el pH son los más importantes que pueden facilitar o limitar el crecimiento de la biomasa que se desarrolla por el crecimiento de los MO's. El consumo de residuos lignocelulósicos como materias primas principalmente surgen como alternativas por su coste económico y de fácil acceso en el país; entre los más destacados se encuentra la alfalfa, la paja de cebada, pastos, tamo de trigo, residuos de maíz, bagazo de caña, residuos de flores (González et al. 2011).

Estos residuos contienen celulosa, lignina y hemicelulosa, polisacáridos esenciales para la producción de la biomasa del *Pleurotus ostreatus* en el proceso de fermentación sólida del micelio se produce una cantidad importante de enzimas que permiten reducir los contenidos lignocelulósicos para usarlos como nutrientes para el crecimiento y la fructificación del hongo. Sin embargo, si la composición de los residuos es de baja calidad afecta directamente en el desarrollo del micelio, ya que este es el principal responsable del proceso de biotransformación (Rosa et al. 2014).

1.2.3.1. Características

Una de las principales características que presenta es que el sustrato no se encuentra disuelto ni en suspensión en una cantidad de agua mayor a la del sustrato en estado sólido, pues se presenta como una propiedad de absorber y contener agua, con o sin nutrientes solubles. Las condiciones naturales de la fermentación reducen la proliferación de bacterias y levaduras con un tiempo de fermentación prolongado ya que el *Pleurotus ostreatus* presenta velocidades de crecimiento rápido con respecto a otros hongos, debido a las condiciones de pH, temperatura y humedad rigurosos para evitar una contaminación del micelio del hongo. (Beltrán Delgado et al. 2021).

1.2.3.2. Factores que intervienen

Temperatura: Este factor depende de la especie de hongo y donde se desarrolle es decir la zona climática pues la temperatura mínima que pueden soportar es 10°C hasta una temperatura de 20°C, esto en condiciones ambientales naturales, es importante mencionar que si se trabaja en laboratorio dependerá del objetivo para trabajar con temperaturas controladas (Feijóo-Vivas et al. 2021).

Humedad y actividad del agua: La humedad debe mantenerse en un porcentaje menor al 50%, aunque para que exista un mejor rendimiento los porcentajes deben establecerse en alrededor del 14,6. La actividad del agua presente es de alrededor de 0,92 con una cantidad alta de agua disponible (Feijóo-Vivas et al. 2021).

pH: el sustrato inicial para el crecimiento del hongo inicia con un pH alcalino, pero en el proceso de degradación terminara siendo de alcalino a acido (Feijóo-Vivas et al. 2021).

Aireación: La aireación se debe mantener puesto que no es anaerobio, el proceso por lo que el sustrato debe estar distribuido homogéneamente para que exista un flujo de aire y facilite la fermentación en especial al inicio de la inoculación (Feijóo-Vivas et al. 2021).

Tamaño de partícula del sustrato: El tamaño de las partículas del sustrato, se encuentra en un rango mayor de 5 mm y no mayor de 11 mm de longitud, esta variedad dependerá del tamaño del sustrato, o cortes que se ajusten, por lo que el peso puede variar entre los 2,5 miligramos y 4,8 miligramos (Feijóo-Vivas et al. 2021).

1.2.4. *Compuestos de micelio*

Los compuestos a partir del micelio son productos innovadores que se reparten en 2 categorías por su diseño micelial vegetativo sobre sustratos lignocelulósico siendo los primeros de tipo espuma y de tipo sándwich (Feijóo-Vivas et al. 2021).

Los de tipo espuma son materiales de baja densidad, con alta porosidad lo que le da unas propiedades mecánicas asimétricas en todas las direcciones; estos no necesitan de un prensado ya que estos se realizan en un microambiente húmedo con una temperatura de entre 24-28°C y en ausencia de luz, dando como resultado final materiales con propiedades similares a la de las espumas de poliestireno expandido que se usan para un aislamiento térmico o acústico, si se prensa estos alcanzan mayor resistencia de tracción por lo que son más efectivos ante aislantes como las espumas de estireno o madera (Feijóo-Vivas et al. 2021).

Los compuestos de tipo sándwich están compuestas de un núcleo micelar que esta recubierto por dos o más capas de fibras hechas de materia lignocelulósico prensado, para tener la forma deseada, esto se realiza con el propósito de detener el crecimiento del micelio, además que al realizarse el micelio se pega de manera que se vuelve un solo bloque, por lo que son estructuras mucho más fuertes que los de tipo espuma, ya que principalmente se las usa en la fabricación de biotextiles y en la construcción por sus propiedades elásticas y de resistencia física-térmica (Feijóo-Vivas et al. 2021).

1.2.5. Packaging o Empaquetamiento

El packaging es el acondicionamiento previo que tiene un producto antes de ser enviado ya que siempre debe ser envuelto, razón por la cual es importante la elección del embalaje del producto. Por lo general siempre se ha procedido a usar productos de plástico como empaquetado principal, antes de ser ubicado dentro de cajas de cartón o de madera sin embargo estos recipientes generan una cantidad absurda de residuos. La espuma de poliestireno expandido es de los recursos más usados dentro del packaging, mayormente usado para proteger el interior de la mercancía, también es usual dentro del traslado de dispositivos electrónicos o automotrices, siendo un material excelente para usarse como amortiguante en caso de un accidente que provoque un daño de los mismos. Por otro lado, los biobasados que se usan en la actualidad han ganado un amplio lugar en el mercado incluso desplazando a los anteriores mencionados, dentro de los sustitutos encontramos papel film y bolsas de plásticas con base de sustrato de almidón de cereal, sin embargo, estos no cumplen una función completa por su rápida degradación. Mientras que los biobasados provenientes del micelio del *Pleurotus ostreatus* se presentan como una alternativa completa al incorporarse a la forma del producto, sea este frágil o resistente, preservan bien la integridad de la mercancía y tienen una alta resistencia mecánica, que es de los principales objetivos que funge el packaging (Figueroa Galvis y Lozada Cedeño 2015).

1.2.5.1. Importancia del packaging en la industria

El packaging dejó de ser una alternativa, siendo, en la actualidad esencial para la distribución de cualquier tipo de productos puesto que se pueden exportar a nivel local e internacional manteniendo las propiedades químico físicas de los productos, además de alcanzar estándares de calidad de nivel internacional (Galvis 2006). Los plásticos han sido materiales importantes dentro del packaging pues tienen una resistencia química, además que es de material ligero con una alta tolerancia mecánica, también posee tolerancia ante la humedad por lo que no se pudre ni se descompone siendo esto último su mayor problema luego de que cumple su función (mantener el producto empaquetado intacto) se desecha y al no ser degradable se acumula generando una descomposición lenta contaminando el ambiente. Por lo que los materiales de empaquetamiento degradables con base de tipo fúngica se presentan como unos grandes sustitutos de los plásticos dentro del packaging pues los micelios del *Pleurotus ostreatus* poseen una gran resistencia mecánica, porosidad, son buenos aislantes térmicos, además que su descomposición es completa al integrarse al ambiente por su composición completamente orgánica, reduciendo impactos ambientales y económicos importantes, con respecto de los plásticos (Galvis 2006).

1.2.5.2. Tendencias actuales del packaging

Entre las tendencias en la actualidad se encuentran los productos menos envasados, con un enfoque sostenible y reutilizable, con esto se ha reducido el uso de plásticos de difícil degradación en los productos, mismos que generan una contaminación muy grave y contribuyen al calentamiento global porque son derivados del petróleo, sin embargo otro problema que surge es la bio acumulación de micro plásticos en plancton en el océano lo cual ocasiona que exista un cambio dentro de la cadena trófica-ecosistémica y futuros problemas a la salud. Varias empresas han optado por la sustitución de estos plásticos por empaques flexibles basados en biomateriales, papel y en plásticos biodegradables, usando técnicas de sellado al vacío para que las propiedades de los productos se mantengan inalterados (Ramón y Ramón 2012).

1.2.6. *Empaquetamiento con compuestos de micelio*

Ecoactive Desing es una empresa pionera en la creación y uso de los materiales biobasados en el micelio de hongos, siendo de las más importantes su marca MycoComposite que es una plataforma de biomateriales que principalmente se basa en el uso del micelio como un aglutinante biológico de auto ensamble con residuos agrícolas, que tiene como resultado un empaque protector que lleva por nombre Mushroom Packaging. Sin embargo, MycoComposite también usa el micelio para tener elementos decorativos hasta paneles de tipo acústico y materiales de construcción (MycoComposting 2021).

1.2.7. *Biodegradabilidad de los compuestos de micelio*

Los compuestos basados en el micelio, tienen un nulo impacto ambiental ya que en los procesos de fabricación no se requiere de implementos de carácter químico, lo que facilita la descomposición del empaque puesto que el micelio al encontrarse en condiciones ambientales sin el sustrato pierden sus características de resistencia de alto impactos y altas temperaturas por lo que se descomponen sus proteínas, en pocos días se reducen alcanzando un impacto cero al ambiente (Ramón y Ramón 2012).

1.3. Marco Legal

1.3.1. *Acuerdo Ministerial N° 019: Expedir Las Políticas Generales Para La Gestión Integral De Plásticos En El Ecuador*

1.3.1.1. *Título 1: Del objeto y ámbito de aplicación*

Art. 1.- El presente acuerdo Ministerial tiene como objeto introducir cambios fundamentales en la forma de consumir de los ecuatorianos y en las formas de producción del sector plástico del país, mediante el fomento de: producción más limpia, eficiencia energética, responsabilidad social; bajo el principio de prevención y responsabilidad extendida.

Instar en sus diferentes etapas de producción y consumo, la reducción de los residuos , al incremento en la producción de materiales con la reutilización de residuos y el reciclaje de materiales que no dañen al ambiente o que al menos reduzcan su incidencia y permanencia en el entorno natural (Ministerio del Ambiente 2014).

1.3.1.2. Título 2: De la producción de productos plásticos

Art. 4.- Se debe fomentar a nivel nacional la investigación, transferencia tecnológica y desarrollo de bioplásticos y plásticos degradables, así como la conformación de laboratorios certificados para verificar que los materiales (polímeros) y aditivos impulsores de la degradación, no afecten al ambiente, por lo que, las entidades de educación superior, institutos de investigación en ciencia y tecnología, organismos públicos y privados, pueden invertir en este tipo de estudios y proyectos para producción de bioplásticos y plásticos degradables en el Ecuador (Ministerio del Ambiente 2014).

Art. 7.- Se debe promover de manera efectiva la reducción en la fuente, que permita minimizar las cantidades de los residuos plásticos a través de diferentes acciones como cambios en el diseño de los productos, mejoramiento de los procesos tecnológicos, o sustitución de materias primas (Ministerio del Ambiente 2014).

1.3.1.3. Título 3: Del consumo de productos plásticos

Art. 10.- Los efectos negativos sobre el ambiente dependen de los hábitos y acciones de las personas, por lo que en las entidades de gobierno competentes deben unir esfuerzos para la efectividad de proyectos de concientización para reducción de una cultura de consumo responsable (Ministerio del Ambiente 2014).

Art. 11.- El ministerio del Ambiente, como Autoridad Ambiental Nacional, promoverá ante las distintas secretarías e instituciones de Estado competentes, la **generación de incentivos y políticas en materia arancelaria a la reducción del uso de plásticos especialmente los de embalaje**, así como al uso de plásticos degradables o compostables en caso de no poder ser reemplazados por otro material amigable con el ambiente (Ministerio del Ambiente 2014).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Obtención del micelio de *P. ostreatus*

Para la obtención y reproducción del micelio se preparó un sustrato primario que en este caso fueron granos de trigo, el cual fue tratado previamente lavándolo para eliminar cualquier impureza y sumergiéndolo en agua a temperatura ambiente durante 24 horas para que adquiriera un 80% de humedad, después se sumergió el grano en una solución de benomil al 0,02% durante 10 minutos para eliminar esporas de hongos de otro tipo. Al grano se le retiró el exceso de agua y se colocó en frascos de vidrio llenándolos hasta sus $\frac{3}{4}$ partes y se introdujeron en el autoclave para esterilizarlos a una temperatura de 121°C por 45 minutos. Transcurrido este tiempo se los dejó enfriar dentro de la cámara de flujo laminar anteriormente esterilizada, cuando el trigo alcanzó la temperatura ambiente se realizó la inoculación de fragmentos del hongo *P. ostreatus* cortándolos directamente de la seta. Por último, los frascos se colocaron en la estufa para incubar el micelio a una temperatura de 28°C durante 12 días.



Figura 1-2: Semillas de trigo invadidas por el micelio del hongo *P. ostreatus*.

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

2.2. Preparación del sustrato

La paja de trigo fue triturada y separada en tres diferentes tamaños, de 1 a 5 mm, de 6 a 10 mm y de 11 a 15 mm; se dejó en remojo durante 24 horas para que adquiriera la humedad adecuada que en este caso fue del 60%, transcurrido este tiempo se retiró el exceso de humedad, luego se

sumergió en una solución de Benomil al 0,02% durante una hora. Después dejó secar al sol para nuevamente eliminar el excedente de agua, se le añadió harina y carbonato de calcio para nutrir y alcanzar el pH requerido por el hongo. Se llevó el sustrato dentro de la cámara de flujo laminar y se colocó dentro de bolsas de plástico previamente esterilizadas.



Figura 2-1: Sustrato: A) 1mm - 5mm, B) 6mm - 10mm, C) 11mm - 15mm y D) Preparación.
Realizado por: Arévalo, V. 2019.

2.3. Inoculación del micelio de *P. ostreatus* en el sustrato

Una vez empacado el sustrato dentro de las bolsas se realizó el cultivo, agregando un 10 % de las semillas de micelio con respecto al peso de la paja que contenía cada bolsa para después ser incubado a una temperatura de aproximadamente de 26°C en un lugar oscuro por un lapso de 30 días. Mientras tanto se monitoreó la colonización del sustrato.



Figura 3-2: Inoculación del micelio de *P. ostreatus* en el sustrato y etapas de colonización.
Realizado por: Arévalo, V. 2019.

2.4. Creación de probetas

El sustrato completamente colonizado fue desmenuzado y puesto en moldes para formar las probetas necesarias para las pruebas de compresión y flexión. Los moldes fueron diseñados según las medidas requeridas por las normas ASTM C165 y ASTM C203. Para realizar las pruebas de compresión se usaron moldes cilíndricos de 16cm de diámetro por 3cm de espesor y para las pruebas de flexión se utilizaron moldes prismáticos de 30cm de largo por 10cm de ancho y 2,5cm de espesor. Una vez formadas las probetas se volvieron a incubar durante 7 días bajo las mismas condiciones para que se produzca una recolonización del sustrato. Al final se las secó en la estufa a 90°C hasta eliminar la humedad completamente.



Figura 4-2: Probetas en el proceso de secado.
Realizado por: Arévalo, V. 2019.

2.5. Pruebas de Compresión y Flexión según las normas ASTM

Las pruebas para determinar las propiedades de resistencia a la compresión se realizaron en la máquina universal de ensayos mecánicos del laboratorio de mecánica de materiales de la Universidad de las Fuerzas Armadas. Previamente se determinaron los parámetros de la máquina según los requerimientos de la norma ASTM C165.

Las pruebas para determinar las propiedades de resistencia a la flexión también se realizaron en la máquina universal de ensayos mecánicos del laboratorio de mecánica de materiales de la Universidad de las Fuerzas Armadas. Previamente se determinaron los parámetros de la máquina según los requerimientos de la norma ASTM 203.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1. Crecimiento micelial.

El crecimiento micelial fue monitoreado semanalmente hasta completar las diferentes fases del experimento, todo el sustrato usado fue colonizado exitosamente por lo que se obtuvieron todas las unidades experimentales previstas para el estudio, con las siguientes características:

Tabla 1-3: Masa en gramos de las probetas para pruebas de resistencia a la compresión.

<i>Nro. De probeta</i>	<i>Granulometría del sustrato</i>		
	1mm - 5mm	6mm - 10mm	11mm - 15mm
1	153,75	135,63	131,4
2	156,17	133,42	136,17
3	152,64	136,52	130,29
4	153,06	138,31	135,06

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

Tabla 2-3: Densidad en kg/m³ de las probetas para pruebas de resistencia a la compresión.

<i>Nro. De probeta</i>	<i>Granulometría del sustrato</i>		
	1mm - 5mm	6mm - 10mm	11mm - 15mm
1	255,10	227,19	219,99
2	257,92	221,74	229,71
3	258,06	227,46	216,68
4	254,00	229,37	223,61

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

Tabla 3-1: Masa en gramos de las probetas para pruebas de resistencia a la flexión.

<i>Nro. De probeta</i>	<i>Granulometría del sustrato</i>		
	1mm - 5mm	6mm - 10mm	11mm - 15mm
1	191,56	169,94	164,97
2	193,96	166,35	172,42
3	193,15	170,84	163,10
4	190,27	172,33	168,27

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

Tabla 4-3: Densidad en kg/m³ de las probetas para pruebas de resistencia a la flexión.

Nro. De probeta	Granulometría del sustrato		
	1mm - 5mm	6mm - 10mm	11mm - 15mm
1	265,76	221,30	219,99
2	260,58	223,60	229,71
3	256,72	228,79	216,68
4	258,00	228,04	220,95

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

3.2. Pruebas de compresión según la norma ASTM C

Los valores obtenidos al 10 y al 25% de deformación sugieren que las probetas con el sustrato de menor granulometría requieren una carga mayor para alcanzar las deformaciones antes mencionadas, por lo que expresan una mayor resistencia a la compresión, como se puede ver en los gráficos siguientes:

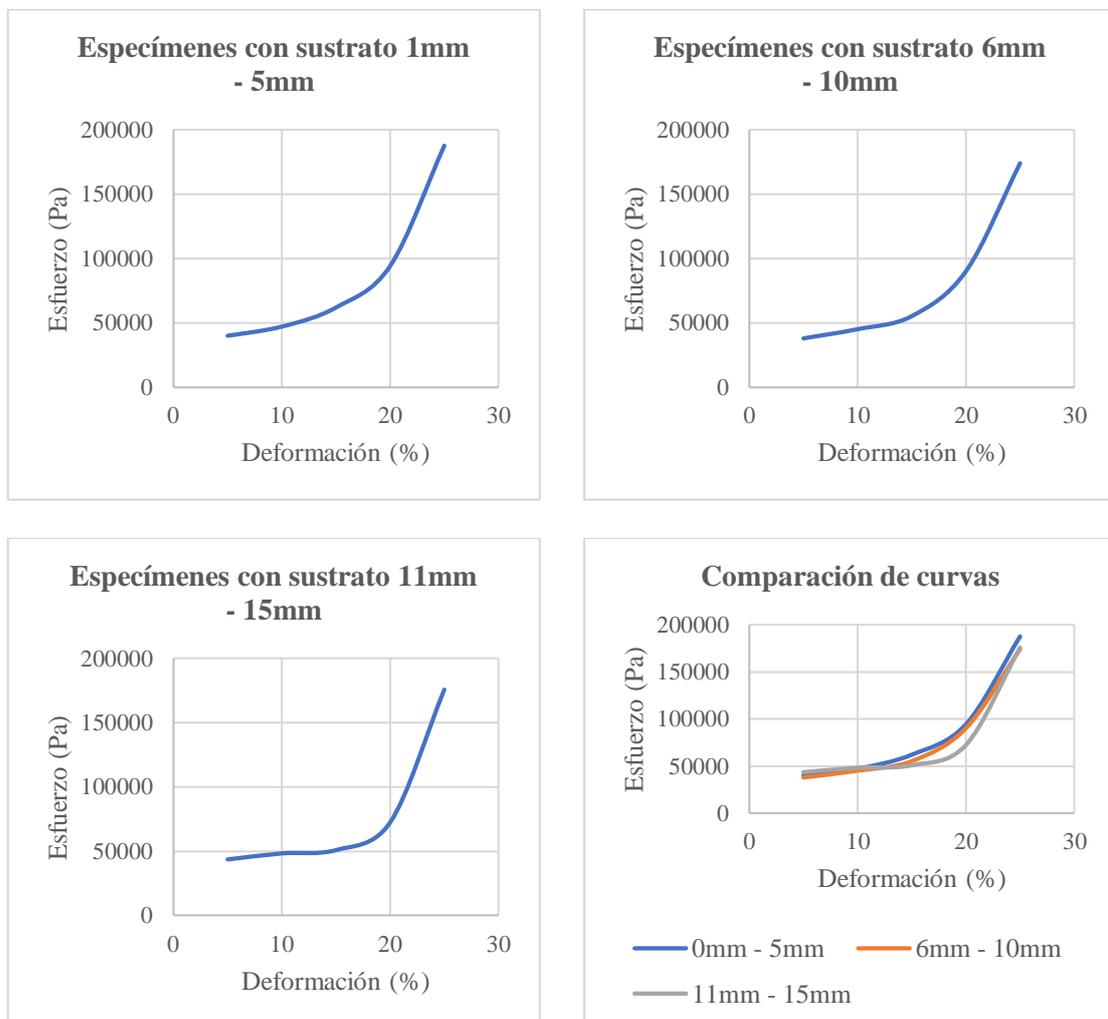


Gráfico 1-3: Curvas de esfuerzo – deformación de la prueba de resistencia a la compresión.

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

En el gráfico 1-3 se puede observar que las probetas se deforman de forma similar, sin embargo, las que tienen un sustrato de menor granulometría aparentan resistir mayor esfuerzo mientras se comprimen.

Tabla 5-3: Valores de resistencia a la compresión “S” en pascales al 10% de deformación.

Nro. De probeta	Granulometría del sustrato		
	1mm - 5mm	6mm - 10mm	11mm - 15mm
1	46414,37	44050,3	48747,02
2	48340,25	44031,98	51258,67
3	45790,1	45012,34	49921,53
4	47692,61	46995,46	42638,03

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

Tabla 6-3: Valores de resistencia a la compresión “S” en pascales al 25% de deformación.

Nro. De probeta	Granulometría del sustrato		
	1mm - 5mm	6mm - 10mm	11mm - 15mm
1	186908,43	166290,2	180933,19
2	193128,67	177931,79	185327,05
3	190147,63	181361,08	169774,39
4	179972,19	170462,15	165892,31

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

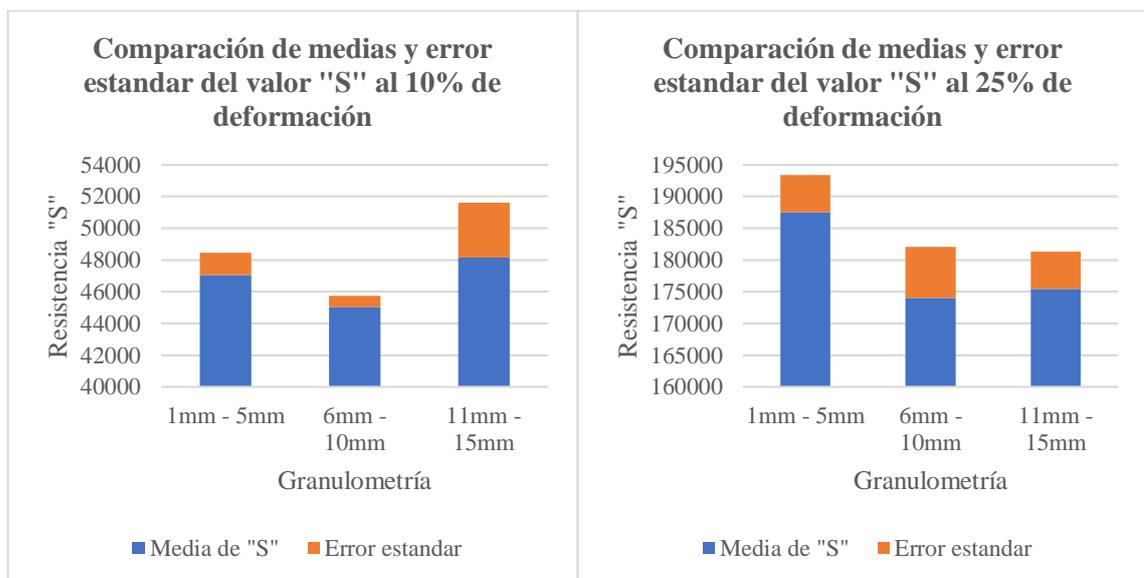


Gráfico 2-3: Comparación de medias de “S” al 10 y 25 % de deformación.

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

Los valores obtenidos en la tabla 5-3 muestran cantidades muy similares de resistencia a la compresión, pero en el gráfico 2-3 se pueden observar diferencias aparentemente significativas entre los tratamientos, además se puede ver que los valores de error estándar son bastante elevados para los rangos de esfuerzo con los que se está trabajando.

3.3. Pruebas de flexión según la norma ASTM C203

Debido a las características del material obtenido fue imposible obtener datos de esfuerzo-deformación ante la fuerza que provoca la flexión. Por este motivo solo se pudo observar la resistencia máxima a la flexión que se requería para provocar la ruptura de las probetas.

Tabla 7-3: Valores de resistencia máxima a la flexión “Smax” para alcanzar la ruptura.

Nro. De probeta	Granulometría del sustrato		
	1mm - 5mm	6mm - 10mm	11mm - 15mm
1	82499,77	57689,42	51277,31
2	91321,96	78072,61	60394,93
3	85341,15	57192,96	55872,19
4	90622,04	65973,33	59337,05

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

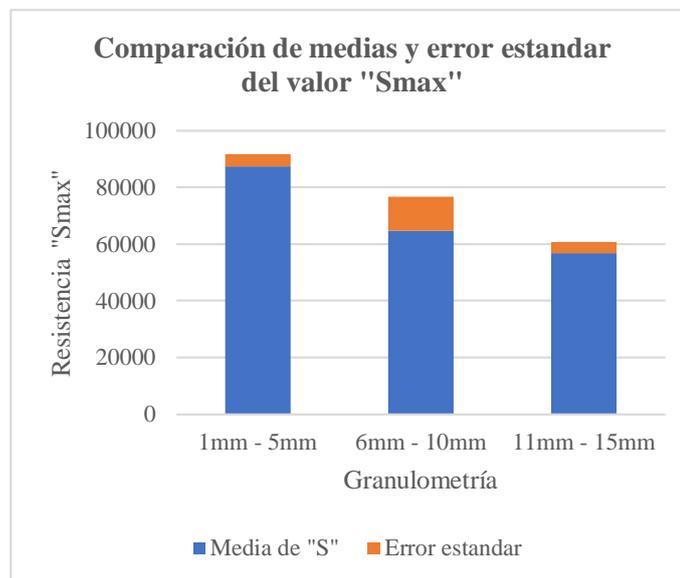


Gráfico 3-1: Comparación de medias de “Smax” para la resistencia a la flexión..

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

La tabla 7-3 y el gráfico 3-3 muestran que las probetas aparentemente tienen uniformidad y una tendencia a reducir la resistencia al a flexión a medida que cambia la granulometría del sustrato, lo que se esperaba observar. Comparados con los gráficos anteriores, estos no presentan un error estándar tan pronunciado.

3.4. Análisis estadístico

Se deseaba realizar una comparación de la diferencia entre cada tratamiento para los resultados obtenidos por lo que se decidió utilizar un diseño experimental de comparación de varianzas, existen diferentes métodos, pero se optó por el análisis de varianza ANOVA. Para lo cual se debía determinar la normalidad y la homocedasticidad de los datos. Los supuestos de normalidad fueron comprobados mediante la prueba de Shapiro – Wilks y de homocedasticidad mediante la prueba de Levene. A continuación, se muestran los resultados con su respectiva interpretación:

Tabla 8-3: Test de Shapiro – Wilks para las pruebas de compresión y flexión.

<i>“S” al 10% de deformación</i>			
	1mm - 5mm	6mm - 10mm	11mm - 15mm
<i>W-stat</i>	0,95076546	0,83012699	0,86052844
<i>P-value</i>	0,72090028	0,16813346	0,26210969
<i>Alpha</i>	0,05	0,05	0,05

<i>“S” al 25% de deformación</i>			
	1mm - 5mm	6mm - 10mm	11mm - 15mm
<i>W-stat</i>	0,95983549	0,95180874	0,92307711
<i>P-value</i>	0,7778739	0,72742946	0,55433309
<i>Alpha</i>	0,05	0,05	0,05

<i>“Smax” de flexión</i>			
	1mm - 5mm	6mm - 10mm	11mm - 15mm
<i>W-stat</i>	0,89393378	0,86615599	0,92467579
<i>P-value</i>	0,40155628	0,28287123	0,56347131
<i>Alpha</i>	0,05	0,05	0,05

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

En la tabla 8-3 todos los valores de p son mayores que alfa, por lo que se acepta la hipótesis nula “Ho”, la población de estudio está distribuida normalmente. Es decir, se cumple el supuesto de normalidad, por lo que se puede proseguir con la siguiente prueba.

Los resultados de la prueba de Levene se obtuvieron realizando un análisis de varianza a los valores absolutos de los residuos de la variable con respecto a cada tratamiento que influye en el diseño experimental.

Tabla 9-3: Prueba de Levene para los ensayos de compresión y flexión.

“S” al 10% de deformación

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>	<i>Valor F</i>
<i>Entre grupos</i>	9439808,45	2	4719904,22	2,7083	0,12000	4,25649473
<i>Dentro de los grupos</i>	15684634,3	9	1742737,14			
<i>Total</i>	25124442,7	11				

“S” al 25% de deformación

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>	<i>Valor F</i>
<i>Entre grupos</i>	25349118,2	2	12674559,1	1,8926	0,20600	4,25649473
<i>Dentro de los grupos</i>	60269886,2	9	6696654,02			
<i>Total</i>	85619004,4	11				

“Smax” de flexión

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>	<i>Valor F</i>
<i>Entre grupos</i>	42005208	2	21002604	2,1306	0,1747	4,25649473
<i>Dentro de los grupos</i>	88717204,8	9	9857467,2			
<i>Total</i>	130722413	11				

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

En la tabla 9-3 todos los valores p son mayores a $\alpha=0,05$, lo cual es indicativo de que las varianzas son homogéneas, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula, es decir, los datos cumplen con el supuesto de homocedasticidad.

Una vez comprobado que se cumple con las condiciones antes expuestas, se realizó el análisis de varianza ANOVA para determinar si existen diferencias significativas en cada tratamiento aplicado al experimento.

Tabla 10-3: ANOVA para la resistencia a la compresión al 10% de deformación.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>	<i>Valor F</i>
<i>Entre grupos</i>	20061536,7	2	10030768,4	1,689	0,23820	4,25649473
<i>Dentro de los grupos</i>	53427786,9	9	5936420,76			
<i>Total</i>	73489323,6	11				

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

Tabla 11-3: ANOVA para la resistencia a la compresión al 25% de deformación.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>	<i>Valor F</i>
<i>Entre grupos</i>	440733473	2	220366737	4,0601	0,0553	4,25649473
<i>Dentro de los grupos</i>	488484400	9	54276044,4			
<i>Total</i>	929217873	11				

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

En las tablas 10-3 y 11-3 correspondientes a los análisis de varianza de resistencia a la compresión en deformaciones de 10 y de 25% se obtuvieron valores p mayores a $\alpha=0,05$, lo que significa que no existen diferencias significativas en los tratamientos sobre la variable respuesta.

Tabla 12-3: ANOVA para la resistencia a la flexión.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor-p</i>	<i>Valor F</i>
<i>Entre grupos</i>	2032264773	2	1016132387	23,410	0,0002	4,25649473
<i>Dentro de los grupos</i>	390649430	9	43405492,2			
<i>Total</i>	2422914203	11				

Realizado por: Arévalo, V. 2019.

En el caso del análisis de varianza para la prueba de resistencia a la flexión el valor p es menor a $\alpha=0,05$, por lo tanto, se debe rechazar la hipótesis nula, es decir, existe diferencia significativa entre los tratamientos.

Los resultados obtenidos demuestran que la granulometría del sustrato no afecta de manera significativa al parámetro de compresión que se han medido, sin embargo, en los valores y gráficos se observa que el sustrato de menor granulometría presenta características más estables que en los sustratos de granulometría mayor.

3.5. Discusión

Las densidades del poliestireno expandido que se encuentran normalmente en el mercado y es usado como material de empaquetamiento, está entre los $\sim 15\text{kg/m}^3$ hasta los $\sim 65\text{kg/m}^3$ (JEC Composites, 2016). En este estudio las densidades que se lograron en el llamado compuesto de micelio van desde los $265,76\text{kg/m}^3$ hasta los $216,68\text{kg/m}^3$, aunque coinciden con otros estudios en los que se han usado residuos agrícolas variados como fuente de carbono, donde se obtienen densidades de 90 a 400kg/m^3 aproximadamente (van Kuijk et al., 2016).

La resistencia a la compresión al 10 de deformación del EPS oscila entre los ~90,0 kPa hasta ~551,6 kPa y su resistencia a la flexión puede estar entre los ~200,0 kPa hasta ~870,8 kPa con respecto a las densidades antes mencionadas (JEC Composites, 2016).

Los valores mayores de resistencia a la compresión al 10% y a la flexión que se encontraron en este estudio fueron de 51,26 kPa y de 91,32 kPa respectivamente, por ende, sus propiedades mecánicas son parecidas a las del poliestireno expandido, pero su densidad es demasiado alta, esto podría afectar a los usos que se le puede dar al material.

Ya que existe un error estándar bastante significativo en las mediciones de resistencia a la compresión como se puede observar en el gráfico 3-2 se deben hacer algunas suposiciones, se puede decir que las probetas que resistieron más la compresión tenían dentro de su estructura partículas del sustrato, dispuestas de tal forma que fungían como si se tratase de columnas, lo cual cambiaría por completo la medición.

En un estudio parecido donde usaron fibras de algodón y cáñamo como sustrato para el cultivo del hongo se estudiaron los efectos de la compresión al 60% de deformación, obteniendo valores desde 600 kPa hasta 1180 kPa (Ziegler, Bajwa, Holt, McIntyre, & Bajwa, 2016). Diferentes autores cambian la fórmula del sustrato como en el estudio publicado en la Revista de Ingeniería Aplicada a la Agricultura donde se utilizaron solo cáscaras de algodón, pero se reportaron resistencias máximas de 7 kPa hasta 26 kPa, cantidades inferiores a los encontrados en este y otros estudios (Holt et al., 2012).

Gracias a la estructura que forja el micelio por medio de su crecimiento en el sustrato se pueden seguir obteniendo diferentes consistencias en el material biobasado en hongos, como se hace cuando se modifican las densidades de la EPS, la resistencia que se obtiene es muy parecida, por lo que este producto puede ser usado como material de empaquetamiento.

Debido a las propiedades biodegradables que tiene, se debe considerar seriamente su estudio hasta alcanzar el objetivo principal que sería la producción en masa, con la finalidad de crear una economía circular y dejar de depender tanto de los plásticos basados en petróleo que contaminan el planeta.

CONCLUSIONES

El inocular micelio del hongo *Pleurotus ostreatus* en paja de trigo dio como resultado un material de características muy similares al que se utiliza para el empaquetamiento en diferentes industrias, sin embargo, todavía no puede ser utilizado para este fin porque deben realizarse más estudios que permitan obtener un material más uniforme y acorde a los estándares que exigen las normas de empaquetamiento y transporte de productos.

La obtención y reproducción del micelio de este hongo en específico es relativamente fácil, por lo que se puede producir a gran escala para cualquier aplicación que se le pueda dar a futuro, no solo como material si no también como alimento.

El micelio del hongo puede adquirir cualquier forma que se necesite, siempre y cuando el sustrato tenga las características adecuadas ya que este invade todos los espacios mientras se alimenta del sustrato, lo cual permite moldearlo.

El material de empaque elaborado usando paja de trigo como fuente de carbono para el crecimiento micelial, tiene densidades muy altas con relación a las propiedades mecánicas que ofrecen.

RECOMENDACIONES

El sustrato debería ser mezclado con otras fuentes de carbono ligeras y de baja densidad para obtener una mejor relación entre este factor y la resistencia necesaria, esto también podría mejorar la elasticidad del producto.

Al mejorar la elasticidad del producto se podrán obtener datos más precisos porque el módulo de ruptura en la resistencia a la flexión será más alto y existirá deformación antes de que la probeta llegue al fallo.

BIBLIOGRAFÍA

AGUILAR PUMAHUILLCA, F., HUAMÁN HUAMÁN, H. y HOLGADO ROJAS, M., CHARACTERIZATION OF *Pleurotus* sp. ISOLATED FROM KORIMANI NATIVE COMMUNITY, KITENI-ECHARATE TOWN CENTER, LA CONVENCION, CUSCO, PERU. *Ecologia Aplicada*, vol. 18, no. 1, pp. 45-50. 2019. ISSN 1726-2216.

ASTM. STANDARD TEST METHOD FOR MEASURING COMPRESSIVE PROPERTIES OF THERMAL INSULATIONS. ASTM STANDARDS, i(C), 3–7. 2013. <https://doi.org/10.1520/C0165-07R12.2>.

ASTM. STANDARD TEST METHODS FOR BREAKING LOAD AND FLEXURAL PROPERTIES OF BLOCK-TYPE, i(Reapproved 2012), 1–7. 2013. <https://doi.org/10.1520/C0203-05AR12.1.5>

BELTRÁN DELGADO, Y., MORRIS QUEVEDO, H., DOMÍNGUEZ, O.D., BATISTA CORBAL, P. y LLAURADÓ MAURY, G., Mycochemical composition and antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus* mushroom in different growth stages. *Acta Biologica Colombiana*, vol. 26, no. 1, pp. 89-98. 2021. ISSN 19001649. DOI 10.15446/abc.v26n1.84519.

COELLO PAREDES, J.M., Aplicación del hongo *Pleurotus ostreatus* como alternativa para la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados. *Escuela Superior Politécnica del Litoral*, 2011. pp. 49.

FEIJÓO-VIVAS, K., BERMÚDEZ-PUGA, S.A., HERNÁN-REBOLLEDO, FIGUEROA, J.M., ZAMORA, P. y NARANJO-BRICEÑO, L., Fungal mycelium-bioproducts development: A new material culture and its impact on the transition to a sustainable economy. *Revista Bionatura*, vol. 6, no. 1, 2021, pp. 1637-1652. ISSN 13909355. DOI 10.21931/RB/2021.06.01.29.

FERNÁNDEZ, N., GAGGINO, R., POSITIERI, M.J. y KREIKER, J., Materiales biopoliméricos desarrollados a partir de micelio y residuos lignocelulósicos. Estado de la técnica actual y perspectivas de aplicación en el campo del hábitat. *Ajea*, no. 5. 2020. ISSN 2683-8818. DOI 10.33414/ajea.5.774.2020.

FIGUEROA GALVIS, H.A. y LOZADA CEDEÑO, D.L., Evaluación de tres residuos lignocelulósicos para la producción de *Pleurotus ostreatus* bajo condiciones controladas en la finca Berlín, San Benito, Santander. 2015, pp. 1-133.

FUENTES-CANTILLANA, I., Bio Fabricación: Micelio como material de construcción:

biocomposite en sustratos lignocelulósicos., 2020, pp. 116.

GALVIS, N., BENEFICIOS DE LA COMERCIALIZACIÓN DEL HONGO COMESTIBLE. *Vascular Embolotherapy*, 2006, pp. 107-118.

GONZÁLEZ, C.G., ALPÍREZ, G.M., ALBERTO, M. y ORTEGA, C., Biocombustibles : una alternativa para la disposición de residuos del cultivo de trigo en el Valle de Mexicali. *Hacia la sustentabilidad: Los residuos sólidos como fuente de energía y materia prima*, 2011, pp. 337-342.

HERNANDEZ, R. y LÓPEZ, C., EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DE *Pleurotus ostreatus* SOBRE DIFERENTES RESIDUOS AGROINDUSTRIALES DEL DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA RICARDO., 2004, pp. 6.

HOLGADO-ROJAS, M.E., ARANZABAL CARRASCO, R.L., LAZARTE LOVATON, R., QUISPE PELÁEZ, A., PÉREZ LEGUÍA, K.A., AGUILAR MAINICTA, F.B. y AGUILAR PUMAHUILLCA, F., CULTIVO DE *Pleurotus* sp. Y *Lentinula edodes* BAJO CONDICIONES ARTESANALES EN COMUNIDADES CAMPESINAS DE LA REGIÓN CUSCO / PERÚ. *Ecología Aplicada*, vol. 18, no. 2, 2019, pp. 125. ISSN 1726-2216. DOI 10.21704/rea.v18i2.1331.

HOLT, G. A., MCINTYRE, G., FLAGG, D., BAYER, E., WANJURA, J. D., & PELLETIER, M. G. Fungal mycelium and cotton plant materials in the manufacture of biodegradable molded packaging material: Evaluation study of select blends of cotton byproducts. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 6(4), 2012, 431–439. <https://doi.org/10.1166/jbmb.2012.1241>

INEC. Información Ambiental en Hogares Junio 2016, 1–39. 2016. Retrieved from http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/Hogares/Hogares_2016/Documento tecnico.pdf

JEC COMPOSITES. Properties, Performance of Expanded Fundamentals and Design Polystyrene Packaging. 2016. [Www.Jecomposites.Com](http://www.jecomposites.com). EPS Recycling Advancements & Technology Innovations. Retrieved from <http://www.jecomposites.com/knowledge/end-use-applications>

MAGAE, Y. y MAGAE, J., Effect of staurosporine on growth and hyphal morphology of *Pleurotus ostreatus*. *Journal of General Microbiology*, vol. 139, no. 1, 1993, pp. 161-164. ISSN 00221287. DOI 10.1099/00221287-139-1-161.

MYCOCOMPOSTING, *Licensing — Mushroom® Packaging*. 2021. S.l.: s.n.

PAREDES-JUÁREZ, A.K., VILLEGAS-VILLAREAL, E., DÍAZ-GODÍNEZ, R. y DÍAZ-

GODÍNEZ, G., Applications of laccase enzymes of *Pleurotus ostreatus*. *Mexican Journal of Biotechnology*, vol. 2, no. 1, 2017, pp. 134-144. ISSN 2448-6590. DOI 10.29267/mxjb.2017.2.1.135.

PEREZ, Briceyda, Descripción de las características macroscópicas, de cultivo in vitro DE CEPAS DE *Pleurotus AISLADAS EN GUATEMALA*, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 2006.

RAMÓN, P. y RAMÓN, D., Análisis de la capacidad degradativa de residuos lignocelulósicos utilizando el hongo *Pleurotus ostreatus* var. Florida. , 2012, pp. 122.

ROSA, D.C., BERMÚDEZ, C., NORA, D.C. y ODUARDO, G., Conversión de residuales agroindustriales en productos de valor agregado por fermentación en estado sólido. *Tecnología Química*, vol. 34, no. 3, 2014, pp. 263-274. ISSN 2224-6185. DOI 10.1590/2224-6185.2014.3.%x.

RUILOVA, M., Evaluación de residuos agrícolas para la producción del hongo *Pleurotus ostreatus*. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, vol. 48, no. 1, 2014, pp. 54-59. ISSN 0138-6204.

SÁNCHEZ, C., Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 85, no. 5, 2010, pp. 1321-1337. ISSN 01757598. DOI 10.1007/s00253-009-2343-7.

SHRADDHA, SHEKHER, R., SEHGAL, S., KAMTHANIA, M. y KUMAR, A., Laccase: Microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. *Enzyme Research*, vol. 2011, no. 1, 2011, ISSN 20900406. DOI 10.4061/2011/217861.

TANIGUCHI, M., SUZUKI, H., WATANABE, D., SAKAI, K., HOSHINO, K. y TANAKA, T., Evaluation of pretreatment with *Pleurotus ostreatus* for enzymatic hydrolysis of rice straw. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 100, no. 6, 2005, pp. 637-643. ISSN 13891723. DOI 10.1263/jbb.100.637.

T, N.S.D. La, G, D.B., S, O.C., A, A.O., BRAVO, M., C, R.L., B, E.B., CARHUANCHO, H. y ROSA, A., Estudio Del Valor Nutricional Y Propiedades Fisicoquímicas Y Bioquímicas De *Pleurotus Ostreatus*. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, vol. 7, no. 2, 2004, pp. 40-44. ISSN 1609-7599.

VAN KUIJK, S. J. A., SONNENBERG, A. S. M., BAARS, J. J. P., HENDRIKS, W. H., & CONE, J. W., The effect of particle size and amount of inoculum on fungal treatment of wheat straw and wood chips. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 7(1), 2016, 1-9.

<https://doi.org/10.1186/s40104-016-0098-4>

ZIEGLER, A. R., BAJWA, S. G., HOLT, G. A., MCINTYRE, G., & BAJWA, D. S.,
Evaluation of physico-mechanical properties of mycelium reinforced green biocomposites made
from cellulosic fibers. *Applied Engineering in Agriculture*, 32(6), 2016, 931–938.

<https://doi.org/10.13031/aea.32..11830>





**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE
CHIMBORAZO**

**DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS DEL
APRENDIZAJE**



UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS
REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 28 / 06 / 2022

INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellidos: VÍCTOR PATRICIO ARÉVALO MEDINA
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: CIENCIAS
Carrera: INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL
Título a optar: INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL
f. Analista de Biblioteca responsable: INGENIERO JHONATAN PARREÑO



1377-DBRA-UPT-2022