



**ESPE**

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA  
AGRICULTURA**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO  
DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA**

**TEMA:**

**“Comparación de distintas composiciones granulométricas en la  
formulación de sustratos para el crecimiento de *Pleurotus* spp. en la  
fabricación de materiales biodegradables de empaque”**

**AUTOR: GARRIDO RIVERA, FRANCISCO JAVIER**

**DIRECTOR: ING. VARGAS VERDESOTO, RAFAEL**

**SANGOLQUÍ**

**2019**



# ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

## CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, “Comparación de distintas composiciones granulométricas en la formulación de sustratos para el crecimiento de *Pleurotus spp.* en la fabricación de materiales biodegradables de empaque” fue realizado por el señor FRANCISCO JAVIER GARRIDO RIVERA el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 31 de enero de 2019

ING. RAFAÉL VARGAS VERDESOTO

DIRECTOR

CC: 1708200538



# ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

### AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, FRANCISCO JAVIER GARRIDO RIVERA, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación “Comparación de distintas composiciones granulométricas en la formulación de sustratos para el crecimiento de *Pleurotus spp.* en la fabricación de materiales biodegradables de empaque” es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz.

Sangolquí, 31 de enero de 2019

Una firma manuscrita en tinta azul que dice "Francisco Garrido".

FRANCISCO JAVIER GARRIDO RIVERA

CC: 1003706718



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

### AUTORIZACIÓN

Yo, Apellidos, **FRANCISCO JAVIER GARRIDO RIVERA** autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: “**Comparación de distintas composiciones granulométricas en la formulación de sustratos para el crecimiento de *Pleurotus spp.* en la fabricación de materiales biodegradables de empaque**” en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 31 de enero de 2019

FRANCISCO JAVIER GARRIDO RIVERA

CC: 1003706718

## DEDICATORIA

A mi papá, Francisco también, que con su ejemplo y enseñanza inculcó en mí, desde muy pequeño, la curiosidad y el amor por las ciencias.

A mi mamá, Teresa, que durante toda mi vida ha sido un pilar incansable, me ha enseñado con su ejemplo, que la perseverancia y el trabajo duro pueden vencer cualquier adversidad.

Ambos han sido el mayor referente para mí, y mi auxilio ante cualquier altibajo.

A mis hermanos y confidentes, Johan y Sofía. No podría tener nunca mejor compañía, y aunque nos encontremos distantes a veces, siempre caminamos juntos.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE, por brindarme la oportunidad de formarme de una manera íntegra, por haberme apoyado y dejarme soñar y experimentar en sus laboratorios, por los recursos que permitieron la realización del presente trabajo, por la calidad humana que allí encontré y con la que me pude relacionar, y finalmente por la infinita cantidad de experiencias que durante mi estadía pude coleccionar y atesorar.

Al Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura, por brindarme el apoyo necesario para que lo que en su momento fue una idea, sea algo palpable el día de hoy.

Al Ing. Rafael Vargas por haberme dirigido, siempre guiando y aconsejando, pero dejando que sea mi iniciativa y creatividad el impulso para la realización del presente trabajo.

A la Dra. María Emilia Medina, por abrirme las puertas del Laboratorio de Microbiología de Suelos, depositar en mí su confianza y permitirme hacer uso de las instalaciones sin limitaciones, a pesar de que el presente trabajo no se relaciona con las actividades allí relacionadas.

A Francisco Mosquera, una persona de valores y calidad incuestionable, con quien he discutido incansablemente las ideas expresadas en este documento.

A mis compañeros, compañeras, amigos y amigas, quienes hicieron de mi paso por la universidad una experiencia inigualable.

**TABLA DE CONTENIDOS**

DEDICATORIA .....	iv
AGRADECIMIENTOS .....	v
LISTADO DE TABLAS .....	viii
LISTADO DE FIGURAS .....	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT .....	xi
CAPÍTULO I: Introducción. ....	1
1.1. Definición del Problema.....	1
1.2. Justificación del Problema. ....	2
1.3. Objetivos de la Investigación. ....	4
1.3.1. Objetivo General.....	4
1.3.2. Objetivos específicos.....	4
1.4. Marco teórico. ....	5
1.4.1. Género <i>Pleurotus</i> . ....	5
1.4.1.1. Generalidades.....	5
1.4.1.2. Aplicaciones Biotecnológicas. ....	7
1.4.1.2.1. Biorremediación. ....	7
1.4.1.2.2. Producción de pulpa y papel.....	8
1.4.1.2.3. Obtención de biocombustibles.....	8

	vii
1.4.1.2.4. Valorización de los residuos lignocelulósicos. ....	9
1.4.1.3. Cultivo de Setas. ....	9
1.4.2. Packaging o Empaque. ....	10
1.4.2.1. Importancia del Packaging en la Industria.....	10
1.4.2.2. Tendencias del Packaging actual.....	11
CAPÍTULO 2: Metodología .....	12
2.1. Preparación de Sustratos .....	12
2.2. Cultivo y Crecimiento de <i>Pleurotus spp.</i> .....	13
2.3. Pruebas de Propiedades de Compresión y Flexión.....	15
2.4. Análisis estadístico .....	17
CAPÍTULO 3: Resultados.....	17
3.1. Crecimiento, colonización de sustratos y recolonización en moldes. ....	17
3.2. Pruebas de flexión según norma estandarizada ASTM C203. ....	23
3.3. Análisis estadístico. ....	24
CAPÍTULO 4: Discusión.....	29
CAPÍTULO 5: Conclusiones y Recomendaciones.....	32
CAPÍTULO 7: Bibliografía.....	34

## LISTADO DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> <i>Composiciones porcentuales de los sustratos secos.....</i>	12
<b>Tabla 2.</b> <i>Valores del peso de las probetas para pruebas de compresión.....</i>	19
<b>Tabla 3.</b> <i>Valores de densidad de las probetas para pruebas de compresión.....</i>	19
<b>Tabla 4.</b> <i>Valores medios <math>\pm</math> error estándar de resistencia S de compresión para una deformación de 10% por tratamientos.....</i>	22
<b>Tabla 5.</b> <i>Valores medios <math>\pm</math> error estándar de resistencia S de compresión para una deformación de 25% por tratamientos.....</i>	22
<b>Tabla 6.</b> <i>Valores medios <math>\pm</math> error estándar de la resistencia máxima <math>S_{m\acute{a}x}</math> a la flexión para causar ruptura por flexión, por tratamientos.....</i>	24
<b>Tabla 7.</b> <i>Prueba de Shaphiro-Wiks para verificar la normalidad del conjunto de datos de cada variable de respuesta.....</i>	25
<b>Tabla 8.</b> <i>Prueba de Levene para la Resistencia S de compresión para alcanzar una deformación del 10%.....</i>	26
<b>Tabla 9.</b> <i>Prueba de Levene para la Resistencia S de compresión para alcanzar una deformación del 25%.....</i>	26
<b>Tabla 10.</b> <i>Prueba de Levene para la resistencia máxima <math>S_{m\acute{a}x}</math> de flexión .....</i>	26
<b>Tabla 11.</b> <i>Análisis de varianzas ANOVA con respecto a la resistencia S de compresión para una deformación del 10%.....</i>	27
<b>Tabla 12.</b> <i>Análisis de varianzas ANOVA con respecto a la resistencia S de compresión para una deformación del 25%.....</i>	27
<b>Tabla 13.</b> <i>Análisis de varianzas ANOVA con respecto a la resistencia máxima <math>S_{m\acute{a}x}</math> de flexión.....</i>	27
<b>Tabla 14.</b> <i>Comparación múltiple de la resistencia S de compresión para una deformación del 10%.....</i>	28
<b>Tabla 15.</b> <i>Comparación múltiple de la resistencia S de compresión para una deformación del 25%.....</i>	28
<b>Tabla 16.</b> <i>Comparación múltiple de la resistencia máxima <math>S_{m\acute{a}x}</math> de flexión .....</i>	28

## LISTADO DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fracciones de A) aserrín fino B) y grueso. ....	13
<b>Figura 2.</b> Inoculación de sustratos, en cámara de flujo laminar, con micelio expandido sobre semilla.....	13
<b>Figura 3.</b> Detalle del micelio de A) <i>Pleurotus ostreatus</i> ; B) <i>Pleurotus eryngii</i> expandido sobre cebada utilizado como semilla.....	14
<b>Figura 4.</b> Secado de las probetas en la estufa.....	15
<b>Figura 5.</b> Toma de mediciones de las probetas. ....	16
<b>Figura 6.</b> Prueba de compresión. A) Momento inicial del ensayo. B) Probeta sometida a compresión.....	16
<b>Figura 7.</b> Pruebas de Flexión.....	17
<b>Figura 8.</b> Comparativo de la colonización.....	18
<b>Figura 9.</b> Probetas para pruebas mecánicas. ....	18
<b>Figura 10.</b> Gráfica de barras del peso de las unidades experimentales por tratamiento.....	20
<b>Figura 11.</b> Gráfico de barras de la densidad de las unidades experimentales por tratamiento.....	20
<b>Figura 12.</b> Curvas de esfuerzo – deformación muestran que el material incrementa su rigidez conforme aumenta la carga aplicada.....	21
<b>Figura 13.</b> Gráfico de barras de la Resistencia S de compresión para una deformación del 10%.....	22
<b>Figura 14.</b> Gráfico de barras de la Resistencia S de compresión para una deformación del 25%.....	23
<b>Figura 15.</b> Gráfico de barras de la resistencia S de compresión necesaria para alcanzar una deformación, del 10% (gris) y del 25% (negro).....	23
<b>Figura 16.</b> Gráfico de barras de la resistencia máxima $S_{m\acute{a}x}$ a la flexión, por tratamientos.....	24

## RESUMEN

El uso de poliespumas no reciclables ni biodegradables en productos de un solo uso, ha convertido a este material en un componente mayoritario de la basura urbana y desechos marinos. La sustitución de plásticos por materiales biodegradables es una urgencia de la sociedad moderna. El uso de micelio de hongos es una solución viable, efectiva en costos a gran escala, amigable con el medioambiente y que engrana con los principios de economía circular y consumo sostenible. Se examinan las resistencias de compresión y de flexión de un material hecho de micelio de *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus eryngii* cultivados en sustratos de distintas granulometrías bajo las normas ASTM C165 y ASTM C203. Los resultados indican que existe un efecto significativo de la granulometría del sustrato sobre las propiedades mecánicas del material. La mezcla con mayor porcentaje de partículas finas, alcanzó resistencias de compresión de 87,042 kPa y 253,45 kPa para deformaciones del 10% y 25% respectivamente. También se midió un valor de 180,21 kPa para la resistencia máxima de flexión. Los materiales exhibieron densidades de 260 Kg/m<sup>3</sup> hasta 338 Kg/m<sup>3</sup>. Las propiedades mecánicas y el origen biológico, además de la biodegradabilidad del material lo convierten en una alternativa al uso de poliestireno amigable con el medioambiente.

### PALABRAS CLAVE:

- **BIOMATERIALES DE MICELIO**
- *Pleurotus* spp.
- **PROPIEDADES MECÁNICAS.**

## **ABSTRACT**

The use of non-recyclable or degradable Styrofoam in single use products has become this material in a major component of urban waste and marine debris. The replacement of plastics with biodegradable materials is a modern society urgencie. The use of fungi mycelium is a viable solution, cost-effective at bigger scales, eco-friendly, and it goes with the circular economy principles and sustainable consumption. The compression and flexural strengths of a material made of mycelium of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*, grown on substrates of different granulometries, are examined under ASTM C165 and ASTM C203 standards. The results indicate that there is a significant effect by the granulometry of the substrate on the mechanical properties of the material. The mixture with highest percentage of fine particles reached compression strength values of 87,042 kPa and 253.45 kPa for deformations of 10% and 25% respectively. A value of 180.21 kPa is also found for the maximum flexural strength. The materials showed densities of 260 Kg / m<sup>3</sup> up to 338 Kg / m<sup>3</sup>. The mechanical properties and the biological origin, as well as the biodegradability of the material turn it into an eco-friendly alternative for the use of polystyrene.

## **KEY WORDS:**

- **MYCELIUM BIOCOMPOSITES.**
- *Pleurotus* spp.
- **MECHANICAL PROPERTIES.**

## **CAPÍTULO I: Introducción.**

### **1.1. Definición del Problema.**

El plástico desde su invención resultó ser un material versátil, capaz de solventar muchos de los requerimientos del mercado, sin embargo el abuso de este material ha generado necesidades inexistentes y usos exagerados. En el año 2015 la demanda global de plásticos fue de 322 millones de toneladas, de las cuales el 39,6% corresponde a aplicaciones de empaques de productos, y un 20,3% a su uso en el sector de la construcción (Reyners, 2017).

Desde su invención en 1954, el poliestireno expandido ha servido para aplicaciones de empaque de todo tipo de productos, desde electrodomésticos y línea blanca hasta empaques de alimentos y productos descartables (Bellis, 2011). En tanto que desde 1950, la producción anual de plásticos se ha incrementado desde 1,7 millones de toneladas a 311 millones de toneladas en el año 2014 (Jang et al., 2016).

Debido a su producción en masa, y a su alta persistencia en el planeta, el plástico se ha convertido en un contaminante de alta prevalencia en los océanos a nivel global. Los efectos adversos de esta acumulación de basura afectan a los ecosistemas marinos. El costo económico de dichas afectaciones a los océanos asciende a \$ 13 billones de dólares anuales, a causa de las pérdidas en pesca, turismo, navegación y limpieza de las playas (Jang et al., 2016).

La producción de poliespumas genera el segundo peor impacto al medioambiente, solo después de la producción de aluminio, en términos de consumo de energía y emisiones

de gas invernadero. El uso de este material en productos descartables o de un solo uso, ha convertido al poliestireno en un componente mayoritario de la basura urbana y desechos marinos, principalmente porque estos productos no son reciclables o biodegradables (Jang et al., 2016).

## **1.2. Justificación del Problema.**

En el país, los enfoques ecológicos son recientes, pero se evidencia una creciente preocupación por parte de la población en cuanto a temas medioambientales. Así han empezado a aparecer recientes iniciativas sobre ordenanzas que buscan prohibir el uso de plástico en sus aplicaciones desechables. Datos del Instituto Ecuatoriano de Estadísticas y Censos (INEC) muestran que en la región insular, donde se llevó a cabo una campaña de reducción del uso de fundas, muestran un incremento desde el 20,93% en el 2014, al 71,23% en el año 2016, en el porcentaje de familias del archipiélago que utilizan bolsas de tela o de algún otro material reutilizable al momento de comprar abastos (INEC, 2016).

La sustitución de plásticos por materiales biodegradables para aplicaciones de un solo uso es uno de los principales campos de innovación a nivel mundial. Los materiales basados en el crecimiento de hongos son una solución viable, efectiva en costos a gran escala, amigable con el medioambiente y que engrana con los principios de economía circular y consumo sostenible (Grimm & Wösten, 2018).

En el país no existen aún empresas que se dediquen al desarrollo de este tipo de materiales, y que puedan suplir la demanda creciente de materiales de empaque amigables con el medioambiente.

En los últimos años, el enfoque ecológico en distintos productos, tiene efecto sobre un segmento de consumidores cada vez mayor que buscan productos que minimicen su impacto sobre el ecosistema. Las generaciones más jóvenes, buscan marcas que cumplan con sus compromisos ambientales y sociales, lo que ha incrementado el panorama de ventas y marketing tanto en negocios locales como transnacionales, que ahora buscan la sustentabilidad. Los productos que visibilizaron a través de estrategias de marketing sus esfuerzos ambientales experimentaron un incremento en ventas de hasta el 5%. Considerando que ahora la generación más joven es la generación más grande en la fuerza laboral, estos datos representan oportunidades especiales para compañías que quieren diferenciarse de su competencia (Abhijith, Ashok, & Rejeesh, 2018; Kazmierski, 2011).

### 1.3. Objetivos de la Investigación.

#### 1.3.1. Objetivo General.

- Comparar distintas composiciones granulométricas en la formulación de sustratos para el crecimiento de *Pleurotus spp.* en la fabricación de materiales biodegradables de empaque.

#### 1.3.2. Objetivos específicos.

- Preparar e inocular seis composiciones granulométricas del sustrato de crecimiento de *Pleurotus spp.* para la fabricación de materiales de empaque biodegradables.
- Caracterizar los materiales producidos bajo distintas composiciones granulométricas y cuantificar su comportamiento ante una fuerza de compresión y flexión, de acuerdo a las pruebas estandarizada ASTM C165, y ASTM C203.
- Comparar las propiedades de compresión y de flexión con los valores correspondientes al poliestireno de uso en aplicaciones de empaque.
- Determinar la mezcla granulométrica de sustrato de crecimiento más apropiada para la fabricación de materiales biodegradables de empaque.

## 1.4. Marco teórico.

### 1.4.1. Género *Pleurotus*.

#### 1.4.1.1. Generalidades.

Los miembros del género *Pleurotus spp.* se tratan de hongos comestibles, que forman parte de los llamados hongos de la pudrición blanca, debido a que generan un micelio de color blanco y son capaces de crecer y degradar completamente sustratos lignocelulósicos (Bellettini et al., 2016).

Según el catálogo de la vida (Roskov et al., 2019), un proyecto taxonómico del Sistema Integrado de Información taxonómica, ITIS por sus siglas en inglés, el género *Pleurotus* abarca doscientas cinco especies distintas, y su clasificación taxonómica es la siguiente:

**Dominio:** Eucaria

**Reino:** Fungi

**Filo:** Basidiomycota

**Clase:** Agaricomycetes

**Orden:** Agaricales

**Familia:** Pleurotaceae

**Género:** *Pleurotus*

Los hongos del género *Pleurotus*, pueden reproducirse de manera tanto sexual, como asexual. La reproducción asexual se da por expansión clonar del micelio, es decir, cuando una porción de micelio se siembra en un sustrato apto para el crecimiento. En tanto que la reproducción sexual se da a partir de esporas haploides (Heitman, Sun, & James, 2013).

El micelio de *Pleurotus* está formado por hifas dicarióticas septadas, es decir, que tienen dos núcleos separados por un septo que divide a las células, impidiendo la cariogamia, unión de los núcleos. Esta característica es propia de los miembros del filo Basidiomycota. Estos núcleos difieren entre ellos pero son compatibles, por lo que se les denomina como +, y -. Una vez que las condiciones ambientales dejan de ser favorables, se produce la formación del basidiocarpo, o cuerpo fructífero del hongo. Este Basidiocarpo está constituido por micelio terciario. Los basidios, células encargadas de la formación de esporas, diluyen el septo que separa a los dos núcleos de sus células, permitiendo la cariogamia, y el entrecruzamiento genético. Luego, por meiosis se generan las basidiosporas que se caracterizan por ser haploides. Estas son liberadas en el ambiente y al encontrar condiciones favorables, generan una primera hifa que de seguirse reproduciendo da lugar a un micelio primario haploide. Esta etapa no suele durar mucho, ya que las hifas haploides tienden a reconocerse entre sí, y si son compatibles en sus núcleos, estas hifas se fusionan dando origen a un micelio secundario con dos núcleos nuevamente (Heitman et al., 2013; Lücking, Hodkinson, & Leavitt, 2016).

#### **1.4.1.2. Aplicaciones Biotecnológicas.**

Los hongos del género *Pleurotus* constituyen organismos de interés en varias áreas de la biotecnología, debido principalmente a su actividad enzimática. Gracias a la liberación extracelular de complejos multi-enzimáticos compuestos por lignina-peroxidasas (LiPs, EC 1.11.1.14), peroxidasas dependientes de manganeso (MnPs, EC 1.11.1.13), y enzimas lacasas (benzenodiol:oxígeno oxireductasas, EC 1.10.3.2) además de enzimas auxiliares (Ruiz-Dueñas & Martínez, 2009).

Estas enzimas, debido a su inespecificidad, son capaces de transformar una gran variedad de compuestos químicos con estructuras similares a la lignina, celulosa y hemicelulosa. Además, la naturaleza extracelular de estas enzimas, permite a los hongos degradar compuestos apolares y no solubles. Así, las aplicaciones de estos hongos pueden abarcar la biorremediación, biopulping y biobleaching en la fabricación de papel y otros materiales, la obtención de biocombustibles a partir de residuos vegetales, y la producción de enzimas de importante valor comercial, además de que su cultivo en residuos agrícolas permite la revalorización de estos como un recurso (Bao & Wang, 2016; Grimm & Wösten, 2018; Ohga & Kitamoto, 1997; Rodríguez-Couto, 2017; Stamets, 2005).

##### **1.4.1.2.1. Biorremediación.**

Los hongos del género *Pleurotus* son a menudo utilizados en estudios para la biodegradación de compuestos químicos contaminantes. Debido a la inespecificidad de sus complejos enzimáticos, estos han demostrado capacidad para degradar hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), policlorobifenilos (PCBs), combustibles y

derivados de petróleo, fertilizantes químicos, tintes sintéticos e incluso explosivos como el trinitrotolueno (TNT) (Rodríguez-Couto, 2017; Stamets, 2005).

#### **1.4.1.2.2. Producción de pulpa y papel.**

En el proceso de producción de papel, es necesario separar las fibras de celulosa de la lignina. Esto normalmente se logra mediante procesos químicos y mecánicos. Se puede utilizar a *Pleurotus* para un tratamiento previo de las virutas de madera, en un proceso conocido como biopulping, que a diferencia del proceso tradicional, reduce el consumo de energía y reduce el consumo y desecho de químicos nocivos en los efluentes de agua, siendo así una opción amigable con el medioambiente (Rodríguez-Couto, 2017).

#### **1.4.1.2.3. Obtención de biocombustibles.**

La producción de biocombustibles a partir de fuentes renovables es un tema de interés creciente a nivel mundial. En ese sentido, los residuos lignocelulósicos, son una fuente importante de carbohidratos que podrían ser transformados en bioetanol, pero que requieren un pretratamiento que degrade la lignina presente. El uso de *Pleurotus* con esta finalidad presenta ventajas frente al uso de químicos como un menor costo energético, una técnica más sencilla y accesible, una reducción en la generación de desechos tóxicos, menores costos de procesamiento posterior, y además no genera inhibidores de la fermentación necesaria para transformar los azúcares en etanol (Rodríguez-Couto, 2017; Yoav et al., 2018).

#### **1.4.1.2.4. Valorización de los residuos lignocelulósicos.**

Como consecuencia de la actividad humana en el planeta, una gran cantidad de residuos lignocelulósicos son generados continuamente. Estos residuos provienen tanto de la industria maderera como de la producción agrícola y en su mayoría son quemados, generando un impacto ambiental negativo. Sin embargo estos residuos son ricos en lignina, celulosa y hemicelulosa, y pueden ser utilizados como sustratos de crecimiento para los hongos de la pudrición blanca. Las especies del género *Pleurotus* pueden ser utilizadas para generar alimentos de alta calidad nutricional a partir de estos sustratos, para la obtención de biomateriales a partir de su micelio, o bien para la obtención de enzimas de interés comercial. Además los sustratos degradados, que resultan de la producción de hongos comestibles, pueden ser utilizados como alimento para animales rumiantes, como sustrato para compost, o como sustratos nuevamente para el cultivo de setas (Grimm & Wösten, 2018; Rodríguez-Couto, 2017; Ruiz-Dueñas & Martínez, 2009; Socol et al., 2017).

#### **1.4.1.3. Cultivo de Setas.**

Por sus fuentes de alimentación los hongos pueden ser clasificados en tres grupos: los hongos parásitos causantes de enfermedades tanto a cultivos, animales y personas; los hongos simbiotes, con las micorrizas como ejemplo de relación de beneficio mutuo entre una planta y un hongo; y, los hongos saprófitos, cuyo rol en los ecosistemas consiste en degradar la materia muerta y cerrar así los ciclos de nutrientes. Los hongos saprófitos al no depender de otros organismos para su desarrollo, son cultivables (Bao & Wang, 2016; Ohga & Kitamoto, 1997; Stamets, 1993).

El cultivo de setas ha evolucionado mucho desde sus inicios en la dinastía Tang (618-907 d. C.) cuando se utilizaba vapor para cocinar afrecho y se lo cubría con paja, hasta las técnicas actuales, que maximizan la calidad y la producción. En general, se puede dividir el proceso de cultivo de setas en siete etapas: Preparación de semilla y esterilización; Inoculación de semilla; Selección, preparación y esterilización de sustratos; Inoculación de sustratos; Crecimiento y control del ambiente; Cosecha de las setas; y Procesos post-cosecha (Higgins, Margot, Warnquist, Obeysekare, & Mehta, 2017).

Los sustratos para el cultivo de hongos varían dependiendo de los hábitats naturales de cada especie, y de su rol en cada ecosistema como degradadores. Así por ejemplo, los géneros *Pleurotus*, *Ganoderma*, *Trametes* o *Lentínula* que están agrupados dentro de los hongos de la pudrición blanca, pueden crecer en sustratos lignocelulósicos sin fermentación previa. En tanto que las variedades de champiñón común, *Agaricus bisporus*, necesitan de un proceso de compostado previo en el sustrato de crecimiento (Stamets, 1993; Vos et al., 2017; Walker & White, 2005).

## **1.4.2. Packaging o Empaque.**

### **1.4.2.1. Importancia del Packaging en la Industria.**

El empaque de productos o packaging, dejó de referirse al contenedor en el cuál un producto era protegido y trasladado, y se ha convertido en un vehículo primario para el brandeo y la comunicación entre marcas y consumidores. Además se ha transformado en un factor importante en cada decisión de compra, y ha adquirido el rol de vendedor cuando productos similares se encuentran en estanterías y perchas (Vyas & V., 2015).

El packaging se ha convertido en una parte integral de la sociedad moderna de consumo, y es uno de los factores que más influyen el volumen de ventas de un producto. Las empresas que invierten en el diseño de sus empaques para diferenciarse de su competencia presentan una ventaja frente a aquellas que no lo hacen. Los posibles distintos tipos de empaque, afectan de manera directa la producción, almacenamiento, distribución y mercadeo de productos (Hammed & Abdulaziz, 2017).

#### **1.4.2.2. Tendencias del Packaging actual.**

El packaging representa el mercado más amplio para las resinas plásticas, por lo que los problemas medioambientales actuales relacionados con la contaminación por plásticos en botaderos de basura y océanos deriva también de este uso (Hoegh-Guldberg et al., 2015).

Las estadísticas muestran que un segmento mayoritario de consumidores, entre todas las edades y géneros está dispuesto a pagar una suma mayor de dinero por productos que tengan empaques reciclables. Y a pesar de que estos datos no garantizan la respuesta real de las personas, se puede asumir que existe un gran porcentaje del mercado para quienes esto es verdad. Aunque cada vez sean más las posturas en contra del uso de plástico para aplicaciones de empaque, gracias a los medios de comunicación masiva, pareciera que el consumidor promedio no está realmente consciente de qué espera de un empaque amigable con el medioambiente. Así por ejemplo, son generalmente aceptados los empaques de papel y cartón, indicando que la deforestación como problema ambiental tiene poco reconocimiento (Munroe, 2018).

## CAPÍTULO 2: Metodología

### 2.1. Preparación de Sustratos

Para el estudio se prepararon seis mezclas de sustratos que contenían aserrín, cascarilla de arroz, azúcar, carbonato de calcio, harina fortificada y agua hasta alcanzar un 60% de humedad. Se eligió al aserrín y virutas de madera como fuente principal de nutrientes en los sustratos, y se separó las partículas finas de las gruesas con un tamiz No 10, de 2mm de apertura, clasificándose así las fracciones resultantes como aserrín fino y aserrín grueso. Los detalles de la composición porcentual de la mezcla en seco se detallan en la tabla 1.

**Tabla 1.**

*Composiciones porcentuales de los sustratos secos.*

Mezcla	Aserrín fino %	Aserrín grueso %	Componente principal % (aserrín fino + aserrín grueso)	Cascarilla de arroz%	Azúcar %	Carbonato de Calcio %	Harina fortificada %
<b>M 1</b>	70	0	70	20	4	2	4
<b>M 2</b>	56	14	70	20	4	2	4
<b>M 3</b>	42	28	70	20	4	2	4
<b>M 4</b>	28	42	70	20	4	2	4
<b>M 5</b>	14	56	70	20	4	2	4
<b>M 6</b>	0	70	70	20	4	2	4

Se añadió agua en las mezclas hasta alcanzar un 60% de agua con respecto al peso total. Las mezclas fueron distribuidas en bolsas y se esterilizaron en autoclave por un tiempo de 20 min a 121°C. Se dejaron enfriar para continuar luego con la inoculación.



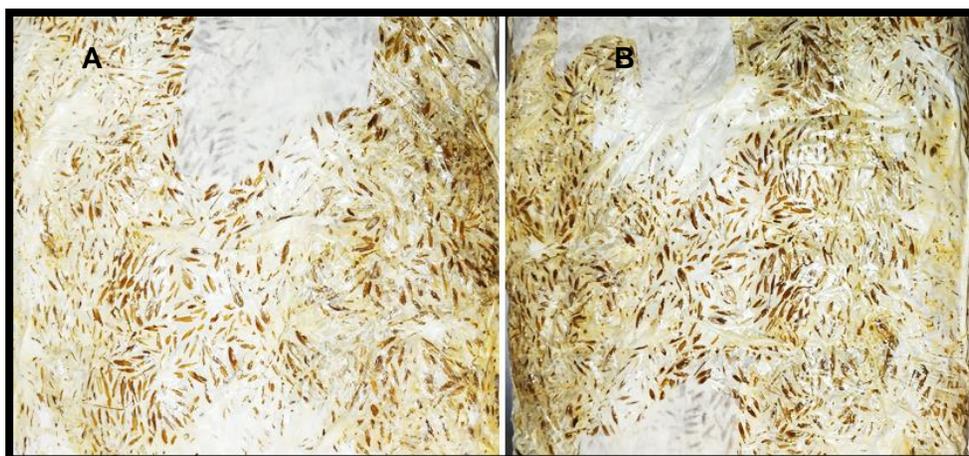
**Figura 1.** Fracciones de A) aserrín fino B) y grueso.



**Figura 2.** Inoculación de sustratos, en cámara de flujo laminar, con micelio expandido sobre semilla.

## **2.2. Cultivo y Crecimiento de *Pleurotus* spp.**

El día 14 de noviembre del 2018 se inocularon los sustratos con cepas comerciales de *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus eryngii* adquiridas de la granja Intiwasi, una empresa dedicada a la producción de semillas de cepas fúngicas de interés comercial y ubicada en la parroquia de Tumbaco, en Quito. Los sustratos fueron incubados a 26°C y oscuridad durante 30 días. Se monitoreo el desarrollo y colonización completa de los sustratos.



**Figura 3.** Detalle del micelio de A) *Pleurotus ostreatus*; B) *Pleurotus eryngii* expandido sobre cebada utilizado como semilla.

Una vez colonizado completamente el sustrato, este fue desmenuzado y puesto en moldes para conformar las probetas de las pruebas de compresión y flexión. Los moldes utilizados fueron diseñados específicamente para cumplir con los requerimientos de las pruebas estandarizadas ASTM C165 y C203; para su elaboración se utilizó impresión 3D.

Para las pruebas de compresión se usaron moldes circulares de 160mm diámetro, y un espesor de 30mm, mientras que para las pruebas de flexión se utilizaron moldes en forma de prisma regular de 300mm de largo, 100mm de ancho y 25mm de espesor.

Con el fin de mantener uniformidad en las repeticiones, la cantidad de micelio colocada en cada probeta fue estandarizada, así, las probetas para las pruebas de flexión fueron hechas con 450g de micelio fresco, y las probetas para pruebas de compresión con 318,1g.

Las probetas una vez conformadas fueron incubadas durante 7 días a 26°C y oscuridad, donde se llevó a cabo una recolonización para posteriormente ser secadas en una estufa a 70°C hasta alcanzar peso constante.



**Figura 4.** Secado de las probetas en la estufa.

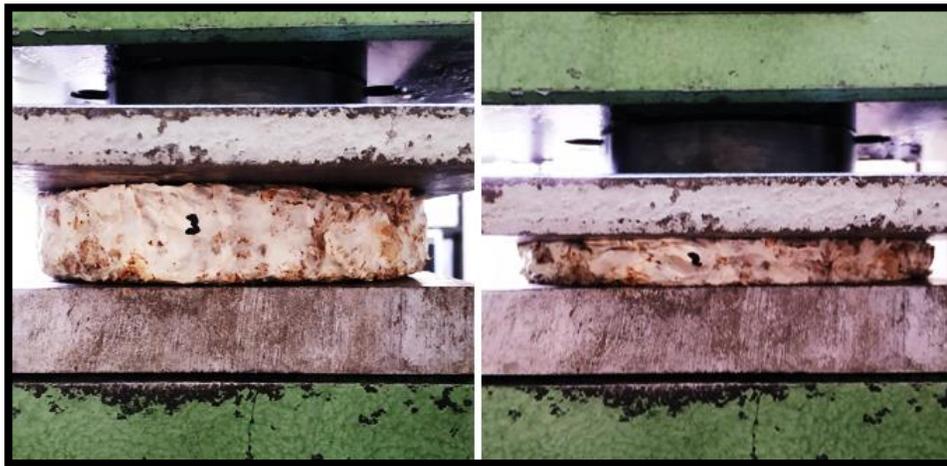
### **2.3. Pruebas de Propiedades de Compresión y Flexión.**

Antes de realizar las pruebas correspondientes, las probetas fueron medidas en todas sus dimensiones con la ayuda de un calibre digital pie de rey.

Las pruebas de propiedades compresivas se realizaron en la máquina universal de ensayos mecánicos del Laboratorio de Mecánica de Materiales del campus matriz de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE. Los parámetros de la máquina con respecto a los requerimientos de la norma ASTM C165 (ASTM, 2013a).



**Figura 5.** Toma de mediciones de las probetas.



**Figura 6.** Prueba de compresión. A) Momento inicial del ensayo.  
B) Probeta sometida a compresión.

Las pruebas de propiedades de flexión, se realizaron también en la máquina universal de ensayos mecánicos del Laboratorio de Mecánica de Materiales del campus matriz de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE. Los parámetros de la máquina con respecto a los requerimientos de la norma ASTM C203 (ASTM, 2013b).



**Figura 7.** Pruebas de Flexión

#### **2.4. Análisis estadístico**

Para el análisis de los datos obtenidos se utilizó el software estadístico Excel e INFOSTAT.

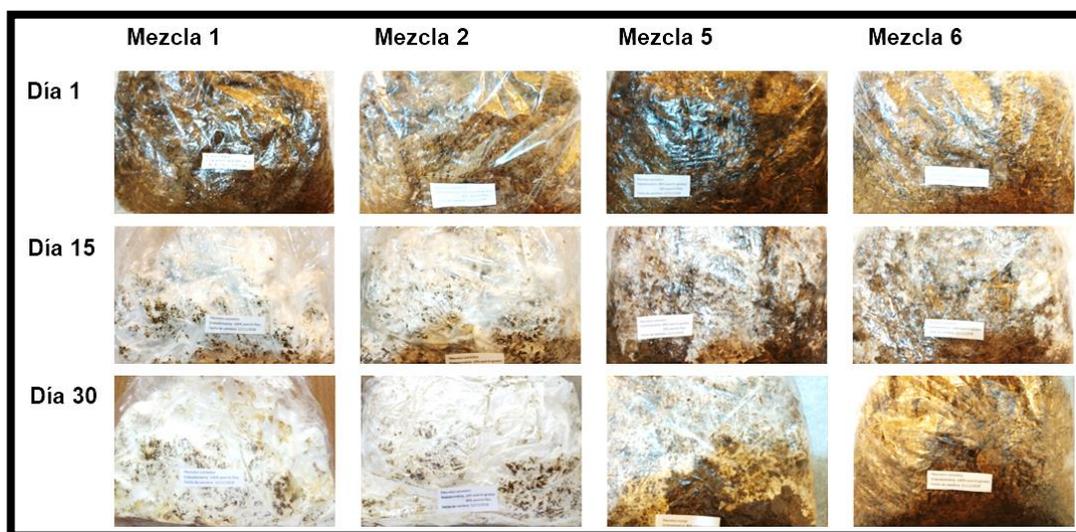
### **CAPÍTULO 3: Resultados.**

#### **3.1. Crecimiento, colonización de sustratos y recolonización en moldes.**

Se monitoreó el crecimiento y colonización de sustratos hasta el día 30. La mezcla 5 y la mezcla 6, correspondientes a los mayores porcentajes de aserrín grueso no presentaron una colonización completa, como se muestra en la figura 8, por lo que fueron excluidas de los ensayos siguientes.

Todos los moldes fueron recolonizados exitosamente, obteniendo después del secado las unidades experimentales listas para las pruebas de propiedades mecánicas.

Las probetas una vez secas fueron medidas obteniéndose los resultados detallados en la Tabla 2.



**Figura 8.** Comparativo de la colonización.



**Figura 9.** Probetas para pruebas mecánicas.

**Tabla 2.**

Valores del peso de las probetas para pruebas de compresión.

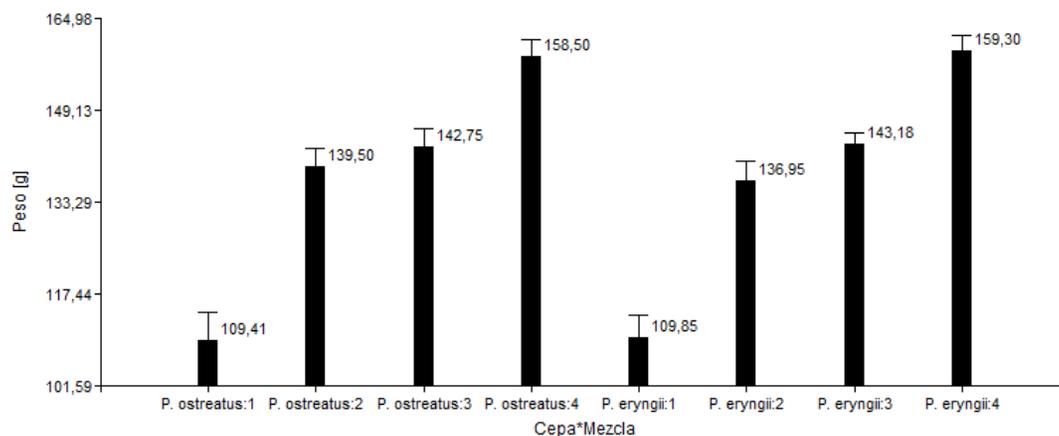
Cepa	Mezcla	Peso [g]
<i>P. eryngii</i>	1	109,85±3,94
<i>P. eryngii</i>	2	136,95±3,32
<i>P. eryngii</i>	3	143,18±2,11
<i>P. eryngii</i>	4	159,3±2,80
<i>P. ostreatus</i>	1	109,41±4,94
<i>P. ostreatus</i>	2	139,5±3,11
<i>P. ostreatus</i>	3	142,75±3,14
<i>P. ostreatus</i>	4	158,5±2,83

**Tabla 3.**

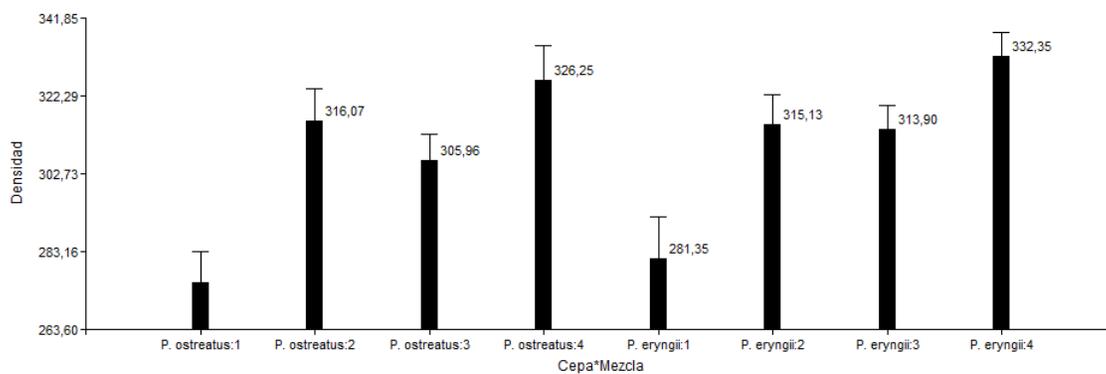
Valores de densidad de las probetas para pruebas de compresión.

Cepa	Mezcla	Densidad [Kg/m <sup>3</sup> ]
<i>P. eryngii</i>	1	281,35±10.66
<i>P. eryngii</i>	2	315,13±7.37
<i>P. eryngii</i>	3	313,9±6.03
<i>P. eryngii</i>	4	332,35±5.94
<i>P. ostreatus</i>	1	275,23±8.07
<i>P. ostreatus</i>	2	316,07±8.11
<i>P. ostreatus</i>	3	305,96±6.85
<i>P. ostreatus</i>	4	326,25±8.61

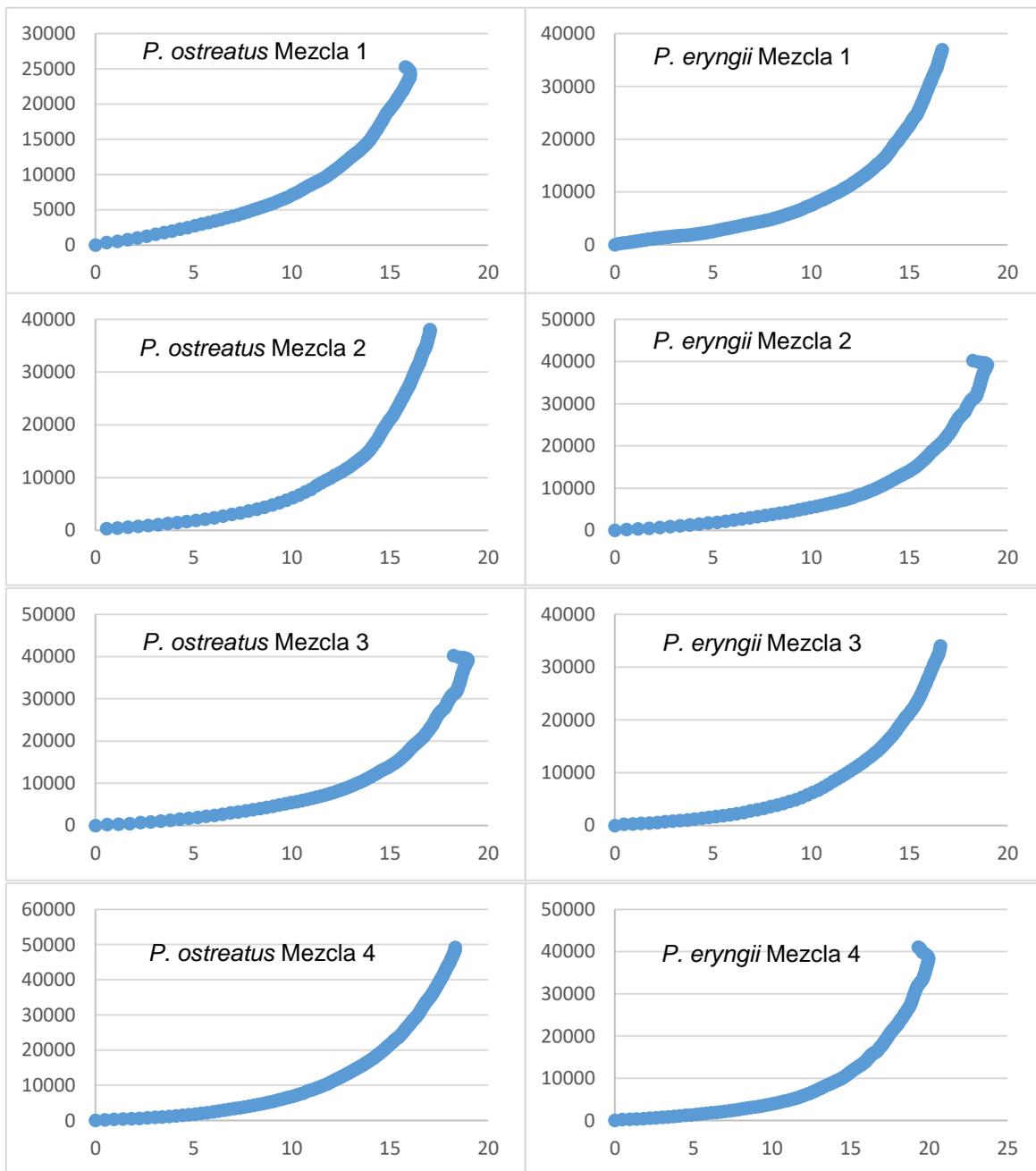
Al comparar las resistencias obtenidas para ambos puntos de deformación se puede observar que la mezcla 1, tanto con el micelio de *P. ostreatus* o *P. eryngii*, requiere de una mayor carga aplicada para alcanzar las deformaciones, por lo que expresa una mayor resistencia.



**Figura 10.** Gráfica de barras del peso de las unidades experimentales por tratamiento.



**Figura 11.** Gráfico de barras de la densidad de las unidades experimentales por tratamiento.

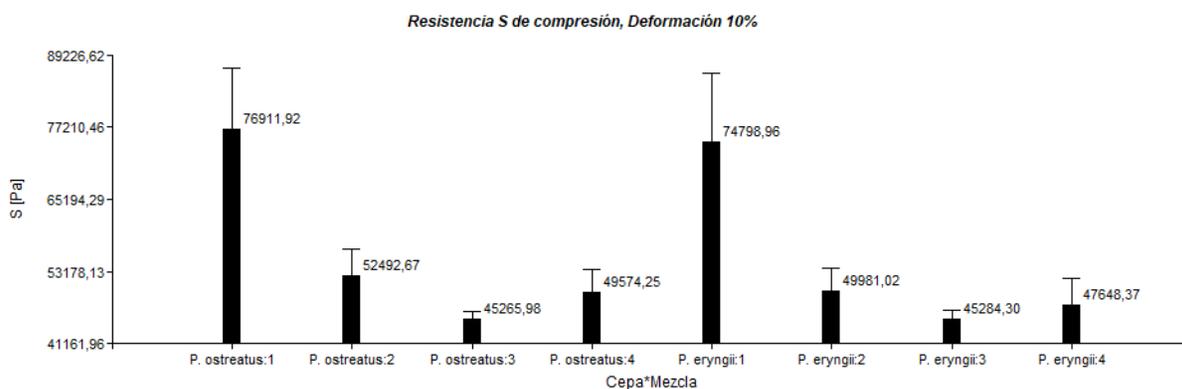


**Figura 12.** Curvas de esfuerzo – deformación muestran que el material incrementa su rigidez conforme aumenta la carga aplicada.

**Tabla 4.**

Valores medios  $\pm$  error estándar de resistencia  $S$  de compresión para una deformación de 10% por tratamientos.

Cepa	Mezcla	S [Pa] para 10% de deformación
<i>P. eryngii</i>	1	74798,96 $\pm$ 11410,9
<i>P. eryngii</i>	2	49981,02 $\pm$ 3670,06
<i>P. eryngii</i>	3	45284,3 $\pm$ 1383,24
<i>P. eryngii</i>	4	47648,37 $\pm$ 4301,65
<i>P. ostreatus</i>	1	76911,92 $\pm$ 10129,95
<i>P. ostreatus</i>	2	52492,67 $\pm$ 4344,78
<i>P. ostreatus</i>	3	45265,98 $\pm$ 1244,73
<i>P. ostreatus</i>	4	49574,25 $\pm$ 4006,43

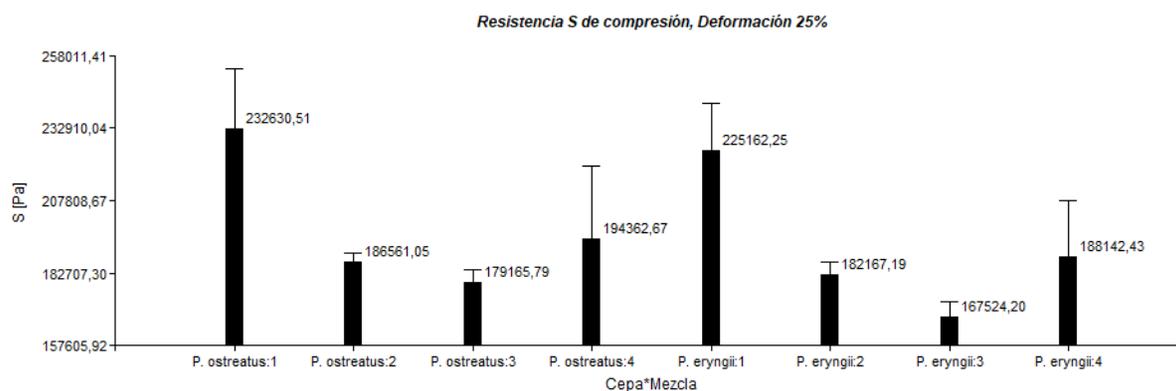


**Figura 13.** Gráfico de barras de la Resistencia  $S$  de compresión para una deformación del 10%.

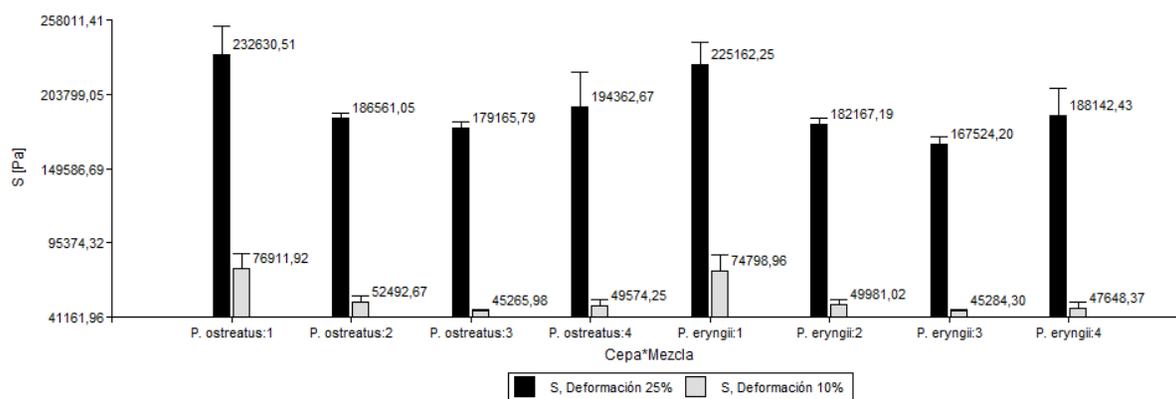
**Tabla 5.**

Valores medios  $\pm$  error estándar de resistencia  $S$  de compresión para una deformación de 25% por tratamientos.

Cepa	Mezcla	S [Pa] para 25% de deformación
<i>P. eryngii</i>	1	225162,25 $\pm$ 16199
<i>P. eryngii</i>	2	182167,19 $\pm$ 4345,89
<i>P. eryngii</i>	3	167524,2 $\pm$ 5354,39
<i>P. eryngii</i>	4	188142,43 $\pm$ 19796,98
<i>P. ostreatus</i>	1	232630,51 $\pm$ 20817,01
<i>P. ostreatus</i>	2	186561,05 $\pm$ 2955,44
<i>P. ostreatus</i>	3	179165,79 $\pm$ 4555,68
<i>P. ostreatus</i>	4	194362,67 $\pm$ 25435,79



**Figura 14.** Gráfico de barras de la Resistencia S de compresión para una deformación del 25%.



**Figura 15.** Gráfico de barras de la resistencia S de compresión necesaria para alcanzar una deformación, del 10% (gris) y del 25% (negro).

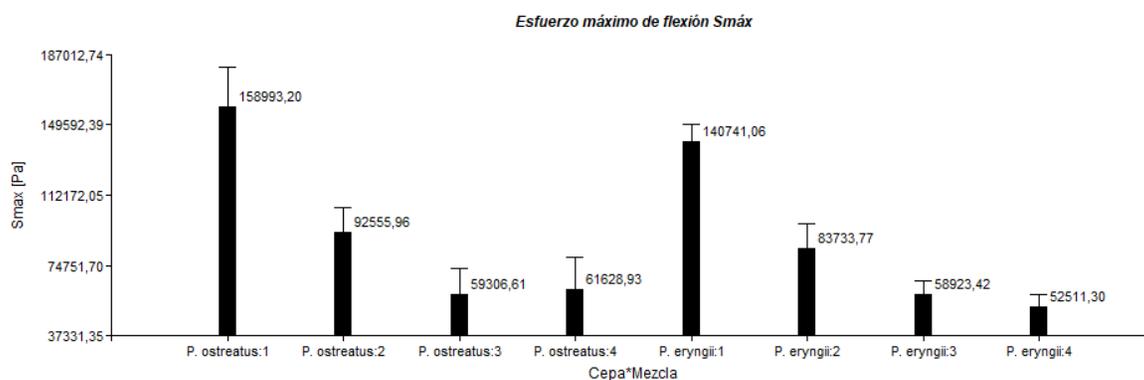
### 3.2. Pruebas de flexión según norma estandarizada ASTM C203.

Debido a la baja resistencia que presenta el material hecho de micelio, ante una fuerza axial que cause flexión, no fue posible generar curvas de esfuerzo deformación que nos permitan calcular el modulo elástico para los tratamientos. Únicamente fue posible observar el esfuerzo máximo que causó la ruptura por flexión de las probetas. A partir de estos datos se puede calcular la resistencia máxima a la flexión.

**Tabla 6.**

Valores medios  $\pm$  error estándar de la resistencia máxima  $S_{m\acute{a}x}$  a la flexión para causar ruptura por flexión, por tratamientos.

Cepa	Mezcla	$S_{m\acute{a}x}$ [Pa]
<i>P. eryngii</i>	1	140741,06 $\pm$ 9143,39
<i>P. eryngii</i>	2	83733,77 $\pm$ 12970,26
<i>P. eryngii</i>	3	58923,42 $\pm$ 7682,57
<i>P. eryngii</i>	4	52511,3 $\pm$ 6678,06
<i>P. ostreatus</i>	1	158993,2 $\pm$ 21215,84
<i>P. ostreatus</i>	2	92555,96 $\pm$ 13023,59
<i>P. ostreatus</i>	3	59306,61 $\pm$ 13900,38
<i>P. ostreatus</i>	4	61628,93 $\pm$ 17493,88



**Figura 16.** Gráfico de barras de la resistencia máxima  $S_{m\acute{a}x}$  a la flexión, por tratamientos.

### 3.3. Análisis estadístico.

El diseño experimental aplicado se trata de un diseño factorial de dos factores (cepa y mezcla), el modelo de los efectos es el siguiente:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$\tau$ : efecto del primer factor.

$\beta$ : efecto del segundo factor.

( $\tau \beta$ ): efecto de la interacción de los factores.

$\epsilon$ : error aleatorio.

Para el análisis estadístico de las variables de respuesta, se comprobaron los supuestos de normalidad, mediante la prueba de Shaphiro-Wilks, y homocedasticidad, usando la prueba de Levene, del conjunto de datos de salida de cada variable.

**Tabla 7.**

*Prueba de Shaphiro-Wilks para verificar la normalidad del conjunto de datos de cada variable de respuesta.*

Prueba de Normalidad (Shaphiro-Wilks)					
Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Residuo S Deformación 10%	32	0	10833,45	0,94	0,2826
Residuo S Deformación 25%	32	0	26482,27	0,95	0,5048
Residuo S <sub>máx flexión</sub>	32	0	23890,31	0,96	0,6196
Residuo Densidad	32	0	13,79	0,92	0,0692
Residuo Peso	32	0	5,93	0,92	0,05467
Residuo Volumen	32	0	13,23	0,97	0,78598

Al observar en la tabla 7 que todos los valores de p son mayores que  $\alpha=0.05$ , se acepta la  $H_0$ : La población está distribuida normalmente. Es decir, se cumple el supuesto de normalidad.

Para la prueba de Levene, se realizó un análisis de varianzas (ANOVA) de los residuos absolutos de las variables de respuestas con respecto a los tres factores que influyen en el modelo: Cepa, Mezcla, y la interacción de Cepa y Mezcla.

**Tabla 8.**

*Prueba de Levene para la Resistencia S de compresión para alcanzar una deformación del 10%.*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Modelo.</b>	794093467	7	113441924	2,7294	0,0511
<b>Cepa</b>	736281,24	1	736281	0,0177	0,8952
<b>Mezcla</b>	774525938	3	258175313	6,2118	0,0528
<b>Cepa*Mezcla</b>	18831247,2	3	6277082	0,151	0,928
<b>Error</b>	997493254	24	41562219		
<b>Total</b>	1791586721	31			

**Tabla 9.**

*Prueba de Levene para la Resistencia S de compresión para alcanzar una deformación del 25%.*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Modelo.</b>	5208429432	7	744061347	3,4621	0,0515
<b>Cepa</b>	48911470,9	1	48911471	0,2276	0,6376
<b>Mezcla</b>	4969609573	3	1656536524	7,7078	0,0509
<b>Cepa*Mezcla</b>	189908387	3	63302796	0,2945	0,8289
<b>Error</b>	5158008770	24	214917032		
<b>Total</b>	1,0366E+10	31			

**Tabla 10.**

*Prueba de Levene para la resistencia máxima  $S_{m\acute{a}x}$  de flexión.*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Modelo.</b>	1860316026	7	265759432	1,5392	0,2019
<b>Cepa</b>	1088205535	1	1088205535	6,3025	0,0592
<b>Mezcla</b>	472871496	3	157623832	0,9129	0,4495
<b>Cepa*Mezcla</b>	299238995	3	99746332	0,5777	0,6353
<b>Error</b>	4143871560	24	172661315		
<b>Total</b>	6004187586	31			

En las tablas 8, 9, 10 se puede ver que el valor p, para los factores es mayor que  $\alpha=0.05$ , por lo tanto se rechaza la  $H_0$ : Los datos presentan varianzas homogéneas. Y se concluye que las varianzas de los datos son homogéneas, es decir, hay homocedasticidad. Por lo tanto se pueden aplicar pruebas paramétricas para el análisis de datos.

**Tabla 11.**

*Análisis de varianzas ANOVA con respecto a la resistencia S de compresión para una deformación del 10%.*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Modelo.</b>	4703040232	7	671862890	4,432	0,0028
<b>Cepa</b>	21334613,4	1	21334613	0,141	0,7108
<b>Mezcla</b>	4674075600	3	1558025200	10,278	0,0002
<b>Cepa*Mezcla</b>	7630018,28	3	2543339	0,017	0,997
<b>Error</b>	3638271058	24	151594627		
<b>Total</b>	8341311289	31			

**Tabla 12.**

*Análisis de varianzas ANOVA con respecto a la resistencia S de compresión para una deformación del 25%.*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Modelo.</b>	14449975051	7	2064282150	2,2788	0,0426
<b>Cepa</b>	441757067,7	1	441757068	0,4877	0,4917
<b>Mezcla</b>	13951376726	3	4650458909	5,1338	0,0069
<b>Cepa*Mezcla</b>	56841258,08	3	18947086	0,0209	0,9958
<b>Error</b>	21740634341	24	905859764		
<b>Total</b>	36190609393	31			

**Tabla 13.**

*Análisis de varianzas ANOVA con respecto a la resistencia máxima  $S_{m\acute{a}x}$  de flexión.*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
<b>Modelo.</b>	45927346723	7	6561049532	8,8997789	0,00002147
<b>Cepa</b>	668870459	1	668870459	0,90729374	0,35032888
<b>Mezcla</b>	44938847594	3	1,498E+10	20,3191987	0,00000089
<b>Cepa*Mezcla</b>	319628670,1	3	106542890	0,14452081	0,93218377
<b>Error</b>	17693157381	24	737214891		
<b>Total</b>	63620504104	31			

En las tablas 11, 12, 13, se puede observar que los valores de  $p$ , para el factor “Cepa”, y la interacción “Cepa\*Mezcla” son mayores que  $\alpha=0.05$ , por lo que se dice que dichos factores no tienen un efecto significativo sobre la variable de respuesta. Mientras que el valor de  $p$ , para el factor “Mezcla”, es por menor que  $\alpha=0.05$ . Por lo que se dice que este factor tiene un efecto estadísticamente distinto de cero sobre la variable de respuesta. Ya conocido el factor que tiene un efecto estadísticamente significativo en las variables de respuesta, se hicieron comparaciones con el método de Tukey con un nivel de significancia del 5%, únicamente refiriéndose al factor “Mezcla”.

**Tabla 14.**

*Comparación múltiple de la resistencia  $S$  de compresión para una deformación del 10%.*

Mezcla	Medias	n	E.E.	
3	45275,14	8	4353,08	A
4	48611,31	8	4353,08	A
2	51236,84	8	4353,08	A
1	75855,44	8	4353,08	B

**Tabla 15.**

*Comparación múltiple de la resistencia  $S$  de compresión para una deformación del 25%.*

Mezcla	Medias	n	E.E.	
3	173345	8	10641,07	A
2	184364,12	8	10641,07	A
4	191252,55	8	10641,07	A B
1	228896,38	8	10641,07	B

**Tabla 16.**

*Comparación múltiple de la resistencia máxima  $S_{m\acute{a}x}$  de flexión.*

Mezcla	Medias	n	E.E.	
4	57070,12	8	9599,58	A
3	59115,02	8	9599,58	A
2	88144,87	8	9599,58	A
1	149867,13	8	9599,58	B

La mezcla con mayor porcentaje de “finos”, es decir, que está compuesta por partículas que han atravesado un filtro de 2mm de diámetro, presenta tanto en las pruebas de compresión como de flexión, mejores características de resistencia que las demás formulaciones como se muestra en las tablas 13, 14, 15, y las figuras 13, 14 y 16.

Puede decirse también, con un nivel de confianza del 95%, que las mezclas 2, 3, y 4, presentaron comportamientos similares, y que las medias correspondientes a la resistencia  $S$  de compresión para alcanzar un 10% de deformación, y su resistencia máxima  $S_{\text{máx}}$  a la flexión son iguales.

Al incrementarse el esfuerzo de compresión y alcanzar una deformación del 25%, las resistencias parecen empezar a unificarse, así, la mezcla 4, muestra una resistencia  $S$  de compresión estadísticamente similar a la muestra 1, y simultáneamente, similar a las mezclas 2 y 3, como se evidencia en la tabla 14, y la figura 15.

#### **CAPÍTULO 4: Discusión.**

Las mezclas 5 y 6 tuvieron no mostraron colonización completa después de 30 días de incubación. Esto se puede explicar por la capacidad de retención de agua, de las mezclas en el sustrato. Al incrementar el porcentaje de gruesos, el sustrato pierde capacidad de retención, y por lo tanto el agua, tiende a caer por gravedad y depositarse en el fondo del envase o funda que contenga al sustrato, donde pueden o no crearse condiciones anaerobias debido al estancamiento de líquidos.

Esta situación no es deseada, ya que incrementa la probabilidad de contaminación por bacterias (Bellettini et al., 2016; Membrillo, Sánchez, Meneses, Favela, & Loera, 2008; van Kuijk, Sonnenberg, Baars, Hendriks, & Cone, 2016).

La densidad de las probetas secas, incrementa al aumentar el porcentaje de gruesos en la composición del sustrato como se puede apreciar en la figura 11. Esto tiene que ver también con la capacidad de retención del agua en los sustratos finos. Para la preparación de las probetas para las pruebas de compresión se utilizaron 318,1 g de sustrato colonizado fresco.

Al ser la capacidad de retención de líquidos mayor en las mezclas con mayor porcentaje de finos, el porcentaje de agua en el sustrato fresco es también mayor, lo que se evidencia en un menor peso seco después del secado tal como se evidencia en la figura 10 y consecuentemente una menor densidad (Holt et al., 2012, 2012; Pelletier, Holt, Wanjura, Bayer, & McIntyre, 2013).

Las densidades encontradas en el presente estudio van desde los 260 Kg/m<sup>3</sup> a los 338 Kg/m<sup>3</sup>, coincidiendo con valores encontrados en otros estudios en los que variando la fuente de carbono del sustrato por otros residuos agrícolas, se obtienen densidades desde los 90 Kg/m<sup>3</sup> hasta los 400 Kg/m<sup>3</sup> usando el micelio de *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor* (van Kuijk et al., 2016).

El uso de cáscaras de algodón trituradas en distintos tamaños, utilizadas como fuente de nutrientes para el sustrato de crecimiento de otros biomateriales basados en el crecimiento de micelio de *Ganoderma* sp., ha reportado densidades de 66,5 Kg/m<sup>3</sup> hasta 224 Kg/m<sup>3</sup> (Holt et al., 2012).

Las densidades del poliestireno, que se usa comúnmente en aplicaciones de empaque, van desde 16,02 Kg/m<sup>3</sup>, hasta los 64,07 Kg/m<sup>3</sup>. Las resistencias de compresión para una deformación del 10% del material van desde 89,631 kPa hasta 551,580 kPa. Y

las resistencias máximas de flexión van desde 199,948 kPa hasta 861,844 kPa con respecto al rango de densidades (JEC Composites, 2016).

Las curvas de esfuerzo-deformación mostradas por el material en la figura 12, independientemente de la especie de *Pleurotus spp.* muestran que el material incrementa su rigidez conforme aumenta también el esfuerzo aplicado (ASTM, 2013a).

En el presente estudio, se encontró que la mayor resistencia de compresión para una deformación del 10% del material fue de 87,042 kPa, similar a la resistencia teórica del poliestireno más ligero. El valor más alto de la resistencia de compresión para una deformación del 25% fue de 253,45 kPa.

El mayor valor de resistencia máxima de flexión encontrado en esta investigación fue de 180,213 kPa, que es ligeramente menor que el menor valor de la misma variable analizada en el poliestireno de menor densidad.

Un estudio similar, publicado en el Journal Applied Engineering in Agriculture, estudió los valores de resistencias de compresión para una deformación del 60%, encontrando valores desde 670 kPa hasta 1180 kPa, utilizando fibras de algodón y cáñamo en el sustrato, además reporta densidades desde 997,7 Kg/m<sup>3</sup> hasta 139,58 Kg/m<sup>3</sup> (Ziegler, Bajwa, Holt, McIntyre, & Bajwa, 2016).

En tanto que otro estudio, utilizando cáscaras de algodón como sustrato, reporta resistencias máximas de flexión desde 7 kPa hasta 26 kPa, valores inferiores por los encontrados en la presente investigación (Holt et al., 2012).

A pesar de que los biomateriales hechos a partir de micelio parecen tener propiedades mecánicas inferiores al poliestireno, su resistencia a la compresión, indica que el material puede ser usado para empaques u otras aplicaciones no estructurales.

Además el hecho de que para su elaboración se utilicen residuos de la producción agrícola, y que sea biodegradable, hace que el material ingrese en los ciclos de economía circular y sea una alternativa sostenible al uso de materiales plásticos. El proceso de manufactura de estos materiales es una tecnología reciente, que debe ser mejorada en base a la investigación.

## **CAPÍTULO 5: Conclusiones y Recomendaciones.**

El aserrín como fuente principal de carbono en la mezcla de sustratos de crecimiento para el crecimiento de *Pleurotus spp.*, permite el crecimiento adecuado del micelio para la fabricación de materiales de empaque biodegradables.

El factor mezcla fue el único con efectos distintos de cero en el análisis, por lo que se concluye que es el responsable de las propiedades mecánicas del biomaterial, siendo la mezcla 1 la que mejores propiedades mecánicas mostró.

Los biomateriales de micelio, se vuelven más rígidos, cuando hay un mayor esfuerzo de compresión y presentan baja resistencia a la flexión.

Los biomateriales elaborados a partir de micelio y aserrín como fuente de carbono en los sustratos de crecimiento, tienen en general densidades más altas que el poliestireno común, y exhiben propiedades mecánicas inferiores.

Se recomienda realizar investigaciones similares con fuentes de carbono más livianas y la inclusión de fibras en el sustrato, a fin de reducir el peso de los biomateriales y mejorar sus propiedades mecánicas.

Se recomienda llevar a cabo más experimentos en cuanto a las propiedades mecánicas del material, con un equipo de mayor sensibilidad, a fin de obtener mejores datos.

## CAPÍTULO 7: Bibliografía.

- Abhijith, R., Ashok, A., & Rejeesh, C. R. (2018). Sustainable packaging applications from mycelium to substitute polystyrene: A review. *Materials Today: Proceedings*, 5(1), 2139–2145. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.09.211>
- ASTM. (2013a). Standard Test Method for Measuring Compressive Properties of Thermal Insulations. *ASTM Standards*, i(C), 3–7. <https://doi.org/10.1520/C0165-07R12.2>.
- ASTM. (2013b). Standard Test Methods for Breaking Load and Flexural Properties of Block-Type, i(Reapproved 2012), 1–7. <https://doi.org/10.1520/C0203-05AR12.1.5>
- Bao, D., & Wang, H. (2016). Mushroom Biotechnology. *Mushroom Biotechnology*, (January), 191–201. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802794-3.00004-7>
- Bellettini, M. B., Fiorda, F. A., Maieves, H. A., Teixeira, G. L., Ávila, S., Hornung, P. S., ... Ribani, R. H. (2016). Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. *Saudi Journal of Biological Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.005>
- Bellis, M. (2011). History of Plastics. *About.Com Inventors*. Retrieved from [http://www.thebuttonmonger.com/content/The\\_History\\_of\\_Plastics.pdf](http://www.thebuttonmonger.com/content/The_History_of_Plastics.pdf)
- Grimm, D., & Wösten, H. A. B. (2018). Mushroom cultivation in the circular economy. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(18), 7795–7803. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9226-8>
- Hammed, S. O., & Abdulaziz, M. A. (2017). IMPACT OF PACKAGING ON SALES TURNOVER OF CHI LIMITED, 2(3), 204–213.
- Heitman, J., Sun, S., & James, T. Y. (2013). Evolution of fungal sexual reproduction. *Mycologia*, 105(1), 1–27. <https://doi.org/10.3852/12-253>
- Higgins, C., Margot, H., Warnquist, S., Obeysekare, E., & Mehta, K. (2017). Mushroom cultivation in the developing world: A comparison of cultivation technologies. *GHTC 2017 - IEEE Global Humanitarian Technology Conference, Proceedings, 2017–Janua*, 1–7. <https://doi.org/10.1109/GHTC.2017.8239314>
- Hoegh-Guldberg, O., Cai, R., Poloczanska, E. S., Brewer, P. G., Sundby, S., Hilmi, K., ... Jung, S. (2015). Plastic waste inputs from land into ocean. *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation and Vulnerability: Part B: Regional Aspects: Working Group II Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, (September 2014), 1655–1734. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415386.010>
- Holt, G. A., McIntyre, G., Flagg, D., Bayer, E., Wanjura, J. D., & Pelletier, M. G. (2012). 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), 431–439. <https://doi.org/10.1166/jbmb.2012.1241>
- INEC. (2016). Información Ambiental en Hogares Junio 2016, 1–39. Retrieved from

[http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas\\_Ambientales/Hogares/Hogares\\_2016/Documento\\_tecnico.pdf](http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/Hogares/Hogares_2016/Documento_tecnico.pdf)

- Jang, M., Shim, W. J., Han, G. M., Rani, M., Song, Y. K., & Hong, S. H. (2016). Styrofoam Debris as a Source of Hazardous Additives for Marine Organisms. *Environmental Science and Technology*, 50(10), 4951–4960. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05485>
- JEC Composites. (2016). Properties, Performance of Expanded Fundamentals and Design Polystyrene Packaging. *Www.Jecomposites.Com*. EPS Recycling Advancements & Technology Innovations. Retrieved from <http://www.jecomposites.com/knowledge/end-use-applications>
- Kazmierski, C. (2011). *Growth Opportunities in Global Composites Industry 2011-2016*. Lucintel, INC.
- Lücking, R., Hodkinson, B. P., & Leavitt, S. D. (2016). The 2016 classification of lichenized fungi in the Ascomycota and Basidiomycota – Approaching one thousand genera. *The Bryologist*, 119(4), 361–416. <https://doi.org/10.1639/0007-2745-119.4.361>
- Membrillo, I., Sánchez, C., Meneses, M., Favela, E., & Loera, O. (2008). Effect of substrate particle size and additional nitrogen source on production of lignocellulolytic enzymes by *Pleurotus ostreatus* strains. *Bioresource Technology*, 99(16), 7842–7847. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.01.083>
- Munroe, O. (2018). Product and Packaging Innovation, (July).
- Ohga, S., & Kitamoto, Y. (1997). XVI. Future of mushroom production and biotechnology. *Food Reviews International*, 13(3), 461–469. <https://doi.org/10.1080/87559129709541133>
- Pelletier, M. G., Holt, G. A., Wanjura, J. D., Bayer, E., & McIntyre, G. (2013). An evaluation study of mycelium based acoustic absorbers grown on agricultural by-product substrates. *Industrial Crops and Products*, 51(January 2018), 480–485. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.09.008>
- Reyners, U. (2017). International Trends in Plastic Packaging and Processing. *International Trends in Plastic Packaging and Processing*. GPCA PlastiCon. Retrieved from <http://www.gpcaplastics.com/wp-content/uploads/2017/04/Ulrich-Reiners.pdf>
- Rodríguez-Couto, S. (2017). Industrial and environmental applications of white-rot fungi. *Mycosphere*, 8(3), 456–466. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/8/3/7>
- Ruiz-Dueñas, F. J., & Martínez, Á. T. (2009). Microbial degradation of lignin: How a bulky recalcitrant polymer is efficiently recycled in nature and how we can take advantage of this. *Microbial Biotechnology*, 2(2 SPEC. ISS.), 164–177. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2008.00078.x>
- Socol, C. R., Costa, E. S. F. da, Letti, L. A. J., Karp, S. G., Woiciechowski, A. L., & Vandenberghe, L. P. de S. (2017). Recent developments and innovations in solid

state fermentation. *Biotechnology Research and Innovation*.  
<https://doi.org/10.1016/j.biori.2017.01.002>

Stamets, P. (1993). *Growing gourmet and medicinal mushrooms*. New York. Ten Speed Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Stamets, P. (2005). Mycelium running: How mushrooms can help save the world. *Mycelium Running*. Random House Digital, Inc. Retrieved from <https://decroissons.files.wordpress.com/2014/04/paul-stamets-mycelium-running-how-mushrooms-can-help-save-the-world.pdf>

van Kuijk, S. J. A., Sonnenberg, A. S. M., Baars, J. J. P., Hendriks, W. H., & Cone, J. W. (2016). 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), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s40104-016-0098-4>

Vos, A. M., Heijboer, A., Boschker, H. T. S., Bonnet, B., Lugones, L. G., & Wösten, H. A. B. (2017). Microbial biomass in compost during colonization of *Agaricus bisporus*. *AMB Express*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-016-0304-y>

Vyas, H. V., & V., B. (2015). Packaging Design Elements and Users Perception: A Context in Fashion Branding and Communication. *Journal of Applied Packaging Research*, 7(2), 95–107. <https://doi.org/10.14448/japr.04.0005>

Walker, G. M., & White, N. A. (2005). Introduction to Fungal Physiology. *Fungi: Biology and Applications*, 1–34. <https://doi.org/10.1002/0470015330.ch1>

Yoav, S., Salame, T. M., Feldman, D., Levinson, D., Ioelovich, M., Morag, E., ... Hadar, Y. (2018). Effects of cre1 modification in the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus* PC9: Altering substrate preference during biological pretreatment. *Biotechnology for Biofuels*, 11(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1209-6>

Ziegler, A. R., Bajwa, S. G., Holt, G. A., McIntyre, G., & Bajwa, D. S. (2016). Evaluation of physico-mechanical properties of mycelium reinforced green biocomposites made from cellulosic fibers. *Applied Engineering in Agriculture*, 32(6), 931–938. <https://doi.org/10.13031/aea.32.11830>