



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE
CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL
“*Pleurotus ostreatus* CULTIVADO EN RESIDUOS DE PALMA ACEITERA
COMO IMPORTANTE FUENTE PROTEICA PARA LA DIETA HUMANA”
TESIS DE GRADO
Previa la obtención del título de:
INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL
PRESENTADO POR:
GERMANIA ISABEL RAMOS OCHOA
RIOBAMBA – ECUADOR**

2007

AGRADECIMIENTO

Concluir la presente tesis no hubiera sido posible sin la colaboración de muchas personas a quienes me es grato presentar mi más sincero reconocimiento:

A la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por las facilidades brindadas en la realización de este trabajo:

A mi directora de tesis, Dra. Jenny Moreno, por su asesoría, paciencia y continua ayuda para superar las dificultades que han ido surgiendo durante el desarrollo de esta tesis, por su constante estímulo y amistad indispensables para mi desarrollo profesional y personal.

A mis asesores, Dr. Carlos Pilamunga, Dr. Robert Cazar, por su colaboración y acertada dirección.

A la Ing. Alba Almeida por su gran ayuda y amistad.

A mis compañeros de estudio y amigas por haberme apoyado en mi carrera estudiantil.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios por enseñarme el verdadero sentido de la vida, a mis padres, Segundo y Beatriz, a mi esposo Rubén, quienes me inculcaron constancia, convicción y responsabilidad en el transcurso de mi vida estudiantil, con su apoyo incondicional hicieron posible la culminación de mi carrera.

NOMBRE	FIRMA	FECHA
Dr. Edmundo Caluña DECANO FAC. CIENCIAS
Dr. Robert Cazar DIRECTOR ESC. CIENCIAS QUÍMICAS
Dra. Jenny Moreno. DIRECTORA DE TESIS
Dr. Robert Cazar. MIEMBRO DEL TRIBUNAL
Dr. Carlos Pilamunga MIEMBRO DEL TRIBUNAL
Lic. Carlos Rodríguez. DIRECTOR DEL CENTRO DE DOCUMENTACIÓN
NOTA DE TESIS ESCRITA	

“Yo Germania Isabel Ramos Ochoa, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados
expuestos en esta Tesis, y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado pertenece a la

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO”

.....

GERMANIA ISABEL RAMOS OCHOA

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ANCUPA	Asociación del Cultivadores de Palma Aceitera
°C	grados Celsius
cal	calorías
cm	centímetros
CO ₂	dióxido de carbono
DNA	ácido desoxirribonucleico
EB	Eficiencia Biológica
ELN	Extracto Libre de Nitrógeno
F.A.O.	Food and Agriculture Organization
Fc	Razón de varianza
FDA	Fibra Detergente Ácida
FES	Fermentación en Estado Sólido
Ft	F de tablas
g	gramos
GL	grados de libertad
h	horas
ha	hectáreas
HDL	colesterol bueno
HR	humedad relativa
Kg	kilogramos
LDL	colesterol malo
MA	Ministerio del Ambiente
mg	miligramos
m ³	metro cúbico

m	nanómetro
ppm	partes por millón
pH	potencial de iones hidrógeno
REP	Aerobios mesófilos
S	Sustrato
SCE	Suma de cuadrados del error
SCT	Suma de cuadrados totales
SCTr	Suma de cuadrados de tratamientos
TM	toneladas métricas
tn	toneladas
UV	ultravioleta
var.	variedad

INDICE GENERAL

CAPÍTULO I	1
1. INTRODUCCIÓN	2
CAPÍTULO II	5
2. PARTE TEÓRICA	6
2.1. GENERALIDADES DE LA PALMA ACEITERA	6
2.1.1. Antecedentes	6
2.1.2. Clasificación botánica	6
2.1.3. Usos de la palma de la palma y sus derivados	7
2.1.3.1. Uso Agro Industrial	7
2.1.3.2. Uso comestible	8
2.1.3.3. El aceite de palma y su salud	8
2.1.4. Ciclo de procesamiento del racimo de fruta fresca de la palma aceitera	9
2.1.5. Breve historia de la palma aceitera en el Ecuador	11
2.1.6. Impactos ambientales de las palmicultoras	15
2.2. GENERALIDADES DE LOS HONGOS	17
2.2.1. Características	17
2.2.2. Clasificación	20
2.2.3. Importancia de los hongos en la naturaleza	21
2.2.4. Aceptación mundial	22
2.2.5. Descripción botánica del hongo	23
2.2.6. Estructura del Pleuroma de Pleurotus	24
2.2.7. Otras especies del género <i>Pleurotus s.p.</i>	27

2.3. CULTIVO DE HONGOS COMESTIBLES	28
2.3.1. Generalidades	28
2.3.2. Características del <i>Pleurotus ostreatus</i>	31
2.3.3. Propiedades nutricionales de las setas	32
2.3.3.1. Proteínas	33
2.3.3.2. Carbohidratos	35
2.3.3.3. Lípidos	35
2.3.3.4. Vitaminas	36
2.3.3.5. Minerales	37
2.3.4. Propiedades medicinales de las setas	37
2.3.4.1. Efectos antitumorales	39
2.3.4.2. Efectos antivirales	39
2.3.4.3 Efecto antiinflamatorio	40
2.3.4.4. Control del colesterol	40
2.3.4.5. Efecto hepatoprotector	41
2.3.4.6. Efecto antihipertensión	41
2.3.4.7. Efecto antioxidante	42
2.4. GENERALIDADES SOBRE EL CULTIVO DE <i>Pleurotus ostreatus</i>.	42
2.4.1. Instalaciones para el cultivo industrial	42
2.4.2. Tipos de sustratos para el cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i>	43
2.4.2.1. Cultivo sobre troncos cortados	44
2.4.2.2. Cultivo sobre tocones de madera	44
2.4.2.3. Cultivo sobre paja de cereales	44
2.4.3. Esterilización del sustrato	46
2.4.4. Preparación del sustrato	46
2.4.5. Siembra e incubación	47

2.4.6. Fructificación	49
2.4.7. Cosecha	50
2.4.8. Manejo poscosecha	50
2.4.9. Manejo de residuos	51
2.4.10. Operaciones de cultivo	51
2.4.11. Condiciones ambientales para el crecimiento de hongos	53
2.4.11.1. Temperatura	53
2.4.11.2. Concentración de iones hidrógeno	54
2.4.11.3. Aireación	55
2.4.11.4. Agua	55
2.4.11.5. Luz	56
2.4.12. Recolección y comercialización	56
2.5 FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO	57
2.5.1. Factores que intervienen en la FES	58
2.5.2. Ventajas y desventajas de la FES	59
CAPÍTULO III	61
3. MATERIALES Y MÉTODOS	62
3.1. MATERIALES	62
3.1.1. Cepa utilizada	62
3.1.2. Sustrato	62
3.2 MÉTODOS	62
3.2.1 Diseño Experimental	62
3.2.1.1. Factor de estudio	63
3.2.1.2. Parámetros a determinarse	64
3.2.2. Metodología	65
3.3. PRINCIPIOS DE LAS TÉCNICAS ANALÍTICAS	67

CAPÍTULO IV	68
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	69
4.1 CARACTERIZACIÓN DEL RESIDUAL	69
4.2. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS	70
4.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS	71
4.4. RENDIMIENTO, EFICIENCIA BIOLÓGICA Y PRECOCIDAD DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS	73
4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS	73
4.5.1. Porcentaje de Proteína	73
4.5.2. Porcentaje de Rendimiento	75
4.5.3. Eficiencia Biológica	77
4.5.4. Precocidad	79
4.6. REMANENTE	81
CAPÍTULO V	82
5. PARTE EXPERIMENTAL	82
5.1. Localización del experimento	83
5.2. Metodología del cultivo	83
5.2.1. Cultivo y conservación de la cepa	83
5.2.2. Preparación del inóculo	84
5.2.3. Preparación del sustrato	84
5.2.4 Incubación de las bolsas	85
5.2.5. Cosecha	85
5.2.6. Conservación	86

5.3. PRINCIPIOS Y TÉCNICAS ANALÍTICAS UTILIZADAS EN EL	
ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LAS MUESTRAS	87
5.3.1. Determinación de humedad	87
5.3.2. Determinación de cenizas	88
5.3.3. Determinación de grasa bruta o extracto etéreo	90
5.3.4. Determinación de Fibra bruta	92
5.3.5. Determinación de Proteína	94
5.3.6. Determinación de Extracto Libre de Nitrógeno	97
5.3.7. Determinación de Fibra Detergente Ácida	97
5.3.8. Determinación de Lignina Detergente Ácida	99
5.3.9. Determinación del número de microorganismos aerobios	
Mesófilos	102
5.3.10. Control microbiológico de los alimentos. Mohos y Levaduras	104
5.3.11. Determinación de microorganismos coliformes	107
CAPÍTULO VI	110
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	111
6.1 CONCLUSIONES	111
6.2. RECOMENDACIONES	112
CAPITULO VII	113
7. RESUMEN	114
CAPÍTULO VIII	116
8. BIBLIOGRAFÍA	117

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° I	Concentración de nutrientes en la tusa.....	10
TABLA N° II	Equivalencia de 1 tn de raquis.....	11
TABLA N° III	Superficie sembrada de palma aceitera por región y por provincia.....	13
TABLA N° IV	Producción de residuos agrícolas y agroindustriales en América latina.....	14
TABLA N° V	Indicaciones para el cultivo de hongos saprofitos.....	21
TABLA N° VI	Cronología del cultivo de hongos en el mundo.....	28
TABLA N° VII	Principales especies de setas comestibles cultivadas.....	30
Tabla N° VIII	Valor nutricional de las orellanas.....	33
Tabla N° IX	Contenido de aminoácidos en <i>Pleurotus ostreatus</i> var. <i>florida</i> cepa CP184.....	34
Tabla N° X	Posibles cambios de color del cultivo de orellanas.....	49
TABLA N° XI	Fases del cultivo de la seta.....	52
TABLA N° XII	Temperatura de crecimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i> var. <i>florida</i>	62
TABLA N° XIII	Factor de estudio.....	63

TABLA N° XIV	Análisis bromatológico de los residuales	69
TABLA N° XV	Análisis microbiológico de los residuales	69
TABLA N° XVI	Análisis bromatológico de los cuerpos fructíferos cultivados en fibra 100%	70
TABLA N° XVII	Análisis bromatológico de los cuerpos fructíferos cultivados en raquis 100%	70
TABLA N° XVIII	Análisis bromatológico de los cuerpos fructíferos cultivados en fibra – raquis 50:50	71
TABLA N° XIX	Análisis bromatológico de los cuerpos fructíferos cultivados en fibra – raquis 70:30	71
TABLA N° XX	Análisis microbiológico de fibra 100%.....	71
TABLA N° XXI	Análisis microbiológico de raquis 100%.....	72
TABLA N° XXII	Análisis microbiológico de fibra - raquis 50:50....	72
TABLA N° XXIII	Análisis microbiológico de fibra - raquis 70:30....	72
TABLA N° XXIV	Datos de Rendimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i> var. <i>florida</i>	73
TABLA N° XXV	Datos de Eficiencia Biológica de <i>Pleurotus</i> <i>ostreatus florida</i>	73
TABLA N° XXVI	Datos de Precocidad de <i>Pleurotus ostreatus</i> var. <i>florida</i>	73
TABLA N° XXVII	Porcentaje de Proteína total en hongos <i>Pleurotus</i> <i>ostreatus</i>	73

TABLA N° XXVIII	Análisis de varianza del porcentaje de proteína total en el hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	74
TABLA N° XXIX	Prueba de Tukey al 5% de significación para el porcentaje de proteína total del hongo	74
TABLA N° XXX	Porcentaje de Rendimiento en hongos <i>Pleurotus ostreatus</i>	75
TABLA N° XXXI	Análisis de varianza del porcentaje de rendimiento en el hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	76
TABLA N° XXXII	Prueba de Tukey al 5% de significación para rendimiento (%) en <i>Pleurotus ostreatus</i>	76
TABLA N° XXXIII	Porcentaje de Eficiencia Biológica en hongos <i>Pleurotus ostreatus</i>	77
TABLA N° XXXIV	Análisis de varianza del porcentaje de Eficiencia Biológica en el hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	77
TABLA N° XXXV	Prueba de Tukey al 5% de significación para Eficiencia Biológica (%) en <i>Pleurotus ostreatus</i>	78
TABLA N° XXXVI	Precocidad en días del crecimiento de hongos <i>Pleurotus ostreatus</i>	79
TABLA N° XXXVII	Análisis de varianza del porcentaje de Precocidad en días en el hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	79
TABLA N° XXXVIII	Prueba de Tukey al 5% de significación para Precocidad en <i>Pleurotus ostreatus</i>	80
TABLA N° XXXIX	Análisis bromatológico del sustrato óptimo.....	81
TABLA N° XL	Análisis microbiológico del sustrato óptimo.....	81

ÍNDICE DE FIGURAS

FIG N° I	Ciclo de procesamiento del cultivo de palma aceitera.....	10
FIG N° II	Partes del cuerpo fructífero de un hongo.....	20
FIG N° III	Estructura del Pleuroma.....	25
FIG N° IV	Estructura del Himenio.....	26
FIG N° V	Estructura de la Lámina.....	27
FIG N° VI	Diagrama de flujo del proceso de cultivo de hongos.....	66

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

La necesidad de reducir los efectos nocivos causados por la cantidad de desechos generados durante la actividad agrícola del cultivo e industrialización de palma aceitera ha determinado la utilización de residuales como sustrato para la producción de hongos comestibles como una fácil alternativa de solución, pues sin un manejo adecuado la acumulación constituye una fuente importante de contaminación en las zonas en las que se realiza este tipo de cultivos.

En América Latina, el volumen de residuos de palma aceitera corresponde a 4400 miles de toneladas (Valencia 2003) y en Ecuador la cantidad no está estimada exactamente pero se sabe que en el caso del raquis se produce 1.1 toneladas de racimos vacíos por cada tonelada de aceite de palma producido. Se conoce además que de cada racimo de fruta fresca cosechada, luego del desfrutamiento, el 70% es aprovechado como materia para la obtención de aceite, existiendo un 30% de residual que es el causante de contaminación y consecuentemente, de desequilibrios en la naturaleza.

Estos residuales en la actualidad son poco o nada utilizados a pesar de poseer sustancias químicas atractivas, entre las que se destacan azúcares libres, proteínas, fibra y presencia fundamental de lignina, celulosa y hemicelulosa, que pueden ser aprovechados sometiéndolos a procesos biotecnológicos y usos agroindustriales e industriales.

En nuestro país el aprovechamiento de residuos de palma aceitera constituye una importante alternativa para la obtención de un alimento con un alto valor nutritivo

además de contribuir a reducir los impactos ambientales ocasionados por dichos residuos proporcionando beneficios sociales, económicos y ambientales.

La producción de hongos comestibles como *Pleurotus ostreatus* se ha convertido en una alternativa importante para la nutrición humana, además contribuye en el ámbito farmacéutico por sus atributos medicinales, dichos hongos son cultivados a partir de residuales ligno - celulósicos que no se degradan con gran facilidad, los mismos que al encontrarse presentes en volúmenes considerables afectan a nuestro entorno natural. Esta técnica ayuda a que los residuos agroindustriales puedan ser aprovechados mediante el cultivo del hongo y degradados por el sistema multienzimático del mismo.

En nuestro país esta alternativa no es muy conocida a excepción de pocos trabajos de investigación realizados, es por esta razón que no se encuentra información suficiente.

Aplicando la técnica de la fermentación en estado sólido (FES) es posible aprovechar los residuales de palma aceitera para obtener un producto de alto valor nutricional, además de un residuo rico en proteína que puede emplearse para la alimentación animal y también puede ser utilizado como bioabono en labores agrícolas, lo que nos da la pauta de verificar que la biotransformación en el sustrato se da gracias a la acción de enzimas degradadoras de lignina y celulosa que poseen los hongos comestibles.

La FES ha mostrado sus potencialidades en trabajos relacionados con cepas de hongos con una marcada preferencia natural por la degradación de la lignina encontrándose entre éstas las especies del género *Pleurotus s. p.*, por su gran adaptabilidad sobre diferentes materiales residuales.

Es importante mencionar las ventajas que presenta el tratamiento de los residuos de palma aceitera mediante la fermentación en estado sólido, entre las que tenemos:

- Las condiciones de crecimiento del microorganismo son similares a su hábitat natural
- Se obtiene altos rendimientos
- Menores costos de inversión
- Reducción del consumo energético
- Menor volumen de Aguas residuales producidas
- Ausencia de problemas debido a la producción de espuma
- Reduce el volumen del reactor
- Simplicidad de la técnica

CAPÍTULO II

2. PARTE TEÓRICA

2.1. GENERALIDADES DE LA PALMA ACEITERA

2.1.1. ANTECEDENTES

La palma aceitera es originaria de África, de la región del Golfo de Guinea, extendiéndose aproximadamente hasta los 15 grados de latitud norte y sur. Desde tiempos remotos la planta crece de forma silvestre, siendo su fruto utilizado para la extracción del aceite para consumo humano. Durante el siglo XX se transforma en cultivo comercial, estableciéndose en varios países africanos para luego ser introducida en América difundiéndose y adaptándose rápidamente por todo el continente (17).

La palma aceitera es un cultivo propio de regiones tropicales húmedas, caracterizadas por altas temperaturas, abundante insolación y suficiente humedad. Este cultivo se adapta a una amplia variedad de suelos, aunque se desarrolla mejor en suelos profundos, bien drenados, fértiles y con abundante materia orgánica.

2.1.2. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA

La palma aceitera es una planta perenne, cultivada por su alta productividad de aceite. La especie tiene tres variedades: Dura, tenera y pisifera; de ellas la variedad tenera es la que se utiliza comercialmente para la extracción del aceite y es un cruce entre las otras dos variedades.

La palma africana es una especie monoica que produce inflorescencias masculinas y femeninas por separado (ciclos femeninos y masculinos alternos de manera que no ocurren autofecundaciones).

Con el concurso de polen de otras plantas vecinas, una inflorescencia femenina se convierte en un racimo con frutos maduros, de color rojo amarillentos, después de cinco

meses a partir de la apertura de las flores. El número de racimos y de hojas producidas por palma por año es variable, de acuerdo a la edad y a los factores genéticos. A la edad de cinco años, se espera que una palma produzca catorce racimos por año, con un peso promedio de 7 kg/racimo; a los ocho años se estima que el número de racimos producidos es de ocho con un peso de 22 kg cada uno (25).

El científico Hutchinson ha clasificado la palma aceitera como sigue: División; Fanerógamas, Tipo; Angiosperma, Clase; Monocotiledóneas, Orden; Palmales, Familia; Palmaceae, Tribu; Coccoinea y Género; *Elaeis* (*guineensis* y *oleífera*).

2.1.3. USOS DE LA PALMA Y SUS DERIVADOS

2.1.3.1. USO AGRO INDUSTRIAL

La palma de aceite es importante por la gran variedad de productos que genera, los cuales se utilizan en la alimentación y la industria. Tanto el aceite de pulpa como el de almendra se emplean para producir margarina, manteca, aceite de mesa y de cocina y también jabones. El aceite de pulpa se usa en la fabricación de acero inoxidable, concentrados minerales, aditivos para lubricantes, crema para zapatos, tinta de imprenta, velas, etc. Se usa también en la industria textil y de cuero, en la laminación de acero y aluminio, en la trefilación de metales y en la producción de ácidos grasos y vitamina A. Del fruto de la palma se extrae el aceite crudo y la nuez o almendra de palmiste, lo cual se realiza mediante procesos mecánicos y térmicos. Estos productos se incorporan luego a otros procesos para su fraccionamiento o la obtención de otros productos finales (17).

El aceite de palma es una materia prima que se utiliza ampliamente en jabones y detergentes, en la elaboración de grasas lubricantes y secadores metálicos, destinados a la producción de pintura, barnices y tintas.

2.1.3.2. USO COMESTIBLE

En la actualidad, el aceite de palma se consume en todo el mundo como aceite de cocinar, para freír, en panadería, pastelería, confitería, en la preparación de sopas, salsas, diversos platos congelados y deshidratados, cremas no lácteas para mezclar con el café, etc. El aceite de palma tiene un contenido glicérido sólido alto, lo cual le da la consistencia deseada sin necesidad de hidrogenación.

2.1.3.3. EL ACEITE DE PALMA Y SU SALUD

Las características del ácido palmítico (compuesto del aceite de palma) reducen el colesterol total y las lipoproteínas de baja densidad. En ratas de laboratorio se comprobó que disminuyeron la incidencia de tumores cancerígenos.

El aceite de palma contiene una relación 1:1 entre ácidos grasos saturados e insaturados, además contiene antioxidantes naturales como los tocoferoles. Se han realizado múltiples estudios sobre los efectos del consumo de aceite de palma en la salud humana, principalmente relacionados con el perfil lipídico, la trombosis arterial y el cáncer.

De estos estudios se determinó que el aceite de palma:

1. Tiene una alta concentración de grasa no monosaturada, en forma de ácido oléico.
2. Las dietas ricas en ácidos grasos no monosaturados ayudan a reducir el colesterol, disminuyendo uno de los principales factores de riesgo en enfermedades coronarias.
3. El ácido graso palmítico en comparación con otros ácidos grasos saturados no es hipercolesterolémico.
4. El consumo de aceite de palma eleva el colesterol "bueno" (HDL) y disminuye el colesterol "malo" (LDL).

5. Es fuente natural de vitamina E, de tocoferoles y tocotrienoles. Estos últimos actúan como protectores contra el envejecimiento de las células, la arterioesclerosis y el cáncer.

6. Sin refinar, el aceite de palma es fuente muy rica de beta-caroteno (vitamina A).

2.1.4. CICLO DE PROCESAMIENTO DEL RACIMO DE FRUTA FRESCA DE LA PALMA ACEITERA

Para el desarrollo del cultivo en la fase agrícola se presentan dos etapas o fases, la primera relacionada con el campo y la segunda con la extracción del aceite crudo de palma y de palmiste. En relación con la producción agrícola las principales actividades a llevar a cabo son las siguientes:

1. Previvero
2. Vivero
3. Fundación o siembra de la plantación,
4. Mantenimiento no productivo de la plantación
5. Cosecha
6. Transporte

En cuanto a la extracción de aceite crudo de palma y palmiste, esta etapa se inicia una vez realizada la cosecha, para evitar el deterioro de los frutos maduros; por tal motivo se requiere la focalización de las plantas dentro o muy cerca de la plantación. Para la extracción del aceite se realizan los siguientes pasos:

- | | |
|-------------------|---------------------------------|
| 1. Recepción | 6. Clarificación |
| 2. Esterilización | 7. Aceite crudo o rojo de palma |
| 3. Desfrutación | 8. Almendras |
| 4. Digestión | 9. Aceite de palmiste |
| 5. Prensado | 10. Torta de palmiste |

FIG N° I. Ciclo de procesamiento del cultivo de palma aceitera



<http://www.acupalma.org.ve/index.asp?categoryid=7554>

Durante el proceso de extracción del aceite de palma aceitera se obtienen tres residuales, el primero que queda después de la esterilización de los frutos ya que en esta etapa queda la fibra, en el segundo paso posterior a la desfrutación se obtiene la tusa o raquis y finalmente se obtiene el lodo como tercer residual, este último se lo utiliza de manera directa como bio – abono en el cultivo de palma del sector.

A continuación se indica las tablas que muestran la cantidad de nutrientes del raquis.

TABLA N° I: Concentración de nutrientes en la tusa

Concentración de nutrientes (%)					
M.S. (%)	N	P	K	Ca	Mg
36.00	0.74	0.13	2.44	0.33	0.12

ANCUPA – SIGAGRO 2005

TABLA N° II: Equivalencia de 1 tn de raquis

Fertilizante	Contenido (Kg)
Úrea	7.0
Roca fosfórica	2.8
Muriato de potasio	19.3
Kieserita	4.4
TOTAL	35.5

ANCUPA – SIGAGRO 2005

2.1.5. BREVE HISTORIA DE LA PALMA ACEITERA EN EL ECUADOR

El origen de las plantaciones de palma aceitera en el Ecuador se remonta a 1953-1954 en Santo Domingo, provincia de Pichincha y en Quinindé, provincia de Esmeraldas, donde se establecen cultivos a pequeña escala. La expansión del cultivo se inicia en 1967 con un incremento de superficie sembrada de 1.020 hectáreas (Carrión en Núñez 1998).

Para 1995 la superficie sembrada y registrada en los censos de la Asociación de Cultivadores de Palma Aceitera (ANCUPA) en el país fue de alrededor de 97 mil hectáreas, distribuidas en las tres regiones naturales del país: Costa, Sierra y Amazonía (Núñez, 1998), (Ver Tabla No. 3). Pero estos cálculos son conservadores. Hay una gran cantidad de plantaciones de compañías y campesinos que no están registradas en las asociaciones de palmicultores, muchas de ellas desarrolladas en los últimos años en el norte de Esmeraldas, por lo que podríamos estimar en la actualidad el total de plantaciones de palma sembradas en unas 150.000 hectáreas.

Según los cultivadores de palma aceitera, el incremento será agresivo en los próximos años. Ellos calculan unas 50 mil hectáreas en total para los próximos 5 años, (Hoy, 18/11/98).

En el Oriente existen grandes extensiones de plantaciones de palma aceitera en las provincias de Orellana y Sucumbíos (Loreto, Shushufindi y Coca), y en menor escala en la provincia de Pastaza. Entre éstos se encuentran grandes monocultivos y los que pertenecen a medianos y pequeños productores (campesinos e indígenas). En la sierra se ubican principalmente en Santo Domingo, Imbabura y Cotopaxi. Y en la Costa en las provincias de Los Ríos, Guayas, Manabí, El Oro y Esmeraldas.

A finales de 1999 la superficie para cultivo de palma aceitera se ha incrementado considerablemente. Sólo en el cantón San Lorenzo de la provincia de Esmeraldas ha habido un incremento de más de 15.000 hectáreas. Un informe del Ministerio del Ambiente (MA) habla de 8.000 hectáreas de bosques destruidos en esta zona debido a las plantaciones de palma, y hacen una proyección para los próximos años de que más de 30.000 hectáreas de bosques serán convertidos en palmicultoras. Esta proyección sólo toma en cuenta las hectáreas que se encuentran registradas en ANCUPA o en el MA. La subsecretaría de Medio Ambiente ha planteado que se incorporen unas 30 mil hectáreas al cultivo de la palma aceitera.

En algunos casos se habla de 60 mil hectáreas de tierras destinadas a monocultivos de palma aceitera en el norte de Esmeraldas y en otros de 100 mil, según ex autoridades de la zona. (El Comercio 30/03/99)

Entre 1990 y 1995 la producción de palma aceitera contribuyó como materia prima para la extracción de un promedio de 152.473 TM de aceite para la industria nacional de

grasas comestibles y jabonería. Las exportaciones de aceite en 1996 alcanzaron las 22.908 TM y su destino fue México (80%) y Europa (20%). El ingreso de divisas por este rubro fue de 11 millones de dólares (Núñez, 1998). En 1999 las exportaciones crecieron a 22.802.093 dólares (El Comercio 11/03/2000).

TABLA N° III: Superficie sembrada de palma aceitera por región y por provincia

PROVINCIA	SUPERFICIE (ha)	%
COSTA	58.830	55.6
Esmeraldas	33.343	31.5
Los Ríos	21.369	20.2
Guayas	2.629	2.5
Manabí	1.419	1.3
El Oro	70	0
SIERRA	34.218	32.1
Santo Domingo	32.303	30.5
Imbabura	1.750	1.6
Cotopaxi	165	0
ORIENTE	12.807	12.1
Napo	7.119	6.7
Sucumbíos	5.688	5.4
TOTAL	105.855	100

*Censo Nacional ANCUPA 1995 en Núñez (1998).

Las proyecciones de exportación de aceite de ANCUPA para el año 2.000 son de 70 mil toneladas y de alrededor de 30 millones de dólares (Hoy, 18/11/98). En palabras recientes del presidente de ANCUPA “el proyecto es que hasta el año 2007 podamos exportar unas 80 a 100.000 toneladas de aceite, lo que equivaldría a la generación de unos 30 millones de dólares y a la creación de 20.000 nuevas plazas de trabajo directas y permanentes” (El Universo, 11/03/2000). Es imprescindible aclarar, sin embargo, cuales son las características de esos números que se manejan en materia de puestos de trabajo: en su mayoría son temporales, realizadas a través de contratistas, bajo pésimas condiciones de trabajo, con bajas remuneraciones y que no cumplen con la legislación laboral vigente. Es importante considerar también las plazas de trabajo que se pierden por el desplazamiento de personas, por lo que las ventajas que parece ofrecer esta actividad son, por lo menos, dudosas.

TABLA N° IV: Producción de residuos agrícolas y agroindustriales en América latina

Residual	Miles de Toneladas
Algodón	17.864
Arroz	20.216
Banano y Plátano	7.563
Café	5.040
Caña de Azúcar	115.618
Cítricos	8.531
Frijoles	21.884
Frutas varias (uvas)	8.863
Maíz	129.335

TABLA N° IV: Producción de residuos agrícolas y agroindustriales en América latina..... (Continúa)

Mandioca	5.556
Otros cereales	3.025
Otras raíces	576
Papas	2.315
Palma aceitera	4.400
Sorgo	65.124
Trigo	31.378
Cacao	260.000

*VALENCIA, Soledad

2.1.6. IMPACTOS AMBIENTALES DE LAS PALMICULTORAS (23).

- Destrucción irreversible de grandes extensiones de bosque húmedo tropical y pérdida de biodiversidad en la región Amazónica y en los bosques noroccidentales del Ecuador si bien no existen estadísticas completas, resulta ilustrativo mencionar que sólo en un cantón (San Lorenzo de la provincia de Esmeraldas) se deforestaron más de 8000 hectáreas en los últimos años.

- Desaparición de especies en Esmeraldas en los últimos años, entre las que se incluyen los siguientes árboles de madera valiosa: guayacán (*Tabebuia guayacan*), chanul (*Humiria* sp.), tillo (*Brosimum alicastrum*), sande (*Brosimum utile* ssp. *ovatifolium*), mascarey (*Hyeronima alchorneoides*), guión (*Pseudolmedia laevis*), chalviande (*Virola sebifera*), laguno (*Vochysia ferruginea*), maría (*Calophyllum brasiliense*), matapalo (*Ficus insipida*), anime (*Dacryodes olivifera*), cedro (*Cedrela odorata*), cedrillo

(*Tapirira guianensis*), balsa (*Ochroma* sp.), guarumo (*Cecropia* sp.). Entre las especies no maderables se pueden mencionar: tagua (*Phytelephas aecuatorialis*), chapil (*Jessenia bataua*), caña guadua (*Guadua angustifolia*), pambil (*Iriarteia deltoidea*) y otras.

- Ocupación y presión sobre áreas protegidas, especialmente la Reserva Ecológica Cayapas-Mataje en la provincia de Esmeraldas. El monocultivo de palma aceitera ocasiona impactos graves a las comunidades locales, a la Reserva y al ecosistema del manglar que se encuentran cercanos al área, así como a las actividades socio-económicas como la recolección de moluscos y crustáceos, pesquera y otras que se desarrollan en el sector (Luna, 1999).

- En el control de plagas se utilizan elevados volúmenes de insecticidas, fungicidas y herbicidas. Los insecticidas más usados son: *endosulfan* (organoclorado) y el *carbofuran* (carbamato, prohibido en Estados Unidos y Canadá), *malathion* (organofosforados); el herbicida más común utilizado es el *glifosato*; de los fungicidas el *carboxin* entre otros (Núñez, 1998). De muestras de agua realizadas en la provincia de Pichincha en zonas palmicultoras cercanas a Santo Domingo se establece que la concentración de elementos químicos encontrados sobrepasa los límites recomendados para consumo humano, riego, ganado y vida acuática (Núñez, 1998). La contaminación por todos estos agroquímicos causa daños a la flora y fauna, daños a la salud de los trabajadores agrícolas y a las personas que viven junto a las plantaciones. Entre estos daños se cuentan:

- Contaminación y destrucción de vida en ríos. El uso del agua de ríos y esteros para preparar las soluciones y lavar el equipo para químicos causa la muerte periódica de peces a lo largo del año y la disminución de la fauna. Los

desperdicios de plantas extractoras del aceite de palma con alto contenido de residuos grasos altera los niveles de oxigenación de agua.

- Efectos contaminantes se observan en el deterioro de la salud de animales domésticos y de la fauna y flora de las zona cercanas a las plantaciones. Habitantes de Santo Domingo reportan que han desaparecido especies de peces como guañas (*Chaetostoma aequinoctialis*), barbudos (*Rhamdia wagneri*) y otros con sus consecuentes efectos.
- Debido a las características del cultivo, el suelo queda expuesto a los rayos solares y a las lluvias, lo que lleva a su erosión, compactación y empobrecimiento.
- El monocultivo de palma aceitera contribuye al cambio climático por la destrucción de los bosques, lo que implica una liberación neta de carbono que contribuye al calentamiento global, que a su vez se suma a otros procesos de deforestación, que en conjunto resultan en una disminución de las lluvias.
- La deforestación y las obras de canalización y desecamiento de esteros previos a la plantación provocan también cambios profundos en el régimen hidrológico.
- Contaminación de aire y agua por las fábricas extractoras de aceite por el humo y los gases despedidos en los procesos de extracción y por la disposición inadecuada de desechos. (Alerta Verde, 1996).

2.2. GENERALIDADES DE LOS HONGOS

2.2.1. CARACTERÍSTICAS

Los hongos son seres microscópicos o macroscópicos que viven sobre diversos materiales orgánicos, a los cuales descomponen para así alimentarse. Estos organismos, generalmente están formados por masas blancas y algodonosas, de las cuales brotan

pequeños o grandes botones, que son las estructuras que producirán infinidad de simientes (o esporas), a través de las cuales se reproducirán.

Las estructuras macroscópicas de reproducción de los hongos, constituyen lo que comúnmente se conoce como “hongo” (6).

Los hongos pertenecen al reino Fungi, un grupo grande y diverso con más de 60.000 especies conocidas, la mayor parte de las cuales son terrestres.

Aunque su tamaño y forma son muy variables, todos los hongos son eucariotes; sus células contienen mitocondrias y núcleo rodeado por membrana.

Tradicionalmente, los hongos se clasifican en el reino Plantae debido a sus semejanzas superficiales, pero en la actualidad los biólogos reconocen que no son plantas. Los hongos difieren de otros eucariotes de muchas maneras, y por ello hay acuerdo en que corresponden a un reino aparte.

Los hongos carecen de clorofila y de cloroplastos, por lo cual no fotosintetizan. Son heterótrofos pero no ingieren alimentos. En cambio, los hongos excretan enzimas digestivas y después absorben el alimento predigerido (en la forma de pequeñas moléculas orgánicas) a través de su pared celular y membrana plasmática.

Al no tener clorofila, los hongos no pueden fabricar los componentes vitales de tipo orgánico, y quedan obligados a obtener directamente del medio tales sustancias.

En definitiva, a un hongo, sólo le caben tres posibilidades para poder alimentarse y así poder sobrevivir:

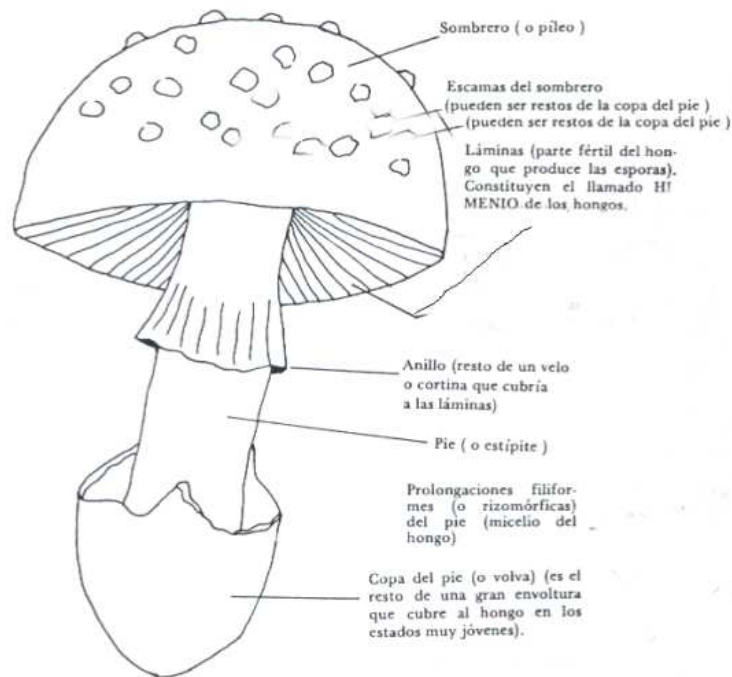
- Vivir sobre materia orgánica en descomposición. Son los denominados HONGOS SAPRÓFITOS
- Vivir gracias y encima a costa de otros seres vivos a los que parasita. Son los denominados HONGOS PARÁSITOS
- Asociarse con otro ser vivo. En este caso no vive a costa del otro ser. No lo parasita. Se obtiene un beneficio mutuo. Es un HONGO SIMBIONTE, debido a la simbiosis que se produce entre los dos seres (26).

Obtienen nutrimentos de otros organismos vivos a los que parasitan, o descomponen. Como descomponedores, los hongos junto con las bacterias tienen una función ecológica importante en la degradación de la materia orgánica muerta.

Los hongos tienen una rigurosa forma de nutrición característica y altamente exitosa. Requieren compuestos orgánicos preformados como fuentes de energía y de carbono para la biosíntesis. Las moléculas orgánicas más simples, como monosacáridos, aminoácidos y ácidos orgánicos, se obtienen a través de la membrana celular. Sin embargo, las moléculas más complejas que incluyen quizás muchos disacáridos, deben degradarse a monómeros en el exterior de la célula por medio de enzimas liberadas a través de las paredes unidas a éstas.

Los hongos son inmóviles (en ninguna fase de su ciclo vital presentan células flageladas) y se reproducen por medio de esporas, las cuales pueden formarse de manera sexual o asexual. Se clasifican en grupos sobre todo según sus estructuras sexuales (14).

FIG N° II. Partes del cuerpo fructífero de un hongo



GUZMÁN, G.

2.2.2. CLASIFICACIÓN

Los hongos poseen pared celular y esporas de diversos tipos y forman un grupo coherente filogenéticamente hablando. Se reconocen tres grandes grupos: *mohos* u *hongos filamentosos*, las *levaduras* y las *setas*.

Los hábitats de los hongos son bastante diversos. Algunos son acuáticos, principalmente de agua dulce, aunque existen también algunos de medios marinos. La mayoría de ellos son de medios terrestres, crecen en suelos o sobre materia orgánica en descomposición y contribuyen notablemente a la mineralización del carbono orgánico. Un gran número de hongos es parásito de plantas terrestres (9).

2.2.3. IMPORTANCIA DE LOS HONGOS EN LA NATURALEZA

Debido que los hongos viven de la descomposición de la materia orgánica en sus diversas formas, incluyendo la basura, hojarasca y otros sustratos, estos organismos constituyen la clave para la reincorporación de los materiales orgánicos en el suelo, favoreciendo así la formación o el enriquecimiento de tales suelos.

Existen especies de hongos que son parásitas, unas en animales y otras vegetales. Las primeras constituyen por su importancia toda una especialidad en la medicina, ya que son muchas las especies de hongos que atacan al hombre, tales como las llamadas “tiñas” o el “pie de atleta”. Sin embargo, *ninguno de los hongos macroscópicos considerados como comestibles, son capaces de producir ninguna enfermedad en el hombre* (7).

TABLA N° V: Indicaciones para el cultivo de hongos saprofitos.

HONGO	SUSTRATO UTILIZABLE	CONDICIONES DE CRECIMIENTO	FRUCTIFICACIÓN	OBSERVACIONES
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Paja enriquecida y molida de diversos vegetales	24°C bajo protección plástica	T 28°C. Luz. Aireación. Gran humedad.	Muy apreciado. Está siendo mejorado en Francia con eco tipos salvajes
<i>Volvariella volvacea</i>	Paja de arroz saturada de agua	21°C	Temperaturas altas. Luz	Muy cultivado en Taiwán, China, Madagascar, etc.

TABLA N° V: Indicaciones para el cultivo de hongos saprofitos.... (Continúa)

<i>Pholiota aegerita</i>	Paja de trigo. Paja de trigo. Cortezas molidas de álamo. Aserrín de álamo.	25°C. Higrometría 25°C. Higrometría elevada. Crecimiento lento.	Cobertura de tierra. Luz. Cobertura de tierra. Luz. 18-20°C.	Cultivo parecido a Cultivo parecido a <i>Pleurotus</i> s.p. Gran resistencia al CO ₂ .
<i>Rhodopaxillus nudus</i>	Hojas de hayas. Compost de champiñón.	Incubación dura seis o más meses.	Shock frío. Maduración en 8-15 días.	Producción continuada durante varios años. Posibilidad de colecciones en todas las épocas
<i>Coprinus comatus</i>	Paja esterilizada. Compost.	Rápido	Shock frío. Luz. Cobertura.	Hongo de cultivo relativamente sencillo
<i>Marasmius oreades</i>	Estiércol de equino y bovino.	Rápido	Shock frío.	Producción durante varios años

*<http://www.lapaginadeedecea.html>

2.2.4. ACEPTACIÓN MUNDIAL

La producción de los hongos comestibles crece sin cesar en el mundo, durante las últimas dos décadas han pasado a ocupar el segundo lugar en la producción agrícola mundial por tener técnicas de cultivo más simples y baratas.

Los precios de los hongos al consumidor son altos: un kilogramo vale siete dólares, y en Estados Unidos y Europa cuatro onzas de hongos deshidratados cuestan cinco dólares.

Hay otros tipos, de los cuales el kilogramo puede costar hasta 1.000 dólares.

En el continente europeo se distribuyen anualmente alrededor de 1.000 a 1.500 toneladas de hongo, y es utilizado en muchos platos, especialmente en pizzas. En el mundo occidental el más consumido es el champiñón.

La producción e industrialización de los hongos comestibles juega un papel importante en la economía de un país, por ejemplo en El Salvador se estima que el valor económico de una hectárea de hongos es equivalente a 29 de café.

2.2.5. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL HONGO

Es fundamental que el hongo que se va a cultivar se identifique correctamente desde el punto de vista taxonómico, ya que de ello dependerán las técnicas que se utilizarán en el cultivo.

Nombre científico: *Pleurotus ostreatus* var. florida

Nombres comunes: Setas, hongo ostra, orejas blancas, orejas de palo, orejas de patacas, orejas de cazahuate, orejas de izote.

Sistemática: La identificación de las distintas especies de hongos es necesaria para decidir si son o no apropiados para el consumo.

REINO	Fungi
SUBREINO	Fungi Superior
CLASE	Basidiomycetos
SUBCLASE	Eubasidiomycetos
ORDEN	Agaricales
FAMILIA	Pleurotuceae
GÉNERO	Pleurotus
ESPECIE	Ostreatus
VARIEDAD	Florida

2.2.6. ESTRUCTURA DEL PLEUROMA DE PLEUROTUS (20).

La mayoría de los hongos cultivados desarrollan estructuras visibles que producen esporas (basidiomas). Estas estructuras son de construcción compleja y poseen un alto grado de diferenciación de tejidos hifales. Esto quiere decir que están formados por hifas provenientes del micelio vegetativo, el cual se transforma en micelio reproductor.

Su formación se debe a la agregación y compactación hifal del micelio, además de una alta ramificación hifal, ensanchamientos, engrosamiento de la pared hifal y también gelatinización (crecimiento, ramificación y agregación hifal).

El cuerpo fructífero de *Pleurotus s.p.* y de otros Basidiomycetes es una estructura especializada y diferenciada diseñada para la producción y dispersión de gran número de esporas. A diferencia de las células meristemáticas de las plantas, el crecimiento aquí se debe a un control establecido por el crecimiento regulado por los ápices de la hifa y su posterior ramificación de los compartimentos subapicales por debajo de la región apical de la hifa.

La diferenciación hifal ocurre aun en el estado de colonización del micelio vegetativo dentro del sustrato.

Las fases por las que atraviesa un basidioma para su formación son: Iniciación, Diferenciación, Expansión y Maduración final.

La luz en *Pleurotus s.p.* es un factor necesario y determinante para que se lleve a cabo la fase de Iniciación y la formación de los basidiomas son la humedad y la ventilación.

Pleuroma es el nombre que se aplica al basidioma del hongo *Pleurotus*, es un órgano reproductor y productor de estructuras generadoras de esporas, es decir, basidios y

basidiosporas, también recibe los nombres de basidioma, basidiocarpo, carpóforo, cuerpo fructífero, himenóforo, esporóforo, etc. de acuerdo a diferentes autores.

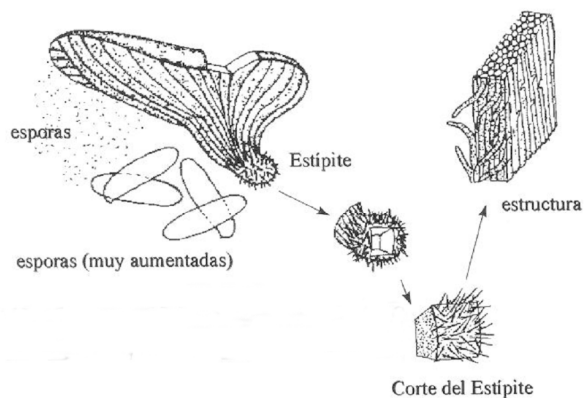
El basidio es la estructura en la cual se lleva a cabo la cariogamia y la meiosis y en donde las meiosporas (basidiosporas) se desarrollan, al basidio se le conoce también como meiosporangio.

El Pleuroma puede ser variable en tamaño, dependiendo de su edad de origen, desde unos cuantos milímetros cuando recién se formó como primordio hasta unos 20 centímetros o más cuando se le ha dejado desarrollar demasiado.

El primer estado del desarrollo del Pleuroma es el "primordio". A un tamaño de 1-2 mm de altura se pueden reconocer como cuerpos redondos blanquecinos. El cuerpo está separado en dos aparentemente idénticas regiones. Conforme el primordio se alarga las dos zonas se diferencian en tres regiones píteo, laminas y estípe.

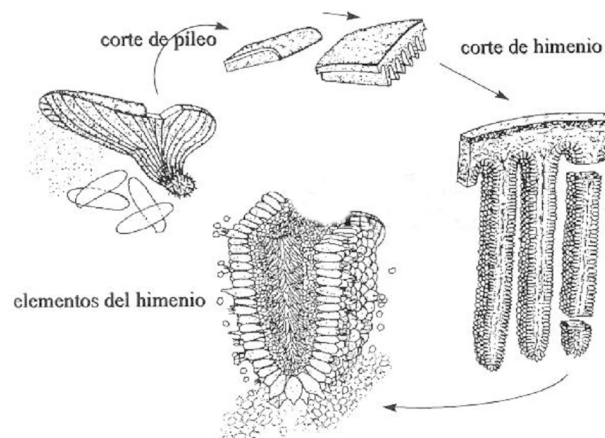
Es importante notar que cuando joven (unos 8 a 10 cm) el Pleuroma es suave y cuando crece más se vuelve correoso y difícil de paladar.

FIG N° III. Estructura del Pleuroma



El estúpite consiste de dos regiones principales el tejido interno y el tejido de la superficie. El arreglo de las hifas varía en las diferentes regiones, pero ambas están verticalmente orientadas. Las células de la superficie se alargan para formar estructuras semejantes a pelos.

FIG N° IV. Estructura del Himenio



<http://www.coacade.uv.mx/institutos/forest/product.html>

Las láminas del himenio están compuestas de tres regiones:

- La trama
- El sub-himénio
- El himenio

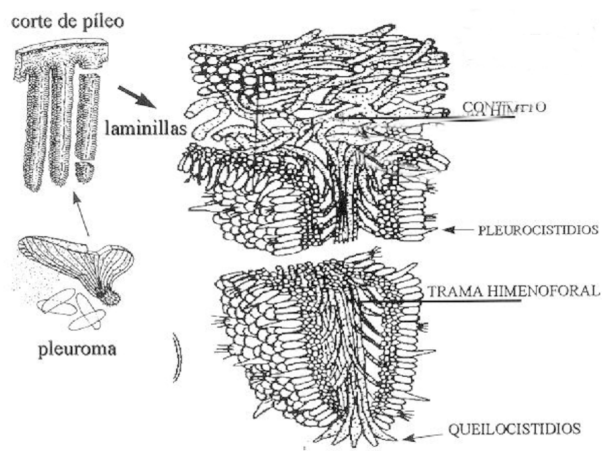
Las células de la trama son elongadas y corren longitudinalmente todo el centro de la lámina desde el píleo hasta el borde de la lámina. Las células sub-himénicas son ramificadas se originan de la trama a intervalos a lo largo de las láminas.

La zona himénica está compuesta de basidios apretados junto con otras células llamadas basidiolos y cistidios (pleurocistidios y queilocistidios) en contacto unos con otros pared

con pared. Conforme los basidios maduran y se desarrollan emergen de la superficie de la lámina y se vuelven conspicuos.

La capa himenial se origina mediante un complejo de ramificaciones y crecimiento hifal de la capa de abajo llamado sub-himenial.

FIG N° V. Estructura de la Lámina



<http://www.coacade.uv.mx/institutos/forest/product.html>

2.2.7. OTRAS ESPECIES DEL GÉNERO *Pleurotus s.p.*

El cultivo de diversas especies de hongos del género *Pleurotus s.p.* está adquiriendo una gran importancia, en Francia, Italia y España, siendo el más conocido el *Pleurotus ostreatus* (27).

Existen otras especies de interés comercial como son: *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus eryngii* (Seta de cardo), *Pleurotus cornucopioides*, *Pleurotus olearia* (Seta de olivo).

2.3. CULTIVO DE HONGOS COMESTIBLES

2.3.1. GENERALIDADES

En los últimos años ha habido un gran auge por el cultivo de hongos comestibles, esta actividad constituye un emprendimiento productivo alternativo interesante. La ventaja que tiene este cultivo es que utiliza desechos de las actividades productivas agropecuarias, generalmente de fácil obtención y bajos precios, para la producción de un alimento sabroso, nutritivo y beneficioso para la salud.

Las especies de hongos que más se cultivan en el mundo son el champiñón de París cuyo nombre científico es *Agaricus bisporus* (*A. brunnescens*), las gírgolas u hongos ostras (especies del género *Pleurotus*) y el Shiitake u hongo japonés (*Lentinula edodes*) (19,24)

TABLA N° VI: Cronología del cultivo de hongos en el mundo

Especie / Género	Año	País
<i>Auricularia</i>	600 d.c.	China
<i>Lentinus edodes</i>	100 – 1100	China
<i>Agaricus bisporus</i>	1650	Francia
<i>Volvariella volvacea</i>	1700 1900	China
<i>Pleurotus ostreatus</i>		Alemania

*Yambay, W

Cada una de estas especies tiene su particularidad que en términos generales se explican a continuación:

Preparación del sustrato: Los hongos crecen sobre una mezcla de materiales que se denomina sustrato.

Desinfección o pasteurización: El sustrato una vez preparado debe "limpiarse" desde el punto de vista biológico, para que cuando sea sembrado con el hongo a cultivar no compita con otros microorganismos.

Generalmente se realizan tratamientos térmicos.

Siembra: En esta etapa se mezcla el sustrato con el inóculo o semilla.

Semilla o inóculo: Se los prepara o adquiere en diferentes laboratorios.

Incubación: El sustrato sembrado es colocado en bolsas o en cajones a la oscuridad y a 25°C durante 30 días aproximadamente.

Inducción: Con un descenso de la temperatura (15-18°C) y en algunos casos mediante luz natural se logra que el hongo pase de la etapa de crecimiento vegetativo a la de fructificación o producción.

Producción: Durante esta etapa se debe regar y cosechar.

Los hongos generalmente se producen en oleadas.

De tal modo que al cabo de una semana se cosecha todo lo producido por bolsa o cajón y comienzan a desarrollarse nuevamente tardando nuevamente una semana en llegar al estado adulto. En general se obtienen 2-3 oleadas.

Descarte: Luego de finalizadas las cosechas el sustrato se descarta y se debe comenzar el ciclo nuevamente.

Pleurotus s.p. es el nombre genérico de una gama de hongos comestibles que poseen agua, hidratos de carbono y lípidos. Sus proteínas de alta calidad biológica contienen nueve de los aminoácidos esenciales para el hombre, incluidas lisina y metionina. Son fuente de vitaminas, fibras, minerales, y aportan de 150 a 350 calorías por kilogramo, además de sus propiedades medicinales (18).

La mayoría de los hongos comestibles no le da un sabor determinado a las comidas, se pueden degustar en forma natural, como ensaladas o acompañados de carnes o huevos. Los maestros de la alta cocina plantean que existen más de 2.000 recetas, y su sabor depende de la preparación. Lo más interesante es que después de su cocción mantienen el contenido de proteínas y vitamina.

Así mismo, las setas desempeñan un papel muy importante en la naturaleza, ya que reducen la acumulación de la materia orgánica que se origina como residuos de cultivo de los diferentes productos agrícolas y evitan que éstos se conviertan en fuentes de contaminación ambiental y protegen de esta manera los recursos naturales (agua, suelo, aire).

En la tabla 7 aparecen las especies de setas comestibles más cultivadas.

TABLA N° VII: Principales especies de setas comestibles cultivadas

Nombre científico	Nombre vulgar
<i>Agaricus bisporus</i>	Champiñón
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Orellana
<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Orellana
<i>Pleurotus sajor – caja</i>	Orellana
<i>Lentinula edades</i>	Shiitake
<i>Pleurotus eryngii</i>	Orellana

* ACUÑA, J

Las diferencias básicas entre todas ellas están definidas por la forma de la seta, color, duración del ciclo de vida, propiedades nutricionales y medicinales y complejidad en la tecnología de cultivo.

2.3.2. CARACTERÍSTICAS DEL *Pleurotus ostreatus*

Hongos con sombrero liso, a veces algo escamoso hacia el centro o base, de 5–10 cm de ancho (o hasta 15 cm), grisáceo o café grisáceo con tonos o reflejos metálicos. Sus láminas son blancas o rosa amarillento en seco, poco o nada unidos entre sí en la base; o más o menos delgadas y con bordes lisos. Carne blanca, carnosa menos correosa, con olor y sabor agradables. (6)

En la parte inferior del sombrero hay unas laminillas dispuestas radialmente como las varillas de un paraguas, que van desde el pie o tallo que lo sostiene, hasta el borde. Son anchas, espaciadas unas de otras, blancas o crema, a veces bifurcadas, y en ellas se producen las esporas destinadas a la reproducción de la especie. Estas esporas son pequeñas, oblongas, casi cilíndricas, que en gran número forman masas de polvo o esporadas, de color blanco con cierto tono lila-grisáceo.

El pie suele ser corto, algo lateral u oblicuo, ligeramente duro, blanco, con el principio de las laminillas en la parte de arriba y algo peloso en la base. Pueden crecer de forma aislada sobre una superficie horizontal o en grupo formando repisas laterales superpuestas sobre un costado de los árboles (19).

Debido a que los hongos cultivados se alimentan de materia orgánica muerta significa que pueden emplearse muchísimos materiales para alimentarlos; en el caso de las setas *Pleurotus s.p.* por ejemplo pueden utilizarse todas las plantas ya bien secas. Aunque podríamos utilizar los residuos de la vegetación natural, es más cómodo emplear los

abundantes residuos procedentes de las actividades humanas de producción como la agricultura y silvicultura. De esa manera tenemos a nuestra disposición los residuos de los cultivos de las gramíneas como el maíz, trigo, sorgo, avena y cebada y podemos ampliar la lista a prácticamente todo: sobrantes de los cultivos de arroz, fréjol, plantas para hacer té e incluso de procesos industriales como la elaboración de azúcar de caña, del tequila de maguey y del café (22).

También los aserrines de la industria maderera son aprovechables como de encino y de las especies tropicales. Esta versatilidad permite que cada productor pueda ensayar los materiales más económicos y fácilmente disponibles de su propia zona geográfica para cultivar hongos (21).

2.3.3. PROPIEDADES NUTRICIONALES DE LAS SETAS

Aunque en todas las culturas que se conocen, se sabe que se han utilizado los hongos como alimento, como estimulantes o alucinógenos y hasta como arma mortal. Existen infinidad de escritos donde se menciona el uso de diferentes variedades de hongos como remedios para tratar un sinnúmero de enfermedades, sobretodo en la cultura oriental; en China y Japón, por ejemplo, se conocen gran cantidad de especies que se utilizan desde el año 100 de nuestra era para tratar muchas enfermedades. En forma de tónico, tés, tinturas, en sopas o en saludables platillos (Liu y Yun-Sun,1980); Chang,1993,1996; Chobot et al.. 1995), una de ellas es *Lentinula edodes* mejor conocido como *Shiitake*, este hongo se conoce y se consume en Asia desde hace mucho, de hecho su cultivo se remonta al año 1,000 de nuestra era, otras variedades que se utilizan como medicina sobretodo en oriente son el *Ganoderma lucidum*, *Grifolla frondosa*, *Agaricus blazei* y *Cordiceps sinensis*, entre otros. En occidente apenas recientemente se le ha empezado a dar importancia a los hongos desde el punto de vista del tratamiento de diferentes padecimientos.

Los hongos comestibles satisfacen en gran medida las necesidades proteicas y nutricionales más importantes (por su contenido en proteínas, grasas, vitaminas y carbohidratos), lo que constituye una esperanza para solucionar el hambre en el mundo, en función de su bajo costo de producción, alto contenido proteico y su obtención en grandes cantidades en un corto lapso de tiempo.

Por ser una fuente alimentaria de excelente sabor y de alta calidad nutritiva, se consideran ideales en muchos programas de seguridad alimentaria (cultivos destinados a satisfacer las necesidades de nutrición en comunidades pobres). Además, tienen propiedades biológicas como un alto contenido de fibra y bajo contenido de grasa, adecuadas para dietas alimentarias.

TABLA N° VIII: Valor nutricional de las orellanas

Componente	Cantidad
Proteína bruta	34 %
Fósforo	0.33 %
Calcio	0.09 %
Magnesio	0.14 %
Potasio	2.80 %
Sodio	0.06 %
Hierro	2.200 ppm
Cobre	9 ppm
Cinc	251 ppm

* ACUÑA, J

2.3.3.1. PROTEÍNAS

Los diferentes valores de la proteína en los hongos dependen del tipo de tejido, estado de desarrollo, sustrato utilizado, condiciones culturales e inclusive a veces del método

de análisis utilizado. Los hongos normalmente contienen entre 19 -35% de proteína. Se dice que un kilogramo de setas frescas iguala en cantidad de proteínas a una libra de carne de res. Además de su contenido proteico y de su muy bajo contenido de colesterol, las setas son una excelente fuente de varias vitaminas.

Los cuerpos fructíferos de los *Pleurotus s.p.* o setas, que son las partes comestibles, son una excelente fuente de proteína de buena calidad, esto debido a que en su contenido, están presentes todos los aminoácidos esenciales, y son especialmente ricos en lisina y leucina, que no se encuentran en muchos alimentos con cereales. Los niveles de lisina y triptófano llegan a 4.5 – 9.9 g y 1.1 -1.3 g respectivamente en las orejas blancas (*Pleurotus ostreatus*) y de 9.1 y 2.0 en el champiñón (*Agaricus bisporus*) contra 6.4 – 1.6 g, en los huevos de gallina.

El porcentaje de proteína en peso seco puede variar entre 10 y 30% aunque puede llegar a ser hasta del 40%.

TABLA N° IX: Contenido de aminoácidos en *Pleurotus ostreatus* variedad florida cepa CP184 (mg / g de proteína (Nx6.25))

AMINOÁCIDOS		AMINOÁCIDOS ESENCIALES		Patrón de referencia de la FAO (1985)	Puntaje químico (%)
Ácido Aspártico	120,5	Histidina	28,6	19	150
Serina	48,36	Treonina	51,25	34	150
Ácido Glutámico	211,33	Tirosina	35,96	63	57
Glicina	47,45	Valina	51,28	35	146
Arginina	70,7	Metionina	21,16	25	84
Alanina	64,15	Lisina total	72,09	58	92
Prolina	30,55	Isoleucina	43,32	28	154
Cistina	16,4	Leucina	71,57	66	108
Lisina disponible	56,36	Triptófano	19,61	11	178
Fenilalanina	51,1				

* <http://www.mapya.es/>

El contenido de proteína de *P. ostreatus* se relaciona significativamente con el contenido de nitrógeno del sustrato; los minerales se concentran fuertemente en los cuerpos fructíferos (5).

2.3.3.2. CARBOHIDRATOS

En particular el *Pleurotus ostreatus* tiene un contenido elevado de carbohidratos de 57% y 14% de fibra cruda, de los cuales el 47% es fibra dietética. Dentro de los carbohidratos que contienen dichos hongos, se encuentran pentosas, hexosas, sacarosa, alcoholazúcares, azúcares-ácidos, metil-pentosas y aminoazúcares como la quitina (Breene, 1990; Burns et al, 1994).

2.3.3.3. LÍPIDOS

Pleurotus ostreatus contiene del 3 al 5% de lípidos en peso seco. La grasa cruda contenida en este tipo de hongos es mayor en el estípote que en el pileo y contiene todo tipo de lípidos, desde mono, di y triglicéridos, esteroides, esterolésteres y fosfolípidos. En general, los lípidos de tipo neutro, constituyen de 20 a 30% del total, los glicolípidos un 10% y los fosfolípidos del 60 al 70%. El ácido linoléico es el que más abunda (hasta en un 80% del total de ácidos grasos) y la Fosfatidil-colina y la fosfatidil-etanolamina, son los principales fosfolípidos. Por otro lado, *P. ostreatus*, tiene una buena cantidad de esteroides, Ergosterol es el más importante en alrededor de un 70% del total (Breene, 1990).

El ergosterol también está presente en importantes concentraciones en la levadura de cerveza, gérmenes de semillas de cereales y en menor cantidad en algunas setas y hojas verdes de plantas (4).

Existe el ergosterol en diferentes especies de hongos tales como el *Agaricus campeste*, que contiene 0.104% de ergosterol, *Ganoderma australe* 0.005 %, entre otros, mismos

que crecen en muy diversos hábitats tales como praderas, bosques de zonas templadas, tropicales, etc (1).

El contenido de ergosterol en el *P. ostreatus* puede variar significativamente dependiendo de las condiciones de manipulación, es así, cuando son cultivadas en ausencia de luz, el contenido es de 0.63%, frente a los cultivo en presencia de luz diurna, que es de 0.21% de ergosterol.

Este incremento de la provitamina del 200% parece indicar una influencia significativa de la luz en el contenido de ergosterol de los cuerpos fructíferos del *Pleurotus ostreatus*.

Se han identificado por otro lado, algunas sustancias aromáticas (volátiles), con 8 átomos de carbono, derivadas por la acción enzimática a partir del ácido oleico y linoleico, éstas son responsables en gran parte del aroma y delicioso sabor característico de este tipo de hongos. (Rajaratnam y Bano, 1991; Beltrán y García, 1997).

2.3.3.4. VITAMINAS

Todos los hongos suelen ser una buena fuente de tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), niacina, biotina y ácido ascórbico (vitamina C). En el caso de *Pleurotus ostreatus* el contenido de tiamina se encuentra entre 4.8 y 7.8mg/ 100g, riboflavina 4.7 a 4.9mg/100g y niacina 55 a 109 mg/100g, todo en peso seco. Los contenidos de ácido ascórbico (vitamina C) son muy altos, hasta de 36 a 58mg/100g del peso seco por lo que pueden ser una muy buena fuente de antioxidantes y agentes reductores para el uso de medicamentos y complementos nutricionales, éstos pueden ser utilizados en el tratamiento del escorbuto, la diabetes, hipoglucemia, cáncer, etc. (Kang et al, 1998) (10).

El alto contenido de ergosterol, es transformado en vitamina D por acción de los rayos de luz UV al ser deshidratados al sol. Por lo que las setas deshidratadas de esta forma, son una buena fuente de esta vitamina, muy importante para la absorción de calcio,

sobretudo del fosfato de calcio fundamental para el buen desarrollo de huesos y dientes (5).

2.3.3.5. MINERALES

Los hongos absorben todos los minerales que contiene el sustrato donde son cultivados, por lo general contienen buena cantidad de fósforo y potasio, y calcio en menor cantidad. En el caso de *Pleurotus s.p.*, se han encontrado, además de los ya mencionados, buenas cantidades de zinc, cobre y magnesio. Una proporción media de hierro y manganeso.

El calcio, aluminio y sodio se ha encontrado en pequeñas cantidades. También se han encontrado trazas de fósforo, arsénico y mercurio (Breene, 1990).

2.3.4. PROPIEDADES MEDICINALES DE LAS SETAS

En México los hongos con propiedades medicinales que más comúnmente pueden encontrarse en el mercado, son los *Pleurotus s.p.*, comúnmente conocidos con el nombre de “setas”, aunque este nombre en castellano corresponde a todos los hongos macroscópicos, esta variedad de hongos empezó a cultivarse en los Estados Unidos en 1900 y en México en 1974, sin embargo su popularidad ha sido prácticamente insignificante, sin embargo en China su consumo es muy amplio y en Europa también, sobretudo en España y en Italia, donde se ha desarrollado una gran industria alrededor de la producción de las setas.

Existen reportes antiguos como el de la Pharmacopeia Sinica, donde se reporta a los *Pleurotus s.p.* son hongos cuyas propiedades pueden utilizarse para disipar los enfriamientos, relajar los tendones y las venas, su parte útil son los cuerpos fructíferos, los cuales tienen un sabor dulzón y suave textura (Liu y Yun-Sun, 1980). De acuerdo con la sabiduría oriental, las setas previenen la hipertensión y la arteroesclerosis. Proporcionan longevidad y vigorizan el organismo, ayudando a las personas a

recuperarse de la fatiga, previenen las crudas después de la borrachera, evitan el estreñimiento, y por supuesto fortalecen las capacidades sexuales (Breene, 1990). En México y parte de Centroamérica, también se ha reportado el uso de algunas especies de *Pleurotus s.p.*, con fines terapéuticos, entre estas especies se han reportado las siguientes: *Pleurotus smithii*, *P. Ostreatoreosus* y *P ostreatus*, se menciona el uso de estos hongos para el tratamiento de la hipertensión, como diurético, en la reducción del colesterol y como afrodisíaco (Guzmán, 1994).

En algunas partes de África se reporta el uso del *Pleurotus tuber-regium* mezclado con una serie de plantas medicinales, para el tratamiento de enfermedades, como dolores de cabeza, fiebre, resfriado, asma, hipertensión arterial, padecimientos del sistema nervioso, dolor de estómago. (Oso,1977; Kadiri y Fasiri, 1992).

Son probióticos, lo cual significa que ayudan al organismo a combatir las enfermedades, restaurando el bienestar y el equilibrio natural, haciendo que nuestro sistema inmune funcione correctamente para eliminar a los agentes externos que pudieran desequilibrar nuestra salud. Además de que son deliciosos y muy versátiles para ser utilizados en cualquier estilo culinario.

El consumo frecuente de algunos tipos de hongos podría beneficiar nuestra salud y bienestar general, sobre todo en lo que se refiere a la prevención de las enfermedades que comúnmente ocasionan las dietas inadecuadas.

Una de las especies más estudiadas y también la que más comúnmente se cultiva, es el *Pleurotus ostreatus*, que es de color grisáceo o marrón con diferentes tonalidades desde oscuras a claras o de color crema.

A continuación se mencionan algunas de las propiedades medicinales que se han encontrado a los hongos del género *Pleurotus s.p.*, que por cierto, tiene buena cantidad de especies con diferentes características en cuanto a formas, tamaños, colores, etc.

Debido a los grandes beneficios que tienen estos hongos comestibles a continuación se explica más detalladamente:

2.3.4.1. EFECTOS ANTITUMORALES

Recientes investigaciones han demostrado que algunas variedades de hongos comestibles entre los que destacan las que conocemos en México con el nombre de “setas” (*Pleurotus ostreatus*), contienen cantidades importantes de polisacáridos de estructura molecular compleja, a los cuales se les ha encontrado una importante capacidad antitumoral, es decir, se ha comprobado a nivel laboratorio que estas sustancias son capaces de retardar y disminuir el tamaño de algunos tipos de tumores, además de prevenir la formación de éstos. Seguramente el mecanismo consiste en que estos polisacáridos actúan como potenciadores de las células de defensa que posteriormente destruyen las células cancerosas sin ocasionar efectos colaterales al enfermo (Miles y Shu-Ting, 1997).

2.3.4.2. EFECTOS ANTIVIRALES

Los mismos mecanismos que estimulan el sistema inmune del organismo, actúan de la misma manera para combatir algunos agentes infecciosos, tanto virales como bacterianos, el hecho de que se puedan activar mediante estos polisacáridos ciertos sistemas de defensa puede contribuir como coadyuvante en el tratamiento de enfermedades de deficiencia inmunológica como el SIDA, y otras enfermedades de origen autoinmune como la Artritis reumatoide o el Lupus.

Se ha encontrado que el micelio del *Pleurotus s.p.* contiene una mezcla de diferentes polisacáridos de bajo peso molecular y sustancias similares a la Zeatina, las cuales contienen citoquina, estas son sustancias similares a fitohormonas que se sabe tienen efectos antivirales y que no causan efectos colaterales ni toxicidad en pacientes enfermos (Nada, Shokukin, 1998).

El alto contenido del ácido glutámico en muchos hongos comestibles, que es un aminoácido que se sabe tiene un efecto estimulante del sistema inmunológico, se encuentra en concentraciones particularmente altas en las setas y en una forma natural del glutamato monosódico (MSG por sus siglas en inglés) es una sal que se utiliza para dar realce a diferentes tipos de alimentos y platillos.

2.3.4.3 EFECTO ANTIINFLAMOTORIO

Tienen también propiedades antiinflamatorias, se han hecho investigaciones en donde se aislaron glicopéptidos (lectinas) que contienen aminoácidos ácidos con glucosa, arabinosa, galactosa, manosa, y xilosa, en la cadena de carbohidratos, con excelente capacidad fungicida y antibiótica, estos componentes han sido aislados tanto del micelio como de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus japonicus* (Yoon et al.. 1995), *Pleurotus ostreatus* (Noda Sokukin) y *P. Cornucopiae* ((Yoshida et al.. 1994). Se ha reportado que estas sustancias han sido útiles en el control de algunas enfermedades de las plantas. Otras importantes sustancias con actividad antibiótica son los componentes aromáticos volátiles que caracterizan a la mayoría de las especies de *Pleurotus s.p.* o Setas, estos son componentes de 8 carbonos en su estructura molecular, y son las moléculas que originan el aroma y sabor característico que distingue a este tipo de hongos, estas sustancias han demostrado tener una fuerte capacidad antibacteriana y por tanto antiinflamatoria contra diferentes tipos de agentes infecciosos (Beltrán García et al..1997).

2.3.4.4. CONTROL DEL COLESTEROL

Se ha demostrado a nivel experimental con ratas de laboratorio que el consumo frecuente de setas disminuye el nivel de ácidos grasos en sangre y el colesterol en el hígado, por otro lado en estos experimentos se detectó un aumento en la relación fosfolípidos-colesterol lo cual sugiere un efecto antiteratogénico favorable, es decir que

puede ayudar a prevenir el endurecimiento de las arterias y como consecuencia la prevención de posibles enfermedades cardiovasculares lo cual también podría ocurrir en seres humanos (Bobek et al,1990. Opletal et al, 1997). Por otro lado, en los cuerpos fructíferos del *Pleurotus ostreatus*, se ha encontrado en forma natural una sustancia que baja el colesterol, los triglicéridos y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, por sus siglas en inglés) de la sangre de nombre Lovastatin o Lovastatina cuyo uso ha sido aprobado en los Estados Unidos por la FDA y que se utiliza como principio activo de diferentes medicamentos recetados comúnmente por los médicos para el tratamiento de la hipercolesterolemia, el más conocido de éstos es el Mevacor. (Gunde y Cymerman, 1995). Por otro lado, las setas contienen también Mevinolin y otras sustancias relacionadas que son potentes inhibidores de la HMG CoA reductasa principal enzima responsable en la biosíntesis del colesterol.

2.3.4.5. EFECTO HEPATOPROTECTOR

En otros experimentos que se realizaron con ratas de laboratorio a las que se suministró setas deshidratadas en un 2%, con una dieta rica en grasa, durante 6 meses, se demostró que lograron bajar los niveles de colesterol y triglicéridos en un 65-80%, en comparación con las ratas control. A nivel histológico se encontró que el depósito de grasa en el hígado era mucho menor con lo que se puede hablar también de un efecto hepatoprotector. Este efecto fue probado posteriormente en ratas sometidas a una dieta con alcohol etílico (ratas borrachas), y el resultado de los estudios demostró en las ratas que consumieron Pleurotas (setas) lograron una protección de la estructura hepática de hasta el 40%.

2.3.4.6. EFECTO ANTIHIPERTENSIÓN

Además de que la disminución del contenido de colesterol en el plasma sanguíneo por si solo tiende a hacer que la presión arterial disminuya, se sabe también que una dieta rica

en potasio puede ayudar a disminuir la hipertensión arterial, casi todos los hongos comestibles son ricos en este mineral y las setas no son ninguna excepción. También se ha demostrado que la ingesta de setas, permite una mejor absorción de minerales a nivel intestinal, esto debido a la presencia de metaloproteínas (Hobbs C, 1996)

2.3.4.7. EFECTO ANTIOXIDANTE

Los hongos de la pudrición blanca, (hongos que crecen en troncos de madera) a los que pertenecen los *Pleurotus s.p.* o setas, poseen sustancias con propiedades antioxidantes, por lo que pueden constituir una fuente potencial de bio-antioxidantes, o de preparaciones complejas con propiedades antioxidantes (Capich y Shashkina, 1992) (13).

2.4. GENERALIDADES SOBRE EL CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus*.

El cultivo de esta seta es posible realizarlo con diferentes técnicas, pero en todas ellas lo fundamental consiste en sembrar el micelio sobre un sustrato leñoso-celulósico húmedo (casi siempre pasteurizado), incubarlo a 20-25° C, mientras se tiene envuelto el plástico y, por último, mantenerlo descubierto en sitios muy húmedos hasta que salgan las setas (19).

2.4.1. INSTALACIONES PARA EL CULTIVO INDUSTRIAL

Las instalaciones se diseñarán en función de la época y del volumen de producción que se desea conseguir. Si la producción va a ser continua durante todo el año serán precisos dos locales en donde se puedan controlar los parámetros climáticos (temperatura, humedad, luz y ventilación). Estos dos locales son:

- Un local de incubación, en el que tendrá lugar el crecimiento del micelio sobre el sustrato. La temperatura será de 18 a 22° C y la ventilación de 1 metro cúbico de aire por hora y por kilogramo de sustrato.
- Local de cultivo. En él se producirán las setas sobre bloques ya invadidos de micelio. La temperatura será de 12 a 14°C y la humedad relativa (HR) entre el 85 y 95%. La ventilación ha de ser tal que el contenido en CO₂ sea inferior al 0,06 % (150 m³ de aire por tonelada métrica de sustrato y hora, y una frecuencia de 8 a 10 veces por hora). La iluminación será de 12 horas diarias (200 a 500 lux).

Para obtener estas condiciones climáticas se utilizan pequeños locales que pueden estar dotados de sistemas de calefacción por infrarrojos, humidificación con cortina de agua en los ventiladores, circulación de aire mediante conducciones de plástico perforadas que cuelgan del techo, aislamiento del exterior, sistemas de filtro para evitar la entrada de otros hongos, enfermedades o insectos, etc. (22).

2.4.2. TIPOS DE SUSTRATOS PARA EL CULTIVO DE *Pleurotus ostreatus*

El sustrato debe contener todos los nutrientes necesarios para el crecimiento del hongo. Entre ellos deben estar la celulosa, las hemicelulosas y la lignina, que funcionarán como fuentes principales de carbono y nitrógeno. Es recomendable además que el sustrato esté libre de sustancias antifisiológicas que afectan, el crecimiento del micelio, como son los taninos, fenoles, ácidos, resinas, compuestos aromáticos, etc., provenientes de fumigaciones o de malos manejos (4).

Algunas veces, una combinación de sustratos favorece el mejor el desarrollo de los hongos.

2.4.2.1. CULTIVO SOBRE TRONCOS CORTADOS

Los árboles más adecuados son el chopo o álamo negro (*Populus nigra*) y sus híbridos, así como el chopo temblón (*Populus tremula*). También se pueden emplear el álamo blanco, los sauces, moreras, hayas, nogales, cerezos, abedules, castaños de Indias, robles y encinas.

El cultivo sobre este sustrato es bastante fácil y no necesita instalaciones complicadas, pero requiere el corte de árboles y por tanto una reforestación de la masa forestal. La producción de setas dura pocos años.

2.4.2.2. CULTIVO SOBRE TOCONES DE MADERA

Los tocones de chopos, álamos, hayas, nogales, sauces, moreras, robles y encinas, pueden aprovecharse para cultivar *Pleurotus ostreatus*, con la ventaja de que el propio hongo se encargará de atacar a la madera y en pocos años la dejará blanda, lo que facilitará la eliminación del tocón.

La siembra del micelio en el tocón se realiza a los pocos meses de la tala del árbol. Para ello se realizan unos agujeros con una barrena o taladro en diversos puntos del tocón, o algunos surcos con una sierra, con cierta inclinación hacia arriba y adentro, para evitar que se llenen de agua con la lluvia. Después se rellenan de micelio y se cubren con tiras de papel engomado opaco.

2.4.2.3. CULTIVO SOBRE PAJA DE CEREALES

Es el método que proporciona mayores rendimientos. Consiste en sembrar el micelio sobre un sustrato preparado a base de paja, incubarlo a unos 25° C y luego tenerlo en un sitio fresco, húmedo, ventilado e iluminado.

Con respecto a la adecuación del sustrato se dice que es el material sobre el cual crecerá el hongo; en general será algún residuo poscosecha (rico en lignina y celulosa). Estos residuos se pueden enriquecer con otros materiales o sustratos, lo cual mejorará el contenido nutricional del sustrato y favorecerá el crecimiento de las setas. Se utilizan los siguientes materiales como sustrato:

- Vainas secas de fríjol y otras leguminosas
- Bagazo triturado de la caña de azúcar
- Cogollo de caña
- Cascarella motosa de algodón
- Caña, capacho y tusa (secos de maíz)
- Pulpa de café
- Pasto seco
- Socas de flores
- Podas de rosas y arbustos
- Fibra de plátano
- Acícula de pino
- Viruta de madera
- Aserrín
- Residuos del cultivo de la palma africana
- Residuos de pastos y cereales

El material seleccionado como sustrato debe triturarse en pedazos muy pequeños (menores a un centímetro) como viruta o aserrín, secarse muy bien al sol antes de empacarse (para asegurarse que tenga baja población de contaminantes), almacenarse en un lugar seco y cubierto y empacarse en costales limpios y secos.

2.4.3. ESTERILIZACIÓN DEL SUSTRATO

Con la esterilización se pretende eliminar o destruir del sustrato los contaminantes como hongos, bacterias, semillas y otros microorganismos, de manera que la mezcla queda lista para sembrar la semilla de las orellanas, las cuales crecerán libremente sin competencia. Si no se esteriliza el sustrato, van a crecer en éste muchos contaminantes que dañarán completamente el cultivo de las setas.

2.4.4. PREPARACIÓN DEL SUSTRATO

La preparación de sustratos a base de paja de cereales (centeno, trigo o cebada) requiere los siguientes pasos:

- Mojado de los montones de paja en depósitos durante 1 ó 2 días, en mezcladoras o mediante sistemas de riego por aspersión. La temperatura no debe sobrepasar los 60°C para evitar problemas futuros con hongos del género *Trichoderma*. La humedad de la masa de paja deberá ser del 70-80%. Se añadirá carbonato cálcico para que el pH sea de 6,5.
- Enriquecimiento del sustrato. Algunos cultivadores añaden creta molida, heno picado, harina de maíz, harina de soja, harina de girasol, alfalfa deshidratada, salvado de arroz, etc. Al sustrato se le añaden distintos aditivos para mejorarlo y proporcionar mayor producción: harina de plumas (5%), yeso (10-40%), etc.
- Tratamiento térmico. Con ello se consigue destruir semillas, insectos parásitos, hongos, etc., que puedan desarrollarse sobre el sustrato. Para ello se realiza una pasteurización al vapor en cámaras. La temperatura y el tiempo de pasteurización varía según los sitios. En general se emplean temperaturas

comprendidas entre los 60 y 80°C durante unas 5-6 horas, con periodos intermedios de 50° C durante 1-2 días.

Así de una tonelada métrica de paja se obtienen entre 2 y 3 toneladas de sustrato. Cuando el sustrato tiene entre 20-25°C y un 70% ya está preparado para la inoculación del micelio.

2.4.5. SIEMBRA E INCUBACIÓN

La siembra consiste en mezclar el micelio con la paja o sustrato ya preparado, de un modo uniforme. La cantidad de micelio comercial varía entre 1 y 4 % del peso húmedo. A mayor cantidad el desarrollo del hongo será más rápido y abundante pero la temperatura también será mayor, lo que perjudicará al desarrollo del micelio.

El micelio comercial se prepara en laboratorios especializados germinando las esporas en placas con agar-maltosa u otros medios de cultivo. Después se hace crecer sobre granos de cereales esterilizados, y una vez colonizados, se envasan para la venta. Existen varias cepas comerciales de *Pleurotus s.p.* según el tamaño, color, necesidades de frío, resistencia al calor, etc. (5).

El sustrato sembrado se introduce en sacos de plástico transparente de 15 a 30 Kg de capacidad. El diámetro de los sacos debe ser inferior a los 40-50 cm, para evitar sobrecalentamientos del sustrato y una densidad inferior a 0,36. También se pueden emplear jaulas o cajones de tela metálica de malla amplia recubiertos de plástico. Pero las condiciones básicas que han de reunir los envases son:

- Su tamaño no puede sobrepasar los 50 cm en ninguna de sus dimensiones, para facilitar el transporte.

- La mayor parte de la superficie ha de ser vertical para obtener setas de mayor calidad.

La incubación se la realiza en un cuarto cerrado, con las ventanas cerradas para evitar la contaminación o la deshidratación y para mantener una humedad del 85%.

La duración de esta etapa puede variar de una bolsa a otra pero en general es de cuatro semanas, tiempo que tarda el micelio en cubrir toda la bolsa (el sustrato se torna completamente blanco) y en empezar a aparecer unos puntos pequeñitos y en cantidad llamados *primordios* (las primeras manifestaciones de los cuerpos fructíferos de las setas) ya que indican que es el momento de llevarlas a fructificación. Durante toda la incubación hay que hacer revisión de las bolsas, máximo cada tres días, con el fin de buscar señales de contaminación. Lo primero es que el olor de esta área debe ser agradable; en caso de que haya olor desagradable indica que existen bolsas contaminadas.

Las señales de contaminación son:

- El micelio no está completamente blanco
- Colores diferentes al blanco
- No hay desarrollo del micelio
- Mal olor

Las bolsas contaminadas deben retirarse y con esto se evita que se contaminen las otras bolsas. Hay que llevar un registro de la cantidad de éstas y la fecha de aparición de la contaminación, para buscar las causas y corregir los errores en la incubación. Es normal que algunas bolsas se contaminen, pero máximo se deber permitir hasta el 10 % de contaminación en todo el proceso (15).

TABLA N° X: Posibles cambios de color del cultivo de orellanas

Coloración	Agente contaminante
Negro	Mucor (hongo)
Azul verdoso	<i>Penicillium</i> (hongo)
Verde intenso oscuro	<i>Trichoderma</i> (hongo)
Amarillo verdoso	<i>Aspergillus</i> (hongo)
Líquido amarillento, fétido	Bacterias
Negro blando	Bacterias
Amarillo sin olor	Exudados normales del hongo (no son contaminantes)

* ACUÑA, J

2.4.6. FRUCTIFICACIÓN

Una vez el sustrato es invadido por el micelio del hongo hay que cambiar las condiciones del cultivo, proporcionando un ambiente propicio y adecuado para lograr una excelente producción

Se aumenta la humedad relativa, para lo cual se cierran las ventanas a fin de evitar la deshidratación y mantener la humedad por encima del 90%, igualmente, se proporcionan condiciones de semipenumbra para inducir la formación de los cuerpos fructíferos (setas).

Durante el período de fructificaciones se pretende mantener temperaturas máximas de 20°C a 22°C, humedad del 90% al 100% y semipenumbra.

2.4.7. COSECHA

En el área de fructificación se cosechan las setas maduras aproximadamente un mes después de haber sido inoculadas las bolsas. En una misma bolsa, se pueden encontrar algunos primordios, setas sin abrir la sombrilla, setas abriendo la sombrilla, setas ya abiertas y setas muy abiertas (con los bordes de la sombrilla doblados hacia arriba). Es importante cosechar a tiempo setas que estén abiertas, tomándolas con la mano por la base de manera cuidadosa, con un movimiento de torsión.

Las bolsas soportan de cuatro a cinco cosechas. La producción de la bolsa irá decreciendo paulatinamente hasta que por degeneración del micelio éste no produzca más fructificaciones.

Después de la primera cosecha, la producción de las bolsas entra en un período de reposo (cinco o diez días) antes de la segunda cosecha, y así sucesivamente.

No todas las orellanas tienen el mismo tamaño, así que pueden clasificarse en tres grados diferentes:

- Grande (*large*): diámetro del sombrero mayor a 8 cm
- Mediano (*medium*): entre 4 y 8 cm de diámetro
- Pequeño (*small*): diámetro menor que 4 cm.

2.4.8. MANEJO POSCOSECHA

Los hongos cosechados pueden utilizarse directamente en la preparación de diferentes recetas para el consumo humano. Si los hongos no se consumen inmediatamente, deben conservarse en recipientes plásticos o bandejas icopor cubiertas con papel vinilpel refrigeradas durante máximo 10 días.

Si se desea conservar los hongos por largo tiempo, pueden prepararse en conservas utilizando una formulación de salmuera del 2.5% de sal y el 0.15% de ácido cítrico. Otra posibilidad es de deshidratarlos utilizando el Sol como fuente natural de energía.

2.4.9. MANEJO DE RESIDUOS

El sustrato que queda como residuo del cultivo de los hongos puede utilizarse en la alimentación de animales, ya que termina enriquecido con la proteína del hongo y delignificado por la acción bioquímica de éste.

Aquél también puede emplearse como sustrato para el cultivo de la lombriz roja.

De esta manera, del cultivo integral de las orellanas sobre los residuos agrícolas se obtiene un alimento para el consumo humano (la seta), alimento para consumo animal (la lombriz) y abono orgánico (el lombricompuesto) que se incorpora nuevamente al suelo y permite disminuir la aplicación de abonos químicos, potencializando así los rendimientos en la producción agrícola.

Este material también puede incorporarse en el proceso de compostaje de materiales orgánicos en busca de un excelente producto para la fertilización orgánica.

2.4.10. OPERACIONES DE CULTIVO

Una vez colonizados los bloques, se les quita el plástico y se trasladan a la sala de cultivo. Los bloques se apilan de forma que las superficies expuestas al aire sean las mayores y queden verticales. Se darán riegos frecuentes pero no excesivos para evitar el desarrollo de enfermedades.

TABLA N° XI: FASES DEL CULTIVO DE LA SETA

Fases	Procesos	Tiempo	Cultivo industrial	Cultivo doméstico
Preparación del sustrato	Acondicionamiento del material de base		Paja de cereales, residuos de maíz, aserrín, fibra, raquis, lodos, cacao, bagazo de caña. Solos o mezclados.	Paja de cereales picada, etc.
	Empajado	De unas horas a días	Con agua	Con agua algo templada
	Pasteurización	18 - 24 horas 8 horas 18 horas	80°C al vapor 60°C 50°C en aerobiosis	Una hora en agua a 80°C. Escurrir y lavar
Siembra del micelio	Mezclado		Al 2% con el sustrato (que estará a unos 25°C y con un 70% de humedad)	3 % del sustrato húmedo
Incubación			En sacos de plástico transparente en recipientes cubiertos de plástico. Temperatura del local: 18 - 22°C.	Igual que en el cultivo industrial.
Producción de setas	Control del ambiente	Hasta 60 días (en tandas de 3 - 8 días, con descansos 10 - 20 días)	Temperatura del local: 12 - 18°C según la cepa empleada. Humedad del ambiente: 85 - 95%. Mantener el sustrato húmedo regando finamente, o dejando el plástico sin quitar si tiene perforaciones grandes. Iluminación diurna Ventilación diaria	Humedad grande (rociar) Iluminación diurna Mucha ventilación.

*www.vicobos.es.vg

2.4.11. CONDICIONES AMBIENTALES PARA EL CRECIMIENTO DE HONGOS

Las condiciones ambientales óptimas para el crecimiento de hongos se las miden a través de factores físicos o químicos, como temperatura, agua, pH, etc.; sin embargo hay otro tipo de condiciones ambientales extremadas tales como una escasez de nutrientes esenciales o un medio hostil en los tejidos de un hospedero.

2.4.11.1. TEMPERATURA

La mayoría de los hongos son mesófilos; crecen a temperaturas moderadas en un intervalo de 10 a 40°C.

Para fines prácticos, la mayoría de los hongos crecen bien a temperatura ambiente. Mientras que las temperaturas de 30 a 37°C, que por lo común son idóneas para las bacterias, son inadecuadas para muchos hongos.

Pocos hongos son termófilos y crecen en el intervalo de 20 a 50°C, con una temperatura óptima de (o cerca de) 40°C y un límite máximo de 60 a 62°C.

Por relativamente pocos los ambientes que favorecen a los hongos termófilos, pero éstos desempeñan funciones importantes en los procesos de formación de composta.

Unos cuantos hongos crecen a bajas temperaturas (a veces por debajo de 0°C) y se denomina psicrófilos o psicrotolerantes, dependiendo de su límite superior para el crecimiento (menor de 20°C en el caso de los psicrófilos). Se encuentran en climas fríos, pero también son comunes y a veces importantes en regiones de clima templado. Como por ejemplo *Cladosporium herbarum* y *Thamnidium elegans*.

2.4.11.2. CONCENTRACIÓN DE IONES HIDRÓGENO

Las respuestas de los hongos al pH son en gran medida por otros factores no relacionados, sin embargo, en el laboratorio muchos hongos crecen en un intervalo de pH de 4.5 a 8.0, y muestran un amplio intervalo de pH óptimo de 5.5. a 7.5.

Una buena parte de la información acerca del pH proviene de estudios sobre las enzimas pécticas de los organismos que descomponen las frutas y verduras almacenadas. Las enzimas de las bacterias a menudo tienen un pH óptimo de aproximadamente 7.0, mientras que las mismas enzimas de los hongos por lo general tienen un pH óptimo entre 5.0 y 5.5.

Muchos otros factores son afectados por el pH, incluyendo la permeabilidad de la membrana y el grado de disociación de las moléculas en iones. Por lo tanto, es posible que un hongo sea incapaz de absorber nutrientes esenciales a un cierto valor de pH, o bien encuentre niveles tóxicos de compuestos, dependiendo de si, son más tóxicos en la forma disociadas que en la no disociada.

Además, los hongos a menudo alteran el pH del medio en el que crecen y los hacen por:

- ✓ Absorción selectiva e intercambio de iones,
- ✓ Producción de CO₂ o NH₃,
- ✓ Producción de ácidos orgánicos

En cuanto al crecimiento a niveles extremos de pH, hay varios hongos acidófilos o tolerantes al ácido, pero sólo hay unos cuantos (si acaso los hay) verdaderamente basófilos.

2.4.11.3. AIREACIÓN

La mayoría de los hongos son aerobios estrictos; requieren de oxígeno cuando menos en pequeñas cantidades para su crecimiento, sin embargo, hay algunas excepciones a esta regla general que parecen estar dentro de tres categorías (Emerdon y Natvig, 1981). Primera, cierto número de levaduras y varios hongos filamentosos pueden crecer fermentando azúcares. Las especies filamentosas incluyen a *Fusarium oxysporum*.

Una segunda categoría del comportamiento de los hongos la representan los pocos hongos fermentadores obligados de las aguas estancadas. Estos hongos carecen de mitocondrias y citocromos, por ejemplo: *Aqualinderella fermentans*.

La tercera categoría incluye algunos hongos recientemente descubiertos que se asemejan a los Chytridiomycetes.

2.4.11.4. AGUA

Existen varias formas de definir la disponibilidad de agua para un organismo. Los micólogos a menudo se han referido a humedad relativa (HR) en equilibrio, en cuyo caso el 70% de HR es, para fines prácticos, el límite inferior para el crecimiento de los hongos, aunque algunos crecen con mucha lentitud a una HR menor de 65%.

Los hongos muestran un comportamiento muy variado con respecto a la disponibilidad de agua, pero en general son más tolerantes a la escasez de agua que otros organismos.

Debe aclararse que muchos de los medios en los que crecen estos hongos no son “secos” en el sentido cotidiano de la palabra. Más bien, contienen agua que debido a sus altas concentraciones de solutos, no está disponible para la mayoría de los organismos.

Por esta causa algunas de las especies tolerantes a la sequía se describen mejor como osmófilas u osmotolerantes.

2.4.11.5. LUZ

La parte visible del espectro (longitudes de onda entre 380 y 729 nm) tiene poco efecto, hasta donde se sabe, en el crecimiento vegetativo de los hongos, aunque puede tener efectos importantes en la esporulación (4).

La radiación ultravioleta en la región de 200 – 300 nm tiene efectos mucho más pronunciados en el crecimiento vegetativo. Esta radiación produce mutaciones y daño letal al resultar afectado el DNA.

A diferencia del crecimiento vegetativo, el desarrollo de las estructuras reproductoras sexuales y asexuales es a menudo afectado por la luz (Tan, 1978)

2.4.12. RECOLECCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN

Unas dos o tres semanas después de aparecer el primer botón ya se recogen las primeras setas. La producción de setas se concentra en tres a ocho días y luego de diez a veinte días, después abundan otra semana y así sucesivamente. Para obtener setas con sombreros gruesos, carnosos y de buena calidad es preferible bajar la temperatura 2-3°C. Las setas se cortan con un cuchillo, sin arrancar la base.

En unas siete o nueve semanas se pueden producir entre 100 y 200 kilos de *Pleurotus* por tonelada de sustrato preparado y húmedo. La producción se escalona a lo largo del año, concentrándose entre 2 y 4 meses, distribuidos:

- De 15 a 30 días de incubación y crecimiento del micelio.
- De 15 a 20 días en la zona de cultivo.
- De 45 a 60 días de cosecha.

Los ejemplares para la venta se recogen cuando son jóvenes ya que luego su carne se vuelve correosa. Los sombreros más aceptados por el consumidor son los que pesan menos de 70 g.

Los pies y los ejemplares adultos se destinan a la preparación de sopas, salsas o platos preparados con sabor a setas.

Con la aplicación de técnicas biotecnológicas como la Fermentación en Estado Sólido (FES) se logra obtener un alimento de un alto valor nutritivo, rico en proteínas, fibras y completamente orgánico; además el desecho en donde crecen los hongos, contiene proteínas, carbohidratos y materiales que se puede utilizar posteriormente en el cultivo.

2.5. FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO

La Fermentación es Estado Sólido (FES) se define como un método de cultivo de microorganismos sobre y dentro de las partículas de la matriz sólida (sustrato sólido), donde el líquido contenido, ligado con éste, está a un nivel correspondiente de forma que la actividad del agua asegure el correcto crecimiento y metabolismo de las células, pero no excediendo en la capacidad máxima de tenencia de agua en la matriz sólida.

Las fermentaciones sólidas ocurren espontáneamente en la naturaleza; la evidencia más común es el enmohecimiento del pan, frutas, vegetales y parte del biodeterioro de alimentos sólidos; por tanto, es un proceso natural cuyo origen está vinculado con la historia del hombre y de la vida (2).

La fermentación sólida puede utilizar sustratos naturales y sintéticos. Las materias primas para la industria de las fermentaciones proceden sobre todo de las plantas, contienen hidratos de carbono, compuestos nitrogenados y demás elementos nutritivos, en general son utilizados por los microorganismos como fuente de carbono.

Puesto que la mayoría de las FES son aerobias, las condiciones de fermentación deben ser diseñarse de tal forma que la transferencia de oxígeno y la eliminación del CO₂ del sustrato sean eficientes. Debido a las elevadas concentraciones de sustrato por unidad de volumen, el calor generado durante el proceso es usualmente mucho mayor que en las fermentaciones líquidas, y el contenido menor de humedad hace más difícil su eliminación.

Las aplicaciones más importantes de la FES, se resumen de la siguiente manera:

- Degradación de desecho sólido para la obtención de compost
- Preparación de alimentos más apetecibles
- Producción de enzimas
- Producción de micotoxinas y otros metabolitos
- Enriquecimiento proteico de alimentos de bajo valor nutritivo

2.5.1. FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA FES

Los factores que intervienen en esta técnica son:

- Sustrato sólido/soporte
- Temperatura
- Humedad
- Aireación

- pH
- Relación carbono/nitrógeno (C/N)

2.5.2. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA FES

Entre las ventajas de los de la Fermentación en Estado Sólido tenemos: (2).

- Las condiciones de crecimiento del microorganismo son similares a su hábitat natural
- Los bajos niveles de humedad reducen los niveles de contaminación.
- La aireación es facilitada por los espacios entre partículas de la fibra y de la mezcla.
- La productividad es alta.
- Los productos se hallan más concentrados, lo que facilita su recuperación, puesto que se debe tratar menos material y usar menos solvente para la extracción de enzimas y otros metabolitos.
- El medio es relativamente simple, no genera residuales.
- Se obtiene altos rendimientos y simplicidad de la técnica
- Menores costos de inversión
- Reducción del consumo energético
- Menor volumen de Aguas residuales producidas
- Ausencia de problemas debido a la producción de espuma
- Reduce el volumen del reactor

Sin embargo, tiene sus limitaciones, como la acumulación de calor, la contaminación bacteriana, los problemas de escalado y la dificultad de controlar el nivel de humedad del sustrato (15).

Entre las principales desventajas de la FES se tiene: (2).

- La baja disponibilidad de agua únicamente permite el desarrollo de mohos, excluyendo el uso potencial de bacterias y levaduras.
- La fermentación de materiales a gran escala plantea aún serios problemas para el control de temperatura, pH, humedad y concentración de gases.
- La agitación o mezclado del sustrato puede requerir de alta potencia o consumo de energía.

El sistema comprende tres fases: (16)

Fase Sólida: generalmente es un sustrato vegetal conteniendo los microorganismos y nutrientes.

Fase Líquida: Para las diferentes transferencias de masa.

Fase Gaseosa: es importante y a su vez cumple tres funciones en la FES:

- Regula la temperatura del sustrato
- Regula el nivel de humedad del medio durante el curso de la fermentación.
- Mantiene las condiciones aerobias.

Los resultados alcanzados hacen que la FES, pueda aplicarse para la obtención de numerosos productos como son: (12)

- El enriquecimiento proteico de residuos agrícolas
- Producción de metabolitos
- Obtención de hongos comestibles.

CAPÍTULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. CEPA UTILIZADA

Para la investigación se utilizó la cepa CP 184 *Pleurotus ostreatus* var. *florida*, la misma que fue donada por el Centro de Estudios de Biotecnología Industrial de la Universidad de Oriente de Santiago de Cuba.

TABLA N° XII: Temperatura de crecimiento de *Pleurotus ostreatus* var. *florida*

Cepa	Temperatura de crecimiento °C
Pleurotus ostreatus var. florida CP 184	25 - 28

3.1.2. SUSTRATO

El “sustrato” es el material sobre el cual crece el micelio. Las propiedades físico-químicas del sustrato son las que determinan que hongos o que microorganismos pueden crecer en él.

El sustrato empleado son dos: fibra y raquis de palma aceitera los mismos que procederán de Santo Domingo de la empresa SOPALIN S.A. (ANEXO I).

3.2. MÉTODOS

3.2.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

En un proceso de fermentación sólida, intervienen un gran número de factores, que influyen en las diferentes fases de producción, por mencionar algunas tenemos: concentración del inóculo, aireación, tipo de medio de cultivo, temperatura,

iluminación, composición de la materia prima, concentración de CO₂, pH, humedad, etc.

Durante el desarrollo del cultivo del *Pleurotus ostreatus var. florida*, se controlarán los siguientes factores: temperatura, humedad y luminosidad, y se mantendrán constantes el pH del sustrato de siembra al valor de 6.6. La remoción del CO₂, se lo realiza mediante una ventilación adecuada del local de cultivo.

El presente trabajo se desarrollará bajo un diseño experimental completamente al azar, con 4 tratamientos en 3 replicaciones.

3.2.1.1 FACTOR DE ESTUDIO: El factor de estudio que se evaluó es el tipo de sustrato de siembra, como se detalla en la siguiente tabla:

TABLA N° XIII: Factor de estudio

FUENTE DE VARIACIÓN	
TIPO DE SUSTRATO DE SIEMBRA	
Tratamiento 1 = S1	Fibra 100%
Tratamiento 2 = S2	Raquis 100%
Tratamiento 3 = S3	Fibra 50% - Raquis 50%
Tratamiento 4 = S4	Fibra 70% - Raquis 30%

Además, durante el desarrollo de *Pleurotus ostreatus* variedad florida, se controló la temperatura (24 - 28°C), humedad relativa (75% aproximadamente), luminosidad (etapa con luz y sin luz), constante el pH del sustrato de siembra (6.6) y la remoción del CO₂ se lo realizó mediante ventilación adecuada del local.

3.2.1.2. PARÁMETROS A DETERMINARSE

Para evaluar la producción de la cepa de *Pleurotus ostreatus*, cultivado sobre los residuales de fibra y raquis de palma en cada uno de los tratamientos con sus respectivas repeticiones se determinarán los siguientes parámetros:

✧ % Proteína

El nitrógeno de las proteínas y otros compuestos se transforman en sulfato de amonio al ser digeridas en ácido sulfúrico en ebullición. El residuo se enfría, se diluye con agua y se le agrega hidróxido de sodio. El amonio presente se desprende y a la vez se destila y se recibe en una solución de ácido bórico, que luego se titula con ácido sulfúrico estandarizado.

$$P = \frac{(Ma - Mb) \times N \times 0.014 \times 6.25}{Pm} \times 100$$

Donde:

P = Porcentaje de proteína

N = Normalidad del ácido titulante.

Ma = Mililitros de ácido gastados en la muestra

Mb = Mililitros de ácido gastados en el blanco

Pm = Peso de la muestra en gramos

6.25 = Factor proteico del nitrógeno

✧ **Rendimiento**

Definido como la relación en porcentaje entre el peso fresco del hongo y el peso del sustrato húmedo.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Peso del hongo fresco}}{\text{Peso del sustrato húmedo}} \times 100$$

✧ **Eficiencia biológica (EB)**

Definida como la relación en porcentaje del peso fresco del hongo y el peso seco del sustrato.

$$\text{Eficiencia Biológica} = \frac{\text{Peso del hongo fresco}}{\text{Peso del sustrato seco}} \times 100$$

Según establece esta tecnología los rendimientos deben ser superiores al 10% y la eficiencia biológica debe alcanzar valores como mínimo del 40% lo cual determina entre otros aspectos, que sea factible económicamente.

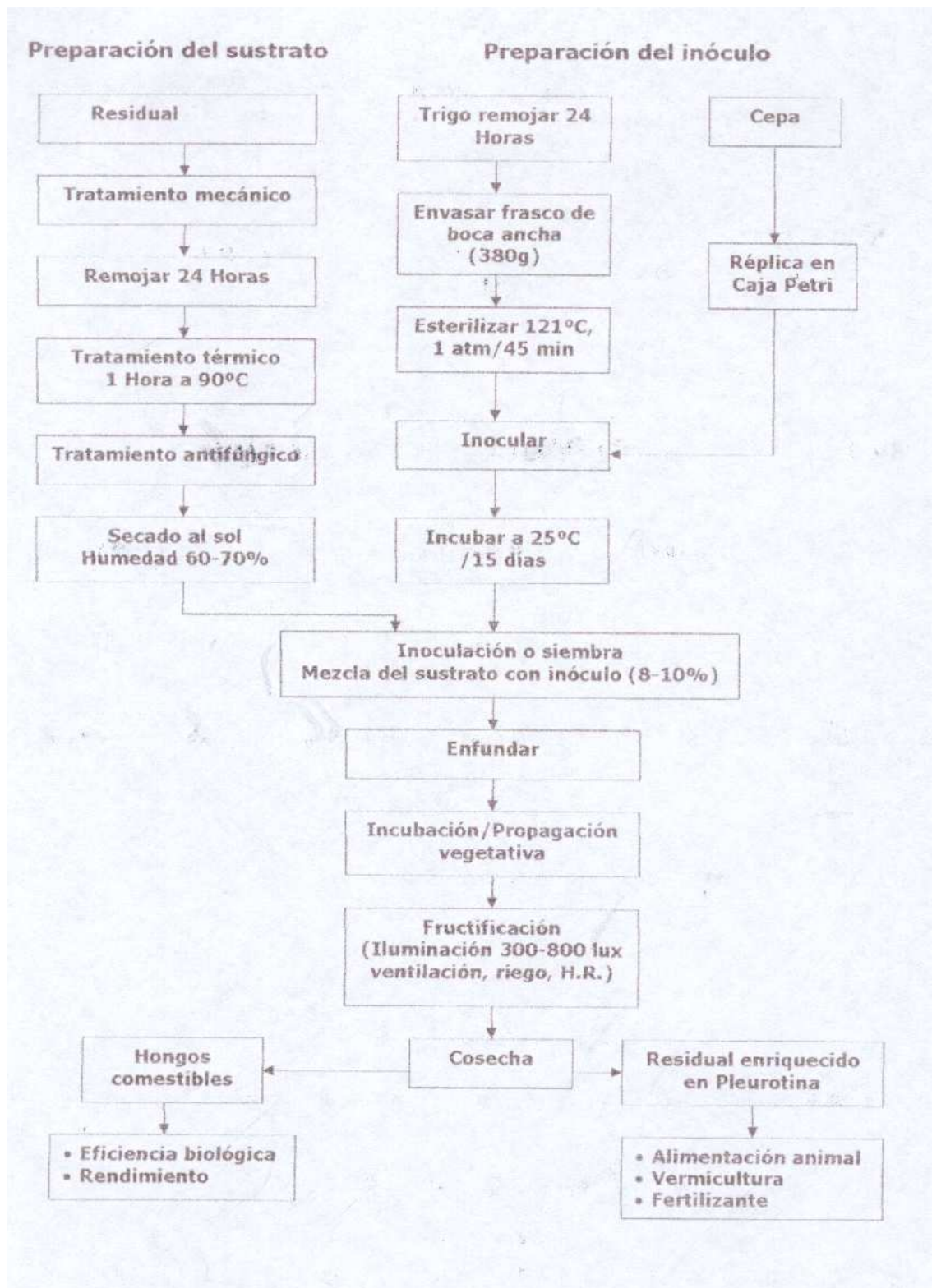
✧ **Precocidad**

Definido como el tiempo que transcurre entre el día de la incubación y el día en que aparecen los primeros carpóforos o primordios.

3.2.2. METODOLOGÍA

La metodología utilizada se indica en el diagrama de flujo, figura VI:

FIG N° VI: Diagrama de flujo del proceso de cultivo de hongos.



3. 3. PRINCIPIOS DE LAS TÉCNICAS ANALÍTICAS

Proteína: por el método de Kjeldahl, se basa en la alcalinización del material digerido, destilación y titulación. Determina la cantidad de nitrógeno total presente en la muestra.

Este se multiplica por el factor 6.25 en el caso de los hongos.

Humedad: Según el método gravimétrico, secado hasta peso constante. Pérdida de peso sometida a la temperatura de 110°C .

Ceniza: Según el método gravimétrico, mediante incineración de la muestra a 550°C por 4 horas, para destruir la materia orgánica.

Extracto etéreo: Según el método gravimétrico, por extracción con hexano, en equipo Soxhlet.

Fibra cruda: Según el método gravimétrico, por digestión sucesiva alcalina y ácida Método de Weende.

Carbohidratos: Extracto Libre no Nitrogenado (ELN) por diferencia.

Minerales: Se determina por Absorción Atómica.

Lignina: Digestión ácida.

Celulosa: Digestión ácida.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS RESIDUALES

TABLA N° XIV: Análisis bromatológico de los residuales.

	HUMEDAD	CENIZA	GRASA	FIBRA	PROTEÍNA	CARBOHIDRATOS
RAQUIS						
BASE SECA	24.46	3.23	8.43	52.85	4.29	
BASE HÚMEDA	24.46	2.44	6.37	39.92	3.24	23.57
FIBRA						
BASE SECA	36.02	4.47	8.7	46.3	6.1	
BASE HÚMEDA	36.02	2.86	5.57	29.62	3.91	22.03

*UTE

TABLA N° XV: Análisis mineralógico de los residuales.

	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn	Mn	S	Cd	Ní	Pb
	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg
RAQUIS	1.03x10 ⁴	2.5 x10 ⁴	0.38 x10 ⁴	2901	4.3	34	31	0.08	<0.06	<0.05	<0.03
FIBRA	0.63 x10 ⁴	2.81 x10 ⁴	0.25 x10 ⁴	1511	99	21	23	0.08	<0.06	<0.05	<0.03

*UTE - CESTTA

Se realizó la caracterización de los residuales para de este modo estar seguros de las características que se tiene como referencia para el cultivo *Pleurotus ostreatus var. florida*.

En la tabla N° XIV podemos apreciar el análisis bromatológico de los residuales, los mismos que nos sirvieron de base para fijar las concentraciones (tratamientos) que utilizamos durante todo el proceso para el cultivo del hongo.

De la misma manera indicamos en la tabla N° XV, el análisis mineralógico para de este modo saber las condiciones en las que el residual se encuentra.

4.2. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS

Los resultados del análisis bromatológico de los cuerpos fructíferos obtenidos en los dos sustratos (fibra y raquis) de palma aceitera donde se inoculó la cepa CP 184, se aprecian a continuación:

TABLA N° XVI: Análisis bromatológico de los cuerpos fructíferos cultivados en fibra 100%.

PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDAD
Fibra	19.45	%
Grasa	1.56	%
Proteína	33.6	%
Humedad	91.67	%
Cenizas	12.08	%

*CESTTA

TABLA N° XVII: Análisis bromatológico de los cuerpos fructíferos cultivados en raquis 100%.

PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDAD
Fibra	16.87	%
Grasa	1.96	%
Proteína	31.39	%
Humedad	92.49	%
Cenizas	8.31	%

*CESTTA

TABLA N° XVIII: Análisis bromatológico de los cuerpos fructíferos cultivados en fibra – raquis 50:50.

PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDAD
Fibra	17.53	%
Grasa	1.89	%
Proteína	29.16	%
Humedad	94.20	%
Cenizas	10.6	%

*CESTTA

TABLA N° XIX: Análisis bromatológico de los cuerpos fructíferos cultivados en fibra – raquis 70:30.

PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDAD
Fibra	13.5	%
Grasa	1.21	%
Proteína	20.08	%
Humedad	93.28	%
Cenizas	11.8	%

*CESTTA

4.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS

TABLA N° XX: Análisis microbiológico de los cuerpos fructíferos de fibra100%.

DETERMINACIONES	MÉTODO USADO	VALORES ENCONTRADOS
Recuento de microorganismos aerobios mesófilos UFC/g	Siembra en profundidad	47200
Coliformes totales NMP/g	Siembra en profundidad	1400
Recuento de Levaduras UPC/g	Placa en extensión	8580

*LAB. MICROBIOLOGÍA.ESPOCH

TABLA N° XXI: Análisis microbiológico de los cuerpos fructíferos de raquis 100%.

DETERMINACIONES	MÉTODO USADO	VALORES ENCONTRADOS
Recuento de microorganismos aerobios mesófilos UFC/g	Siembra en profundidad	54080
Coliformes totales NMP/g	Siembra en profundidad	1400
Recuento de Levaduras UPC/g	Placa en extensión	380000

*LAB.MICROBIOLOGÍA.ESPOCH

TABLA N° XXII: Análisis microbiológico de los cuerpos fructíferos de fibra-raquis 50:50.

DETERMINACIONES	MÉTODO USADO	VALORES ENCONTRADOS
Recuento de microorganismos aerobios mesófilos UFC/g	Siembra en profundidad	33000
Coliformes totales NMP/g	Siembra en profundidad	15000
Recuento de Levaduras UPC/g	Placa en extensión	19950

*LAB.MICROBIOLOGÍA.ESPOCH

TABLA N° XXIII: Análisis microbiológico de los cuerpos fructíferos de fibra-raquis 70:30.

DETERMINACIONES	MÉTODO USADO	VALORES ENCONTRADOS
Recuento de microorganismos aerobios mesófilos UFC/g	Siembra en profundidad	6.3×10^4
Coliformes totales NMP/g	Siembra en profundidad	1400
Recuento de Levaduras UPC/g	Placa en extensión	177400

*LAB.MICROBIOLOGÍA.ESPOCH

4.4. RENDIMIENTO, EFICIENCIA BIOLÓGICA Y PRECOCIDAD DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS.

TABLA N° XXIV: Datos de Rendimiento de *Pleurotus ostreatus* var. *florida*.

	R1	R2	R3
Fibra 100%	21	24	19
Raquis 100%	42	37	40
Fibra-Raquis 50:50	22	23	24
Fibra-Raquis 70:30	17	20	20

TABLA N° XXV: Datos de Eficiencia Biológica de *Pleurotus ostreatus* var. *florida*.

	R1	R2	R3
Fibra 100%	30	33	27
Raquis 100%	84	82	80
Fibra-Raquis 50:50	40	38	39
Fibra-Raquis 70:30	20	24	23

TABLA N° XXVI: Datos de Precocidad de *Pleurotus ostreatus* var. *florida*.

	R1	R2	R3
Fibra 100%	20	20	20
Raquis 100%	21	21	21
Fibra-Raquis 50:50	22	22	20
Fibra-Raquis 70:30	23	23	23

4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS OBTENIDOS.

4.5.1. PORCENTAJE DE PROTEÍNA

TABLA N° XXVII: Porcentaje de proteína Total en hongos *Pleurotus ostreatus*

Réplicas	TIPO DE SUSTRATO			
	S1	S2	S3	S4
1	33,6	31,39	29,16	20,08
2	34,6	28,6	27,4	20,4
3	33,9	29,4	27	24,8

S1 = Fibra 100%
 S2 = Raquis 100%
 S3 = Fibra 50% - Raquis 50%
 S4 = Fibra 70% - Raquis 30%

TABLA N° XXVIII: Análisis de Varianza del Porcentaje de proteína Total en hongos *Pleurotus ostreatus*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Razón de varianza (Fc)	Ft (0.05)
Tipo de sustrato	3	234.20	78.067	29.446 *	4.07
Error	8	21.209	2.651		
Total	11				

* Estadísticamente significativo

TABLA N° XXIX: Prueba de comparación Tukey al 5% de significación para porcentaje de proteína total en hongos *Pleurotus ostreatus*.

Media Aritmética		Media Aritmética	
		Ordenada	
S1 = 34.03	A	S1 = 34.03	A
S2 = 29.80	AB	S2 = 29.80	AB
S3 = 28.85	B	S3 = 28.85	B
S4 = 21.76	C	S4 = 21.76	C

Resultados y discusión

El análisis de Varianza que se muestra en la Tabla N° XXVIII nos indica que a un nivel de significación del 5% la razón de varianza (Fc) de 29.446 es mayor que el Ft que es de 4.07; es decir, existe diferencia significativa en el porcentaje de proteína del hongo

Pleurotus ostreatus, cultivado en los cuatro tipos de sustrato utilizados como tratamientos.

La prueba Tukey al 5% de significación, indica que el sustrato 1, fibra al 100% y el sustrato 2, raquis 100% dan igual resultado en el porcentaje de proteína presente en el hongo *Pleurotus ostreatus*. Sin embargo, el sustrato 2 y el sustrato 3 también son iguales al compararlos, por lo tanto el sustrato 1 y el sustrato 3 son diferentes, el mejor tratamiento se debe considerar al sustrato 1 y al sustrato 2 con un valor promedio de 34.03% y 29.80% respectivamente.

Los datos obtenidos en laboratorio se aproximan al valor bibliográfico que se tiene en relación a este parámetro que es entre 19 - 35% .

4.5.2. PORCENTAJE DE RENDIMIENTO

TABLA N° XXX: Porcentaje de rendimiento en hongos *Pleurotus ostreatus*

	TIPO DE SUSTRATO			
Réplicas	S1	S2	S3	S4
1	21	42	22	17
2	24	37	23	20
3	19	40	24	20

S1 = Fibra 100%

S2 = Raquis 100%

S3 = Fibra 50% - Raquis 50%

S4 = Fibra 70% - Raquis 30%

TABLA N° XXXI: Análisis de Varianza del Porcentaje de rendimiento en hongos

Pleurotus ostreatus.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Razón de varianza (Fc)	Ft (0.05)
Tipo de sustrato	3	798.917	266.306	63.913*	4.07
Error	8	33.333	4.167		
Total	11				

* Estadísticamente significativo

TABLA N° XXXII: Prueba de comparación Tukey al 5% de significación para rendimiento (%) en hongos *Pleurotus ostreatus*.

Media Aritmética		Media Aritmética Ordenada	
S1 = 21.33	B	S2 = 39.56	A
S2 = 39.56	A	S3 = 23.00	B
S3 = 23.00	B	S1 = 21.33	B
S4 = 19.00	B	S4 = 19.00	B

Resultados y discusión

El análisis de Varianza que se muestra en la Tabla N° XXXI nos indica que a un nivel de significación del 5% la razón de varianza (Fc) de 63.913 es mayor que el Ft que es de 4.07; es decir, existe diferencia altamente significativa en el rendimiento del hongo *Pleurotus ostreatus*, cultivado en los cuatro tipos de sustrato utilizados como tratamientos.

La prueba Tukey al 5% de significación, indica que el sustrato 2, raquis al 100% es diferente al sustrato 1, fibra al 100%, sustrato 3, fibra 50% - Raquis 50% y sustrato 4, fibra 70% - raquis 30%, sin embargo, los sustratos 2, 3 y 4 son iguales entre sí. Por lo tanto el sustrato 2 es el mejor tratamiento, generando el mayor porcentaje de rendimiento de 39.56%

4.5.3. EFICIENCIA BIOLÓGICA

TABLA N° XXXIII: Porcentaje de Eficiencia Biológica para hongos *Pleurotus ostreatus*

Réplicas	TIPO DE SUSTRATO			
	S1	S2	S3	S4
1	30	84	40	20
2	33	82	38	24
3	27	80	39	23

S1 = Fibra 100%

S2 = Raquis 100%

S3 = Fibra 50% - Raquis 50%

S4 = Fibra 70% - Raquis 30%

TABLA N° XXXIV: Análisis de Varianza del Porcentaje de Eficiencia Biológica

en hongos *Pleurotus ostreatus*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Razón de varianza (Fc)	Ft (0.05)
Tipo de sustrato	3	6398.000	2132.667	465.309*	4.07
Error	8	36.667	4.583		
Total	11				

* Estadísticamente significativo

TABLA N° XXXV: Prueba de comparación Tukey al 5% de significación para eficiencia biológica (%) en hongos *Pleurotus ostreatus*.

Media Aritmética		Media Aritmética Ordenada	
S1 = 30.00	C	S2 = 82.00	A
S2 = 82.00	A	S3 = 39.00	B
S3 = 39.00	B	S1 = 30.00	C
S4 = 22.33	D	S4 = 22.33	D

Resultados y discusión

El análisis de Varianza que se muestra en la Tabla N° XXXIV nos indica que a un nivel de significación del 5% la razón de varianza (F_c) de 465.309 es mayor que el F_t que es de 4.07; es decir, existe diferencia altamente significativa en el porcentaje de eficiencia biológica del hongo *Pleurotus ostreatus*, cultivado en los cuatro tipos de sustrato utilizados como tratamientos.

La prueba Tukey al 5% de significación, indica que el sustrato 2, raquis al 100% es diferente al sustrato 1, fibra al 100%, al sustrato 3, fibra 50% - Raquis 50% y al sustrato 4, fibra 70% - raquis 30%, el sustrato 1, 3 y 4 también son diferentes entre sí, por lo tanto el sustrato 2 es el mejor tratamiento, generando el mayor porcentaje de eficiencia biológica con un 82%.

4.5.4. PRECOCIDAD

TABLA N° XXXVI: Precocidad en días del crecimiento de hongos *Pleurotus ostreatus*

	TIPO DE SUSTRATO			
Réplicas	S1	S2	S3	S4
1	20	21	22	23
2	20	21	22	23
3	20	21	20	23

S1 = Fibra 100%

S2 = Raquis 100%

S3 = Fibra 50% - Raquis 50%

S4 = Fibra 70% - Raquis 30%

TABLA N° XXXVII: Análisis de Varianza de la precocidad en días del crecimiento de hongos *Pleurotus ostreatus*.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Razón de varianza (Fc)	Ft (0.05)
Tipo de sustrato	3	14.000	4.667	14.000*	4.07
Error	8	2.667	0.333		
Total	11				

* Estadísticamente significativo

TABLA N° XXXVIII: Prueba de comparación Tukey al 5% de significación para la precocidad del crecimiento de hongos *Pleurotus ostreatus*.

Media Aritmética		Media Aritmética Ordenada	
S1 = 20.00	B	S4 = 23.00	A
S2 = 21.00	B	S3 = 21.33	B
S3 = 21.33	B	S2 = 21.00	B
S4 = 23.00	A	S1 = 20.00	B

Resultados y discusión

El análisis de Varianza que se muestra en la Tabla XXXVII nos indica que a un nivel de significación del 5% la razón de varianza (F_c) de 14.00 es mayor que el F_t que es de 4.07; es decir, existe diferencia significativa en la precocidad del crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus*, cultivado en los cuatro tipos de sustrato utilizados como tratamientos.

La prueba Tukey al 5% de significación, indica que el sustrato 4, fibra 70% - raquis 30%, es diferente al sustrato 1, fibra al 100%, sustrato 2, raquis 100% y sustrato 3, fibra 50% - Raquis 50%, sin embargo, los sustratos 1, 2 y 3 son iguales entre sí, siendo estos los mejores tratamientos, con un promedio de 20, 21 y 21.33 días.

Todos los análisis fueron realizados en un software denominado MSTATC.

4.6. REMANENTE

TABLA N° XXXIX: Análisis bromatológico del sustrato óptimo

PARÁMETRO	RESULTADO	UNIDAD
Fibra	21	%
Grasa	1.21	%
Proteína	9.08	%
Humedad	10.3	%
Cenizas	5.98	%

*CESTTA

TABLA N° XL: Análisis microbiológico del sustrato óptimo

DETERMINACIONES	MÉTODO USADO	VALORES ENCONTRADOS
Recuento de microorganismos aerobios mesófilos UFC/g	Siembra en profundidad	25470
Coliformes totales NMP/g	Siembra en profundidad	52750
Recuento de Levaduras UPC/g	Placa en extensión	29810

*LAB. MICROBIOLOGÍA.ESPOCH

CAPÍTULO V

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1. LOCALIZACIÓN DEL EXPERIMENTO

La presente investigación se desarrolló en los laboratorios de Biotecnología, Microbiología y Análisis Clínico pertenecientes a la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo de la ciudad de Riobamba ubicada a 2.756 m.s.n.m. con una temperatura promedio de 13 °C - 17 °C, humedad relativa promedio de 30 – 40% y una presión atmosférica de 540 mmHg.

5.2. METODOLOGÍA DEL CULTIVO

5.2.1. CULTIVO Y CONSERVACIÓN DE LA CEPA

El cultivo puro se multiplicó en cajas Petri y tubos de sabouraud agar inclinado, con las debidas precauciones de asepsia para evitar la contaminación, una vez sembrada la cepa se incuba durante dos o tres semanas a 28°C (ANEXO II). Cuando el micelio ha crecido (es decir ha cubierto completamente la caja Petri o el tubo en que se encuentra), se procede a refrigerar a 4°C con la finalidad de que el micelio no envejezca, hasta que sea utilizado en una siembra posterior.

Para evitar la degeneración o envejecimiento de las cepas deben ser transferidas periódicamente a nuevos recipientes. El tiempo que puede permanecer una cepa sin transferirse, depende de la especie y hasta de la misma cepa, *Pleurotus ostreatus* puede permanecer en condiciones de refrigeración cerca de tres meses sin alteración aparente.

Así el micelio que observamos en la caja Petri corresponde al micelio madre.

5.2.2. PREPARACIÓN DEL INÓCULO

El inóculo se prepara a partir de los cultivos de hongos obtenidos en las cajas Petri. Se toma una cuarta parte del cultivo y se añade asépticamente a un pomo que contiene el sustrato esterilizado (granos de trigo) (ANEXO III).

Éste es preparado de la siguiente manera:

- Lavar los granos de trigo y eliminar cualquier partícula ajena.
- Remojar los granos de trigo por 24 horas.
- Tratar los granos con un fungicida (Benomyl 0.02%) por diez minutos, luego escurrir bien.
- Introducir los granos en un recipiente de vidrio de boca ancha y autoclavar a 121 °C por 45 minutos.
- Sacar los frascos hasta que se enfríen y proceder a la siembra.
- Incubar los frascos a 28 – 30 °C, en oscuridad.

5.2.3. PREPARACIÓN DEL SUSTRATO

Los residuales una vez que han sido sometidos a un proceso de secado natural (exposición al sol), se les realiza un tratamiento físico (trituration y tamizado), hasta obtener una granulometría de 1 a 3 cm aproximadamente (ANEXO IV).

- Limpiar los cuerpos extraños del residual
- Lavar con abundante agua corriente con el fin de que el residual quede libre de impurezas.
- Remojar durante 24 horas con el fin de que adquiriera una humedad del 70 – 80 %.

- Una vez escurrido bien el residual se procede a pasteurizar por una hora a 90 °C.
- Escurrir y enfriar, para luego colocarlos en una solución antifúngica de Benomyl al 0.02 % por una hora.
- Secar el residual al sol hasta obtener una humedad de un 60 – 80 %.

5.2.4. INCUBACIÓN DE LAS BOLSAS

- Colocar el residual húmedo en un mesón a temperatura ambiente.
- Mezclar homogéneamente con el inóculo previamente desgranado, sin maltratarlo.
- Colocar en fundas plásticas transparentes de 15 x 20 pulgadas, con el fin de hacer el seguimiento micelial y anotar la fecha de siembra en cada funda.
- Colocar las fundas en un armario previamente desinfectado una al lado de la otra, en oscuridad, a una temperatura de 24 – 28 °C y una humedad del 70 al 80 % (ANEXO V).
- Al tercer día de incubación realizar perforaciones en las fundas, de esta manera se permite el acceso de aire.
- Realizar ventilaciones continuas para evitar que la temperatura exceda de 30 °C.
- En caso de contaminación retirar inmediatamente la funda para que no contamine a las demás.

5.2.5. COSECHA

- Las fundas colonizadas se exponen a la luz en los estantes de fructificación (ANEXO VI).

- Conservar la misma temperatura y humedad de fructificación y una luminosidad de 400 – 800 lux.
- Retirar completamente las fundas plásticas.
- Realizar 6 regadíos de 5 minutos al día para que mantenga el sustrato una humedad del 80 % aproximadamente.
- Cada día se realizan cuatro procesos de ventilación en intervalos de 15 minutos, para eliminar el CO₂ que se produce en esta etapa.
- Una vez que aparecen los primordios, el hongo alcanza el estado adulto a los 7 u 8 días (ANEXO VII).
- Si las orejas se encuentran completamente planas se realiza las cosechas cortando los racimos con un instrumento afilado.

5.2.6. CONSERVACIÓN

Una vez recolectados los hongos deben ser conservados en refrigeración para evitar que la temperatura del hongo continúe elevándose, debido a la respiración, que prosigue incluso después de la recolección.

También, si el almacenamiento ocurre en condiciones de excesiva humedad o muy poca ventilación, ciertos mohos pueden causar el deterioro del producto.

La temperatura de conservación recomendada es de 5 °C y el tiempo varía según el tipo de envase.

El secado o deshidratación es otro método de conservación relativamente seguro, sirve para conservarlos por varios meses después de la cosecha, sin alterar sus propiedades reológicas.

5.3. PRINCIPIOS Y TÉCNICAS ANALÍTICAS UTILIZADAS EN EL ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LAS MUESTRAS

5.3.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

(Método de Secado en Estufa de Aire)

APLICACIÓN

Este método es aplicable a todos los productos alimenticios excepto los que pueden contener compuestos volátiles distintos del agua o los que son susceptibles a la descomposición a 100 °C.

PRINCIPIO

La humedad se expulsa por medio de aire caliente en circulación. La temperatura se regula para efectuar un máximo secado y un mínimo de pérdidas de sustancias volátiles.

La muestra se deseca hasta peso constante en una estufa de aire.

EQUIPOS Y MATERIALES

- Estufa
- Balanza analítica
- Cápsulas de porcelana
- Pinza para cápsula
- Desecador

PROCEDIMIENTO

1. Pesar de 2 – 5 gr de muestra y depositar en una cápsula prepesada, colocar luego en una estufa a 100 – 110 °C por 6 horas en el caso de productos, que no se

descomponen por largos períodos de desecación es permisible la desecación durante la noche, es decir durante unas 16 horas.

2. Retirar la cápsula de la estufa en un desecador y volver a pesar una vez enfriada.
3. Calcular el porcentaje de humedad.

CÁLCULOS:

$$\% \text{Humedad} = \frac{\text{Prmh} - \text{Prms}}{\text{Prmh} - \text{Pr}} \times 100$$

Donde:

H = Porcentaje de humedad

Pr = Peso del recipiente

Prmh = Peso del recipiente más la muestra húmeda

Prms = Peso del recipiente más muestra seca

5.3.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS

APLICACIÓN

El método es aplicable a todos los tipos de productos alimenticios con la excepción de los alimentos ricos en grasa (>50%)

PRINCIPIO:

La materia orgánica se quema a la temperatura más baja posible y la materia inorgánica remanente se enfría y se pesa. El calentamiento se realiza en etapas, primero para eliminar el agua, a continuación para carbonizar el producto totalmente y, finalmente, para incinerar en horno de mufla a 550 °C.

EQUIPOS Y MATERIALES

- Estufa
- Balanza analítica
- Reverbero
- Mufla
- Crisoles de porcelana
- Pinza de crisol
- Desecador

PROCEDIMIENTO:

1. Pesar 2 gr. de muestra seca y colocar en un crisol tarado.
2. Incinerar la muestra en una mufla a 525 – 550 ° C.
3. Se incinera hasta que la coloración de la ceniza sea de blanca a gris, peso constante o hasta que exista una diferencia máxima de 2 mg.
4. Calcular el porcentaje de ceniza.

CÁLCULOS:

$$C = \frac{P_{ca} - P_{ca}}{P_{cm} - P_c} \times 100$$

Donde:

C = Porcentaje de ceniza

P_c = Peso del crisol

P_{cz} = Peso del crisol más ceniza

P_{cm} = Peso del crisol más muestra

5.3.3. DETERMINACIÓN DE GRASA BRUTA O EXTRACTO ETÉREO

(Método de Soxhlet)

APLICACIÓN

El método es aplicable para alimentos en general, aunque con excepción de aquellos en los que la grasa está cubierta, por ejemplo los productos lácteos.

Una vez obtenida la fracción grasa libre de la muestra, se puede realizar su caracterización.

PRINCIPIO

La grasa se extrae con éter de petróleo, hexano y otro solvente orgánico a partir de residuos desecado obtenido en la determinación del contenido de humedad.

El solvente se elimina por evaporación y se pesa el residuo de grasa.

EQUIPOS Y MATERIALES:

- Estufa
- Balanza analítica
- Reverbero
- Desecador
- Equipo de Soxhlet

REACTIVOS:

- Hexano
- Sulfato de Sodio

PROCEDIMIENTO:

1. Tarar el dedal con el algodón.
2. Pesar 5 - 10 gr de muestra seca y colocar en el dedal.
3. Introducir en la camisa del soxhlet.
4. Adicionar 250 ml de éter de petróleo (balón de 250 ml)
5. Verificar la circulación de agua.
6. Someter a calentamiento.
7. Extraer por un tiempo mínimo de 8 horas o hasta que el solvente en la camisa sea transparente.
8. Secar el dedal al aire libre.
9. Secar en la estufa por media hora.
10. Con ayuda de una pinza deje enfriar en el desecador y pesar.

CÁLCULOS:

$$EE = \frac{Pbr - Pb}{Pm} \times 100$$

Donde:

EE = Porcentaje de extracto etéreo

Pb = Peso del balón

Pbr = Peso del balón más el residuo

Pm = Peso de la muestra

5.3.4. DETERMINACIÓN DE FIBRA BRUTA

(Método de Weende)

PRINCIPIO

Una muestra seca y exenta de grasa se trata con ácido sulfúrico en ebullición y después con hidróxido de sodio en ebullición. El residuo menos las cenizas se consideran fibra.

EQUIPOS Y MATERIALES:

- Balanza analítica
- Equipo para digestión
- Estufa
- Mufla
- Vasos de digestión, de 600 mL de forma larga
- Cisoles de Gooch
- Lana de vidrio
- Pipetas volumétricas

REACTIVOS:

- Ácido sulfúrico al 1.25 %
- Hidróxido de sodio al 1.25%
- Etanol al 95 %

PROCEDIMIENTO:

1. Pesar 2 gr. de muestra seca y desengrasada.
2. Someter a digestión ácida con ácido sulfúrico al 1.25 % (80 ml) por 30 min.
3. Filtrar en caliente usando un Buchner.

4. Lavar con agua caliente.
5. Someter a digestión básica con hidróxido de sodio al 1.25 % (80 ml) por 30 min.
6. Filtrar en un papel filtro cuantitativo previamente tarado.
7. Lavar con agua caliente.
8. Lavar con acetona o etanol al 95 %.
9. Colocar el papel en un vidrio reloj previamente identificado.
10. Secar por 4 horas en la estufa a 105 grados centígrados.
11. Colocar en el desecador el papel y pesar.
12. Esta muestra pesada colocar en el crisol previamente tarado.
13. Incinerar el crisol a una temperatura de 500 – 550 ° C.
14. Secar y enfriar por 30 min y pesar.
15. Calcular el % de fibra.

CÁLCULOS:

$$F_c = \frac{P_{cf} - P_{cc}}{P_m} \times 100$$

Donde:

F_c = Porcentaje de fibra cruda

P_{cf} = Peso del crisol secado a 105° C

P_{cc} = Peso del crisol después de la incineración

P_m = Peso de la muestra

5.3.5. DETERMINACIÓN DE PROTÉINA

(Método de Micro Kjeldahl)

PRINCIPIO:

Las muestras se digieren en ácido sulfúrico más un agente catalítico, y se convierten así en sulfato de amonio. El amonio se libera al agregar un álcali y destilar la mezcla en ácido bórico. La adición del agente catalítico selenio, reduce considerablemente el tiempo de digestión.

El selenio no puede recomendarse como un agente catalítico para uso general en el método Kjeldahl, debido a que una digestión muy prolongada puede resultar en una pérdida de nitrógeno. Sin embargo, es muy conveniente para digestiones que duran menos de una hora. Los tejidos de las plantas rara vez toman más de 45 minutos, y por lo tanto caen bien entre estos límites.

Una mezcla de catalizadores, compuesta por sales de cobre, selenio y mercurio ha probado ser muy conveniente y superior al mercurio, cobre y selenio solos.

Las pruebas indican que debe dejarse pasar alrededor de 1: 15 horas en el proceso para obtener una completa recuperación de nitrógeno. Este lapso, sin embargo, es variable y depende de la eficiencia del calentamiento. Con digestiones de cuatro horas no pudo determinarse ninguna pérdida de nitrógeno. Períodos más largos de cuatro horas no se recomiendan.

El hecho de mezclar el indicador con la solución de ácido bórico reduce el procedimiento en un paso, aumentando de esa manera la eficiencia del laboratorista. También ahorra tiempo mezclar de antemano el agente catalítico con ácido.

EQUIPOS Y MATERIALES:

- Balanza analítica
- Aparato de digestión Micro Kjeldahl
- Aparato de destilación Micro Kjeldahl
- Balones Micro Kjeldahl
- Erlenmeyer de 250 mL
- Bureta de 25 mL
- Pinza de bureta

REACTIVOS:

- Ácido sulfúrico concentrado
- Ácido clorhídrico 0.1 N
- Hidróxido de sodio al 50%
- Ácido bórico al 4%
- Indicador mixto: rojo metilo al 0.1 % y verde de bromocresol al 0.2 % en alcohol al 95%.
- Mezcla catalizadora: 15 g de K_2SO_4 o Na_2SO_4 , 40 mg de HgO .

PROCEDIMIENTO:

DIGESTIÓN

1. Pesar 10 mg de muestra seca e introducir en el balón de digestión junto con la mezcla catalizadora y 1 mL de ácido sulfúrico concentrado.
2. Colocar el balón en el digestor y calentar por 30 minutos. Hasta que el contenido sea transparente.

DESTILACIÓN

1. Enfriar el balón y su contenido, adicionar 4 mL de agua destilada para disolver el $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ formado.
2. Verter el contenido en el microdestilador y adicionar otros 4 mL de agua para enjuagarlo.
3. Cerrar la llave y adicionar de 8 – 10 mL de NaOH al 40% - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 5% (4:1)
4. Recibir el destilado en un vaso que debe contener 5 mL de H_2BO_3 al 2% al que se le añade 1 o 2 gotas de indicador mixto rojo de metilo – verde de bromocresol, el tubo de salida del destilador debe estar sumergido en el vaso que contiene estos reactivos.
5. Destilar hasta obtener 15 mL de destilado.

TITULACIÓN

1. El destilado con HCl 0.1 N hasta obtener el punto final al apareamiento de una coloración violeta.
2. Calcular el % de Proteína.

CÁLCULOS:

$$\%P = \frac{\text{NHCl} \times \text{mLHCl} \times 0.014 \times 6.25}{P_m} \times 100$$

Donde:

P = Porcentaje de proteína

N = Normalidad del ácido Clorhídrico

mL = Mililitros de ácido Clorhídrico gastados

0.014 = Miliequivalentes de Nitrógeno

Pm = Peso de la muestra en gramos

6.25 = Factor proteico del Nitrógeno

5.3.6. DETERMINACIÓN DEL EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO (CARBOHIDRATOS)

PRINCIPIO

El extracto libre de nitrógeno (ELN), se determina por diferencia, después de que se ha determinado cenizas, fibra cruda, extracto etéreo y proteína bruta expresados en base seca. El ELN es necesario para calcular el total de nutrientes digestibles (NDT).

CÁLCULO

$$\%ELN = 100 - (\%ceniza + \%extracto\ etéreo + \%proteína + \%fibra)$$

5.3.7. DETERMINACIÓN DE FIBRA DETERGENTE ÁCIDA (FDA) (CELULOSA)

PRINCIPIO

Para analizar los componentes de las paredes celulares se realiza una digestión con un detergente (CATB). El residuo insoluble de este proceso consiste de celulosa y lignina, y se denomina " Fibra Detergente ácida"

El procedimiento de FDA provee un método rápido para determinación de lignocelulosa en alimentos. El residuo incluye también sílice. La diferencia entre los iones constituyentes de paredes celulares y la fibra detergente ácida es un estimado de la hemicelulosa, aunque esta diferencia incluye algo de proteína adherida a las paredes

celulares. La determinación de FDA es utilizado como un paso previo a la determinación de lignina.

EQUIPOS Y MATERIALES

- Equipos de reflujo
- Vasos de 600 mL tipo Barzelius
- Crisoles de Gooch
- Lana de vidrio
- Estufa
- Balanza analítica

REACTIVOS

- Solución detergente ácida (20 g de bromuro de amonocetiltrimetil (CTAB) ($C_{19}H_{42}B_2N$) en 1 L de H_2SO_4 , se agita hasta disolución total)
- Decahidronaftaleno (Decalin) ($C_{10}H_{18}$)
- Acetona (CH_3COCH_3)

PROCEDIMIENTO

DIGESTIÓN

1. Pesar 1 g de muestra (peso A), y colocar en el erlenmeyer.
2. Añadir 100 mL de solución detergente ácida y 1 mL de Decalin más 1 mL de pentanol.
3. Acondicionar el erlenmeyer en un equipo de reflujo y calentar hasta que la mezcla comience a hervir.
4. Reducir la temperatura una vez que se ha conseguido la ebullición para evitar la formación de espuma.

5. Mantener la digestión durante 60 minutos.
6. Agitar periódicamente los erlenmeyer par mantener las partículas en suspensión.

FILTRACIÓN

1. Pesar cuantitativamente la solución a los crisoles previamente tarados (peso B).
2. Lavar el residuo de los crisoles con unos 200 mL de agua caliente.
3. Lavar finalmente con acetona dos veces y secar por succión.

PESO FINAL

Secar los crisoles durante una noche a 105 °C y pesar luego de enfriarlos en un desecador (peso C).

CÁLCULOS:

$$\%FDA = \frac{\text{Peso C} - \text{Peso B}}{\text{Peso A}} \times 100$$

Donde:

%FDA = Porcentaje de fibra detergente ácida

Peso A = Peso de la muestra

Peso B = Peso del crisol tarado

Peso C = Peso del crisol más la muestra seca

5.3.8. DETERMINACIÓN DE LIGNINA DETERGENTE ÁCIDA (LDA)

Este procedimiento utiliza como primer paso la técnica empleada para la determinación de FDA. El detergente extrae la proteína y otros materiales solubles en ácido que interfieren con la determinación de lignina. El principio de este procedimiento estriba en

que el residuo de la FDA, consiste principalmente de lignocelulosa de cuyo compuesto se disuelve y se separa la celulosa por medio de la solución de ácido sulfúrico al 72 %, quedando la lignina y la ceniza no soluble en ácido. También la creatina contenida en cantidades apreciables en ciertas muestras, se toma como si fuera parte de la lignina.

EQUIPOS Y MATERIALES

- Equipo de reflujo
- Vasos de 600 mL tipo Barzelius
- Crisoles de Gooch
- Lana de vidrio
- Estufa
- Balanza analítica
- Mufla
- Desecador

REACTIVOS

- Solución detergente ácida (20 g de bromuro de amoniacetiltrimetil (CTAB) ($C_{19}H_{42}B_2N$) en 1 L de H_2SO_4 , se agita hasta disolución total.
- Decahidronaftaleno (Dekalin) ($C_{10}H_{18}$)
- Acetona (CH_3COCH_3)
- Ácido sulfúrico al 72 %
- Papel indicador de pH

PROCEDIMIENTO

MUESTRA

1. Para la determinación de LDA se usa el residuo de la determinación de FDA, en los mismos crisoles de filtración.

DIGESTIÓN

1. Colocar los crisoles en una bandeja de plástico, dando a esta una inclinación suficiente para que el ácido pueda drenar, la parte superior de la bandeja puede estar unos 2 cm sobre el plano.
2. Se añade el ácido a los crisoles hasta que estén casi llenos.
3. Con una varilla de vidrio mezclar el contenido hasta formar una pasta homogénea.
4. Continuar con la digestión durante tres horas añadiendo ácido dos veces más con intervalos de 1 hora.

FILTRACIÓN

1. Al final de las tres horas de digestión filtrar el residuo, eliminar primero el exceso de ácido mediante succión.
2. Lavar los crisoles con agua caliente, hasta tener un filtrado libre de ácido.
3. Comprobar el pH del filtrado con papel indicador.

PESOS

1. El peso de la muestra (peso A) es el mismo de la muestra original usada para FDA.

2. Secar los crisoles durante una noche a 105 °C y pesar luego de enfriar en un desecador (peso B).
3. Incinerar los crisoles a 600 °C durante 4 horas, enfriar y pesar (peso C).

CÁLCULOS

$$\% \text{Lignina} = \frac{\text{Peso B} - \text{Peso C}}{\text{Peso A}} \times 100$$

Donde:

%Lignina = Porcentaje de fibra detergente ácida

Peso A = Peso de la muestra

Peso B = Peso del crisol más lignina

Peso C = Peso del crisol más cenizas

5.3.9. DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS REP.

OBJETO

La norma establece el método para cuantificar el número de microorganismos mesófilos presentes en un gramo o cm³ de muestra de alimento.

MATERIALES

- Pipetas serológicas de punta ancha de 1.5 y 10 cm³ graduadas
- Placas petri
- Erlenmeyer y/o frascos de boca ancha con tapa de rosca autoclavable
- Tubos
- Gradillas

- Contador de colonias
- Balanza
- Baño de agua regulado
- Incubador regulable
- Autoclave
- Refrigeradora para mantener las muestras y los medios de cultivo

MEDIOS DE CULTIVO

- Agar para recuento en placa
- Agua peptonada al 0.1 % (diluyente)

PROCEDIMIENTO

1. Utilizando una sola pipeta estéril pipetear por duplicado alícuotas de 1 cm³ de cada una de las diluciones decimales en placas Petri adecuadamente identificadas. Iniciar por la dilución de menor concentración.
2. Inmediatamente, verter en cada una de las placas inoculadas aproximadamente 20 cm³ de agar para recuento en placa (PCA) fundido y templado a 45 ± 2 °C. La adición del medio no debe pasar más de 15 minutos a partir de la preparación de la primera dilución.
3. Delicadamente mezclar el inóculo de siembra con el medio de cultivo imprimiendo a placa movimientos de vaivén, 5 veces en una dirección; hacerla girar en sentido de las agujas del reloj cinco veces.

Repetir este proceso, pero en sentido contrario.
4. Como prueba de esterilidad verter la cantidad de agar en un aplaca que contenga el diluyente sin inocular.
5. Dejar reposar las placas para que se solidifique el agar.

6. Invertir las placas e incubarlas a 31 ± 1 °C por $48 - 72 \pm 3$ horas.
7. Pasado el tiempo de incubación seleccionar las placas que presenten 30 – 300 colonias y utilizando un contador de colonias, contar todas las colonias que hayan crecido en el medio.
8. Anotar el número de colonias y la respectiva dilución.

CÁLCULOS

El número de microorganismos aerobios mesófilos REP se calcula multiplicando el número de colonias (n) por el factor de dilución respectivo (f).

$$\text{REP gr o cm}^3 = (n \times f) \text{ UFC}$$

Siendo:

REP = Recuento Estándar en Placa

n = número de colonias

f = factor de dilución

UFC = Unidades Formadoras de Colonias

5.3.10. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. MOHOS Y LEVADURAS VIABLES. RECuento EN PLACA POR SIEMBRA EN PROFUNDIDAD.

OBJETO

La norma describe el método para cuantificar el número de unidades propagadoras de mohos y levaduras en un gramo o centímetro cúbico de muestra.

RESUMEN

Este método se basa en el cultivo entre 22 °C y 25 °C de las unidades propagadoras de mohos y levaduras, utilizando la técnica de recuento en placa por siembra en profundidad y un medio que contenga extracto de levadura, glucosa y sales minerales.

MATERIALES

- Placas Petri
- Pipetas serológicas de boca ancha

MEDIO DE CULTIVO

- Agar sal - levadura de Davis o similar.

PROCEDIMIENTO

1. Utilizando una sola pipeta estéril, pipetear, por duplicado, alícuotas de 1 cm³ de cada una de las diluciones decimales en placas Petri adecuadamente identificadas. Iniciar por la dilución de menor concentración.
2. Inmediatamente, verter en cada una de las placas inoculadas, aproximadamente 20 cm³ de agar sal – levadura de Davis fundido y templado a 45 ± 2 °C. La adición del medio de cultivo no debe pasar más de 15 minutos, a partir de la preparación de la primera dilución.
3. Delicadamente, mezclar el inóculo de siembras con el medio de cultivo. Imprimiendo a la placa movimientos de vaivén, 5 veces en una dirección; hacerla girar cinco veces en sentido de las agujas del reloj. Volver a imprimir movimientos de vaivén en una dirección que forme ángulo recto con la primera y hacerla girar cinco veces en sentido contrario a las agujas de reloj.

4. Utilizar una placa para el control de la carga microbiana del ambiente, la cual no debe exceder de 15 colonias / placa, durante 15 minutos de exposición. Este límite es mantenido mediante prácticas adecuadas de limpieza y desinfección.
5. Como prueba de esterilidad del medio, en una placa sin inóculo verter aproximadamente 20 cm³ del agar.
6. Dejar las placas en reposo hasta que se solidifique el agar.
7. Invertir las placas e incubarlas entre 22 °C y 25 °C, por cinco días.
8. Examinarlas a los dos días de incubación y comprobar si se ha formado micelio aéreo. Las primeras colonias que se desarrollan son las de levaduras, que suelen ser redondas
9. Cuando el micelio aéreo de los mohos amenace cubrir la superficie de la placa, dificultando las lecturas posteriores; pasados dos días, realizar recuentos preliminares en cualquier placa que se pueda distinguir las colonias.
10. A los cinco días, seleccionar las placas que presenten entre 10 y 150 colonias y contarlas sin el auxilio de lupas. A veces pueden desarrollarse colonias pequeñas, éstas son de bacterias acidófilas y, por tanto, deben excluirse del recuento. Las colonias de levaduras deben ser comprobadas por examen microscópico.
11. Contar las colonias de mohos y levaduras en conjunto o separadamente. Si las placas de todas las diluciones contienen más de 150 colonias, contar en las placas inoculadas con la menor cantidad de muestra.

CÁLCULOS

Cálculo del número (N) de unidades propagadoras (UP) de mohos y / o levaduras por centímetro cúbico o gramo de muestra. Calcular según la siguiente fórmula:

$$N = \frac{\text{Número total de colonias contadas o calculadas}}{\text{cantidad total de muestra sembrada}}$$

$$N = \frac{\Sigma C}{V (n_1 + 0,1 n_2)d}$$

Donde:

ΣC = suma de las colonias contadas o calculadas en todas las placas elegidas;

n_1 = número de placas contadas de la primera dilución seleccionada;

n_2 = número de placas contadas de la segunda dilución seleccionada;

d = dilución de la cual se obtuvieron los primeros recuentos;

V = volumen del inóculo sembrado en cada placa.

5.3.11. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS COLIFORMES POR LA TÉCNICA DL MÚMERO MÁS PROBABLE

OBJETO

La norma establece la técnica del número más probable para la determinación de microorganismos coliformes.

MATERIALES

- Tubos
- Pipetas serológicas de punta ancha
- Caja petri
- Tubos
- Tubos Durhan

- Erlenmeyer de 500 y 1000 cm³
- Frascos de boca ancha con tapa autoclavable
- Asa de inoculación
- Gradillas
- Balanza
- Incubador regulable
- Autoclave
- pH - metro

MEDIOS DE CULTIVO

- Caldo verde brillante bilis – lactosa
- Agar cosina azul de metileno
- Solución de Peptona al 0,1 %

PROCEDIMIENTO

1. Inmediatamente después de realizadas las diluciones con una pipeta estéril, transferir 1 cm³ de la dilución 10⁻¹ a cada uno de los tres tubos que contengan 10 cm³ de caldo BGBL o similar.
2. Con otra nueva pipeta estéril, transferir 1 cm³ de la dilución 10⁻² en cada uno de los tres tubos que contengan 10 cm³ del medio. Proceder de igual manera con otras diluciones.
3. Incubar los tubos a 30 ± 1°C para productos refrigerados y 35 ± 1 °C para productos que se mantiene a temperatura ambiente por 48 horas.
4. Transcurridas las 48 horas anotar en cada dilución como presuntos positivos todos los tubos que presenten crecimiento con producción suficiente de gas como para llenar el fondo cóncavo del tubo Durhan es decir, el menisco llegaría

hasta donde las paredes del tubo se hacen paralelas. También se considera como presunto positivo si el tubo Durhan contiene menos gas del indicado, pero al golpear delicadamente al tubo de cultivo hay desprendimiento de burbujas. Solo la turbidez no es indicativo de una prueba positiva.

5. Agitar cada uno de los tubos presuntamente positivos y con un asa de inoculación a partir de cada uno de ellos sembrar por estría en la superficie de placas individuales secas de Agar EMB. Identificar las placas.
6. Invertir las placas e incubarlas a 30 ± 1 °C para productos refrigerados y 35 ± 1 °C para productos que se mantienen a temperatura ambiente por 24 ± 2 horas.
7. Si al término del período de incubación hay desarrollo de colonias lactosa positivas las cuales son negras o poseen centro oscuro con periferias transparentes incoloras o bien colonias mucoides de color rosa naranja, confirman la presencia de coliformes.
8. De cada dilución anotar el número de tubos positivos confirmados de coliformes.

CÁLCULOS

1. Cuando las tres diluciones decimales sucesivas son las 10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3} y se ha inoculado 3 alícuotas de 1 cm^3 de cada una de éstas, anotar la relación de tubos positivos confirmados y ver en la tabla (NORMA INEN) el respectivo NMP/gr o cm^3 .
2. Para calcular el NMP/gr o cm^3 cuando se inocula tres alícuotas de 1 cm^3 de más de tres diluciones decimales sucesivas, multiplicar el NMP por el factor adecuado: 10, 100, 1000, etc.
3. Para el caso de productos con baja carga microbiana se puede utilizar soluciones más concentradas.

CAPÍTULO VI

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. CONCLUSIONES

1. Mediante la técnica de Fermentación en Estado Sólido (F.E.S.) se cultivó el hongo *Pleurotus ostreatus variedad florida* en diferentes concentraciones.
2. Para determinar las condiciones del cultivo se realizó la caracterización física, química y microbiológica tanto de los residuales (fibra y raquis) como de los cuerpos fructíferos (hongo).
3. Una vez que se determinaron las concentraciones basándonos en los análisis de laboratorio, se determinó parámetros como respuestas experimentales, tales como porcentaje de proteína, eficiencia biológica, rendimiento y precocidad.
4. Al determinar los parámetros anteriormente mencionados se verificó que los tratamientos más óptimos son los dos residuales en las concentraciones al 100%, destacándose el raquis.
4. Como resultado de la caracterización física-química y microbiológica del remanente de la F.E.S. luego del cultivo del *Pleurotus ostreatus variedad florida*, se verificó la degradación de los sustratos, dicho remanente puede ser utilizado para alimentación animal, como bioabono o lombricultura, de esta manera se puede tener como materia prima para otras investigaciones en el ámbito de la biotecnología.
5. La utilización de la técnica de fermentación sólida, permite visualizar el amplio potencial de la Biotecnología Ambiental, como una herramienta útil para promover el desarrollo rural, agroindustrial e industrial.
6. Haciendo uso de estas técnicas se logrará establecer tecnologías limpias, para reducir la contaminación ambiental y aprovechar de una manera integral la producción de los residuos generados durante la actividad humana.

6.2. RECOMENDACIONES

1. Continuar con la línea de investigación en el campo de hongos comestibles.
2. Procurar asegurarnos de las condiciones de asepsia por medio de la utilización del equipo adecuado (cámara de flujo laminar).
3. Adecuar el sistema de recirculación de agua para disminuir el consumo de este recurso.
4. Trabajar con las precauciones necesarias para mejorar el rendimiento de producción y disminuir el riesgo de contaminación independientemente del residual con que se trabaje.
5. Ensayar con otros granos y/o cereales (maíz, arroz, fréjol) para sustituir al trigo para de este modo comprobar si hay mejores resultados en cuanto al proceso del cultivo.

CAPÍTULO VII

7. RESUMEN

Como resultado de la extracción del aceite de palma aceitera se generan volúmenes considerables de diferentes tipos de residuos orgánicos (fibra, raquis y lodos) que al no ser aprovechados su acumulación es causa de contaminación con graves consecuencias ambientales para las zonas rurales donde se encuentran las extractoras.

Sobre estos residuales por sus características lignocelulósicas se cultivó el hongo *Pleurotus ostreatus variedad florida* mediante la tecnología de la Fermentación en Estado Sólido, bajo condiciones controladas (temperatura y humedad elevada), tanto en la fibra como en el raquis se cosechó hongos con un alto contenido proteico, 33.6% y 31,39% respectivamente.

Después de finalizar el proceso de producción del hongo, se obtuvieron los resultados óptimos en las siguientes mezclas: proteína: 34.03% y 29.80%, en fibra 100% y raquis 100% respectivamente; rendimiento 39.56% en raquis 100%; eficiencia biológica 82% en raquis 100% y precocidad en este parámetro no hay variación significativo en el tiempo de cosecha ya que el tiempo oscila de 20 a 23 días.

Una vez culminado el trabajo de investigación se concluyó que mediante la Técnica de Fermentación en Estado Sólido se cultivó el hongo comestible *Pleurotus ostreatus variedad florida* en diferentes concentraciones, además se realizó la caracterización físico, química y microbiológica tanto de los dos residuales como de los cuerpos fructíferos (hongo).

Como respuestas experimentales se determinó porcentaje de proteína, eficiencia biológica, rendimiento y precocidad, verificando que los tratamientos más óptimos son los dos residuales en las concentraciones al 100%, destacándose el raquis 100%.

Es importante continuar con la línea de investigación en este campo ya que se sabe que hay muchas más especies de hongos comestibles las mismas que pueden ser beneficiosas en el campo nutriceúutico, económico y social.

7.1 SUMMARY

As a result of the oil palm extraction considerable volumes of different types of organic residues (fiber, rachis and mud) are generated which, if unused, its build – up is a cause of pollution with bad environmental consequences for the rural zones where the extractors are located. On these residues, because of their lignocellulose features, the fungus *Pleurotus ostreatus* florida variety was grown through the fermentation theory in solid state, under controlled conditions (temperature and high humidity), both in the fiber and the rachis. Fungi with a high protein content 33,6% and 31,39% respectively were harvested. After finishing the fungi production process optimum results were obtained in the following mixtures: protein 34,03% and 29,80%, in the fiber 100% and rachis 100% respectively; yield 39,56% in rachis 100%; biological efficiency 82% in rachis 100% and the precociousness parameter there was no significant variation at the harvest time since the time ranges from 20 to 23 days. The edible fungus *Pleurotus ostreatus* florida variety was grown in different concentrations. The physical, chemical and microbiological characterization of both the two residues and the fruitful bodies (fungus) was carried out. As experiment responses the protein percentage, biological efficiency, yield and precociousness were determined verifying the fact that the most optimum treatments were the two residues in concentrations at 100%, with the rachis 100%. It is important to continue the investigations on this field since, it is known that there is a number of edible fungus species which can be beneficial in the nutraceutical, economic and social field.

CAPÍTULO VIII

8. BIBLIOGRAFÍA

1. ALEXOPOULUS, C. Introducción a la Micología. 3a.ed. Buenos Aires – Argentina: Universitaria, 1979. pp. 10 – 15.
2. ALVAREZ, M. Fermentación Sólida del Banano de Rechazo en la Obtención de Alimentos.- Tesis Magíster en Biotecnología.- Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias. – Riobamba, 1994. pp. 9 -13.
3. DEACON, J. Introducción a la Micología Moderna. México: Limusa, 1988. pp. 155 – 171.
4. DONOSO, C. Influencia de la Luz en la Composición Lipídica y Proteica del *Pleurotus ostreatus* var. florida.- Tesis Magíster en Biotecnología.- Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias.- Riobamba, 1999. pp. 24.
5. FIERRO, A. Evaluación de 5 Sustratos Agrícolas en la Preparación de Inóculos de *Pleurotus ostreatus* var. florida para Uso Industrial.- Tesis de Dra. en Bioquímica y Farmacia.- Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias.- Escuela de Bioquímica y Farmacia.- Riobamba, 2005. pp. 11 – 12.
6. GUZMÁN, G. Hongos. México: Limusa, 1978. pp. 3 – 15.
7. GUZMÁN, G. Identificación de Hongos Comestibles, Venenosos y Alucinantes. México: Limusa, 1977. pp. 21 – 22.
8. LIZÁN, L. Identificación de Hongos Comestibles. Madrid: Publicaciones del Ministerios de Agricultura, 1967. pp. 66, 98 – 102.

9. MADIGAN, J. Biología de los Microorganismos. 10 a.ed. Madrid: Prentice Hall, 2004. pp. 56.
10. MERA, J. Dosificación de Ergosterol de *Pleurotus ostreatus* Irradiado con Luz Ultravioleta.- Tesis de Doctor en Bioquímica y Farmacia.- Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias.- Escuela de Bioquímica y Farmacia.- Riobamba, 2005. pp. 25 – 28.
11. RIVADENEIRA, M. Evaluación de la Caña de Azúcar para el Cultivo de *Beauveria baussiana*.- Tesis Dra. En Bioquímica y Farmacia.- Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias.- Escuela de Bioquímica y Farmacia.- Riobamba, 2005. pp. 26 – 29.
12. VALENCIA, M. Aprovechamiento Biotecnológico de los Residuales de Maíz mediante el Cultivo de los Hongos Comestibles (*Pleurotus ostreatus* var. florida).- Tesis Dra. en Bioquímica y Farmacia.- Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias.- Escuela de Bioquímica y Farmacia.- Riobamba, 2003. pp. 153 – 155.
13. VELASTEGUÍ, J. Clasificación de hongos Fitopatógenos. Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas y Escuela Nacional de Horticultura.
14. VILLE, M. y otros. Biología. 3a. ed. México: McGraw Hill Interamericana, 1996. pp. 511 – 513.
15. WARD, O. Biotecnología de las Fermentaciones. Zaragoza: Acribia, 1989. pp. 125.
16. YAMBAY, W. Aprovechamiento Biotecnológico de los Residuos de Quinua mediante el Cultivo de Hongos Comestibles (*Pleurotus ostreatus*).- Tesis de Dra. en Química.- Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias.- Escuela de Ciencias Químicas.- Riobamba, 2000. pp. 56.

INTERNET

17. Asociación Venezolana de Cultivadores de Palma Aceitera

<http://www.acupalma.org.ve/index.asp?categoryid=7554>

2006-04-02

18. Características del Pleurotus

<http://www.unavarra.es/genmic/Congresos/Leon%202004/congreso%20%20mejora%202004%5B2%5D.htm>

2006-04-02

19. Cultivo de Hongos Comestibles

<http://www.iib.unsam.edu.ar/IIB-INTECH/html/laboratorios/micologia/cultivo.html>

2006-04-03

20. Estructura del Pleuroma de Pleurotus

<http://www.uv.mx/institutos/forest/hongos/proced.html>

2006-04-06

21. Generalidades del cultivo de hongos

<http://www.hongoscomestibles\cultivosetas.html>

2006-04-15

22. Hongos comestibles

<http://www.granma.cubaweb.cu/secciones/ciencia/ciencia229.htm>

2006-04-17

23. Impactos Ambientales de las palmicultoras

<http://www.wrm.org.uy/plantaciones/material/palma3.html>

2006-04-06

24. Los hongos comestibles silvestres: una alternativa para el desarrollo regional

<http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/gacetas/154/hongos.html>

2006-04-25

25. Palma Aceitera

<http://franciscodelgado.bravehost.com/cultvopalma.htm>

2006 – 04 -25

26. ¿Qué son las setas?

<http://www.geocities.com/Yosemite/Forest/5283/generalidades.html>

2006-05-09

27. Setas Pleurotus ostreatus

<http://www.mapya.es/>

2006-05-12

ANEXOS

ANEXO I



CONTAMINACIÓN GENERADA EN LA EMPRESA SOPALIN S.A.

ANEXO II



CONSERVACIÓN DE LA CEPA DE *Pleurotus ostreatus* var. *florida* EN CAJAS PETRI Y TUBOS CON AGAR SABOURAUD.

ANEXO III



PREPARACIÓN DE INÓCULOS

ANEXO IV



RESIDUALES DE PALMA ACEITERA (FIBRA Y RAQUIS)

ANEXO V



INCUBACIÓN DE LAS BOLSAS

ANEXO VI



FRUCTIFICACIÓN

ANEXO VII



PRIMORDIOS