



ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS

CARRERA DE INGENIERIA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

**“Residuos de Maíz y Quínua como potenciales sustratos para el cultivo de hongos
comestibles *Pleurotus ostreatus*”**

TESIS DE GRADO

Previa la obtención del título de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL

PRESENTADO POR:

MARÍA FERNANDA TOLEDO ÁLVAREZ

2008

AGRADECIMIENTO

A Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias que han cumplido con su objetivo principal de dotar a la sociedad profesionales capaces y eficientes, que con su formación académica adquirida en las aulas politécnicas impulsan el desarrollo de país.

A cada uno de mis profesores durante mi periodo estudiantil, por sus doctrinas, enseñanzas, consejos y buenos deseos.

A la Dra. Jenny Moreno, quien con sus conocimientos profesionales, supo guiar correctamente el desarrollo de la presente investigación.

A la Dra. Susana Abdo y Dr. Iván Ramos por su asesoría, colaboración e ideas acertadas en la realización de este proyecto.

Al Ing Fernanda Romero por su gran colaboración y ayuda.

A cada uno de mis compañeros, amigos por su apoyo incondicional durante el transcurso de mi carrera.

DEDICATORIA

Este trabajo dedico a Dios por darme la vida, salud y con ello las herramientas para cumplir mis objetivos, a mis padres Margarita y Carlos, mi hermana Carla mis abuelitos Roque y María Luisa, mis tíos Oswaldo, Toño, Juan, Hugo, Néstor, Anita, Silvia, Miriam y primos, etc. Quienes día a día me brindaron su apoyo incondicional, moral y económico para culminar esta etapa de mi vida.

“Yo María Fernanda Toledo Álvarez, 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 POLITECNICA DE CHIMBORAZO”

MARÍA FERNANDA TOLEDO ÁLVAREZ

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

ÍNDICE DE ABRIVIATURAS

Bs	base seca
°C	Grados Celsius
cal	calorías
cm	centímetros
CESTTA	Centro de transferencia y tecnologías ambientales
C/N	Carbono relación nitrógeno
CO ₂	dióxido de carbono
DCA	Diseño completamente al azar
DNA	Ácido desoxirribonucleico.
EB	Eficiencia biológica
ELN	extracto libre de nitrógeno
FAO	Food and Agriculture organization
Fc	Razón de varianza
FDA	determinación de fibra detergente ácida
FES	Fermentación en Estado Sólido
Ft	F de tablas
g	gramos
h	horas
HDL	Colesterol bueno
HR	humedad relativa
J	Julies
kg	kilogramos
LDA	Determinación de lignina ácida

LDL	Colesterol malo
LIP	Lignina peroxidasa
MA	Ministerio del ambiente
MAG	Ministerio de agricultura y ganadería
MnP	Magnesio peroxidasa
mg	miligramos
mmHg	milímetros de mercurio
Msnm	metros sobre nivel del mar
N	concentración normal
PGA	Protein Advisory Grup
pH	potencial de iones hidrógeno
PNUMA	Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente
ppm	Partes por millón
REP	Recuento Estándar en Placa
TON	Toneladas
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UP	Unidades propagadoras de mohos

INDICE GENERAL

INTRODUCCION

I. MARCO TEÓRICO.....	1
1.1. FERMENTACION EN ESTADO SÓLIDO.....	9
1.2.1. DEFINICIONES.....	10
1.2.2. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA FERMENTACION EN ESTADO SÓLIDO COMPARADO CON EL CULTIVO SUMERGIDO EN LIQUIDO	10
1.2.3. INFLUENCIA DE FACTORES AMBIENTALES EN LA FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO.....	12
1.2.3.1. LA HUMEDAD Y LA ACTIVIDAD DEL AGUA (H₂O).....	13
1.2.3.2. EL pH.....	14
1.2.3.3. LA TEMPERATURA.....	14
1.2.3.4. CONCENTRACIÓN Y DESPONIBILIDAD DEL SUSTRATO.....	16
1.2.3.5. LA AIREACIÓN.....	17
1.2.3.6. EL INÓCULO.....	17
1.3. HONGOS.....	18
1.3.1. GENERALIDADES.....	18
1.3.2. CLASIFICACIÓN.....	20
1.3.3. PRODUCCIÓN DE HONGOS COMESTIBLES.....	23
1.4. <i>Pleurotus ostreatus</i>.....	24
1.4.1. VARIEDADES DE <i>Pleurotus</i>.....	24
1.4.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	25
1.4.3. MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA.....	25
1.4.4. CICLO DE VIDA DE LA SETA.....	27
1.4.5. REPRODUCCIÓN.....	29
1.4.6. ESTRUCTURA DEL PLEUROMA DEL <i>Pleurotus sp.</i>.....	30
1.5. CULTIVO.....	33
1.6. ESQUEMA GENERAL DEL CULTIVO.....	34
1.6.1. FACTORES QUE CONDICIONAL EL CULTIVO.....	36
1.6.1.1. HUMEDAD.....	36
1.6.1.2. TEMPERATURA.....	36
1.6.1.3. FUENTE DE CARBONO.....	37
1.6.1.4. CONCENTRACIÓN DE NITRÓGENO.....	37
1.6.1.5. DIÓXIDO DE CARBONO.....	38
1.6.1.6. LA LUZ.....	38
1.6.1.7. EL PH.....	39
1.6.2. IMPORTANCIA ALIMENTICIA DE LAS SETAS.....	41
1.6.3. CONCERVACIÓN DE LAS SETAS.....	42
1.6.3.1. REFRIGERACIÓN	42
1.6.3.2. CONGELACIÓN	43
1.7. GENERALIDADES DEL MAIZ.....	44
1.7.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	45
1.7.2. CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA.....	45
1.7.3. VALOR NUTRITIVO.....	45
1.7.4. RESIDUALES DE MAÍZ.....	45
1.8. GENERALIDADES DE LA QUÍNUA.....	46
1.8.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	46
1.8.2. CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA.....	46

1.8.3. VALOR NUTRITIVO DE LA QUÍNUA	47
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	48
2.1. MATERIALES.....	48
2.1.1. SUSTRATO.....	48
2.2. MÉTODOS.....	48
2.2.1. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	48
2.2.1.1. CONDICIONES DE TRABAJO.....	49
2.2.1.1. TRATAMIENTOS.....	49
2.2.1.3. ESQUEMA DEL ANÁLISIS DE VARIANZA.....	50
2.2.1.4. PARÁMETROS A DETERMINARSE.....	50
2.2.2. METODOLOGÍA.....	51
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	53
3.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS RESIDUALES.....	53
3.2. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS.....	54
3.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS.....	55
3.4. RESULTADOS DE CELULOSA Y LIGNINA EN CUERPOS FRUCTÍFEROS	55
3.5. RENDIMIENTO, EFICIENCIA BIOLÓGICA Y PRECOCIDAD DE LOS CUERPOS FRUTÍFEROS.....	56
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS.....	58
3.6.1. RENDIMIENTO.....	58
3.6.2. EFICIENCIA BIOLÓGICA.....	59
3.6.3. PRECOCIDAD.....	61
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	63
4.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO.....	63
4.2. METODOLOGÍA.....	63
4.2.1. PROPAGACIÓN EN TUBOS Y CAJAS PETRI.....	63
4.2.2. PREPARACION DEL INÓCULO.....	64
4.2.3. PREPARACIÓN DE LOS RESIDUALES.....	65
4.2.4. INCUBACIÓN.....	65
4.2.5. COSECHA.....	66
4.2.6. CONSERVACIÓN.....	67
4.3. PRINCIPIOS Y TÉCNICAS UTILIZADAS EN EL ANÁLISIS BROMATOLÓGICO Y MICROBIOLÓGICO DE LAS MUESTRAS.....	68
4.3.1. DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD.....	68
4.3.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS	69
4.3.3. DETERMINACIÓN DE GRASA BRUTA O EXTRACTO ÉTEREO.....	70
4.3.4. DETERMINACIÓN DE FIBRA BRUTA.....	72
4.3.5. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA.....	73
4.3.6. DETERMINACIÓN DE EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO.....	76
4.3.7. DETERMINACIÓN DE FIBRA DETERGENTE ÁCIDA (FDA).....	77
4.3.8. DETERMINACIÓN DE LIGNINA DETERGENTE ÁCIDA (LDA).....	79
4.3.9. DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS REP.....	81
4.3.10. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS, MOHOS Y LEVADURAS VIABLES. RECUENTO EN PLACA POR SIEMBRA EN PROFUNDIDAD.....	83
4.3.11. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS COLIFORMES POR LA TÉCNICA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE.....	86
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	89

5.1. CONCLUSIONES.....	89
5.2. RECOMENDACIONES.....	90
6. RESUMEN.....	91
6.1. SUMMARY.....	92
7. BIBLIOGRAFÍA.....	93
ANEXOS.....	96

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No I.	Producción de Residuos Agrícolas y Agroindustriales en América latina.....	8
TABLA No II.	Fases del cultivo de las setas.....	40
TABLA No III.	Características principales del <i>Pleurotus ostreatus</i> en comparación con otros alimentos.....	42
TABLA No IV.	Composición química del maíz.....	45
TABLA No V.	Composición química de los residuales.....	53
TABLA No VI.	% de Lignina y celulosa en los residuales.....	53
TABLA No VII.	Análisis Microbiológico de los residuales.....	53
TABLA No VIII.	Análisis Mineralógico de los residuales.....	54
TABLA No IX.	Análisis Bromatológico de los cuerpos fructíferos.....	54
TABLA No X.	Análisis Microbiológico de los cuerpos fructíferos.....	55
TABLA No XI.	Porcentaje de lignina y celulosa en cuerpos fructíferos	55
TABLA No XII.	Rendimiento del <i>Pleurotus ostreatus</i> var. <i>florida</i>	56
TABLA No XII	Rendimiento del <i>Pleurotus ostreatus</i> var. <i>florida</i> en residuos Agroindustriales.....	56
TABLA No XIV.	Eficiencia Biológica del <i>Pleurotus ostreatus</i> var. <i>florida</i>	57
TABLA No XV	Eficiencia Biológica del <i>Pleurotus ostreatus</i> var. <i>florida</i> en residuos Agroindustriales.....	57
TABLA No XVI.	Precocidad del <i>Pleurotus ostreatus</i> var. <i>florida</i>	57
TABLA No XVII.	Análisis de Varianza para Rendimiento en Hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i>	58
TABLA No XVIII.	Prueba de Tukey al 5% de significación para porcentaje de Rendimiento.....	59
TABLA No XIX.	Análisis de Varianza para Eficiencia Biológica para el Hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	60
TABLA No XX.	Prueba de Tukey al 5% para la eficiencia biológica para el Hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	60
TABLA No XXI.	Análisis de Varianza para la precocidad del Hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	61
TABLA No XXII.	Prueba de Tukey al 5% para la precocidad del Hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No 1	Posibilidades de acción de los <i>Basidiomicetes</i>	22
Figura No 2	Esquema general de las partes constitutivas de un hongo.....	26
Figura No 3	Ciclo de vida y esporas de un <i>Basidiomicetes</i>	28
Figura No 4	Pleuroma o cuerpo fructífero en la producción de esporas.....	31
Figura No 5	Estructura del Himenio.....	32
Figura No 5	Láminas del Himenio.....	33
Figura No 6	Diagrama de Flujo del cultivo de Hongos.....	52

INTRODUCCION

INTRODUCCIÓN

El consumo de hongos comestibles es, probablemente, tan antiguo como la existencia del hombre en la tierra. Apreciados por su excelente sabor y propiedades medicinales, su consumo fue considerado un plato de reyes y su comercialización objeto de materia legal durante el Imperio Romano. En un comienzo todo el consumo de hongos dependía de la aparición repentina y explosiva de estos organismos en forma silvestre, lo cual le daba cierto aire de divino y maléfico. Esta antiquísima práctica de colecta de hongos comestibles se mantiene hasta hoy en día; sin embargo, el método de producción es muy irregular, estacional y dependiente de las condiciones climáticas. (5)

Los primeros antecedentes de cultivos artificiales de hongos datan del año 600 D. C., con el hongo *Auricularia* (orejas de palo) en Asia. No obstante, no es sino hasta el año 1650 en Francia que se inician los primeros intentos de cultivo artificial del champiñón de París (*Agaricus* spp.), originando una industria que se mantuvo en secreto y restringida solamente al país galo por muchos años. Actualmente se cultivan en forma artificial unas 30 especies de hongos y, de acuerdo a la International Society for Mushroom Science de Inglaterra, se producen cada año en el mundo sobre dos millones de toneladas de hongos cultivados. (5)

Entre los hongos cultivados, las especies del género *Pleurotus*, también conocidas como hongos ostras, han sido seleccionadas por su facilidad de cultivo, y por la gran disponibilidad de substratos para su crecimiento. *Pleurotus* se caracteriza por presentar un gran sombrero (pileo) carnoso, con forma de abanico semicircular, con un pie (estipe) excéntrico y de diferentes colores: blanco, gris, azulado o café; presencia de laminillas blancas amarillas, gruesas y descendentes por el pie. Se han descrito 20 especies de *Pleurotus*, siendo las más cultivadas *P. abalonus*, *P. cornucopiae*, *P. eryngii*, *P. opuntiae*, *P. ostreatus* y *P. pulmonaris*.(2). El desarrollo de este tipo de cultivo es absolutamente recomendable, ya que requiere de una baja inversión y es más fácil de cultivar que otros hongos. Pues es fácil de cultivar sobre residuales

lignocelulósicos, resultado de las actividades agroindustriales; el interés por el problema de la contaminación del ambiente y la aplicación de tecnologías limpias ha alcanzado importancia en los últimos años. Ecuador no es ajeno al mismo debido a la acumulación de grandes volúmenes de residuos producto de la actividad agroindustrial, especialmente en ciertas zonas del país debido a la falta de conocimiento en el manejo y/o aprovechamiento integral sobre residuos

De esta forma contribuye a un grave problema ambiental producido por la actividad agroindustrial. Así uno de los problemas que presenta la producción de maíz en Ecuador es la eliminación de sus residuales (tuzas, rastrojo y hojas) que se producen después de la recolección y desgranado del mismo, este residual no contiene ningún uso a pesar de contener nutrientes que facilitarían el crecimiento de microorganismos benéficos. En nuestro país se producen alrededor de 571039 tm de maíz (INEC, MAG, SICA 1997), 492428 Ton corresponden a lo que es maíz duro (choclo y seco) de la Costa y 78611 Ton son de maíz suave (choclo y seco) de la Sierra. Luego del proceso que conlleva a obtener los granos de maíz, sólo entre el 30 al 35 % del producto es aprovechado como grano y el resto (65-70%), es desechado como un residuo, en el mejor de los casos es utilizado como alimento para ganado y el resto eliminado al medio ambiente sin darle algún tratamiento previo(14). También en la zona central se cultiva quinua produciendo elevados volúmenes de residuo en forma de rastrojos que son utilizados principalmente por las comunidades rurales como fuente de energía o leña. Pero que pueden ser aprovechados y darles un uso de mayor importancia. La aplicación de tecnologías biotecnológicas como la Fermentación en Estado Sólido, permite un aprovechamiento integral de estos residuos y a la vez contribuye a mantener un equilibrio en el entorno.

Los elevados volúmenes de residuos y su composición química han permitido que sean considerados para utilizarlos como potenciales sustratos para la producción del hongo comestible *Pleurotus ostreatus var florida*, dando así un valor agregado a los mismos. En estudios previos realizados en sustratos de características similares a las de la quinua y la tuza de maíz; obteniendo excelentes resultados, aprovechando el poder de biodegradación que tienen

estos hongos sobre los desechos agrícolas para transformarlos en sus formas fructificantes de alto poder nutricional. (21)

La presente investigación se llevó a cabo en los Laboratorios de Microbiología y Biotecnología de la Facultad de Ciencias, con el financiamiento del convenio ESPOCH-SENACYT, de esta forma dando de esta forma una alternativa de solución para disminuir el impacto producido por las actividades agroindustriales, que generan altos volúmenes de residuos (rastrajo de quinua y tuza de maíz) altamente contaminantes.

OBJETIVO GENERAL

- Comprobar que los residuos de maíz y quinua pueden ser potenciales sustratos para el cultivo de hongos comestibles "*Pleurotus ostreatus*".

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Caracterizar los residuos (rastrajo de quinua y tuzas de maíz).
2. Obtener la cepa del hongo *Pleurotus ostreatus*
3. Determinar el rendimiento, eficiencia biológica y precocidad de la biomasa fúngica.
4. Caracterizar la biomasa fúngica obtenida.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 IMPACTO AMBIENTAL PRODUCIDO POR LA AGROINDUSTRIA

Cada vez, más compañías industriales están desarrollando procesos en el área de prevención, con el fin de reducir el impacto ambiental como respuesta a la tendencia internacional al desarrollo de una sociedad sostenible. La biotecnología puede ayudar a disminuir el impacto ambiental generado por estas actividades y a la vez producir nuevos productos. (19)

La biotecnología puede ser utilizada para evaluar el estado de los ecosistemas, transformar contaminantes en sustancias no tóxicas, generar materiales biodegradables a partir de recursos renovables, desarrollar procesos de manufacturación y manejo de desechos en forma segura ambientalmente.

Ha incrementado el interés por el aprovechamiento integral de los residuos y al mismo tiempo el dar soluciones a los problemas de la contaminación ambiental consecuencia de la actividad humana tales como: desechos agrícolas, forestales e industriales. (3).

Según el contexto de la producción vegetal el concepto estricto de residuo agrícola se aplica, bajo denominación de **residuos de cosecha**, a la fracción o fracciones de un cultivo que no constituyen la cosecha propiamente dicha y a aquella parte de la cosecha que no cumple con los requisitos de calidad mínima para ser comercializada como tal. De similar forma, los **restos de poda** de los cultivos leñosos deben ser considerados asimismo residuos agrícolas estrictos (25)

Pueden considerarse también como residuos agrícolas los subproductos de origen vegetal generados por las industrias de transformación agrícola y algunos residuos agrícolas específicos, como por ejemplo el compost del cultivo del champiñón una vez utilizado. Por extrapolación en el contexto anterior también podrían ser considerados en este apartado los materiales de

desecho en los cultivos protegidos (sustratos ya utilizados, plásticos de cubierta y acolchados, tuberías de riego, etc.), que por sus peculiares características no serán tratados en este contexto.

Estos materiales presentan un contenido hídrico muy variable (según el desarrollo ontogénico del cultivo en la época de recolección), elevado contenido en materia orgánica, fracción mineral variable en concentración total y equilibrio (dependiendo el órgano o fracción de que se trate), y relación C/N generalmente alta, aunque con notables diferencias según la naturaleza y composición del residuo. La biodegradabilidad de estos materiales está en función del contenido relativo de biomoléculas fácilmente degradables (azúcares solubles y de bajo peso molecular, hemicelulosa y celulosa) y en componentes de lenta degradación (ceras, ligninas y otros polifenoles). (25)

La biotecnología ambiental se refiere a la aplicación de los procesos biológicos modernos para la protección y restauración de la calidad del ambiente.

El uso de microorganismos en procesos ambientales se encuentra aplicando desde el siglo XIX. Hacia finales de 1950 y principios de 1960, cuando se descubrió la estructura y función de los ácidos nucleicos, se puede distinguir entre biotecnología antigua tradicional y la biotecnología de segunda generación, la cual, en parte hace uso de la tecnología del ADN recombinante.

En la actualidad la principal aplicación de la biotecnología ambiental es limpiar la polución. La limpieza del agua residual fue una de las primeras aplicaciones, seguida por la purificación del aire y gases de desecho mediante el uso de biofiltros.

La biorremediación que es el uso de sistemas biológicos para la reducción de la polución del aire o de los sistemas acuáticos y terrestres, se está enfocando hacia el suelo y los residuos sólidos, tratamientos de aguas domésticas e industriales, aguas procesadas y de consumo humano, aires y gases de desecho, lo que está provocando que surjan muchas inquietudes e

interrogantes debido al escaso conocimiento de las interacciones de los organismos entre sí, y con el suelo. Los sistemas biológicos utilizados son microorganismos y plantas.

La Biotecnología se presenta como una alentadora alternativa para aumentar la producción agrícola y alimentaria conservando el equilibrio medioambiental. Hay muchos avances biotecnológicos aplicados a la agricultura entre éstos están: los cultivos transgénicos, el uso de biofertilizantes y biopesticidas, la clonación de plantas, la fijación biológica del nitrógeno y novedosos procesos de fermentación en los cuales es posible obtener una infinidad de productos.

Aplicando la técnica de fermentación en estado sólido es posible obtener un producto de alto valor nutritivo y medicinal, además de un residuo rico en proteína para la alimentación animal o 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 (*Pleurotus s.p*) encargados de realizar este proceso biotecnológico. (19).

Así, como la biotecnología ahora en el siglo XXI juega un papel muy importante, en el desarrollo sustentable de muchos países, esto siempre y cuando esté basada en la utilización respetuosa e inteligente de la biodiversidad. (19)

Uno de los aspectos relevantes del desarrollo sustentable es que el crecimiento económico debe ser armónico con el medio ambiente y el uso racional de los recursos naturales, Entre las estrategias que debe adoptarse a corto plazo para lograr un verdadero desarrollo sustentable está la innovación, adopción y promoción de una forma de producción mas limpia. (16).

Conforme a lo indicado anteriormente, resulta necesario diseñar un nuevo enfoque de trabajo en la gestión del ambiente, que permita introducir y aplicar el concepto de producción más limpia de forma integral y sistemática dentro del sector productivo, haciendo énfasis en la prevención

de la contaminación, la minimización y el aprovechamiento económico de los residuales, como principales opciones para disminuir los volúmenes elevados eliminados al ambiente.

Conforme a la definición del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), producción más limpia significa “la aplicación continua de una estrategia ambiental preventiva, integrada a los procesos, productos y servicios, para incrementar la eco-eficiencia de los procesos, reducir los riesgos para los seres humanos y el medio ambiente, además de lograr la sostenibilidad del desarrollo económico”. (5)

El concepto de eco-eficiencia se refiere a la generación de bienes y servicios a un costo competitivo, que satisfagan las necesidades humanas y aumenten la calidad de vida, de manera simultánea a una reducción de impactos negativos hacia el ambiente y de intensidad en el uso de los recursos, a lo largo de su ciclo de vida. Ello implica implementar un grupo importante de acciones y medidas dirigidas a garantizar la eficiencia en el uso de las materias primas, agua y energía; reducir el uso de sustancias tóxicas, prevenir y minimizar la generación de residuales y lograr su reuso y reciclaje. (5.16).

Los bioprocesos más limpios surgen como una alternativa para lograr que los impactos generados por el área industrial y agroindustrial tengan una alternativa que permita mitigar en algo los efectos negativos dados por estas actividades. Como ejemplo de bioprocesos limpios tenemos:

- Reconversión a base de equipos más eficientes.
- Sustitución de algunas materias primas por insumos menos agresivos al ambiente. En este caso, sobresale el uso de enzimas en procesos que anteriormente utilizaban químicos.
- Uso más eficiente de agua y energía.
- Minimización y reciclaje de residuos.

- Mejores prácticas de manufactura.
- Modificación del producto.

Hay barreras a vencer con el objeto de lograr que los nuevos bioprocesos más limpios sean transferidos al sector industrial:

- Falta de cumplimiento de la Legislación Ambiental.
- Resistencia al cambio
- Falta de incentivos
- Falta de fuentes de financiamiento
- Falta de información y recursos humanos especializados.

Estas barreras son reales y requieren de esfuerzos combinados entre todos los sectores implicados. El objeto principal es la difusión de tecnologías más limpias, enfatizando los bioprocesos que permitan implementar en la práctica los principios fundamentales del desarrollo sustentable. (16).

El problema de los residuos sólidos tiene su origen el tipo de proceso utilizado y en el estilo desarrollado durante el tiempo. Por varias décadas los procesos industriales se han diseñado enfatizando las cualidades del producto, sin embargo, en la actualidad, se debe remover un nuevo estilo de desarrollo en el que los productos tengan características menos agresivas al medio ambiente y los procesos sean más eficientes y con nula o mínima generación de residuales. (16)

Con el objeto de contrarrestar o atacar los problemas fundamentales de la contaminación por residuos, que ocurren en la primera generación (durante el proceso) y el de segunda generación (durante el uso de producto) se requieren cambios de distinto tipo (16):

- a) Ahorro y reciclaje de materias primas.
- b) Sustitución de productos dañinos al medio ambiente, por productos inocuos.

- c) Sustitución de recursos no renovables por recursos renovables.
- d) Reivindicación y reuso de residuos, al utilizarlos como materias primas secundarias.

Prácticamente se hace imposible cuando se establecen determinadas tecnologías, el que no se produzcan residuos sólidos, líquidos o gaseosos, que constituyen los residuos industriales. De la misma forma el hombre en sus actividades diarias genera una serie de sustancias sólidas, líquidas e incluso gaseosas que vienen a ser los residuos domésticos, si éstos se suman en una población toma el nombre de residuos urbanos.

Finalizando, tenemos la agricultura, después de las cosechas, se obtiene en el medio: hojas, tallos, cortezas, etc., y ellos constituyen los residuos agrícolas.

Todos estos residuos tienen la característica común de ser renovables, es decir, se generan en forma cíclica con el tiempo (2).

El hecho de ser renovables, hace que se facilite una disposición final, sin embargo, cuando se acumulan en grandes concentraciones, trae como consecuencia la contaminación ambiental, pues la composición de estos residuos es compleja, además de estar implícita la biodegradación que pueden sufrir, produciendo olores desagradables y otros productos que se forman, como consecuencia de este proceso la descomposición de su biomasa. (2)

Los residuos y los desechos de las actividades agrícolas y forestales de las industrias agroalimentarias pueden emplearse con distintos fines, en particular energéticos, lo que tiene como consecuencia la valorización de la biomasa y la disminución de la contaminación ambiental. Las principales cosechas producen grandes volúmenes de subproductos fibrosos, como: rastrojo de maíz, de quinua, pajas de sorgo y trigo, afrecho de fréjol, etc.; de la transformación agroindustrial de la caña de azúcar, café y frutos se obtienen cantidades considerables de bagazos, pulpas y residuos diversos. Todos estos subproductos se utilizan en

forma parcial, quedando un 70-80 %de biomasa disponible constituido principalmente de celulosa que puede ser aprovechada.

Muchos se están trabajando en el área de la transformación de los desperdicios. Sin embargo, pocos procesos biotecnológicos, actualmente se han desarrollado para la transformación agroindustrial de esta biomasa celulósica (pajas, bagazos y rastrojos) bastante se ha especulado sobre la transformación de estas materias primas en proteína. (31).

Actualmente existen procesos en operación industrial para la transformación de la composta de pajas o rastrojos en hongos comestibles del género *Agaricus* y estudios mas recientes indican que es posible cultivar a nivel industrial hongo del género *Pleurotus* utilizando estos mismos residuales.

Varias metodologías pueden ser desarrolladas, para la utilización de residuos lignocelulósicos generados anualmente durante las actividades de la agricultura, ingeniería agroindustrial e industria de alimentos. (31)

La recolección, almacenamiento y transformación de las materias primas agrícolas para su utilización intermedia o final constituyen la columna vertebral de la agroindustria, en términos amplios. Mediante convertidores generalizados, en combinación con la información estadística es posible tener datos aproximados de residuos sólidos producidos en América Latina

TABLA No I: Producción de residuos Agrícolas y agroindustriales en América latina

RESIDUAL	MILES DE TONELADAS
Algodón	17864
Arroz	20216
Banano y Plátano	7563
Café	5040
Caña de azúcar	115618
Cítricos	8531
Frijoles	21884
Frutas varias	8863
Maíz	129335
Mandioca	5556
Otros cereales	3025
Otras raíces	576
Papas	2315
Palma aceitera	4400
Sorgo	65124
Trigo	31378
Cacao	260000

*Montoya, 1990 (15)

Entre los sistemas de conversión biológica de los residuos sólidos, se pueden mencionar:

- La alimentación animal directa, donde la conversión ocurre dentro del mismo animal.
- El ensilaje como pretratamiento de preservación de ácidos para alimentación animal.
- La preparación de compost para acondicionamiento de suelos.
- El enriquecimiento con biomasa microbiana, especialmente de hongos filamentosos y levaduras.
- El aumento del valor nutritivo mediante la producción de los hongos comestibles y alimento animal del residuo por fermentación en estado sólido.

El aprovechamiento de los residuos agroforestales para la producción de hongos comestibles mediante la aplicación de métodos biotecnológicos, tienen un potencial impacto económico en el continente americano. En este sentido, la producción de hongos comestibles en sus diversos

niveles constituye una alternativa que puede contribuir a manejar dichos residuales, aprovechando la gran capacidad que poseen para degradar eficientemente la lignina y celulosa, polímeros presentes en gran proporción en todos los subproductos agrícolas. (13, 23)

La fermentación en estado sólido (FES) constituye una herramienta biotecnológica compatible con el medio físico, económico y social, si se aplica apropiadamente. Permitiendo un aumento en el rendimiento económico por unidad de área, sin aumentar la presión sobre los recursos naturales disponibles y los costos de conservación a largo plazo, toda vez que se recicla el subproducto biodegradado por la acción del hongo. (13)

1.2. FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO (FES)

Los procesos de FES existen de manera natural desde el comienzo de la vida en el planeta y fueron empleados de forma artesanal en los países del Sudeste Asiático, África y América Central desde hace siglos para la elaboración de alimentos a partir de cereales, yuca, entre otros.

El objetivo fundamental con estas fermentaciones ha sido no sólo aumentar el contenido proteico de estos alimentos, sino mejorar las posibilidades de conservación, cambiar las características físicas, el color, el olor o el sabor de los mismos. Ejemplos de estos productos lo constituyen el Koji, que se obtiene por el cultivo del hongo *Aspergillus oryzae* sobre cereales cocidos, el Shoyu, el Miso y el Ontjom. La producción del queso Roquefort a partir de leche de oveja, data de alrededor de 1000 años; sin embargo, y es hasta aproximadamente 1930 que se conoce el papel de los hongos en la elaboración de ese alimento, cuando se demostró que todos los hongos desarrollados en este tipo de queso eran del mismo organismo *Penicillium roqueforti*.(32)

No es hasta finales de la década de los 70 que se promueve con fuerza el estudio científico, con vistas a aprovechar las ventajas económicas de este tipo de fermentación. (32)

1.2.1. DEFINICIONES:

- Se denomina Fermentación En Estado Sólido a todas las fermentaciones donde el sustrato no es un líquido.
 - Las fermentaciones en las cuales el sustrato no está ni disuelto ni en suspensión en un gran volumen de agua.
 - Todo procedimiento que utiliza materiales insolubles en agua para el crecimiento de microorganismos en ausencia de agua libre.
 - Es un método de cultivo de microorganismos sobre y/o dentro de partículas sólidas.
- (32)

El líquido ligado a las partículas sólidas debe estar en una cantidad que asegure la actividad del agua adecuada para el crecimiento y el metabolismo de los microorganismos, pero sin exceder el máximo poder de retención de este líquido en la matriz sólida.

1.2.2 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO COMPARADA CON EL CULTIVO SUMERGIDO EN LÍQUIDO.

- Los medios de cultivo son simples, generalmente subproductos agrícolas que presentan un alto contenido de los nutrientes necesarios.
- La baja actividad del agua es de gran ayuda para evitar las contaminaciones, especialmente de bacterias y levaduras.
- La concentración natural del sustrato permite utilizar reactores más pequeños en comparación con los utilizados en otro tipo de fermentación. Tienen mayor productividad volumétrica.
- La aireación forzada es facilitada por la porosidad del soporte, lo que permite una alta transferencia de oxígeno al microorganismo.
- Pueden emplearse, frecuentemente conidios como inóculo en los procesos de crecimiento de hongos, lo cual disminuye los costos y las manipulaciones en la preparación del inóculo.

- Los conidios de los hongos que se producen son mucho más resistentes y tienen mejor adaptabilidad a las condiciones en las que se aplican como agente de biocontrol.
- El proceso de recobrado es simplificado. Algunos productos son utilizados integralmente, como alimento animal, productos para el [control](#) biológico, etc.

Los procesos se consideran generalmente como tecnologías limpias. Entre las principales desventajas se encuentran:

- Su aplicación se limita a microorganismos que crecen en bajos contenidos de humedad.
- La extracción del [calor](#) metabólico puede ser un problema, sobre todo cuando se trabaja a gran [escala](#) y no se controla el proceso.
- La [naturaleza](#) sólida del sustrato trae [problemas](#) al medir los parámetros de la fermentación tales como el pH, la temperatura, el contenido de humedad y la concentración de sustrato y productos.
- Los procesos de transferencia de masa son limitados por la difusión.

Muchos aspectos ingenieriles como el [diseño](#) de reactores y el escalado están muy poco caracterizados. El [tiempo](#) de fermentación es mayor debido a que generalmente se utilizan microorganismos que presentan bajas velocidades específicas de crecimiento (32)

Es bueno recalcar que algunas de estas desventajas son relativas, por ejemplo, el tiempo de fermentación ya que actualmente se están empleando bacterias en los procesos de FES.

La producción de los hongos comestibles es el resultado de la utilización de los residuales de fácil biodegradación, la cual en un ambiente particular requiere de la presencia de los microorganismos apropiados, que en muchas ocasiones pueden consistir en una comunidad microbiana compleja. Para que esto suceda el medio ambiente debe ser apto tanto para el crecimiento de los microorganismos como para la producción de reacciones químicas de transformación a velocidades significativas. Hay que tomar en cuenta factores muy importantes,

entre éstos están la concentración de los estratos y nutrientes, temperatura, Humedad, pH, entre otros.

Es necesario conocer el grado de biodegradabilidad de un nuevo compuesto o mezcla de compuestos como parte de la evaluación de su impacto probable sobre el medio ambiente, en el caso que se produzca su liberación. En la descomposición de compuestos fácilmente biodegradables pueden ser apropiados algunos tests sencillos y baratos. (32)

El complejo Lignina y celulosa puede ser biodegradado por la acción enzimática de los hongos conocidos como podredumbre blanca. Bajo ciertas condiciones, usan preferentemente la lignina, liberando la celulosa y hemicelulosa, logrando el sólido más susceptible al ataque enzimático. (11,17)

1.2.3. INFLUENCIA DE FACTORES AMBIENTALES EN LA FERMENTACIÓN EN ESTADO SÓLIDO.

Las condiciones ambientales tales como la humedad, la actividad del agua, el pH, la temperatura, la concentración y disponibilidad del sustrato, la aireación, el tamaño de partículas y la forma de inoculación afectan significativamente tanto el crecimiento como la formación de productos. En el cultivo líquido agitado el control de las condiciones ambientales es relativamente simple, ya que estos [sistemas](#) son homogéneos desde el punto de vista de la concentración celular, nutrientes y productos.

Sin embargo se presentan serios problemas en los sistemas sólidos con el mezclado, la transferencia de oxígeno, el intercambio de calor y el control de la humedad y el pH, debido, principalmente, a la heterogeneidad y la consistencia del [sistema](#).(32)

1.2.3.1. LA HUMEDAD Y LA ACTIVIDAD DEL AGUA (H₂O).

El porcentaje de humedad en la fermentación sólida puede variar entre 30 y 80%, en dependencia del sólido utilizado, el microorganismo y el objetivo del proceso (formación de [producto](#), crecimiento de la biomasa). Aunque el porcentaje de humedad es una de las [variables](#) que comúnmente se optimiza en los sistemas de fermentación sólida, hoy se reconoce que no es sólo la cantidad de agua presente en el sistema la que ejerce su influencia sobre la eficiencia del proceso, sino el [carácter](#) de las interacciones entre [el agua](#) y el medio sólido. Por eso no es contradictorio observar que un mismo microorganismo se desarrolle plenamente en dos sustratos diferentes con porcentaje de humedad bastante disímiles. La actividad del agua (a_{H_2O}) es el parámetro que se ha utilizado para caracterizar cuantitativamente esas interacciones físicas y/o químicas del agua en el sistema (32).

La actividad del agua se define como la humedad relativa de la atmósfera gaseosa en [equilibrio](#) con el sustrato. La humedad relativa de un sistema [gas](#) - vapor de agua se determina por %H. R. = $(p_{H_2O} / p^{\circ}_{H_2O}) 100$, de manera que la actividad del agua es igual a la relación entre la [presión](#) parcial del vapor de agua en la solución gaseosa (p_{H_2O}) en [el estado](#) de equilibrio con el agua adsorbida en el sólido y la presión de vapor del agua pura ($p^{\circ}_{H_2O}$) a esa misma temperatura.(32)

Se demostró que la actividad del agua no sólo ejerce influencia sobre el crecimiento, sino también sobre la formación de productos y, en muchos casos, el [valor](#) mínimo requerido de a_{H_2O} para la formación del producto difiere del necesario para el crecimiento (32).

Gervais y Bazelin diseñaron un fermentador para controlar el valor de la actividad del agua durante el desarrollo del proceso a través de la humedad relativa del aire que circula por el equipo. No obstante, el tiempo necesario para alcanzar el estado de equilibrio deseado era como mínimo 4 horas, y aunque los autores comparan ese tiempo como pequeño para procesos de fermentación con hongos que duran hasta 60 horas, el sistema de control estaría limitado solo a

estas aplicaciones. Por otra parte, los [ensayos](#) realizados fueron sin la presencia de microorganismos, lo cual ejerce también influencia en los resultados experimentales (32).

1.2.3.2. EL PH.

El pH es otra variable que afecta el desarrollo de los procesos de fermentación en estado sólido, al igual que lo hace en los cultivos sumergidos. Sin embargo, en el caso de la fermentación sólida, su control es prácticamente imposible, debido a la ausencia de instrumentos capaces de medir el pH en la capa de líquido que rodea el sólido. Por otra parte, el mezclado de sólidos es un proceso complejo por lo cual se dificulta también el control de esta variable durante el desarrollo de la fermentación. (32)

El pH cambia por diferentes razones; normalmente disminuye por la secreción de [ácidos](#) orgánicos como el acético y láctico durante el proceso. No obstante, la fuente de nitrógeno utilizada influye mucho en la tendencia que sigue el pH (32).

Estos conocimientos han sido utilizados por algunos investigadores para formular un medio de cultivo que permita mantener, de manera natural, el pH en un intervalo deseado durante el proceso. Así por ejemplo, Raimbault y Alazard propusieron para el crecimiento de *Aspergillus niger* en harina de yuca una mezcla de sulfato de amonio - urea de 3 a 2 (calculado en base al nitrógeno) y se logró mantener el pH durante el proceso en el intervalo de 5 a 6.2 favorable para el crecimiento del microorganismo.(32)

1.2.3.3. LA TEMPERATURA.

El crecimiento y la formación de productos son resultados de complejas [reacciones químicas](#), y al igual que cualquier otra reacción, están afectados por la temperatura, la que ejerce una acción determinante en el conjunto de actividades celulares.

La temperatura es la variable cuyo control, en una fermentación sólida, se considera el más crítico debido a la alta concentración de sustrato por unidad de volumen y a la baja

conductividad térmica del sistema heterogéneo sólido - líquido - gas, lo que favorece la acumulación del calor metabólico en el sistema y un aumento de la temperatura del cultivo. En la fermentación de Tempeh, por ejemplo, se midieron gradientes de temperatura de 3°C por cm aumento de la temperatura, favorece tres aspectos negativos: (32)

- La actividad microbiana se desacelera o se detiene.
- Se deshidrata el medio sólido.
- El metabolismo se desvía como un mecanismo de defensa ante el calor o ante la deshidratación.

El control de la temperatura se ha tratado a través de [métodos](#) convencionales de extracción de calor y de métodos no convencionales. Los métodos convencionales incluyen el intercambio de calor por los mecanismos de conducción y convección forzada. Se demostró que los primeros no son tan efectivos como los segundos. Los métodos de extracción de calor por convección, para ser efectivos, requieren de elevadas tasas de aireación que con frecuencia deshidratan al medio. Los métodos no convencionales se refieren a la utilización del calor latente de vaporización del agua para eliminar el calor metabólico de manera rápida y efectiva.(32)

Sobre esto se han pronunciado diferentes autores, pues plantean que el control de temperatura es uno de los problemas que se ha detectado desde siempre en las FES y que, a la fecha, no tiene una solución clara. En [función](#) de las condiciones de cultivo, se han reportado diversos gradientes de temperatura dentro del lecho de fermentación: $3^{\circ}\text{C cm}^{-1}$; $2.5^{\circ}\text{C cm}^{-1}$; $4\text{-}5^{\circ}\text{C cm}^{-1}$. Poco se conoce sobre la magnitud del calor metabólico generado en las FES. En la mayoría de los casos se concretan a un valor constante. Rathbun y Schuler proponen que se producen hasta 15.9 J kg^{-1} de [materia](#) seca, mientras que la [velocidad](#) de generación de calor es del orden de $3.3 \times 10^5 \text{ J h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$ de materia seca. Esto puede provocar un sobrecalentamiento en la masa del cultivo, que influye negativamente sobre la actividad microbiana. (32)

Existe un compromiso entre las soluciones drásticas y efectivas (métodos no convencionales) versus las menos efectivas (métodos convencionales) pero que respeten la integridad del sistema biológico en su conjunto. Resulta también claro que los [sistemas de control](#) de las FES deberán tomar en cuenta, simultáneamente, la humedad del medio, la humedad relativa del aire y la temperatura. También el tipo de reactor utilizado (con o sin agitación) juega un papel fundamental en la eficiencia del control de la temperatura (32).

1.2.3.4. LA CONCENTRACIÓN Y DISPONIBILIDAD DEL SUSTRATO

El medio de cultivo debe tener todos los nutrientes necesarios de forma balanceada para favorecer el crecimiento del microorganismo. Las relaciones entre algunos de sus elementos son de particular importancia, por ejemplo, [carbono](#)-nitrógeno y fósforo-oxígeno, esta última de manera relevante en lo referido a la eficiencia de conversión energética y a la [respiración](#). (32)

La formulación tiene que ver con los aspectos cuantitativos de los medios, es decir, debe establecer las concentraciones a ser utilizadas de cada componente. Una primera aproximación con respecto a las cantidades a utilizar de las diversas [fuentes](#) lo da [el conocimiento](#) de la composición de la biomasa del microorganismo empleado. (32)

Mediante el [conocimiento](#) de los coeficientes de rendimiento para la formación de biomasa y producto, y [los valores](#) de la energía de [mantenimiento](#) será posible establecer también los requerimientos de las fuentes de carbono necesarios para formular un medio. (32)

Al igual que en los cultivos sumergidos, la concentración de sustrato ejerce una influencia sobre el desarrollo del microorganismo. Hasta el momento, tal influencia no está caracterizada en términos de limitación o inhibición como en los cultivos sumergidos; pero se piensa que los efectos de limitación sean mayores en las fermentaciones sólidas, debido a la baja velocidad de difusión de los nutrientes en la fase líquida. Si se ha encontrado que la relación carbono/nitrógeno tiene una gran importancia y su valor óptimo puede variar en el intervalo de 10 a 100 en dependencia del proceso de fermentación (32).

1.2.3.5. LA AIREACIÓN.

En la mayoría de los procesos de fermentación en estado sólido participan microorganismos aerobios, y resulta la aireación un factor fundamental para el desarrollo del proceso. La aireación se utiliza para suministrar el oxígeno necesario, para extraer el CO₂ formado, así como para extraer el calor metabólico evolucionado, de manera que el flujo óptimo de aire debe tomar en consideración la naturaleza del microorganismo utilizado, los requerimientos de oxígeno para el crecimiento y/o la formación del producto deseado, la velocidad de generación de calor metabólico, la concentración crítica del dióxido de carbono y otros metabolitos volátiles, el espesor de la masa de sólido, entre otros. La aireación en las FES es más fácil que las fermentaciones sumergidas, porque la superficie de contacto es mayor entre el aire y el líquido que está absorbido en las partículas (32).

1.2.3.6. EL INÓCULO.

Otro factor que influye en los procesos de FES lo representa el tipo de inóculo y la forma de inoculación. En la [literatura](#) se reconoce el uso de dos tipos fundamentales de inóculo en la producción de hongos, tanto a nivel de [laboratorio](#) como industrial: micelio o esporas. Las principales ventajas del uso de micelio como inóculo son: una mejor [competitividad](#) del hongo, una reducción de la posible colonización del sustrato por microorganismos contaminantes y la colonización más rápida debido a que se reducen los tiempos de incubación (la fase de latencia o de adaptación principalmente). Sin embargo, en diferentes trabajos se reporta el uso de suspensiones de esporas, destacándose su principal ventaja en la reducción de los costos en la etapa de propagación del microorganismo (32).

La fermentación en sustrato sólido tiene amplias aplicaciones industriales; actualmente, las enzimas son empleadas principalmente para la obtención de lácteos, edulcorantes, fármacos, alimentos, licores, detergentes, etc. La degradación enzimática de la lignina es llevada a cabo por la acción de los hongos del género *Basidiomycetes* mediante un proceso no-específico y

oxidativo de tres tipos diferentes de enzimas: Lacasa, Lignina-peroxidasa y Manganeso-peroxidasa; la no-especificidad de éstas es de gran importancia para la degradación de diversas sustancias recalcitrantes que muestran similitudes estructurales con la lignina como son los PAH's, PCB's, DDT, colorantes azoicos, etc.

1.3. HONGOS

Los hongos son seres macroscópicos y microscópicos que viven sobre diversos materiales orgánicos, a las cuales descomponen para así alimentarse. Estos organismos se han adscrito tradicionalmente al Reino Vegetal, a pesar de que no tienen clorofila, tejidos especializados, ni flores. Sólo hace unos 30 años se acepta la idea que los hongos son organismos independientes de las plantas y aunque químicamente están muy relacionadas con los animales, forman un grupo aparte llamado el Reino de los Hongos o Reino Fungi. La palabra Fungi significa Florecimiento o excrecencia de la tierra, que quiere decir nacido en la tierra. (10)

1.3.1. GENERALIDADES

Los hongos son organismos unicelulares, pluricelulares o dimórficos; carecen de clorofila, por lo tanto son heterótrofos, es decir, obtienen sus alimentos por absorción; el componente principal de sus paredes celulares es la quitina. El talo (cuerpo vegetativo) en la mayoría de los hongos es filamentoso, está constituido por filamentos delgados llamados hifas, las que presentan crecimiento apical y en conjunto integran el micelio. En el caso de los hongos macroscópicos, el micelio está representado por la masa de apariencia algodonosa y por lo regular blanquecino que se localiza por debajo del mantillo en los bosques. Su reproducción puede ser asexual y/o sexual pero, generalmente, hay producción de esporas; son de distribución cosmopolita, se desarrollan en cualquier tipo de clima, siempre que la temperatura no sea menor de cero grados Celsius (4°-60°C), desde el nivel del mar hasta por encima de los 4,000 msnm (27)

Los hongos son un componente vital en la estructura y funcionamiento de los ecosistemas, ya que desempeñan diversas funciones de tipo ecológico y fisiológico; además, pueden ser mediadores e integradores que contribuyen al desarrollo de las poblaciones vegetales, particularmente al de las especies arbóreas. Entre sus principales funciones destacan las siguientes: intervienen en los ciclos y transferencia de nutrientes, al participar de manera activa en la regulación de la tasa fotosintética; a través del crecimiento de sus hifas modifican la permeabilidad y estructura del suelo; los hongos representan una fuente de alimento para algunos vertebrados (incluyendo mamíferos) e invertebrados, son hábitat de invertebrados, algas y otros hongos; participan en creación y alteración de nichos, sobre todo para invertebrados; establecen asociaciones mutualistas con plantas, termitas, hormigas y con algunas especies de algas. (27)

Los hongos también tienen usos ornamentales, medicinales, ceremoniales, insecticidas y combustibles . En este sentido se han registrado más de 100 especies de hongos macroscópicos con uso medicinal, entre los géneros enunciados están los siguientes: *Fomitopsis*, *Laetiporus*, *Inonotus*, *Phellinus*, *Calvatia*, *Langermannia*, *Lycoperdon*, *Armillaria*, *Bovista*, *Pycnoporus*, *Calocybe*, *Lentinus*, *Lepista* y *Pleurotus*; que han sido empleados para el tratamiento en alrededor de 100 padecimientos(27).

A especies como *Pleurotus spp*, *Lentinus edodes* y *Ganoderma lucidum* se les atribuyen propiedades anticancerígenas, revitalizantes y útiles para reducir el colesterol en la sangre. Por su parte el género *Psilocybe* cuenta con alrededor de 40 especies de las cuales, trece han sido empleadas en ceremonias por diferentes grupos indígenas como los zapotecos, mixtecos, mazatecos, tzeltales, mazahuas, chinantecos, chatinos, mixes, nahuas, otomíes y tarascos entre otros. Otras especies de los géneros *Stropharia*, *Panaeolus* y *Conocybe* tienen propiedades alucinógenas y se usan en algunas ceremonias. (27)

1.3.2. CLASIFICACIÓN

Los hongos son omnipresentes y cosmopolitas, pueden aparecer prácticamente en cualquier sitio, y alimentarse de lo más sospechado. Se conocen más de 200 000 especies diferentes de hongos, aunque probablemente existen muchas más no descritas ni estudiadas (4). Esto ha obligado a clasificarlos de una forma sencilla y práctica; ésta consiste en dividir a estos organismos en micromicetos y macromicetos.

Otra forma de clasificar el Reino Fungi, es por dos grandes grupos o divisiones; los Myxomycota y los Eumycota. El primero se refiere a ciertos hongos gelatinosos (de ahí su nombre de mycos =gelatina y mycota =hongo) y con propiedades de desplazarse e ingerir alimentos (como los animales) en sus primeras fases y ser muy polvorientos y delicados en sus fases adultas, en las que se reproducen por esporas.

Los Eumycota, que son los hongos verdaderos (eu= verdadero), se dividen en cuatro grandes subdivisiones a saber; *Phycomycotina*, *Ascomycotina*, *Basidiomycotina* y *Deuteromycotina* , o (Ficomycetos, Ascomicetos, Basidiomicetos y Deuteromicetos como se les conoce comúnmente) (10).

La mayor parte de los hongos son saprofitos (descomponen la materia muerta), y juegan un papel de vital importancia en el mantenimiento de los ecosistemas, reciclando la materia orgánica que luego podrá ser utilizada por los vegetales.

También se les puede clasificar en degradadores primarios, secundarios y continuos, dependiendo del estado de degradación de la materia orgánica que utilicen como nutriente. Los degradadores primarios son los responsables de iniciar la descomposición de los residuos vegetales en la naturaleza, muchos de ellos son específicos para materia orgánica intacta. Algunas especies atacan carbohidratos de fácil degradación (hongos de pudrición blanda), otros degradan los polisacáridos celulosa y hemicelulosa (hongos de pudrición oscura) y algunos además degradan la lignina (Hongos de pudrición blanca)

Los Basidiomycetes tienen un papel fundamental en el reciclaje del carbono en la biósfera, puesto que muchas especies producen celulasas que degradan la biomasa vegetal a anhídrido carbónico. Estas especies producen enzimas para degradar la lignocelulosa de las paredes celulares de las plantas, esta es la razón por la cual se les conoce como el hongo de la madera. La lignocelulosa es una matriz compleja de fibras de celulosa, hemicelulosa, lignina y proteínas.

Para su degradación se requiere que los hongos produzcan una variedad de enzimas las cuales tienen actividades diferentes pero complementarias. La primera etapa de colonización de la madera es estimulada por la secreción de ácido oxálico por parte del hongo. El ácido oxálico acidifica las células de la madera, y atrapa el calcio adherido a la hemicelulosa en la pared celular. En la preparación para la acción enzimática, la secreción del peróxido de hidrógeno por parte del hongo da lugar a la formación de radicales libres que atacan a la celulosa. Estos mecanismos debilitan la estructura de la madera.

No todos los Basidiomycetes pueden mineralizar completamente la madera a CO_2 y H_2O . Los hongos de pudrición café, denominados así porque la madera adopta un color café oscuro a medida que la descomposición avanza, sólo degradan la celulosa y hemicelulosa, mientras dejan la lignina modificada pero no degradada. No se han logrado aislar polifenol oxidasas o ligninasas a partir de los hongos de pudrición café.

Los hongos de mayor éxito en la degradación de la madera son Basidiomycetes de pudrición blanca. Estos hongos no solo secretan celulasas y hemicelulasas, sino que también producen enzimas que degradan la lignina.

Son estas enzimas las que pueden usarse en el tratamiento de desechos y en muchos procesos de biodegradación (9)

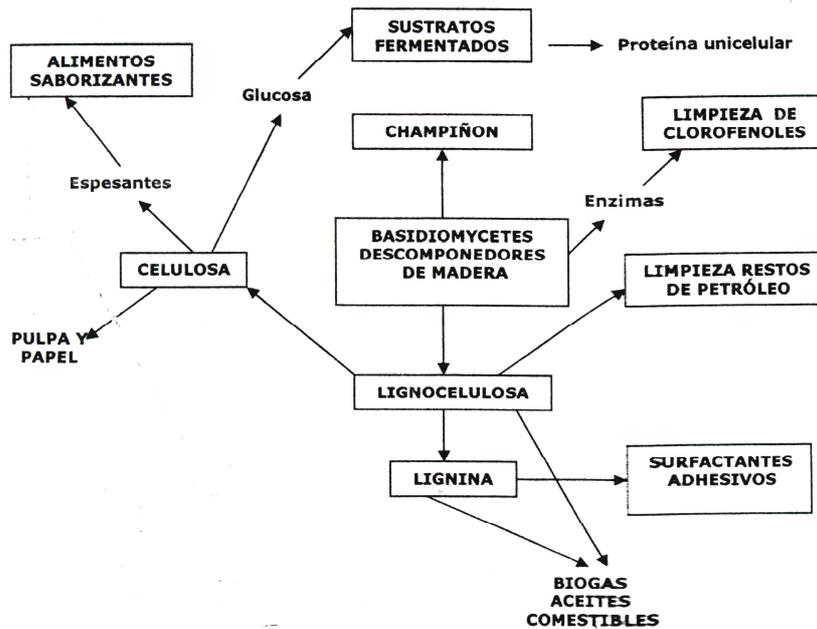


Figura No 1. Posibilidades de acción de los *Basidiomicetes* (9)

Este género de hongo (*Basidiomicetes*) es capaz de producir enzimas lignocelulolíticas (ligninasas) que degradan la lignina, la utilización de sustratos lignocelulósicos para el cultivo de hongos, es posible realizarlo por el sistema lignolítico de los hongos del tipo *Pleurotus*.

Las principales enzimas son celulasas las cuales pueden ser endo y exo gluconasas y β -glucosidasas; hemicelulasas, que incluyen xilasas y manasas; y ligninasas, que pueden ser peroxidasas y polifenol oxidasas. Aunque a través de una gran cantidad de investigaciones se han identificado varias peroxidasas y polifenol oxidasas, a partir de los hongos de pudrición blanca (*Pleurotus ostreatus*), el mecanismo preciso de la actividad de estas enzimas todavía no están totalmente claro. (9)

Sin embargo, se ha determinado además que para la degradación de la lignina interviene un sistema enzimático que consta de las enzimas Mangesoperoxidasa (MnP), laccasa (Polifenoloxidasas, más una aril alcohol oxidasas productora de H_2O_2) y lignina peroxidasa (LIP).

1.3.3. PRODUCCIÓN DE HONGOS COMESTIBLES

El saber tradicional sobre los hongos comestibles también se manifiesta en el gran número de nombres comunes que diversos autores han registrado, el cual supera los 400, mismos que corresponden a cerca de 200 especies. Cabe señalar que alrededor del 46% de estas especies son micorrizógenas, lo que dificulta su cultivo y la única forma de aprovecharlas es la recolección.

(19)

El cultivo comercial de las setas inicia su desarrollo en la década de los 70, especialmente, en el ámbito rural dados sus bajos costos de producción y a la utilización de esquilmos agroindustriales como sustratos, cita incrementos del 413 % para el período 1990 a 1997, con valores de 365 Ton y 1,825 Ton respectivamente.(19)

Los hongos comestibles por varios milenios han constituido un plato muy apetecido. Por su bajo contenido de colesterol y calorías, su popularidad ha ido en ascenso. Adquiriendo una mayor conciencia por la necesidad de dieta saludable por una parte y por otra la moda por el consumo de productos “diet” y “Light”.

A medida que mejora el nivel de vida, va aumentando el consumo de hongos en las más variadas formas y presentaciones. Lo que antes era una afición de unos pocos, hoy se ha extendido a un gran número de personas y son cada vez más los que aprecian las cualidades de los hongos comestibles. El cultivo de hongos comestibles constituye no solamente el único proceso biotecnológico económicamente viable y rentable para la conversión de residuos lignocelulósicos, sino también el único sistema microbiológico que puede degradar lignina, celulosa y hemicelulosa de estos residuos.

1.4. *Pleurotus ostreatus*

1.4.1. VARIEDADES DE *Pleurotus*.

Pleurotus es el nombre genérico de toda una gama de hongos saprofitos comestibles en los que se ha logrado limitar sus hábitos ecológicos naturales (troncos de árboles secos, generalmente pobres en nutrientes, ramas muertas, hojarascas, etc.) para cultivarlos en sustratos lignocelulósicos diversos, habiendo sido objeto de una preparación simple y rápida. Los *Pleurotus* constituyen un grupo de especies muy diversas tanto por sus colores (amarillo, blanco, gris pizarra, marrón oscuro e inclusive rosado) como por sus formas, sabor o por sus exigencias técnicas. (22)

Las especies *Pleurotus* se pueden definir como el conjunto de hongos que presentan las siguientes características. (22)

- a) Poseen sombrilla o varias sombrillas agrupadas en manojos en forma de embudo, generalmente de simetría bilateral pero no axial, que tiene la forma de concha de ostra unida a un tallo excéntrico (de ahí su nombre popular “hongo ostra”)
- b) No posee anillo ni volva.
- c) Sus esporas son blancas y posee laminillas decurrentes (se prolongan en forma de alas sobre el tallo, bajo su punto de unión)
- d) Son lignícolas y parasitan diversas especies de umbelíferas.
- e) Poseen un pie más o menos desarrollado, frecuentemente excéntrico.

En general, los *Pleurotus* son cosmopolitas encontrándose presente en todos los continentes, sin embargo desde el punto de vista de exigencias climáticas, se les puede clasificar en (22):

- *Pleurotus* de clima templado de época invernal (10 a 20° C): *P. ostreatus* y *P. Colombinus*.

- *Pleurotus* de clima templado de época de verano o semitropical (15 a 25 °C):
P. pulmonarius, *P. sajor-caju*, *P. florida*, *P. cornucopiae* y *P. eryngil*.
- *Pleurotus* de zonas tropicales, particularmente de Asia: *P. cystidiosus*, *P. abalonus*) y *P. salmoneo* (*P. stramineus*)

Tiene una alta capacidad saprofítica y puede lo mismo colonizar postratos esterilizados, pasteurizados y fermentados, e incluso en ocasiones, sin esterilizar.

Pleurotus su origen en especies silvestres y tiene una ecología muy diferente al *Agaricus* (champiñón). (19)

1.4.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Nombre científico: *Pleurotus ostreatus* var. *Florida*

Nombres comunes: **Setas, Hongo ostra, orejas blancas, de cazahuate e izote**

Sistemática:

Reino:	Fungi
Subreino:	Fungi Superior
Clase:	<i>Basidiomycetos</i>
Orden:	<i>Autobasidiomycetos</i>
Familia:	Pleurotace
Género:	<i>Pleurotus</i>
Especie:	<i>Ostreatus</i>
Variedad:	<i>florida</i>

1.4.3. MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA

Los hongos comestibles pertenecen a los Basidiomycetes, las características morfológicas de este grupo, incluyen cuerpos fructíferos que contienen esporas sexuales, micelio septado, células dicariotes y conexiones “clamp” entre las células, los hongos microscópicos no tienen estas

fructificaciones. Dichas fructificaciones son a las que comúnmente se les llama “Hongos”, por ejemplo, las fructificaciones de las setas o de cualquier hongo que crece en el jardín o en el bosque, sin embargo, estas estructuras mal llamadas hongos, constituyen el fruto del verdadero hongo, el cual vive y se desarrollan en el suelo (o sustrato donde crecen)

El verdadero hongo es una masa algodonosa, generalmente blanca, que técnicamente se le llama micelio y que generalmente no vemos por estar enterrado en el suelo o sustrato en donde se desarrolla. La unidad microscópica fundamental de un hongo es la Hifa, la cual es un filamento tabicado en la mayoría de las veces, es decir un conjunto de células. Es precisamente a partir del micelio por donde se alimenta el hongo, a través de la absorción de las sustancias nutritivas del sustrato. Las esporas pueden ser blancas, blancas con tono lilas, blancas amarillentas, de color rosa, café o negras según la especie del hongo.

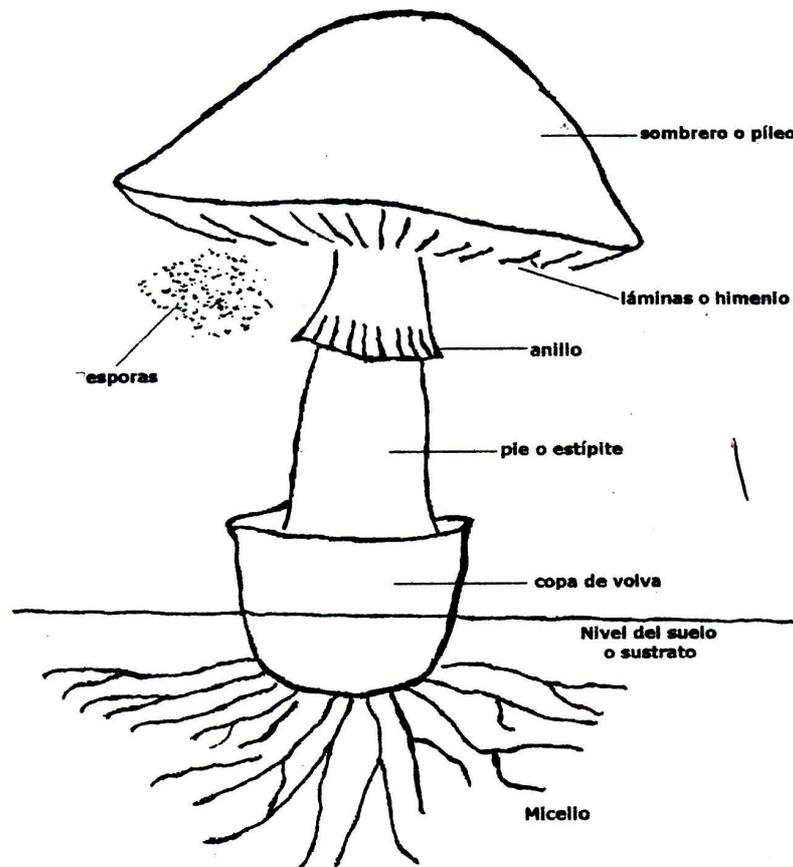


Figura No 2.- Esquema general de las partes constitutivas de un hongo. (10)

Las partes fundamentales del cuerpo fructífero de un hongo, son el sombrero o píleo, que protege a las láminas o himenio, éste último es la parte fértil del hongo y en donde se producen las esporas. El sombrero es sostenido por el pie o estípite, en el cual existen a veces plenillo y la volva. El anillo es el resto de un velo que cubría a las láminas en el estado juvenil del hongo y la volva también es el resto de una envoltura que envolvía toda la fructificación cuando inmadura (conocida como fase huevo). El himenio se encuentra por debajo de la fructificación, ocurre con todos los Basidiomycetos, no así en los Ascomycetos en donde el himenio está hacia arriba. (10)

Las fructificaciones de los hongos son el resultado de los procesos de la reproducción sexual, Dichas fructificaciones, constituyen la forma que tiene el hongo para producir esporas y así perpetuar su especie. Estas esporas son de origen sexual. Las esporas sexuales del hongo, basidiosporas en el caso de los hongos comestibles, por tratarse de un Basidiomyceto, al caer sobre un sustrato adecuado, en este caso el suelo, germinan produciendo hifas y éstas el micelio. Las células de estos micelios son uninucleadas, es decir tienen un solo núcleo cada una, como también lo son las esporas. Un micelio uninucleado, llamado también micelio primario, se fusiona con otro de otro individuo, para producir un micelio binucleado o secundario, con dos núcleos cada célula. (10)

1.4.4. CICLO DE VIDA DE LA SETA

El ciclo de vida de una seta se muestra en la figura 3 (16). A las esporas formadas se les llama basidiosporas debido a que se forman en la punta de una porción diferenciada de la hifa que recibe el nombre de basidio (quiere decir base por su forma fusiforme) ocasionalmente se fusionan las hifas, pero la formación completa del cuerpo fructificante no tiene lugar inmediatamente, deteniéndose el desarrollo con la producción de pequeñas estructuras en forma de botón que son los primordios de la seta (primer grupo identificable de células que va a formar la seta madura) (6)

Estos botones pueden permanecer debajo del suelo por un tiempo considerable hasta que se presenten las condiciones ambientales favorables, luego de intensas lluvias, dichos botones sufren el crecimiento rápido hacia los cuerpos fructíferos maduros. Aunque ya no tiene lugar el crecimiento de las hifas, gran parte de la expansión en este estadio debe a la incorporación de agua. Esta expansión generalmente es tan rápida que se puede formar un cuerpo fructífero al cabo de unas cuantas horas o días. En la mayoría de los casos, cierto número de cuerpos fructificantes madurará al mismo tiempo en un área determinada de suelo, produciendo lo que se denomina brotes o floración de cuerpos fructificantes; un día, en lugar determinado, se puede suponer que no hay cuerpos fructíferos, mientras que al día siguiente puede encontrarse cantidad de ellos, ver figura 3. (6)

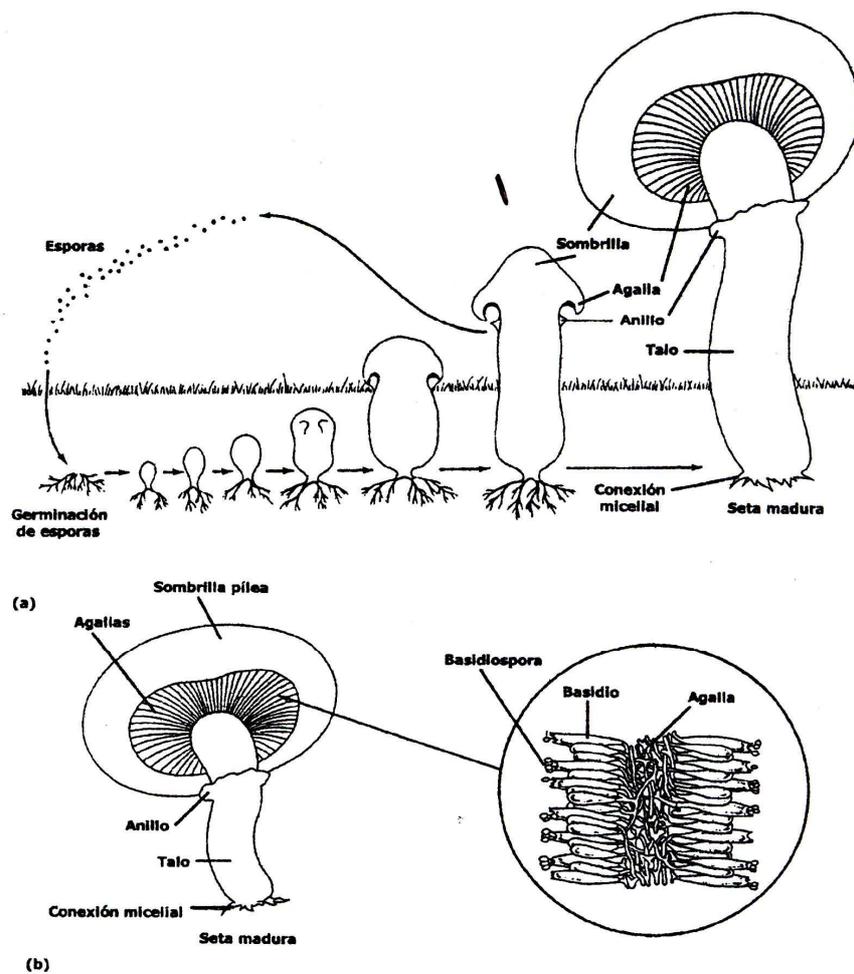


Figura No 3.- Ciclo de vida y esporas de un *Basidiomycetes* (seta). (6)

1.4.5. REPRODUCCIÓN

Los basidiomycetes son hongos superiores la mayoría de los cuales producen cuerpos fructíferos macroscópicos, mediante reproducción sexual.

La reproducción sexual se da en cuatro etapas o fases:

- a) Plasmogamia: que se desarrolla en el micelio.
- b) Cariogamia: que se desarrolla en el himenio del cuerpo fructífero del hongo.
- c) La meiosis: que constituye el intercambio genético.
- d) División: para producir cuatro núcleos hijos haploides.

Es interesante observar que un hongo del género *Pleurotus* pueda existir en dos formas muy diferentes según su estado sexual, una macroscópica en forma de oreja y con esporas blancas en masa, que es la fase perfecta o sexual y la otra en forma de pedúnculos diminutos con esporas negras, que es la fase imperfecta o asexual (Antromyces) (1,6).

La fase sexual en cualquier hongo se le denomina teleomorfo y la sexual anamorfo y la las dos juntas en el mismo hongo halomorfo.

Los hongos también se pueden reproducir vegetativamente por medio de fragmentos obtenidos del micelio o del cuerpo fructífero. Si tomamos con asepsia una porción del micelio secundario del hongo o una pequeña pieza del cuerpo fructífero y la ponemos bajo humedad, temperatura y nutrientes adecuados, dicho fragmento crecerá y dará más hifas, formando así un nuevo micelio. (1,6)

El método vegetativo es el más utilizado en laboratorio para producir hongos

1.4.6. ESTRUCTURA DEL PLEUROMA DE *Pleurotus s.p*

.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 sp* 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 hifas 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* 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. dependiendo del autor que se este consultando.

Es importante decir que 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: píleo, láminas y estípite. 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.

El estípite 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. (figura 3)

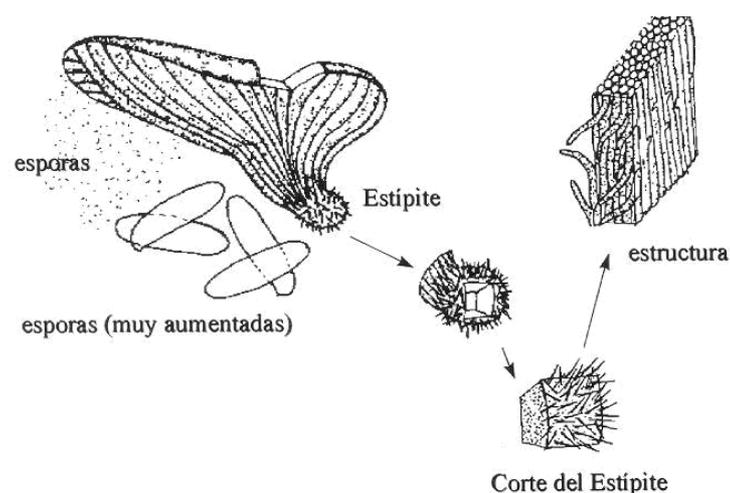


Figura No 4.- Pleuroma o cuerpo fructífero en la producción de esporas.

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

Las láminas del himenio están compuestas de tres regiones:

- La trama
- El sub-himenio
- El himenio (figura No 5)

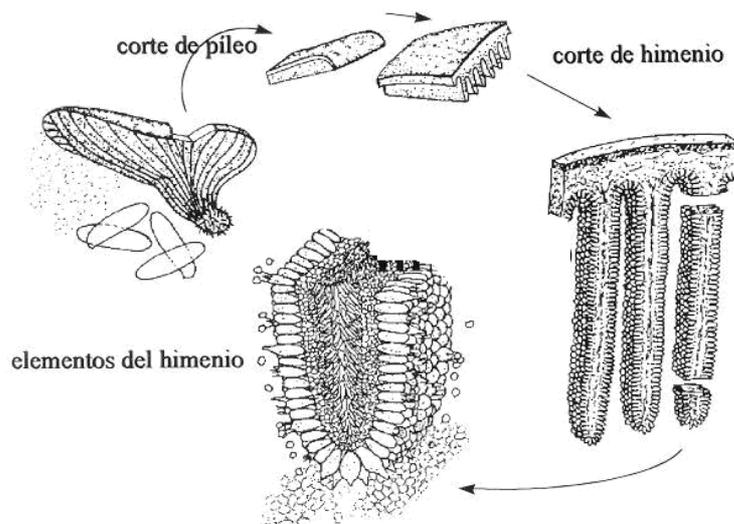


Figura No 5: Estructura del Himenio

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

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

La zona himenial esta 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. (Figura 6)

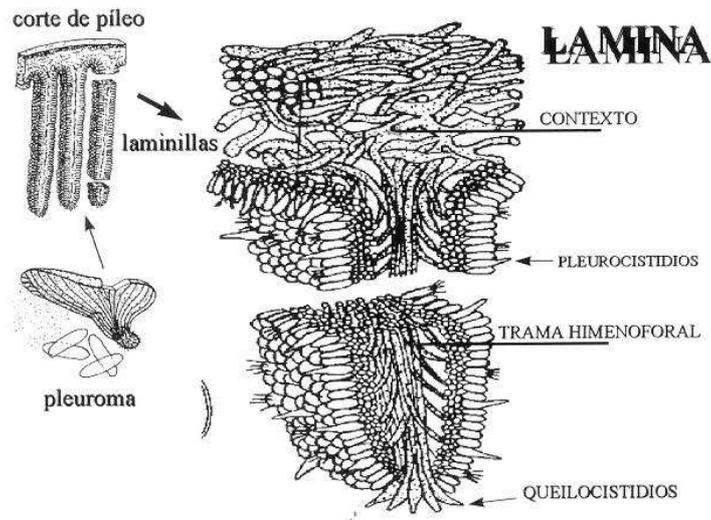


Figura No 6: Láminas del Himenio

(<http://www.uv.mx/institutos/forest/hongos/estruc.html>)

1.5. CULTIVO

El cultivo de los hongos comestibles es del tipo "ecológico", pues lo que al hombre le es poco útil y que desecha, como las pajas, bagazos, cascarillas y pulpas (subproductos de la industria) el hongo lo transforma en alimento proteínico y en mercancía para venta. Es un cultivo de reconversión ecológica.



Pleurotus ostreatus cultivado a nivel de laboratorio

www.uv.mx/institutos/forest/hongos/estruc.html

1.6. ESQUEMA GENERAL DE CULTIVO

- Compra/Obtención de la Cepa
- Propagación de la Cepa
- Producción de Semilla de Inóculo
- Preparación del Sustrato
- Siembra
- Cultivo
- Cosecha

Cultivar hongos es un arte y como tal requiere de conocer técnicas y luego con la práctica lograr el dominio y el placer de cosechar.

El cultivo de hongos comestibles es una actividad que en los últimos años se ha convertido en una verdadera alternativa para la obtención de alimentos para el para el consumo humano, por la posibilidad de conseguir grandes cantidades en pequeñas áreas mediante técnicas sencillas, a bajo costo, en cortos periodos de tiempo y empleando residuos agroindustriales como sustrato para su cultivo. (13)

Es importante diferenciar entre lo que se considera un "cultivo casero" y lo que corresponde a un "cultivo industrial". El primero está enfocado a la producción de unos cuantos kilogramos de hongos para autoconsumo (e incluso puede alcanzar para vender el excedente a baja escala) con una inversión mínima, no así el segundo que requiere de inversiones considerables (y más en este momento) así como del soporte de técnicos capacitados y responsables de la producción a gran escala y de un plan eficiente de manejo y ventas. (22)

El cultivo de hongos a bajo costo (por sus características de austeridad) por lo general ejerce poco control sobre las condiciones del medio (temperatura, humedad, ventilación, luz, oscuridad, etc.). Entre más factores del medio se puedan controlar, más costos se tendrán que

incorporar a la inversión para el cultivo. Los cultivos son más estables y más productivos cuando el lugar de cultivo posee aire acondicionado (pero es muy caro). Sin embargo, las condiciones de cultivo caseras son baratas (aunque dependientes de las condiciones del medio) y son productivas a bajo nivel, suficiente para autoconsumo y comercialización del excedente. (30)

A nivel de producción casera se puede ejercer también cierta regulación sobre los factores del medio, por ejemplo:

La temperatura se puede regular abriendo ventanas y puertas (si es que existen) para que la temperatura baje y permita además una ventilación.

- La humedad se puede regular aplicando agua al suelo (esto permite también regular la temperatura).

El ingenio del cultivador será necesario para resolver las situaciones del cultivo. La experiencia será la base del mejoramiento de los cultivos, esa es la aventura y la motivación que conlleva a la superación.

Algunas personas construyen pequeños módulos de plástico en su patio o en su azotea para la producción de hongos.

Los hongos producidos deben de tener la apariencia robusta y con un pie lo más corto posible (lo que nos indica las buenas condiciones de cultivo) y su olor a anís dulce. (22)

De todos los tipos de hongos comestibles únicamente se cultiva artificialmente los que se encuentran dentro del grupo de los saprófitos. Esto se debe a que sus requerimientos fisiológicos y ecológicos son más simples que los que pertenecen al grupo de los hongos parásitos o simbióticos, los cuales se desarrollan en ecosistemas más complejos y son menos conocidos. Los saprófitos utilizan la biomasa vegetal como fuente de carbono y energía. (30)

Utilizan carbono como fuente de energía, y para la elaboración de sustancias estructurales de la célula. Entre los compuestos más comúnmente empleados, están los carbohidratos (monosacáridos) ácidos orgánicos, aminoácidos, que se obtienen a través de la membrana celular, algunos alcoholes y lignina. Sin embargo, las moléculas más complejas que incluyen quizás muchos polisacáridos, deben degradarse a monómeros en el exterior de la célula por medio de las enzimas liberadas a través de las paredes unidas a ésta. (22)

1.6.1 FACTORES QUE CODICIONAN EL CULTIVO

1.6.1.1. HUMEDAD.

La humedad es uno de los factores determinantes en el cultivo de hongos comestibles. Su crecimiento depende de la humedad relativa presente en el medio, cuyos valores están comprendidos entre 70-85%. Algunos hongos para su crecimiento requieren de una cantidad óptima de humedad en el sustrato, la misma que depende del tipo de sustrato a utilizarse (7).

1.6.1.2. TEMPERATURA.

La influencia de la temperatura sobre el curso de la fermentación, deriva fundamentalmente de la relación existente entre ésta y el crecimiento.

Temperaturas muy elevadas provocan la muerte de los microorganismos; las temperaturas muy bajas inhiben el desarrollo de éstos y; por añadidura, ejercen acción conservadora sobre los gérmenes. Al determinar la temperatura que debe imperar en la fermentación hay que tener en cuenta que con el calor se aceleran las reacciones metabólicas, es decir los procesos de síntesis, así como también el desdoblamiento y con él la creciente inactivación de las enzimas, actúan en sentido opuesto. Como resultado, la producción de biomasa decae a temperaturas extremas. (7)

Pocas generalizaciones se pueden hacer con relación a la temperatura, tanto para el crecimiento vegetativo, como la fructificación de los hongos comestibles.

Cada especie tiene una temperatura óptima para fructificar la cual puede o no coincidir con el crecimiento vegetativo. Así en general, las temperaturas de la fructificación óptimas para los hongos comestibles son siempre más bajas que la temperatura de crecimiento vegetativo. La temperatura óptima para el *Pleurotus ostreatus variedad florida* en su fase vegetativa es 30°C y para la fructificación 25°C. Los efectos en la morfología a causa de la temperatura pueden ser fácilmente observados. La determinación de la temperatura óptima puede por lo tanto contribuir a la máxima calidad del producto.

1.6.1.3. FUENTE DE CARBONO

El principal constituyente de los microorganismos es el carbono. Los organismos fotosintéticos obtienen energía de la oxidación de compuestos inorgánicos, típicamente usan el dióxido de carbono como única fuente de carbono celular.

Los demás organismos obtienen su carbón de nutrientes orgánicos, los cuales tienen una doble función como fuentes de energía y de carbono. Los microorganismos son extraordinariamente diversos con respecto a la clase y número de compuestos orgánicos que pueden usar como fuente principal de carbono y energía. Tanto que virtualmente no hay compuestos orgánicos naturales que no puedan ser usados por los microorganismos. Se debe adicionar al medio una fuente de energía suficiente en términos de carbono.

Ésta se puede basar en el rendimiento constante (gramos de células por gramos de substrato usado).

1.6.1.4. CONCENTRACIÓN DE NITRÓGENO.

Junto con la fuente de carbono, es vital una fuente de nitrógeno. En los medios de laboratorio el nitrógeno se aporta normalmente como sales de amonio o nitrato, pero para los procesos industriales se usan otras fuentes como urea, harina de soya, semilla de algodón, de maíz y de pescado.

1.6.1.5. DIÓXIDO DE CARBONO

El efecto del dióxido de carbono en la fisiología del hongo comestible puede ser substancial. Muchos trabajos han sido realizados para el hongo común. *Agaricus*. En general, algunos de los hallazgos sobre el *Agaricus*., pueden ser relacionados con otros hongos comestibles. Niveles de CO₂ menores al 0.1% pueden causar retardo en la formación de esporóforas y una reducción de esporóforas iniciales en *Agaricus* (13). El *Pleurotus ostreatus* necesita que los niveles de dióxido de carbono, estén lo más próximos a la del aire normal (0.40-0.60%)(14). En estos cultivos la aireación remueve el CO₂ que se libera durante la fermentación y que afecta a la producción de la biomasa.

1.6.1.6. LUZ

Las reacciones de los hongos a la luz visible y ultravioleta son principalmente de tres tipos: inductiva, inhibitoria y trófica (55). Los efectos inductivos incluyen a la luz como requisito para la iniciación o maduración de las estructuras reproductoras y responsables cuantitativamente en el incremento del número de estructuras reproductoras. La luz esencial para la formación y maduración de las estructuras reproductoras de algunas especies de Basidiomycetos que pudren la madera.

La calidad y cantidad de luz son importantes consideraciones en los procesos de formación y maduración. Por tanto es fundamental que la duración e intensidad de luz sea considerada para cada especie y en el caso del *Pleurotus ostreatus*, se ha demostrado los requerimientos mínimos y óptimos. Fructificaciones en ciclos por debajo de las 12 h de luz y 12 h de oscuridad, de forma continua y una intensidad de 500 lux, han sido establecido como las condiciones óptimas para el *Pleurotus ostreatus*. La síntesis de muchos compuestos difiere ampliamente cuando los hongos son cultivados en ausencia o presencia de luz (7).

1.6.1.7. PH

En todos los procesos fermentativos la concentración de los iones hidrógeno, constituye un parámetro esencial para el crecimiento de los microorganismos.

Este es un factor determinante para la selectividad del sustrato. La mayor parte de los hongos se desarrollan de preferencia en un pH ligeramente ácido. Muchos de los hongos comestibles producen, en su propagación en sustratos sólidos, metabolitos que tienden a hacer que el pH del sustrato disminuya. (14)

Pleurotus ostreatus requiere 17 elementos, entre los cuales, los más relevantes: nitrógeno, 1% del peso del sustrato húmedo; fósforo, potasio, azufre, magnesio, además requiere en proporciones menores calcio, hierro, zinc, cobre, molibdeno y manganeso. (4)

El *Pleurotus ostreatus* crece en pH comprendido entre 5.5 y 6.6. (2)

TABLA No II. FASES DE CULTIVO DE LA SETAS.

Fases	Procesos	Tiempo	Cultivo Industrial	Cultivo doméstico
Preparación del sustrato	Acondicionamiento del material de base		Paja de cereales, residuos de maíz, aserrín, etc.	Paja de cereales picada, etc.
	Empajado	De horas a días	Agua	Agua semi templada
	Pasterización	18 horas 8 horas 18-24 horas	50°C . En aerobiosis 60°C 80°C al vapor	Una hora en agua a 80°C. Escurrir y lavar..
Siembra del micelio	Mezclado		Al 2% de sustrato, con 70% de humedad y temperatura ambiente	3% del sustrato húmedo
Incubación		15 -20 días	Sacos plásticos o recipientes cubiertos de plástico. Temp. Ambiente: 18 – 22 °C. Temp. sustrato: 25°C	Sacos plásticos o recipientes cubiertos de plástico. Temp. Ambiente: 18 – 22 °C. Temp. sustrato: 25°C
Producción de setas	Control del ambiente	Hasta en 60 días Cosechas de 3 -8 días Intervalo entre cosechas 10 -20 días	Temp. Ambiente: 12- 18°C, según la cepa. Humedad ambiente: 85 95% El sustrato debe estar húmedo, Iluminación diurna : 60-200lux	Temperatura ambiente menor de 15°C Alta humedad Iluminación diurna

1.6.2. IMPORTANCIA ALIMENTICIA Y MEDICINAL DE LAS SETAS.

Según análisis realizados por especialistas en alimentos, los hongos tienen normalmente de 19-35% proteína aprovechables real en seco, con una digestibilidad de hasta un 86%, su contenido vitamínico investigaciones realizadas nos indican que son (8.6 mg. de ácido ascórbico; 0,12 mg. de tiamina; 0,52mg de riboflavina; 5,82mg. de ácido nicotínico; 2,38 mg. de ácido pantoténico; 0,018 mg. de biotina, todo en 100 g. de muestra en fresco), el contenido en carbohidratos de 3 – 6 g %, de grasa de 0,05a 0,3 g.%, y el gran poder de conversión que tiene sobre los desechos lignocelulosicos,(17) comparado a los vegetales (hortalizas y frutas), que solamente tienen un 7.3-12%, con excepción de la soya que contiene entre el 25 y 90% de proteína. A nivel de aminoácidos, las sustancias precursoras de las proteínas, tales como la lisina y el triptófano, llegan a nivel de 4.5-9.9g y 1.1-1.3g respectivamente, presentes en las orejas blancas de las setas comparado al de los huevos de gallina que tienen 6.4-1.6g de lisina y triptófano.(10)

La composición química de los *Pleurotus* es particularmente interesante desde el punto de vista dietética, su valor energético global en dependencia del tipo de especie oscila entre 150 y 350 Kcal/kg de hongos frescos constituyéndose a la vez en una valiosa fuente de vitaminas y diferentes sales minerales, sus contenido de ácidos nucleicos no supera los límites establecidos por PGA (Protein Advisory Grup) de las Naciones Unidas lo que lo hace tolerable e inocuo, permitiendo incluso su consumo diario.

En la Tabla No III, se reportan ciertas características físico-químicas de las setas con otros alimentos.

TABLA III. CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DEL *Pleurotus ostreatus* EN COMPARACIÓN CON OTROS ALIMENTOS.

INDICES	HUEVO ENTERO	CARNE RES FRESCA	VEGETALES HOJAS	CARNE POLLO FRESCA	LECHE	<i>Pleurotus Ostreatus.var florida</i>
ENERGÍA (kcal/100g)	166.0	117.0	21.0	165.0	55.0	345.0
HUMEDAD %	72.7	74.6	93.2	70.6	89.7	92.06
PROTEINA VERDADERA (%b.s)	13.0	20.06	2.2	18.2	3.1	28.15
GRASAS (% b.s)	12.0	4.0	0.2	10.2	2.8	2.93

*INCIDCA (1999) (19)

1.6.3. CONSERVACIÓN DE LAS SETAS

1.6.3.1. REFRIGERACIÓN.

Debido a que los hongos continúan su desarrollo aun después de cosecharlos y son influenciados por la temperatura y las concentraciones de dióxido de carbono y oxígeno, es recomendable transportarlos refrigerados, entre 0 y 2°C, para su venta en fresco y para acortar

al máximo el tiempo que transcurre desde el momento de la cosecha hasta el inicio de cualquier proceso de conservación.

Para evitar pérdidas de peso fresco, la refrigeración y el transporte deben realizarse con humedad relativa de 90 al 95%. A 0°C la actividad metabólica de los tejidos fúngicos es baja, pero no nula; a temperaturas entre - 0.9 y -1.2 °C el agua de los tejidos se congela y puede originar cristales de hielo que rompen las estructuras celulares; cuando los tejidos se descongelan, se reinician las interacciones enzima – sustrato, lo que lleva a un rápido deterioro del producto.

1.6.3.2. CONGELACIÓN,

Método de conservación de los alimentos que se basa en la exposición al frío, a temperaturas inferiores al punto de congelación. En la región situada por encima del punto de congelación se habla de refrigeración.

La congelación impide la multiplicación de los microorganismos (bacterias y hongos microscópicos). Por el contrario, las enzimas, cuya actividad degrada los alimentos, sí se mantienen activas en condiciones de congelación, aunque su actividad es mucho más lenta. Por eso las legumbres frescas suelen blanquearse o hervirse antes de congelarlas, con el fin de inactivar estas sustancias e impedir que el sabor se degrade.

La congelación de setas suele hacerse mediante el método de enfriando al vacío, que requiere de 15 a 20min para alcanzar una temperatura próxima a 0°C, o utilizando el método de enfriado con ventilación positiva, que evita pérdidas de humedad al utilizar aire enfriado con agua – hielo. Otras formas de enfriar los alimentos y en particular las setas comestibles, son el uso de nitrógeno líquido o de congeladores a - 40°C. Una vez lograda la congelación de las orellanas, por cualquier método, se deben conservar a - 20°C.

Las setas congeladas pueden durar varios meses sin mayor pérdida de calidad. Los mohos y las levaduras y la mayor parte de las bacterias se destruyen y las enzimas se inactivan por el

escaldado previo con vapor o con agua hirviendo a la que se ha añadido 0.1 a 0.2% de ácido cítrico. El *Pleurotus ostreatus* es una seta que presenta características propicias para ser sometida a congelación, ya que muestra pocas pérdidas, inclusive cinco meses después de haber sido sometidas a dicho tratamiento. (19)

1.7. GENERALIDADES DEL MAÍZ

1.7.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

El maíz es un cultivo muy remoto de unos 7000 años de antigüedad, de origen indio que se cultivaba por las zonas de México y América Central. Hoy día su cultivo está muy difundido por todo el resto de países y en especial en toda Europa donde ocupa una posición muy elevada. EEUU es otro de los países que destaca por su alta concentración en el cultivo de maíz.

Su origen no está muy claro pero se considera que pertenece a un cultivo de la zona de México, pues sus hallazgos más antiguos se encontraron allí (19).

1.7.2. CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Nombre común: Maíz

Nombre científico: *Zea mays*

Familia: Gramíneas

Género: *Zea*

1.7.3. VALOR NUTRITIVO

El maíz duro amarillo en Ecuador, satisface principalmente la industria procesadora de alimentos balanceados para la alimentación animal (aves, ganadería, camarones). Se estima que esta industria absorbe la casi totalidad de producción comercializada; una pequeña cantidad sirve para el autoconsumo. (8)

El valor nutritivo del grano de maíz está sintetizado por diferentes elementos que lo conforman, como el contenido de proteína, nitratos, carbohidratos, grasas, aceites, minerales y vitaminas.

En la tabla No IV (8), se indica la composición del maíz

TABLA No IV. Composición química del maíz

Parámetros	Resultados
Materia seca	88.00%
Proteína cruda	0.90%
Grasa	3.50%
Fibra Cruda	2.90%
Calcio	0.01%
Fósforo total	0.25%
Cenizas	1.50%
Proteínas digerible(rumiantes)	5.80%
Cobre	3.40ppm
Zinc	10.40ppm
Selenio	0.04ppm

INSTITUTO ECUATORIANO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS (INIAP)1999

1.7.4. RESIDUALES DE MAÍZ

Este cultivo genera gran cantidad de biomasa aérea (vegetación), la cual el hombre cosecha el 50% en forma de grano. El resto corresponde a diversas estructuras de la planta tales como caña, hojas panoja y otras. La producción de biomasa residual que genera el maíz de grano (cañas,

hojas, chalas y corontas) fluctúa entre 20 y 25 toneladas por hectárea, por lo que existiría una disponibilidad potencial total entre 1 y 3.5 millones de toneladas. (12)

1.8. GENERALIDADES DE LA QUÍNUA

1.8.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

La **quinua** o **quínoa**, (*Chenopodium quinoa*), es un cereal de la familia Chenopodiaceae que se produce en los Andes de Argentina, Bolivia, Chile, Colombia, Ecuador y el Perú.

Crece desde el nivel del mar en Chile y el Perú hasta los 4.000 metros en los Andes, pero generalmente crece a partir de los 2 500m.(26)

Origen

Fue cultivada en los Andes bolivianos principalmente y también en los ecuatorianos y peruanos desde hace unos 5.000 años. Este cultivo, al igual que la papa fue uno de los principales alimentos en muchos pueblos andinos de la antigüedad preinca.(26)

1.8.2. CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: Amaranthaceae

Género: Chenopodium

Especie: ***C. quinoa***

Nombre binomial :

Chenopodium quinoa

Nombres comunes

- [Aymara](#): Supha, jopa, jupha, jaira, ära, qallapi, vocali.
- [Chibcha](#): Suba, pasca
- [Mapudungun](#): Dawe, sawe
- [Quechua](#): Ayara, kiuna, kitaqañiwa, kuchikinwa, kiwicha, achita, qañiwa, qañawa.



1.8.3. VALOR NUTRITIVO DE LA QUÍNUA

La quínea es un producto ancestral andino. Tiene un alto contenido de proteínas y aminoácidos esenciales como la lisina, metionina y triptófano. Es un cultivo resistente a los cambios naturales y se adapta en los sitios altos de la serranía.

La quínea supera en valor alimenticio a otros granos como el trigo, arroz, maíz, cebada y es comparable con algunos alimentos de origen animal como la carne, la leche, huevos y el pescado. Los estudios demuestran que la hoja de la quínea es un gran alimento utilizado como verdura; su contenido de proteína es superior a la de otras hortalizas. (32)

La quínea es una excelente fuente de carbohidratos y tiene casi el doble de proteína comparada a otros cereales como el arroz y el trigo. Esta proteína es de muy alta calidad por la combinación y proporción especialmente rica de sus aminoácidos y brinda un aporte sorprendente de minerales como hierro, potasio, magnesio y zinc junto con las vitaminas del complejo B (32).

CAPITULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MATERIALES

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

Esta cepa se propagó y crece a una temperatura de 25.- 28 °C (anexo No I)

2.1.1. SUSTRATO

El sustrato es la materia prima donde crece el micelio. Las propiedades físico- químicas del residuo son las que determinan que hongos o microorganismos puedan crecer en él.

Los residuos usados como sustratos para el cultivo fueron: tuzas provenientes del maíz, y el rastrojo de quínu

Los residuales de maíz (tuza) provenientes del mercado de san Alfonso (Riobamba), recolectados cuatro sábados en la tarde después de la feria y los residuales de quínu se obtuvo en el cantón Colta. Provincia de Chimborazo.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

En un proceso de fermentación sólida, intervienen un gran número de factores que influyen en las diferentes fases de producción, en este trabajo se controló la temperatura, humedad y luminosidad, pH, del sustrato en la siembra de 6.6. La remoción del CO₂ se logró por ventilación en el lugar del cultivo.

2.2.1.1. CONDICIONES DE TRABAJO

Condiciones en las que se trabajó son las siguientes:

- Temperatura entre 25° y 30 °C.
- Humedad relativa 80-90 %.
- Luz entre 400 y 800 lux.

Estos parámetros se lograron manteniendo dos recipientes de agua hirviendo, con capacidad de 27 L cada uno. Y con la ayuda de un vaporizador.

El diseño estadístico a aplicarse en este trabajo es un diseño completamente al azar.

2.2.1.2. TRATAMIENTOS

Diseño completamente al azar DCA con cinco tratamientos y tres réplicas

TRATAMIENTOS: TIPOS DE SUSTRATOS

T1	Resíduos de quínua
T2	Resíduos de maíz
T3	50% residuos de quínua + 50 % residuos de maiz
T4	30% residuos de quínua + 70 % residuos de maiz
T5	30% residuos de maiz + 70 % residuos de quinua

2.2.1.3. ESQUEMA DEL ANÁLISIS DE VARIANZA

Fuentes de variación	Grados de libertad
Tratamientos	4
Error	12
Total	16

Análisis Funcional

- Se realizará la prueba de Tukey al 5 % para seleccionar el mejor tratamiento, en función del Rendimiento, Eficiencia biológica, precocidad y cantidad de proteína.
- Se determinará el coeficiente de variación.

2.2.1.4. PARÁMETROS A DETERMINARSE

Cuando los hongos han fructificado se realiza la cosecha y al tener el resultado del mejor tratamiento, comprobaremos experimentalmente:

- **Rendimiento**

Es 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.**

Es la relación en porcentaje de peso fresco del hongo y el peso del sustrato seco:

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

- **Precocidad.**

Tiempo que transcurre desde el día de la siembra hasta la aparición de los primordios.

2.2.2. METODOLOGÍA

La metodología utilizada se indica en el siguiente diagrama de Flujo: Figura 6.

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS RESIDUALES

TABLA No: V COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS RESIDUALES

Para saber se los residuales eran aptos para llevar a cabo la FES fue importante realizar el análisis proximal de estos, resultados que son expuestos en la siguiente tabla.

RESIDUALES	HUMEDAD (%)	CENIZA (%)	GRASA (%)	FIBRA (%)	PROTEINA (%)	CABOHIDRATOS (%)
TUZA *	9.37	3.54	7.29	25.99	3.86	53.99
RASTROJO QUINUA°	11.09	10.85	4.35	55.29	10.85	24.53

* VALENCIA 2002

° YAMBAY 2000

TABLA No: VI % DE LIGNINA Y CELULOSA EN RESIDUALES

RESIDUALES	LIGNINA (%)	CELULOSA (%)
TUZA	38.62	45.59
RASTROJO DE QUÍNUA	26.26	52.01

LAB. NUTRICION ANIMAL ESPOCH

La tabla No VI nos indica valores obtenidos en porcentaje de lignina y celulosa que presentan los residuales.

TABLA No: VII ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS RESIDUALES

RESIDUALES	RECuento DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESOFILOS UFC/g	COLIFORMES TOTALES NMP/g	RECuento DE LEVADURAS UPC/g
TUZA	5100	1400	65000
RASTROJO DE QUÍNUA	1085	250	3500

LAB. MICROBIOLOGIA ESPOCH

En función de los resultados obtenidos en los análisis microbiológicos de los residuales, se consideró necesario realizar un tratamiento de esterilización y antifúngico a los resultados antes de llevar a cabo la FES.

TABLA No: VIII ANÁLISIS MINERALÓGICO DE LOS RESIDUALES

RESIDUALES	N %	K mg/Kg	P mg/Kg	Ca mg/Kg	Mg mg/Kg	Zn mg/Kg	Fe mg/Kg	Cu mg/Kg	Na mg/Kg	Mn mg/Kg
TUZA	1,7	3654	55	2173	1096	35,48	52,1	1,81	1469	8,13
QUÍNUA	0,56	221543	1613	21190	184869	30,61	62,15	5,37	58293	6,51

CESTTA**3.2. ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS****TABLA No IX. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS.**

PARAMETRO (%)	H. quinúa 100%	H. tuza 100%	H. mezcla Tuz-qui 50:50%	H. mezcla Tuz-qui 70:30%	H. mezcla Tuz-qui 30:70%
FIBRA	15,56	14,56	17,88	17,98	10,51
GRASA	2,01	1,2	1,5	1,7	2,5
PROTEÍNA	32,12	33,69	25,19	20,72	16,28
HUMEDAD	86,66	91,14	90,00	82,58	91,76
CENIZAS	7,19	11,8	12,45	13,4	12,51

Resultados y Discusión

Los valores obtenidos de la fibra oscila entre 14,56 y 15,56 % para la tuza y la quinúa respectivamente; en tanto que para las mezclas de quinúa y tuza la variación está entre 10,51 a 17,98 % correspondiente a las mezclas tuza-quinúa 30:70, 50:50, 70:30. Como se observa en la tabla No IX, estos valores de contenido de fibra permiten explicar la buena digestibilidad que tiene el hongo.

Los niveles de grasa observados son mayores en los hongos cultivados sobre el residual de quinúa 201% y 1,2 % para los residuales de maíz. En cuanto a las mezclas se observan valores que corresponden con los datos obtenidos anteriormente esto es: 1,5%, 1,7% y 2,5% en las concentraciones tuza-quinúa 50:50,70:30 y 30:70 correspondientemente.

En los valores del porcentaje de proteína obtenidos de los cuerpos fructíferos cultivados en residuales de maíz (tuzas), residuales de quinúa (rastrojo) y sus mezclas: 50%:50%, 70%:30 y 30%:70%, se puede observar que existe una variación por lo que se podría decir que, los cuerpos fructíferos cultivados en residuales al 100% produciendo altos porcentajes de proteína: en quinúa 100% se obtuvo 32,12% de proteína y tuza 100% con 33,69%. De una manera experimental y solo considerando el porcentaje de proteína obtenido podemos decir que los residuales de maíz y quinúa son aptos para obtener hongos de alto valor nutritivo. El porcentaje

De proteína en las mezclas tubo una disminución, 50:50% con 25,19% de proteína, mezcla 70:30% con 20,72% y la mezcla 30:70% con 16,28%

Los valores de ceniza son de 11,8% y 7,19% para los residuales de maíz y quínoa, y para las mezclas tuza-quínoa 70:30, 50:50 y 30:70 son: 13,4%, 12,45% y 12,51% respectivamente.

Estos valores encontrados de ceniza están relacionados con los valores mineralógicos de los residuales que se reportan en la tabla No VIII

3.3. ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS

TABLA No: X Análisis microbiológico de los cuerpos fructíferos

DETERMINACIONES	MÉTODO USADO	Quinua 100%	Tuza 100%	Tuz-quin 50:50%	Tuz-quin 70:30%	Tuz-quin 30:70%
RECuento DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS UFC/g	Siembra en profundidad	72 x 10 ⁴	41x10 ⁴	566000	116 x 10 ⁴	6,3 x 10 ⁴
COLIFORMES TOTALES NMP/g	Siembra en profundidad	1100	95	7500	1100	1400
RECuento DE LEVADURAS UPC/g	Placa en extensión	2 x 10 ⁵	58 x 10 ³	11 x 10 ⁵	1 x 10 ⁵	177400

LAB. MICROBIOLOGIA. ESPOCH

Los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de los cuerpos fructíferos cultivados en los dos residuales y sus mezclas se ilustran en la tabla No X. Sin embargo no existen tablas con valores referenciales al respecto.

3.4. RESULTADOS DE CELULOSA Y LIGNINA EN LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS

TABLA No: XI Porcentaje de lignina y celulosa en cuerpos fructíferos

ANALISIS	H.Quínoa 100%	H. Tuza 100%	H. Tuz-quin 50:50%	H. Tuz-quin 70:30%	H. Tuz-quin 30:70%
CELULOSA (%)	2,04	5,28	4,67	3,15	4,94
LIGNINA (%)	4,36	1,57	1,89	1,27	1,73

LAB. NUTRICION ANIMAL ESPOCH

El análisis del contenido de lignina en los cuerpos fructíferos de los hongos cosechados en los residuales de maíz, quínua y sus mezclas, se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH.

Los valores obtenidos para la celulosa de 2,04% y 5,28% y para la lignina de 4,36% y 1,57% correspondientes a la quínua 100% y tuza 100%; y los valores obtenidos en la celulosa para la mezcla tuza-quínua 50:50, 70:30 y 30:70 de 4,67%, 3,15% y 4,94%; así como los valores de lignina 1,89%, 1,27% y 1,73% en las mezclas antes indicadas demuestran la actividad lignocelulolítica que caracteriza al hongo, si los comparamos obtenidos en los residuales iniciales. (TABLA XI)

3.5. RENDIMIENTO, EFICIENCIA BIOLÓGICA Y PRECOCIDAD DE LOS CUERPOS FRUCTÍFEROS. (ANEXO V Y VI)

TABLA No: XII Rendimiento del *Pleurotus ostreatus* var. *florida*

TRATAMIENTOS	R ₁	R ₂	R ₃
Quínua 100%	19,05	16,39	14,09
Tuza 100%	46,92	44,32	41,4
Tuza- quínua 50:50	51,85	45,12	43,83
Tuza- quínua 70:30	49,73	52,97	51,85
Tuza- quínua 30-70	48,79	49,05	47,84

TABLA No: XIII Rendimiento del *Pleurotus ostreatus*, en residuos agroindustriales

Residuo	Rendimiento (%)
R. quinua	14,51
R. maíz	44,21
m. 50:50	46,93
m. 70:30	51,52
m. 30:70	48,56
R. cacao	37,035
R. caña	25,2795

En la tabla No XIII, tenemos una comparación en rendimiento entre los tratamientos realizados con otros residuos, podemos ver que los residuales de quínuma y las mezclas tienen los mejores resultados sobre otros residuales como caña y cacao. (1, 5,15)

TABLA No: XIV. Eficiencia biológica del *Pleurotus ostreatus* var. *florida*

TRATAMIENTOS	R₁	R₂	R₃
Quínuma 100%	36	30	30
Tuza 100%	80	78	77
Tuza- quínuma 50:50	84	88	82
Tuza- quínuma 70:30	94	98	98
Tuza- quínuma 30-70	86	85	86

TABLA No XV. Eficiencia biológica del *Pleurotus ostreatus*, en residuos agroindustriales.

Residuo	Eficiencia Biológica (%)
R. quínuma	32
R. maíz	78,33
m. 50:50	84,67
m. 70:30	96,67
m. 30:70	85,67
R. cacao	41.15
R. caña	28.09

Podemos ver las mezclas de los residuales de maíz y quínuma tienen mayor eficiencia biológica que el los hongos sembrados en cacao y caña, tal se observa en la tabla XV. (15)

TABLA No: XVI Precocidad del *Pleurotus ostreatus* var. *florida* (ANEXOVI)

TRATAMIENTOS	R₁	R₂	R₃
Quínuma 100%	35	36	35
Tuza 100%	25	25	27
Tuza- quínuma 50:50	28	28	22
Tuza- quínuma 70:30	21	20	20
Tuza- quínuma 30-70	25	27	27

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

3.6.1. RENDIMIENTO

Réplicas	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
1	19.05	46.92	51.85	49.73	48.79
2	16.39	44.32	45.12	52.97	49.05
3	14.09	41.40	43.83	51.85	47.84

Donde:

T₁: Hongos cosechados en quínuva 100%

T₂: Hongos cosechados en tuza 100%

T₃: Hongos cosechados en mezcla tuza- quínuva 50%:50%

T₄: Hongos cosechados en mezcla tuza –quínuva 70%: 30%

T₅: Hongos cosechados en mezcla tuza – quínuva 30%-70%

TABLA No: XVII Análisis de Varianza para Rendimiento En Hongos *Pleurotus ostreatus*.

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	Razón de Varianza	Ft
Tratamientos	4	2434.649	608.662	85.855	3,45
Error	10	70.894	7.089		
Total	14	2505.543			

Coefficiente de variación: 6.41

TABLA No: XVIII Prueba de Tukey al 5% de significación para porcentaje de rendimiento.

Media Aritmética			Media Aritmética ordenada		
T₁:	16,51	C	T₄:	51,52	A
T₂:	44,21	B	T₅:	48,56	A B
T₃:	46,93	A B	T₃:	46,93	A B
T₄:	51,52	A	T₂:	44,21	B
T₅:	48,56	A B	T₁:	16,51	C

La tabla No **XVII** tenemos el análisis de varianza con respecto al rendimiento sobre los tratamientos. En el resultado obtenido de Razón de Varianza **85.855**; nos indica que existe un tratamiento altamente significativo. Es decir un tratamiento tiene un elevador porcentaje de rendimiento.

En la tabla No **XVIII** tenemos la prueba de Tukey al 5%, en donde se indica que el tratamiento 1, tubo mejor rendimiento, pero si observamos en la tabla el tratamiento 2 y tratamiento 3 tienen similitud al compararlos. E incluso el tratamiento 4 podemos no descartarlo.

3.6.2. EFICIENCIA BIOLÓGICA

Réplicas	T₁	T₂	T₃	T₄	T₅
1	36	80	84	94	86
2	30	78	88	98	85
3	30	77	82	98	86

Donde:

T₁: Hongos cosechados en quínua 100%

T₂: Hongos cosechados en tuza 100%

T₃: Hongos cosechados en mezcla tuza- quínua 50%:50%

T₄: Hongos cosechados en mezcla tuza –quínua 70%: 30%

T₅: Hongos cosechados en mezcla tuza – quínua 30%-70%

TABLA No XIX. Análisis de varianza para eficiencia biológica en el Hongo *Pleurotus ostreatus*.

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	Razón de Varianza fc	Ft
Tratamientos	4	7607.067	1901.767	324.165	6.04
Error	10	58.667	5.867		
Total	14	7665.733			

Coefficiente de variación: 3.21%

TABLA No XX. Prueba de Tukey al 5% para la eficiencia biológica en el Hongo *Pleurotus ostreatus*.

Media Aritmética		Media Aritmética ordenada	
T₁: 32,00	D	T₄: 96,67	A
T₂: 78,33	C	T₅: 85,67	B
T₃: 84,67	B C	T₃: 84,67	B C
T₄: 96,67	A	T₂: 78,33	C
T₅: 85,67	B	T₁: 32,00	D

El valor de razón de varianza obtenido en la tabla No **XIX** que es **324.165**, indica que dentro de los tratamientos existe uno en especial que tiene un alto grado de significancia sobre el resto de tratamientos para cultivar el Hongo comestible *Pleurotus ostreatus*.

Si observamos en la tabla No **XX**, la misma que tenemos la prueba de tukey al 5%, se puede decir matemáticamente que entre los tratamiento existe una diferencia muy significativa, y que el tratamiento 4 fue mejor. Aunque entre los tratamientos 1 y 3 no se observa una diferencia significativa.

Los tratamientos 1 y 2 que corresponden a residuales de quínua y tuza fueron los menos eficientes.

3.6.3. PRECOCIDAD

Réplicas	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
1	35	25	28	21	25
2	36	25	28	20	27
3	35	27	22	20	27

Donde:

T₁: Hongos cosechados en quínuva 100%

T₂: Hongos cosechados en tuza 100%

T₃: Hongos cosechados en mezcla tuza- quínuva 50%:50%

T₄: Hongos cosechados en mezcla tuza –quínuva 70%: 30%

T₅: Hongos cosechados en mezcla tuza – quínuva 30%-70%

TABLA No XXI. Análisis de varianza para la precocidad del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*.

Fuente de variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados medios	Razón de Varianza fc	Ft
Tratamientos	4	350.267	87.567	28.554	1.35
Error	10	30.667	3.067		
Total	14	380.933			

Coefficiente de variación: 6.55%

TABLA No XXII. Prueba de Tukey para la precocidad del crecimiento del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*

Media Aritmética		Media Aritmética ordenada	
T₁: 35,33	A	T₄: 20,33	A
T₂: 25,67	B	T₂: 25,67	B
T₃: 26,00	B	T₃: 26,00	B
T₄: 20,33	C	T₅: 26,33	B
T₅: 26,33	B	T₁: 25,33	C

Resultados y Discusión

El análisis de varianza de la tabla **XXI**, tenemos un valor de f_c **28.554**, el mismo que nos indica que existe una notable significancia de un tratamiento sobre el resto, en función de la precocidad o tiempo de crecimiento del hongo.

En la prueba de Tukey al 5 % que esta en la tabla No **XXII**, nos da como resultado que el tratamiento 4 es más precoz. Es decir este tratamiento demora menos tiempo en crecer que el resto de tratamientos. Aunque los tratamientos 2, 3 y 5 son iguales y diferentes del tratamiento 1 podemos decir que no tienen una precocidad muy alejada del tratamiento 1.

Existe diferencia significativa ente el tratamiento 1 y 4, observándose que los tratamientos 2,3 y 5 se encuentran en un mismo nivel.

CAPÍTULO IV

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. UBICACIÓN DEL EXPERIMENTO

La presente investigación se realizó en dos sitios, la parte de siembra en tubos y cajas en los Laboratorios de Microbiología y Análisis Clínico de la Facultad de Ciencias.

La etapa de siembra, incubación y cosecha en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicada en la ciudad de Riobamba, la misma que se encuentra a 2756m.s.n.m con una temperatura promedio de 13-17 °C, humedad relativa promedio de 30-40% y una presión atmosférica de 540 mm Hg.

4.2. METODOLOGÍA DEL CULTIVO.

Para el trabajo de investigación se utilizó la cepa p184 *Pleurotus ostreatus* var. *Florida*, donada gentilmente por el Centro de Estudios de Biotecnología Industrial de la universidad de Oriente de Santiago de Cuba.

4.2.1 PROPAGACIÓN EN CAJAS PETRI Y TUBOS DE ENSAYO

La cepa P 184 fue reactivada insertando una pequeña parte de ésta en tubos de ensayo con el método del tubo inclinado, también se colocó pequeña cantidad de cepa en cajas petri. Este procedimiento se lo realiza con total asepsia dentro de la cámara de flujo laminar.(ANEXO I)

Los tubos y las cajas petri son incubados a 28 °C durante 2 a 3 semanas hasta que las cajas estén completamente colonizadas por el micelio esponjoso y blanco similar a un algodón.

Todos los materiales utilizados para la activación así como la propagación de la cepa deben ser esterilizados al igual que el medio de cultivo: Agar Saboraud a las condiciones que sugiera la casa comercial la que se realizó fue de 121°C por 30 minutos.

La preparación del medio de cultivo Agar Saboraud es de acuerdo a las especificaciones de la casa comercial proveedora.

4.2.2 PREPARACIÓN DEL INÓCULO

Selección del sustrato para el inóculo.- como sustrato para el inóculo se utilizó trigo por su rapidez en desarrollar el micelio y resistencia a la contaminación. Realizando los siguientes pasos

Primera etapa:

- Eliminación de las impurezas que contenga el grano, posteriormente es lavado con el mismo objetivo.
- Los granos son colocados en frascos de boca ancha con una cantidad de 380 a 400 gm.
- Remojo de 24 horas con el objetivo de hidratar y que el grano alcance una humedad comprendida entre el 50 -60 % de humedad.
- Desinfectar con una solución de benomyl al 0.02% por una hora, para eliminar hongos contaminantes. Posteriormente se elimina mediante un escurrimiento del grano.
- Tapar con papel kraft y aluminio, autoclavar a una temperatura de 121°C por 30 minutos. (anexo No)

Segunda etapa:

- Con ayuda de un bisturí estéril cortar el micelio de la caja Petri obtenida de la primera etapa en 4 a 6 fracciones, dependiendo de la cobertura del micelio, colocados en forma individual en los frascos con trigo utilizando asa de manera que el micelio entre en contacto con el sustrato.
- Este procedimiento y el de propagación de cepa así como su reactivación se realiza dentro de la cámara de flujo laminar , para evitar de esta manera contaminación microbiana, aquí se desinfecta con alcohol , así como la persona que vaya a realizar este proceso se encuentre utilizando, mascarillas, guantes y gorro. También se utiliza alcohol para desinfectar sus manos.
- Estos frascos serán colocados en área desinfectada, y la oscuridad durante 8 -10 días o hasta que el micelio colonice totalmente el grano. (ANEXO II)

4.2.3. PREPARACIÓN DE LOS RESIDUALES

- Triturar y picar el residuo, picar los rastrojos de la quinua y tuzas hasta obtener una granulometría apropiada.
- Limpiar el residual y eliminar los cuerpos extraños.
- Lavar aproximadamente 3 veces o más dependiendo del estado en el que se encuentre el sustrato a utilizar.
- Dejar secar, para poder tomar el peso en seco.
- Colocar en sacos de yute para proceder a realizar el respectivo tratamiento.
- Pasteurizar por lo menos 1 hora a 90°C.
- Escurrir.
- Retirar y colocar en una solución de Benomyl al 0.025% durante una hora.
- Escurrir bien el residual. (ANEXO III)

4.2.4. INCUBACIÓN

- Sacar el residual al sol, hasta obtener una humedad de entre 60 -70%.
- Mezclar homogéneamente el sustrato con el inóculo previamente desmenuzado (sin maltrato). La preparación está entre 8 -10 % del peso húmedo del sustrato.
- Colocar en fundas transparentes de 15 * 20 pulgadas, con el fin de hacer el seguimiento del crecimiento micelial, se cierra las fundas haciendo un nudo con una piola en la parte superior de las bolsas. (ANEXO IV)
- Marcar las fundas con peso y fecha de la siembra
- Realizar cortes en las fundas para eliminar el posible exceso de agua presente en el sustrato.
- Colocar en un lugar oscuro, pero ante todo bien desinfectado, a una temperatura de 24 – 28 ° C y una humedad relativa de 75-90 %. Por al menos 12 días, esperando que en este tiempo el hongo haya colonizado el residual.
- Al tercer día de incubación perforar las bolsas en diferentes partes, para permitir el acceso del aire.
- Realizar ventilaciones continuas para evitar que aumente la temperatura ambiente debido al metabolismo de los hongos, la temperatura no debe exceder de los 30° C, pues el hongo puede morir.

4.2.5. COSECHA

- Las fundas ya colonizadas se exponen a la luz en los estantes de fructificación, esto es en el mismo lugar donde se mezcló el inóculo con el sustrato.
- Conservar en el lugar una humedad relativa media de 75 – 90 %, la temperatura de 25 – 28 ° C, esto se mide y se controla mediante un termohidrómetro, la luminosidad se mantiene entre los 400- 800 lux.
- Retirar completamente las fundas plásticas cuidando mucho de no afectar al sustrato colonizado.

- Diariamente realizar 6 regadíos de 5 min, por aspersión de manera que garantizamos que se mantenga la humedad al rededor de 80% en el sustrato.
- Al día se realiza cuatro procesos de ventilación diarias de 15 minutos cada uno, al lugar de fructificación, con el fin de eliminar al CO₂ que se produce durante esta etapa.
- El hongo alcanza su adultez a los 7 u 8 días más o menos desde que salen a luz los primordios.
- Las cosechas se realizan cortando los racimos con un instrumento afilado, cuando las orejas se encuentren en forma completamente plana.

4.2.6. CONSERVACIÓN

Al ser 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. Cuanto mas rápida es la respiración, mayor es la producción de calor y se acelera el deterioro.

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

Es por eso que para comercializar este producto (*Pleurotus ostreatus*) en estado fresco, el envase debe permitir la transpiración, para evitar la acumulación y exceso de humedad.

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.

Según establece la norma internacional de la FAO para hongos disecados, éstos se deben secar a 60°C durante 6h y cortándolos en pequeños pedazos longitudinales al eje del tallo, lo cual garantiza una humedad final del 10 % como máximo.

4.3. PRINCIPIOS Y TÉCNICAS UTILIZADAS EN EL ANÁLISIS BROMATOLÓGICO Y MICROBIOLÓGICO DE LAS MUESTRAS.

4.3.1. DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD

Este método es aplicable a todos los productos alimenticios excepto los que puedan contener compuestos volátiles distintos del agua o los que son susceptibles a descomposición

PRINCIPIO

La humedad libre se expulsa por medio de aire caliente en circulación. La temperatura se regula para efectuar un máximo de 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
- Cápsulas de porcelana
- Pinza para cápsula
- Desecador

PROCEDIMIENTO

- 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 periodos de desecación es permisible la desecación durante la noche, es decir durante unas 16 horas.
- Retirar la cápsula de la estufa enfriar en un desecador y volver a pesar una vez enfriada.
- Calcular el porcentaje de humedad.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(peso_{cap} + m_{humeda}) - (peso_{cap} + m_{seca})}{peso \text{ de la muestra original}} \times 100$$

Donde:

H = Porcentaje de humedad

P_{cap} = peso de la cápsula

m_h = peso muestra húmeda

m_s = peso de la muestra seca

4.3.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS

APLICACIÓN

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

PRINCIPIO

La materia orgánica se quema a la temperatura más baja posible y la materia inorgánica remanente se enfría y 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
- Cisoles de porcelana
- Pinza de crisol
- Desecador

PROCEDIMIENTO

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

CÁLCULOS

$$\% \text{ ceniza} = \frac{(\text{peso}_{\text{crisol}} + \text{ceniza}) - (\text{peso}_{\text{crisol}})}{(\text{peso}_{\text{crisol}} + m_{\text{seca}}) - (\text{peso}_{\text{crisol}})} \times 100$$

DONDE:

P_C = Peso del crisol

M_s = Peso de muestra seca.

4.3.3. DETERMINACIÓN DE GRASA BRUTA O EXTRACTO ÉTERO.**(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 a partir del residuo desecado obtenido en la determinación del contenido de humedad. El solvente se elimina por evaporación y se pesa el residuo de grasa, para esta determinación se utiliza el equipo soxhlet

EQUIPOS Y MATERIALES

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

REATIVOS

- Hexano
- Sulfato de Sodio anhidro

PROCEDIMIENTO

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

CÁLCULOS

$$\% \text{grasa} = \frac{(pesodedal + m. \text{sec } a) - (pdedal + m. \text{desengrasada})}{(Pdedal + m. \text{sec } a) - (Pdedal)} \times 100$$

4.3.4. 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 considera 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
- Hidróxido de sodio al 1.25%
- Etanol al 95%

PROCEDIMIENTO

- Pesar 2 gr. de muestra seca y desengrasada.
- Someter a digestión ácida con ácido sulfúrico al 1.25% (80ml) por 30 min.
- Filtrar en caliente usando un Buchner.
- Lavar con agua caliente.
- Someter a digestión básica con hidróxido de sodio al 1.25% (80ml) por 30 min.
- Filtrar en un papel filtro cuantitativo previamente tarado.
- Lavar con agua caliente.
- Lavar con acetona o etanol al 95%.
- Colocar el papel en un vidrio reloj previamente identificado.

- Secar por 4 horas en la estufa a 105 ° C.
- Colocar el papel en el desecador y pesar.
- Esta muestra pesada colocar en el crisol previamente tarado.
- Incinerar el crisol a una temperatura de 500 – 550 °C.
- Secar y enfriar por 30 min. Y pesar.
- Calcular él % de fibra.Ç

CÁLCULOS

$$\% \text{ fibra} = \frac{(\text{Pesopapel seco} + \text{muestra}) - \text{pesopapel vacío} - \text{Pesocrisol ceniza} - \text{pesocrisol vacío}}{\text{Pesodelamu estradesen grasada}} \times 100$$

4.3.5. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA

(Método Micro Kjeldahl)

PRINCIPIO

Las muestras se digieren en ácido sulfúrico más un agente catalítico, y se convierte 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 1 h. Los tejidos de las plantas rara vez toman más de 45 min. (19)

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 deben 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 hasta de 4 horas no pudo determinarse ninguna pérdida de nitrógeno. Periodos más largos de 4 horas no se recomiendan (19).

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.

NOTA: Este método no puede usarse con los compuestos con enlaces N-N, NO o NO₂.

EQUIPOS Y MATERIALES

- Balanza analítica
- Aparato de digestión 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 de 95%.
- Mezcla catalizadora: 15g de K₂SO₄ o Na₂SO₄, 40 mg de HgO.

PROCEDIMIENTO

DIGESTIÓN

- Se pesa 10mg de muestra seca y se introduce en el balón de digestión junto con la mezcla catalizadora y 1 mL de ácido sulfúrico concentrado.

- Se coloca el balón en el digestor y se calienta por 30 min. Hasta que el contenido sea transparente.

DESTILACIÓN

- Enfríar el balón y su contenido, se adiciona 4 ml de agua destilada para disolver el $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ formado.
- Vertir el contenido en el microdestilador y enjuagar con 4ml de agua
- 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).
- Recibir el destilado en un vaso que debe contener 5 mL de H_2BO_3 al 2% al que se 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.
- Destilar hasta obtener 15 mL de destilado.

TITULACIÓN

- El destilado con HCL 0.1N hasta obtener el punto final al aparecimiento de una coloración violeta.
- Calcular el % de Proteína.

CÁLCULOS:

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

Donde:

P = Porcentaje de proteina

N = Normalidad del ácido Clorhídrico

mL = Mililitros de ácido Clorhídrico gastados

0.014 = Miliequivalentes de Nitrógeno

Pm = Peso de la muestra en granos

6.25 = Factor proteico del Nitrógeno.

4.3.6. 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

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

4.3.7. 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 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(20g de bromuro de amoniocetiltrimetil (CTAB) ($C_{19}H_{42}B_2N$) en 1 L de H_2SO_4 , se agita hasta disolución total)
- Decahidronaftaleno (Decalina)($C_{10}H_{18}$)
- Acetona (CH_3COCH_3)

PROCEDIMIENTO

DIGESTIÓN

- Pesar 1 g de muestra (peso A), y colocar en el erlenmeyer.
- Añadir 100 mL de solución de detergente ácida y 1 ml de Decalina más 1 mL de pentanol.
- Acondicionar el erlenmeyer en un equipo de reflujo y calentar hasta que la mezcla comience a hervir.
- Reducir la temperatura una vez que se ha conseguido la ebullición para evitar la formación de espuma.
- Mantener la digestión durante 60 minutos.
- Agitar periódicamente los erlenmeyers para mantener las partículas en suspensión.

FILTRACIÓN

- Pesar cuantitativamente la solución a los crisoles previamente tarados (peso B)
- Lavar el residuo de los crisoles con uno 200 mL de agua caliente.
- 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:

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

Donde:

% FDA = Porcentaje de fibra detergente ácida

Peso A = Peso de la muestra

Peso B = Peso del crisol tarado

Peso C = Peso del crisol mas la muestra seca.

4.3.8. DETERMINACIÓN DE LIGNINA DETERGENTE ÁCIDA (LDA)

En este procedimiento se 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 (Decalin) ($C_{10}H_{18}$)
- Acetona (CH_3COCH_3)
- Ácido Sulfúrico al 72%
- Papel indicador de pH

PROCEDIMIENTO

Muestra

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

Digestión

- 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.
- Se añade el ácido a los crisoles hasta que estén casi llenos.
- Con una varilla de vidrio mezclar el contenido hasta formar una pasta homogénea.

- Continuar con la digestión durante tres horas añadiendo ácido dos veces más con intervalos de 1 hora.

FILTRACIÓN

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

PESOS

- El peso de la muestra (peso A) es el mismo de la muestra original usada para FDA.
- Secar los crisoles durante una noche a 105°C y pesar luego de enfriar en un desecador (peso B)
- 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.

4.3.9. 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 cm^3 de muestra de alimento.

MATERIALES

- Pipetas serológicas de punta ancha de 1.5 y 10 cm^3 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

- Utilizando una sola pipeta estéril pipetear por duplicado alícuotas de 1 cm^3 de cada una de las disoluciones decimales en placas Petri adecuadamente identificadas. Iniciar por la dilución de menor concentración
- Inmediatamente, verter en cada una de las placas inoculadas aproximadamente 20 cm^3 de aguar 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.

- 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.
- Como prueba de esterilidad verter la cantidad de agar en una placa que contenga el diluyente sin inocular.
- Dejar reposar las placas para que se solidifiquen el agar.
- Invertir las placas e incubarlas a $31 \pm ^\circ\text{C}$ por $48 - 72 \pm 3$ horas.
- Pasado el tiempo de incubación seleccionar la placas que presenten 30-300 colonias y utilizando un contador de colonias, contar todas las colonias que hayan crecido en el medio.
- 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).

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

Donde:

REP = Recuento Estándar en Placa

n = número de colonias

f = factor de dilución

UFC = Unidades Formadoras de Colonias

4.3.10. 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

- Utilizando una sola pipeta estéril, pipetear, por duplicado, alíquotas de 1 cm³ de cada una de las diluciones decimales en placas Petri adecuadamente identificadas. Iniciar por la dilución de menor concentración.
- Inmediatamente, verter en cada una de las placas inoculadas, aproximadamente 20 cm³ de agarsal- levaduras de Davis fundido y templado a 45 ± °C. La adición del medio de cultivo no debe pasar más de 15 minutos, a partir de la preparación de la primera dilución.

- Delicadamente, mezclar el inóculo de siembra 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 de 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.
- 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.
- Como prueba de esterilidad del medio, en una placa sin inóculo verter aproximadamente 20 cm³ del agar.
- Dejar las placas en reposo hasta que se solidifique el agar.
- Invertir las placas e incubarlas entre 22 °C y 25 °C, por cinco días.
- 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.
- Cuando el micelio aéreo de los mohos amenace cubrir la superficie de la placa dificultado las lecturas posteriores; pasados dos días, realizar recuentos preliminares en cualquier placa que se pueda distinguir las colonias.
- 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 lo tanto, deben excluirse del recuento. Las colonias de levaduras deben ser comprobadas por examen microscópico.
- 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 cm³ o gramo de muestra. Calcular según la siguiente fórmula:

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

$$N = \frac{\Sigma C}{V (n1 + 0,1 n2)}$$

Donde:

ΣC : suma de colonias contadas o calculadas en todas las placas.

n1 : número de placas contadas de la primera dilución seleccionada

n2 : 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.

4.3.11. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS COLIFORMES POR LA TÉCNICA DEL NÚMERO 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 mL
- 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

- Inmediatamente después de realizadas las diluciones con una pipeta estéril, transferir 1 cm³ de dilución 10⁻¹ a cada uno de los tres tubos que contengan 10 cm³ de caldo BGBL o similar.
- Con otra nueva pipeta estéril, trasferir 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.

- 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.
- 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 se 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.
- 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.
- 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.
- De cada dilución anotar el número de tubos positivos confirmados de coliformes.

CÁLCULOS

- 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.
- 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.
- Para el caso de productos con baja carga microbiana se puede utilizar soluciones más concentradas.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

1. Los residuales de maíz y quinua son potenciales sustratos para el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. Sobre todo aplicado en mezclas, por los resultados obtenidos en eficiencia biológica, rendimiento y precocidad.
2. En los análisis de composición química los residuales (rastros de quinua y tuza) cumplieron con las características lignocelulósicas, con valores comprendidos entre 26,26 y 32,62% en lignina y 45,59 y 52,01% para celulosa, (TABLA No VI), que son resultados óptimos para llevar a cabo la fermentación en estado sólido (FES), según Kumaran. S (10).
3. Las mezclas entre los residuales presentaron mejores resultados dentro de los parámetros en estudio, ya que el rendimiento, eficiencia biológica y precocidad tuvieron valores muy relevantes e importantes. Observándose que el tratamiento 70:30 (tuza-quinua), dió mejor rendimiento,(51,52%); eficiencia biológica,(96,67%); y precocidad,(20 días). Sin descartar los resultados obtenidos en las mezclas 50:50 y 30:70(tuza-quinua) donde los resultados de eficiencia biológica dan 84 y 86 % respectivamente, en rendimiento 51,85 y 48,79 %; y por último con precocidades de 28 y 25 días. (Tablas No: XII, XIII y XIV).
4. Los niveles de proteína si variaron en función de los tratamientos. En este caso la cantidad de producción de *Pleurotus ostreatus* no fue proporcional a la calidad de producción de dicho hongo. Los tratamientos de quinua y tuza 100% dieron los más altos porcentajes de proteína con valores de 32,12% en quinua y 33,69% en tuza, respectivamente. En las mezclas (tuza-quinua) 50:50, 70:30 y 30:70 dieron 25,19%, 20,72% y 16,28% para cada uno. Presentaron la mejor producción del hongo ostra, pero con menos de proteína.

5.2. RECOMENDACIONES

1. La FES es un campo muy amplio dentro de la biotecnología ambiental, se debería impulsar y expandirse en la línea de producción de hongos comestibles.
2. La utilización de la cámara de flujo laminar es importante en el repique de cepas hacia tubos y cajas, igual mantener asépticamente el lugar de siembra, inoculación, incubación y crecimiento, para evitar problemas con presencia de agentes contaminantes como microorganismos no deseados, como puede ser el hongo *Thricoderma*. (Anexo1)
3. No descartar el residual de quínea 100% como sustrato para producción del *Pleurotus ostreatus*, mas bien se recomienda utilizarlo con divisiones de partícula mas pequeño, para que facilite y permita el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus*. Pues es un residual con altos niveles nutricionales (Tabla No: V y VI).
4. Estandarizar las condiciones de trabajo tales como humedad y temperatura aptas y apropiadas para llevar a cabo la FES, para una producción de hongo ostra de calidad.
5. Mantener asépticamente el lugar de siembra, inoculación, incubación y crecimiento, para evitar problemas con presencia de agentes contaminantes como microorganismos no deseados.
6. Hacer un estudio mas profundo sobre la calidad y cantidad de proteína producida en la biomasa fúngica (hongo comestible), a nivel de los aminoácidos presentes.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

Uno de los graves problemas de contaminación por residuos sólidos es la causada por las actividades agroindustriales, los mismos que no sufren una rápida degradación en el ambiente.

La investigación tubo como objetivo el demostrar que los residuales de maíz y quinua pueden ser potenciales sustratos para el cultivo de hongo comestible *Pleurotus ostreatus var florida*, dentro del convenio ESPOCH-SENACYT., desarrollado en el Laboratorio de Biotecnología de la ESPOCH.

La técnica que se utilizó fue la Fermentación en estado Sólido (FES). Se caracterizaron químicamente residuales con el fin de saber si cumplían con los parámetros necesarios de lignina y celulosa. Posteriormente el repique en tubos y cajas a nivel de laboratorio de la cepa del hongo en estudio, para obtener los inóculos.

En el laboratorio se acondicionó la temperatura a 25°C y humedad a 80%, condiciones óptimas para la FES. Realizamos cinco tratamientos: tuza 100%, quinua 100% y en mezclas 50:50%, 70:30% y 30:70%. Determinándose rendimiento, eficiencia biológica y precocidad, se realizó un análisis del contenido de proteína del hongo.

Observándose que el tratamiento 70:30 (tuza-quinua), dió mejor rendimiento,(51,52%); eficiencia biológica,(96,67%); y precocidad,(20). Mientras que los tratamientos de quinua y tuza 100% dieron los más altos porcentajes de proteína con valores de 32,12% en quinua y 33,69% en tuza, respectivamente.

Las características lignocelulósicas de los residuales de maíz y quinua demuestran que si son potenciales sustratos para la producción a escala industrial de este hongo comestible.

Se recomienda utilizar como tecnología la FES para aprovechamiento biotecnológico de residuos agroindustriales sobre todo en la obtención de *Pleurotus ostreatus* por su alto valor nutritivo.

6.1 SUMMARY

The tube Investments aimed at demonstrating that the waste corn and quinoa may be potential substrates for the cultivation of edible fungus *Pleurotus ostreatus florida* var. inside the convention ESPOCH-SENACYT, developed in the laboratory of the biotechnology ESPOCH.

The technique that was used in solid-estate fermentation (FES). It was first necessary to characterize the chemical waste in order to know whether they met the necessary parameters.

Later in the repique tubes and boxes at the strain of the fungus in the study, to get the inoculum.

In laboratory conditions at a temperature (25%) and humidity (80%), needed to carry out the FES. We conducted five treatments: pocket gopher 100%, 100% quinoa and mixtures 50:50%, 70:30% and 30:70%. In which we determine performance, efficiency biology and precocity.

From simple form is also performed an analysis of the percentage of protein that the fungus had.

Noting that the treatments 70:30% (pocket gopher-quinoa), gave better performance (51,52%), biological efficiency (36,67%) and precocity (20). Treatments while quinoa pocket gopher (100%), gave the highest percentages of protein with values of 32,12% in quinoa and 33,69% in pocket gopher, respectively.

We can say that the residuals corn and quinoa are potential substrates for the production of Oyster Mushroom, as it managed to demonstrate its features lignocelulósicos of waste to allow the FES on a large scale.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFIA

1. ARBOLEDA, A. Cultivo del Hongo *Pleurotus* en Desechos Agrícolas.- Tesis Ingeniero en Alimentos.- Ambato; Universidad Técnica de Ambato; Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos; 1985, pp. 62.
2. BERMUDEZ, R. Producción de *Pleurotus s.p. florida*. sobre residuales de la industria Cafetalera de Cuba. Micología Neotropical Aplicada. Cuba. 7(3): 47-50. agosto 1994.
3. BERMUDEZ, R.C. Aprovechamiento Biotecnológico de Residuos Industriales. Universidad de Cuba. Micología Neotropical Aplicada. Cuba. 7(3): 47-50. agosto 1994.
4. CARDONA, L., Bromatología y el Cultivo del Hongo Comestible *Pleurotus ostreatus*. Crónica Forestal y del Medio Ambiente. Colombia. (16): 99-118. marzo 2001
5. DEACON, J.W. Introducción a la Micología Moderna. México: Limusa, pp. 350
6. DONOSO, R. Influencia de la Luz en la Composición Lipídica y Proteica del *Pleurotus ostreatus var. florida*.- Tesis de Magíster en Biotecnología. Riobamba; Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Escuela de Posgrados y Educación Continua. 1999. pp.55
7. 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.-Riobamba; Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. 2005. pp. 11-12.
8. GUZMAN, H. Cultivo de Hongos Comestibles. México. Instituto Politécnico Nacional. 1993. pp. 245
9. INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS. Quito. El Cultivo de Maíz *Zea mays*.- Programa Nacional de Cultivo de Maíz; Quito: INIAP, 2000. pp. 32.
10. KUMARAN, S., SASTRY Y VIKINESWARY, S. Laccase, cellulose and xylanase activities during growth of *Pleurotus ostreatus* sajor-caju on sago hampas. World Journal of Microbiology & Biotechnology. Rapid Science. United States. (13). pp .43-49. march. 1977
11. MANTEROLA, H. Los Residuos Agrícolas y su uso en la Alimentación de Rumiantes. Santiago: Ministerio de Agricultura de Chile; 1999. pp. 222
12. MARTÍNEZ, D. Los Hongos Comestibles en México. Ciencia y Desarrollo. México. 1993. pp. 41-48.
13. MERA, J. Dosificación de Ergosterol de *Pleurotus ostreatus* Irradiado con Luz Ultravioleta.-Tesis de Dr en Bioquímica y Farmacia.- Riobamba; Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. 2005. pp. 25-28.

14. RAMOS, G. *Pleurotus ostreatus* Cultivado en Residuos de Palma Aceitera Como Importante Fuente de Proteína para la Dieta Humana.- Tesis de Ing en Biotecnología Ambiental. Riobamba; Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. 2007. pp. 63-73
15. RAMOS, S. I. Producción de *Pleurotus ostreatus var, florida* sobre Residuales de Cacao. Tesis de Magíster en Biotecnología. Riobamba; Escuela Superior Politécnica Chimborazo: Escuela de Posgrados y Educación Continua. 1999. pp. 95-98.
16. VALENCIA, S. Aprovechamiento Biotecnológico del Salvado de Maíz Mediante el Cultivo de Hongos Comestibles *Pleurotus ostreatus var. florida*. Tesis de Dra en Bioquímica y Farmacia. Riobamba; Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. 2004. pp. 6-25: 88-93.

7.1. BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET

17. Aprovechamiento Biotecnológico de Residuos Agroindustriales
<http://www.coacade.uv.mx/institutos/forest/genfor.html>
2006-04-02
18. Cultivos Controlados. Producción Orgánica de Quinua
http://www.sica.gov.ec/agronegocios/productosquinua/produccion_organica_quinua.htm
2006-05-17
19. Cultivo del Hongo Comestible *Pleurotus* sobre residuos Vitivinícolas y su manejo Postcosecha.
<http://www.ciad.mx/boletin/nov-dic-01/Boletin1.pdf>
2005-10-22
20. Cultivo de setas sobre residuos forestales
<http://www.infoagro.com/forestales/setas2.asp>
2005-11-05
21. Estructura del Pleuroma del pleurotus
<http://www.uv.mx/institutos/forest/hongos/setas.html>
2004-04-06
22. FAO.
<http://www.fao.org/ag/aga/AGAP/FRG/Agrofor/Pound7.htm>
2006-08-13

23. Importancia de la Quinua

http://www.elmercurio.com.ec/web/titulares.php?suplementos=1&seccion=19v9DPY&nuevo_mes=01&nuevo_ano=2006&dias=27

2006-01-22

24. Programa Nacional de promoción de Cultivo de los Hongos Comestibles.

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

2005-10-05

25. Setas Cultivadas

<http://setascultivadas.com/boletinarticulosseptiembre.html>.

2005-09-01

26. Técnicas de Cultivo. Hongo, Rendimiento de la Cosecha.

<http://www.metabase.net/docs/fusades/04429.html>

2005-05-04

27. Técnica Simple para el Cultivo del Hongo Comestible *Pleurotus ostreatus*

<http://ecología.uat.mx/biotam/v9n23/art3.html>

2005-06-22

28. Fermentación en Estado Sólido

<http://www.monografias.com/trabajos26/fermentaciones/fermentaciones.shtml#ferment>

2005-02-23

ANEXOS

ANEXO1



CEPA DE *Pleurotus ostreatus* variedad *florida* en cajas petri con medio de cultivo agar sabouraud.



Caja contaminada

ANEXO II



**PREPARACION DE INOCULOS
CRECIMIENTO DEL MICELIO**



INÓCULO LISTO PARA LA FES

**ANEXOIII
PREPARACION DE LOS RESIDUALES**



QUINUA EN SACOS DE YUNTE DESPUÉS DE LA PASTEURIZACIÓN



TUZA LISTA PARA LA FES

ANEXO IV
INCUBACIÓN



ANEXO V
PRIMORDIOS



PRIMERA APARICION DE PRIMORDIOS



PRIMORDIOS EN QUINUA 100%

ANEXO VI
FRUCTIFICACION



Pleurotus ostreatus variedad *florida* EN RESIDUALES DE QUÍNUA Y MAÍZ



CONTROL DE LA TEMPERATURA Y HUMEDAD PARA EL CRECIMIENTO DEL
Pleurotus ostreatus

