

# Estudio de la influencia del tamaño del reactor en el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* 2191 sobre rastrojo de maíz

Daniel Pazos, Bolívar Izurieta y Neyda Espín  
*Laboratorio de Bioprocesos*  
*Departamento de Ciencia de Alimentos y Biotecnología*  
neyda.espin@epn.edu.ec

## Resumen

El objetivo de este trabajo fue el de determinar la influencia del tamaño del reactor en el crecimiento del hongo 2191 sobre rastrojo de maíz. Para esto se trabajó con tres tamaños de reactor, fundas de polietileno transparente con cargas de 0.25 kg (pequeño), 1.25 kg (mediano) y 2.5 kg (grande). Se encontró que los hongos crecen con mayor velocidad en los reactores pequeños, el tiempo necesario hasta el segundo brote es de 46 d, 51 para el mediano 60 para el grande. No obstante los tiempos de trabajo por parada son mayores para la funda pequeña; además los cuerpos fructíferos producidos por el reactor de 0.25 kg son pequeños y con poco valor comercial, a diferencia de los otros que son grandes y de buen valor comercial. Se llegó a encontrar que la funda mediana 1.25 kg es la que presenta el mejor tamaño como reactor para obtener cuerpos fructíferos adecuados y un buen rendimiento biológico (54.4%).

**Palabras claves:** hongos comestibles, *Pleurotus ostreatus*, cinética microbiana.

## Abstract

The aim of this study was to determine the influence of the bioreactor size in the growth kinetics of the fungi *Pleurotus ostreatus* using corn Stover as a substrate. Polyethylene sleeves were used as bioreactors in three sizes: 0.25 kg of substrate (small size reactor); 1.25 kg (medium size reactor), and 2.5 kg (large reactor). It was found that the edible mushroom grew faster when small size reactors were used. The second harvest was at 46 d for small reactor, 51 d for medium size reactor, and 60 d for large size reactor. However, time needed to prepared each batch is longer than other reactors; additionally, mushrooms did not have a commercially shape, these were very small and not uniform in shape. Taking into considerations, the commercial value of the, use a medium size reactor seems to be the best choice to have good biological yield and uniform shape of the mushroom.

**Keywords:** mushroom, *Pleurotus ostreatus*, growth kinetic.

## 1 Introducción

El consumo de hongos comestibles en el Ecuador va en crecimiento debido a que los hongos representan una buena alternativa nutricional a las proteínas tradicionales. Los hongos pueden ser producidos en grandes cantidades en espacios relativamente pequeños, con el uso de desechos agroindustriales como materias primas. El rastrojo de maíz es un desecho lignocelulósico orientado a la alimentación animal, pero puede ser utilizado de una manera eficiente para la obtención de hongos comestibles [2].

La obtención de hongos comestibles no implica una tecnología compleja. Para el caso de hongos tipo ostra, una forma eficiente de crecimiento es en fundas plásticas, esta es una práctica que se realiza en muchos países y desde hace mucho tiempo atrás [1]. A pesar de que la

tecnología no es compleja, es necesario realizar las investigaciones concernientes a la definición de las condiciones del proceso, tamaño del inóculo, tipo de sustrato, tiempos, etc. para adaptar la tecnología a los diferentes tipos de sustrato y condiciones climáticas del Ecuador. Uno de los factores más importantes que influye en el proceso, es el tamaño de la funda, y no se cuenta con estudios que determinen la influencia del tamaño de la funda en la obtención de los hongos comestibles. Por otro lado el país requiere la generación de proyectos pequeños en el área rural para la generación de alimentos. Debido a que el trabajo sería realizado directamente en el campo, las herramientas, métodos y tecnología deben responder a las necesidades de simplicidad y conveniencia del proceso, pero, a su vez, de una manera óptima.

## 2 Materiales y Métodos

### 2.1 Materiales

La cepa del hongo *Pleurotus ostreatus* 2191 pertenece al Laboratorio de Bioprocesos de la EPN y fue replicado y conservado en tubos de ensayo con Malta Agar (MA) como medio.

Para la preparación del inóculo se trabajó sobre trigo seco obtenido del mercado local.

Como sustrato se empleó rastrojo de maíz proveniente de la zona de Llano Chico, en la ciudad de Quito.

### 2.2 Caracterización química del sustrato y del desecho final

Para la caracterización química se picó el sustrato en fracciones de 3 a 5 cm, se determinó su humedad a 110 °C, por 24 h y se procedió a determinar el contenido de celulosa y lignina según las normas TAPPI T6 os-59 (solubilidad en alcohol-benceno de madera), T13 os-54 (contenido de lignina en madera) y T17 m55 (contenido de celulosa en madera) [3]. Para la determinación del contenido de proteína se empleó el método de Kjeldahl.

En el desecho final se realizaron las mismas pruebas, para lo cual luego del segundo brote se realizó un muestreo de los tres tipos de fundas y aleatoriamente se escogieron dos fundas, de cada tamaño. Se abrieron las fundas y se mezcló el desecho hasta homogeneizar completamente y este fue el material que se empleó para la caracterización química.

### 2.3 Preparación del inóculo

Como inóculo se utilizaron frascos con micelio del hongo, crecido en trigo. Para esto se emplearon frascos de vidrio de 500 mL, en los cuales se pesaron 120 g de trigo seco y se añadieron 240 mL de agua destilada. Posteriormente se taparon los frascos y se esterilizaron a 121 °C, por 25 min en un autoclave marca NEW BRUNSWICK, modelo AE1510. En los frascos fríos y estériles con trigo, se inoculó un octavo de micelio de hongo crecido en caja Petri con MA. Se cerró el frasco, no herméticamente para permitir el paso de aire, y se incubó por 24 d, a 25 °C, en una estufa BOEKL modelo 1320.

### 2.4 Preparación del sustrato e inoculación

El rastrojo de maíz seco fue cortado en fracciones de 3 a 5 cm y esterilizado en agua a ebullición por un período de 1 h, en el autoclave abierto. Se drenó el exceso de agua y se dejó enfriar lo suficiente para ser manipulado. Se extendió sobre mesas metálicas para facilitar la manipulación.

Para la inoculación del rastrojo esterilizado, se procedió a colocar el inóculo en una relación de 10 % del peso total de sustrato contenido en la funda de polietileno, se

formaron capas alternadas de sustrato húmedo e inóculo, para finalizar con una capa de inóculo en la parte superior de cada funda y completar así el peso requerido por funda. Las fundas se cerraron con cinta adhesiva.

### 2.5 Desarrollo del micelio

Las fundas inoculadas se llevaron a la cámara oscura de 4.5 m de largo, 3.0 m de ancho y 2.2 m de altura, esta cámara tiene una puerta de acceso, iluminación artificial, un ventilador para asegurar el intercambio de aire, y un sistema de humidificación para asegurar la humedad relativa ( $H_r$ ) del ambiente. La cámara trabaja a temperatura ambiente.

Las fundas totalmente selladas, se mantuvieron por 4 d en la cámara oscura. Al cuarto día se realizaron perforaciones en forma de cruz en las partes laterales, superior e inferior de las fundas, para facilitar la entrada de aire. A partir de este día se procedió a humidificar la cámara, dos veces por día, para mantener una humedad superior al 80 % y una temperatura entre los 15 y 19 °C. Las fundas permanecieron en esta cámara hasta el desarrollo completo del micelio.

### 2.6 Fructificación

Las fundas con el micelio completamente desarrollado, fueron transferidas a la cámara de fructificación, la misma que tiene las mismas dimensiones de la cámara oscura, pero el techo tiene cubierta con plástico claro y oscuro de manera alternada cada 1.5 m y en las partes laterales, a manera de ventanas.

La generación de cuerpos fructíferos fue promovida por la presencia de luz tenue. La cámara se mantuvo entre 16 y 20 °C con una humedad superior al 70 %. El seguimiento del crecimiento de cuerpos fructíferos se realizó de manera visual. La cosecha se realizó con un bisturí, una vez que se alcanzó el tamaño y apariencia de madurez apropiados [4].

### 2.7 Determinación de la influencia del tamaño del reactor en el rendimiento

El proceso fermentativo para la generación del hongo se empleó como reactores, fundas de polietileno transparente. Se utilizaron tres tamaños de funda: 17.78 × 25.40 cm (P), 25.40 × 40.64 cm (M), y 35.56 × 50.80 cm (G).

Se realizaron tres corridas con una repetición, cada una de las cuales se componía de 10 fundas por cada tamaño de reactor. Las fundas P tuvieron un peso total de 0.25 kg, las fundas M 1.25 kg, y las G 2.5 kg.

La determinación del rendimiento biológico (relación porcentual entre el peso total de los cuerpos fructíferos hasta el segundo brote, y el peso seco del sustrato) se realizó al cosechar y registrar los pesos de los cuerpos fructíferos que han llegado a término de su crecimiento.

El análisis estadístico de los pesos cosechados se realizó mediante la determinación de promedios, máximos y mínimos de los rendimientos biológicos.

Se midió el tiempo durante todo el proceso, desde la siembra hasta la cosecha, se incluyeron los tiempos necesarios para la preparación de los reactores, con el objetivo de determinar el tiempo de trabajo en cada tipo de reactor.

### 2.8 Relación área-volumen

Se determinó también la relación área-volumen de los reactores, para lo cual, luego de finalizado el crecimiento del hongo, se determinó la altura ocupada por el material en cada funda. Se obtuvo el promedio de cada tamaño de funda y con esto se determinó la altura que ocupó el rastrojo. Con este valor y las dimensiones de las bases, se determinó el área lateral de crecimiento del hongo en cada tipo de funda.

Para determinar el área superficial superior se trazó en un papel el perfil superior del rastrojo crecido y se pesó. Este valor se relacionó con el peso de una unidad de área trazada previamente también en un papel. La relación determinó el área superior que ofrece cada tipo de funda para el crecimiento del hongo. Al añadir este valor al área lateral se tiene el área superficial total para el crecimiento del hongo.

Para determinar el volumen ocupado se supuso que el material ocupa todo el volumen de la funda, hasta la altura de llenado con rastrojo. Este volumen se determinó con agua.

## 3 Resultados y discusión

### 3.1 Caracterización inicial y final del rastrojo utilizado

Los resultados de la caracterización inicial del rastrojo y caracterización final del desecho se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Caracterización Química inicial y final del sustrato

Característica	Rastrojo de maíz %	Desecho final %
Humedad inicial	14.20	84.28
Celulosa	22.67	27.00
Lignina	16.07	29.77
Ceras, grasas y resinas	3.59	1.37
Proteína	6.8	1.37
Relación celulosa/lignina	1.41	0.91

Se puede observar que el consumo de celulosa medido como la relación celulosa-lignina antes del crecimiento y la misma relación luego del crecimiento varía de 1.41 antes del crecimiento a 0.91 después del crecimiento. Esto indica que este hongo, tal como se esperaba, consu-

me las fuentes de carbono de origen celulósico principalmente [1].

### 3.2 Crecimiento del hongo

En la Tabla 2 se presentan las características de las etapas de crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* que corresponden al promedio de las corridas realizadas. Las condiciones a las que se trabajó, en las etapas de crecimiento del micelio en el rastrojo y en su etapa de fructificación hasta el segundo brote son muy cercanas a las descritas en bibliografía: temperatura máxima ( $T_{m\acute{a}x}$ ) 15.2–29.1 °C, temperatura mínima ( $T_{m\acute{i}n}$ ) 7.4–11.7 °C; humedad relativa ( $H_r$ ) 59–73 % [2],[5].

Tabla 2. Características de las etapas de crecimiento del *Pleurotus ostreatus*

Fase de desarrollo	Condiciones ambientales		Tiempo de duración (d)	
MA	$T = 25\text{ °C}$		18	
Trigo	$T = 25\text{ °C}$		21	
Rastrojo de maíz (cámara oscura)	$T_{m\acute{a}x}\text{ °C}$	$19.30 \pm 0.83$	Reactor P	28
	$T_{m\acute{i}n}\text{ °C}$	$15.97 \pm 0.70$	Reactor M	29
	$H_r\%$	$77.68 \pm 3.14$	Reactor G	34
Rastrojo de maíz (cámara clara-oscuro hasta cosecha del segundo brote)	$T_{m\acute{a}x}\text{ °C}$	$20.84 \pm 1.00$	Reactor P	18
	$T_{m\acute{i}n}\text{ °C}$	$16.66 \pm 0.99$	Reactor M	22
	$H_r\%$	$73.96 \pm 2.67$	Reactor G	26

Se pudo observar que las fundas de 0.25 kg (P) presentaron un crecimiento más rápido en todas sus etapas que las otras dos fundas. Esta diferencia es significativa principalmente al comparar con las fundas de 2.50 kg (G), las que llegan a tardar 60 d en total hasta la cosecha del segundo brote, comparadas con 46 d para las fundas de 0.25 kg (P). Sin embargo, esta diferencia no es tan grande con las fundas de 1.25 kg que tardan 51 d hasta el segundo brote.

### 3.3 Determinación de la relación área-volumen

En la Tabla 3 se presentan los resultados de las áreas y relación área-volumen para cada tipo de reactor. Se puede observar que la mayor área superficial para el crecimiento del hongo por unidad de volumen ofrecen las fundas de 0.25 kg con  $0.35\text{ cm}^2/\text{cm}^3$ . Sin embargo, las fundas de 1.25 kg ofrecen un porcentaje de cobertura mejor que las fundas pequeñas, al hallarse un 83.15% del área efectiva comparado con el 81.46% de las fundas pequeñas.

La relación área/volumen disminuye conforme aumenta el tamaño de la funda, así  $0.35\text{ cm}^2/\text{cm}^3$ ;  $0.21\text{ cm}^2/\text{cm}^3$  y  $0.15\text{ cm}^2/\text{cm}^3$  para fundas P, M y G respectivamente. Esta relación es importante, debido a que el rendimiento biológico del hongo es dependiente de

esta variable, porque el hongo crece de manera superficial en el sustrato; por lo tanto, crecerá en mayor medida en un reactor que ofrezca una mayor área superficial.

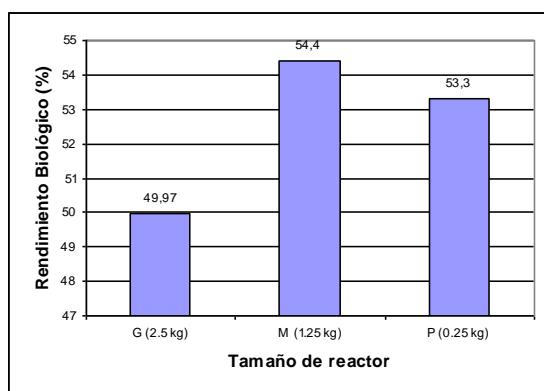
Al analizar los datos tanto de porcentaje de área efectiva como de la relación área/volumen, se puede observar que entre estas variables, no se observa una relación proporcional. Parecería que se tiene un óptimo cercano a una relación volumen área de  $0.21 \text{ cm}^2/\text{cm}^3$ , correspondiente al reactor M. Esto significaría que, tamaños muy grandes de reactor, no ofrecerían un porcentaje de área efectiva adecuado para el crecimiento del hongo, al igual que tamaños de reactor muy pequeños. Por otro lado, la relación área/volumen no sería un dato suficiente como para determinar el tamaño de un reactor.

**Tabla 3.** Áreas y relaciones área/volumen para cada tipo de funda

	Fundas pequeñas 0.25 kg	Fundas medianas 1.25 kg	Fundas grandes 2.50 kg
Área total (cm <sup>2</sup> )	191.85	602.93	980.51
Área efectiva (cm <sup>2</sup> )	156.29	501.33	678.25
% área efectiva	81.46	83.15	69.17
Área/volumen (cm <sup>2</sup> /cm <sup>3</sup> )	0.35	0.21	0.15

### 3.4 Determinación de la influencia del tamaño del reactor en el rendimiento

En la Figura 1 se presentan los resultados de los promedios del rendimiento biológico expresado como gramos de hongo / gramos de sustrato seco.



**Figura 1.** Comparación entre rendimientos biológicos para los diferentes tamaños de reactor

Como se puede observar, los rendimientos biológicos están muy cercanos, 49.97% para las fundas grandes G, 54.40% para fundas medianas M, y 53.30% para fundas pequeñas P. Estos valores son muy similares entre sí y por lo tanto el rendimiento biológico no es un parámetro por sí decisivo a la hora de escoger el tamaño del reactor.

Por esta razón se elaboró una Tabla de resumen comparativo, de todas las características finales para cada tipo de reactor, para todo el proceso fermentativo.

Como se puede observar en la Tabla 4, a pesar de que las fundas pequeñas presentan un tiempo de crecimiento menor al de las otras fundas, los cuerpos fructíferos son pequeños y por lo tanto no son apreciados a nivel comercial. En contraste, los cuerpos fructíferos que presentaron las fundas G y M son grandes, sin deformaciones apreciables, son uniformes y por lo tanto con mayor valor comercial.

Se analizaron también los problemas de crecimiento y contaminación que se presentaron durante la experimentación. Las fundas medianas son las que menos problemas de contaminación presentaron. Las fundas grandes se contaminaron más fácilmente y en las fundas pequeñas se tuvo problemas de crecimiento (fundas sin crecimiento, muy bajo o nulo) en alrededor del 27% de todas las fundas empleadas.

**Tabla 4.** Resumen de características finales para cada tipo de funda

	Fundas pequeñas	Fundas medianas	Fundas grandes
Peso (kg)	0.25	1.25	2.50
Rendimiento (peso hongo ×100/peso seco sustrato)	53.30	54.40	49.97
Peso de hongo obtenido por carga procesada (kg)	13.33	13.60	12.49
Porcentaje área efectiva	81.46	83.15	69.17
Tiempos de siembra (min)	1.67	3.48	3.22
Tiempo de trabajo (min/kg en siembra)	6.68	2.78	1.29
Minutos trabajados por carga	167.0	69.6	32.2
Tiempos de fructificación hasta segundo brote (días)	46	51	60
Tipo de cuerpo fructífero	Cuerpos pequeños poco apreciables a nivel comercial	Cuerpos grandes, apreciables a nivel comercial	Cuerpos grandes, apreciables a nivel comercial

Por otro lado, las fundas medianas generaron un desperdicio de material menor, ya que aprovechan el 83.15% del área total que ofrece el rastrojo esterilizado

para el crecimiento del hongo, en comparación con el 81.46 % de las pequeñas y el 69.17 % de las grandes.

Con respecto al trabajo de siembra, las fundas grandes son las que se realizaron en un menor tiempo, al trabajar dos personas por carga de 25 kg de rastrojo procesado y seco. El tiempo de trabajo en las fundas medianas se duplicó con respecto a las fundas grandes, pero es mucho menor al tiempo empleado en fundas pequeñas que requiere de 167 min por carga.

**Tabla 5.** Ponderación de las variables para la definición del tipo de funda

	Fundas Pequeñas	Fundas Medianas	Fundas Grandes
Menor tiempo de trabajo por carga <sup>1</sup>	6	8	10
Factor de ponderación: 0.2	1.2	1.6	2
Menor tiempo de fructificación <sup>1</sup>	10	9	4
Factor de ponderación: 0.3	3	2.7	1.2
Calidad de cuerpo fructífero <sup>1</sup>	7	10	10
Factor de ponderación: 0.5	3.5	5.0	5.0
<b>Suma Ponderada</b>	<b>7.7</b>	<b>9.3</b>	<b>8.2</b>

<sup>1</sup> valores definidos sobre 10 puntos

Para definir el tipo de funda a utilizar, se realizó una ponderación según un criterio práctico de las variables involucradas en el crecimiento del hongo. Se asignó el 50 % de importancia a la calidad de los cuerpos fructíferos, un 30 % al tiempo de fructificación y un 20 % al tiempo de trabajo en siembra. Los valores ponderados se sumaron y se analizaron sobre una base de 10.

En la Tabla 5 se presentan los resultados de la ponderación realizada. Como se puede observar, las fundas medianas son las que ofrecen mejores características para el cultivo del hongo, al tener un valor total de 9.3 en la suma ponderada. Además las fundas medianas ofrecieron mejores cualidades en el crecimiento del hongo al tener un buen rendimiento biológico y presentar un menor desperdicio de sustrato.

## 4 Conclusiones y Recomendaciones

1. Las características del cuerpo fructífero obtenido en cada tipo de funda constituye un criterio decisivo al momento de escoger el tipo de reactor. Los tamaños del cuerpo fructífero que se presentan en las fundas grandes y medianas son de mucho mayor valor comercial que los cuerpos fructíferos pequeños, aunque la eficiencia biológica de las fundas pequeñas sea mayor.
2. Al encontrarse valores de rendimiento biológico similares, el método empleado de ponderación entre variables, entre las que se incluye la relación área-volumen y los tiempos de procesamiento permite tener un criterio de selección más apropiado que el análisis de las variables por separado.
3. De acuerdo con las características finales presentadas, se define como tipo de reactor más apropiado para el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* 2191 en rastrojo de maíz la funda mediana de 25.4 × 40.64 cm (10 × 16 pulg) y 1.25 kg de rastrojo inoculado al 10 %.
4. Debido a que el hongo *Pleurotus ostreatus* 2191 consume principalmente celulosa, y se observa en el análisis del desecho un incremento o concentración de lignina, se recomienda realizar experimentaciones para utilizar este desecho como sustrato o aditivo en un sustrato para el crecimiento de hongos ligninolíticos.

## Referencias

- [1] Kwon, J., 2001. *Oyster Mushroom Cultivation Guide for Beginners*. <http://www.mushworld.com> (octubre, 2003)
- [2] Pettipher, G., 1987. *Cultivation of the Oyster Mushroom (PO) on lignocellulosic waste*. Scientific Food Agriculture, Vol 41, pp 259-265
- [3] Smook, G., 1990. *Handbook for Pulp and Paper Technologists*. First Edition, TAPPI Press.
- [4] Vedder, P.J., 1996. *Cultivo Moderno del Champiñón*. Ediciones Multiprensa, Barcelona, España. pp 24-29
- [5] Zadrazil, F., 1979. *The Ecology and Industrial Production of P. ostreatus, P. florida, P. cornucopiae, and P. eryngii*. Mushroom Science, Vol 9, No 1, pp 621-652