



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
CIENCIAS QUÍMICAS
Orientación. Química Ambiental

00550

4

**ESTUDIOS DE BIODEGRADACIÓN DE RESIDUOS CELULÓSICOS Y
LIGNOCELULÓSICOS: PASTO, PAJA, ALGODÓN Y RESIDUO CELULÓSICO DE
PAÑAL DESECHABLE**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

IRMA DELFÍN ALCALÁ

TUTORA:

DRA.-ING. MARÍA DEL CARMEN DURÁN DOMÍNGUEZ DE BAZÚA

2002

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE:

DR. VÍCTOR LUNA PABELLO

VOCAL:

DRA. MARTHA PATRICIA GARCÍA CAMACHO

SECRETARIO:

DRA. SYLVIE TURPIN MARION

PRIMER SUPLENTE:

DR. ALFONSO DURÁN MORENO

SEGUNDO SUPLENTE:

DRA. RUTH PEDROZA ISLAS

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Facultad de Química (Laboratorios del PIQAyQA), UNAM

SUSTENTANTE:

QFB IRMA DELFÍN ALCALÁ

TUTORA:

DRA.-ING. MARÍA DEL CARMEN
DURÁN DOMÍNGUEZ DE BAZÚA

RECONOCIMIENTOS

AL PERSONAL ACADÉMICO DEL CEPARIO DE LA FACULTAD DE QUÍMICA, Y PARTICULARMENTE A LA Q.F.B. ANTONIETA SILVA CHAVEZ, POR SU VALIOSA COLABORACIÓN EN LA IDENTIFICACIÓN DE LOS ORGANISMOS PRESENTES.

AL ÁREA DE ENERGÍA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA-UNIDAD AZCAPOTZALCO, POR LAS FACILIDADES PRESTADAS PARA LA REALIZACIÓN DEL TRABAJO EXPERIMENTAL.

A LA BIOLOGA ROSA MARÍA ESPINOSA POR SU VALIOSO APOYO EN ESTA INVESTIGACIÓN.

A LA DRA. CARMEN DURÁN DE BAZÚA, QUIEN ADEMÁS DE SU PAPEL DE TUTORA DESEMPEÑÓ EL DE MAESTRA EN EL SENTIDO MÁS AMPLIO DE LA PALABRA.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A MIS HIJOS, DIANA, IRMA Y CARLOS, CUYOS LOGROS FUERON INSPIRACIÓN Y MOTOR PARA ESTE ESFUERZO.

A MI HERMANO NACHO, SIN CUYO APOYO NADA HUBIERA SIDO POSIBLE.

A ANDREA Y DAVID, POR EXISTIR.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ÍNDICE

	Página
Reconocimientos	iii
Resumen / Abstract	vii
Glosario	x
Índice de figuras	xiv
Índice de tablas	xv
Índice de fotografías	xvi
Capítulo 1. Introducción	1
1.1 Problemática	1
1.1.1 Residuos sólidos celulósicos	2
1.1.2 Biodegradación de materiales lignocelulósicos	3
1.2 Objetivo	5
1.3 Hipótesis	5
1.4 Actividades para demostrar la hipótesis	5
Capítulo 2. Marco conceptual	6
2.1 Materiales lignocelulósicos de desecho	6
2.1.1 Residuos lignocelulósicos de origen urbano	6
(a) Pañales desechables	7
(b) Residuos de jardinería	8
(c) Paja de trigo	9
(d) Fibra de algodón	9
(e) Desechos de café (<i>posos de café</i> o <i>café lavado</i>)	9
(f) Penachos de piña	10
(g) Inóculo (granos de trigo invadidos por el micelio del hongo)	11
2.1.2 Componentes de los materiales que fueron usados como sustrato	11
2.2 Cultivo de hongos <i>Pleurotus</i> spp. en materiales lignocelulósicos	18
2.2.1 Descripción de <i>Pleurotus</i> spp.	18
2.2.2 Antecedentes del cultivo de <i>Pleurotus</i> usando residuos agrícolas	21
2.2.3 Materiales empleados como materia prima	22
Capítulo 3. Materiales y métodos	25
3.1 Inóculo	25
3.2 Sustratos	25
3.2.1 Diseño experimental	25
3.2.2 Fuente de los materiales	26

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

3.2.3 Acondicionamiento	26
3.3 Cultivo en los sustratos lignocelulósicos	27
3.3.1 Inoculación con <i>P. djamor</i>	27
3.3.2 Crecimiento micelial	28
3.3.3 Fructificación	28
3.3.4 Cosecha	29
3.3.5 Cámara de cultivo	29
3.4 Cultivos <i>in vitro</i> (microcultivos)	29
3.4.1 Inóculos	30
3.4.2 Medios de cultivo	30
3.4.3 Cultivo e identificación	31
3.5 Determinaciones analíticas	31
3.5.1 Humedad, cenizas y nitrógeno	32
3.5.2 Carbono orgánico	32
3.5.3 Fibra cruda, hemicelulosa, celulosa y lignina	32
3.6. Materiales celulósicos	34
3.6.1 Pañal desechable	34
3.6.2 Desechos urbanos	34
3.6.3 Semilla del hongo	35
3.6.4 Material biológico generado	35
3.7 Degradación	35
3.8 Tratamiento de datos	35
Capítulo 4. Resultados y discusión	37
4.1 Datos analíticos de los materiales utilizados como materia prima	37
4.2 Composición de los sustratos	38
4.2.1 Composición al inicio del experimento. Inoculación (t=0)	39
4.2.2 Composición al término de la primera etapa de cultivo. Fin de la etapa de invasión (t=4 semanas)	40
4.2.3 Composición al término del experimento. Fin de la etapa de fructificación (t= 16 semanas)	42
4.3 Reducción de peso del sustrato: degradación	42
4.3.1 Reducción de peso del sustrato por variedad del hongo <i>P. djamor</i> , al término de la etapa experimental, t = 16 semanas	42
4.3.2 Reducción de peso del sustrato por etapa de cultivo	42
4.3.3 Reducción de peso en función de la composición del sustrato	45
4.3.3.1 Materiales lignocelulósicos	45
4.3.3.2 Componentes nitrogenados	49
4.3.3.3 Contenido de humedad	52
4.3.4 Análisis estadístico de la relación entre la reducción de peso y la	

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

composición de los sustratos	53
4.3.5 Degradación de las diferentes fracciones de la fibra	54
4.4 Cuerpos fructíferos	55
4.4.1 Análisis de los cuerpos fructíferos (setas)	57
4.4.2 Relación entre pérdida de peso y eficiencia biológica de los sustratos	57
4.4.3 Balance de nitrógeno	59
4.5 Resultados obtenidos en los experimentos con pañal desechable	59
4.6 Reducción de masa	61
4.7 Resultados del cultivo <i>in vitro</i>	62
4.7.1 Medios de cultivo sólidos	62
4.7.2 Medios de cultivo líquidos	64
4.7.3 Análisis de los resultados	64
Capítulo 5. Conclusiones y perspectivas	66
5.1 Pañal desechable	66
5.2 Poda de pasto	68
5.3 Sugerencia de futuras investigaciones	68
Anexo 1. Datos experimentales	71
Anexo 2. Acervo fotográfico	76
Anexo 3. Análisis estadístico. Análisis de varianza, Andeva	85
Referencias bibliográficas	93

ESTUDIOS DE BIODEGRADACIÓN DE RESIDUOS CELULÓSICOS Y LIGNOCELULÓSICOS: PASTO, PAJA, ALGODÓN Y RESIDUO CELULÓSICO DE PAÑAL DESECHABLE

Resumen

En el Valle de México, los 10 millones de habitantes del Distrito Federal que lo habitan, generan diariamente más de 10,000 toneladas de desechos, de los que alrededor del 40% son materiales lignocelulósicos entre los que se incluyen los residuos de jardinería y los pañales desechables usados. La celulosa es un material cuya degradación espontánea en ambientes naturales requiere años, por lo que se acumula contribuyendo a la saturación de los sitios de disposición final de residuos sólidos. *Pleurotus* spp. es un hongo comestible que degrada con rapidez los materiales lignocelulósicos, transformando una parte en biomasa fúngica y liberando al ambiente bióxido de carbono y agua. Los requerimientos poco demandantes de este hongo han permitido su cultivo en instalaciones domésticas y semiindustriales en que se utilizan como sustrato los residuos agrícolas propios de la región. El objetivo de este estudio fue cultivar dos variedades (clara y oscura) de *P. djamor* sobre pasto, paja, algodón y residuos celulósicos de pañal desechable, previo análisis de su composición química y, determinar el porcentaje de degradación, medido como reducción del peso del sustrato. Se ensayó la adición de penachos de piña y "posos de café" (en relaciones en masa 1:1, b.s.), a los residuos de pañal y pasto, para incrementar la velocidad de degradación. Se usaron como controles paja de trigo y algodón

STUDIES ON BIODEGRADATION OF CELLULOSIC AND LIGNOCELLULOSIC RESIDUES: LAWN CUTS, COTTON FIBER AND CELLULOSIC FRACTION OF DISPOSABLE DIAPERS

Abstract

In the Zona Metropolitana del Valle de México, ZMVM (metropolitan area of the Valley of Mexico, Federal District), ten million of inhabitants daily generate more than 10,000 tons of solid wastes, 40% of them are lignocellulosic refuses which include garden residues and used disposable diapers. The main component of these two wastes is cellulose, a recalcitrant biopolymer, whose spontaneous degradation in the sites of final disposition may require several years. *Pleurotus* spp. is an edible mushroom that has the capacity to degrade that sort of residues, readily transforming them in biomass and gases like carbon dioxide and water vapor. The low demanding environmental conditions required for *Pleurotus* development, have contributed to *Pleurotus* small or medium scale cultivation (home and commercial facilities), using regional agricultural crop residues as substrate. The objective of this research is to analyze the substrates chemical composition, garden refuse and the cellulosic fraction of used disposable diapers, to inoculate them with dark and white varieties of *P. djamor*. The addition of pineapple heads and coffee sediments containing cellulose and lignin to the substrates was carried out to evaluate if they could increase the rate of degradation. Dry mass ratios of 1:1 of substrate:pineapple and coffee sediments were tested. As control substrates wheat straw and

industrial, solos y en proporciones 1:1 en masa, b.s. Al inicio de los experimentos y después de 4 y 16 semanas (etapa de fructificación y terminación de los experimentos, respectivamente) fueron medidas a cada sustrato las concentraciones de carbono, nitrógeno, relaciones de C:N, celulosa, lignina, relaciones celulosa:lignina y humedad. Se llevaron a cabo ensayos microbiológicos *in vitro* para observar la acción de los cultivos mixtos presentes con los inóculos. Los medios de cultivo cuya única fuente de carbono era celulosa fueron inoculados con a) *P. djamor* ("semilla comercial") y dos inóculos mixtos, b) *P. djamor* y sus microorganismos acompañantes y c) *P. djamor*, acompañantes y microorganismos ambientales; el hongo celulolítico, *Gliocladium viride*, se usó como control. Con excepción del pañal desechable usado, los materiales que sirvieron como sustrato tuvieron, en 16 semanas, reducciones de masa correspondientes a 70-90% (base seca). Entre los componentes del sustrato se identificaron como parámetros que afectan significativamente la degradación del material, a las proporciones celulosa/lignina y carbono orgánico/nitrógeno orgánico; en cambio, ni las concentraciones de cada componente individual ni la variedad de *P. djamor* que sirvió como inóculo, jugaron un rol significativo. La eficiencia biológica fue baja (4-49%) en los sustratos utilizados. Los experimentos con pañal desechable fueron interrumpidos en la cuarta semana debido a que uno de los componentes del pañal, el material superabsorbente (poliacrilato de sodio), al absorber el agua y formar un gel, impidió el intercambio gaseoso y la oxigenación del sustrato, necesarios para el desarrollo de *P. djamor*. Los datos de los experimentos *in vitro* permiten suponer una acción combinada o secuencial de las especies celulolíticas presentes. La presente línea de

industrial cotton fiber were used, alone and in mixtures 1:1 (dry mass) with the substrates. Initial content of: C, N, organic carbon / organic nitrogen ratio, cellulose, lignin, cellulose/lignin ratio, as well as moisture were measured in each substrate. These same parameters were evaluated twice along the experimental period: at the starting of the fructification stage (fourth week), and at the end of the experiments (16th week). Also, there were carried out microbiological *in vitro* essays to look for microbial mixed cultures presence in the inocula. Cultivation media with cellulose as only carbon source were inoculated with a) "pure" *Pleurotus djamor* (commercial seed), and 2 mixed inocula, b) *Pleurotus* seed plus accompanying microorganisms and c) *Pleurotus* seed plus accompanying and environmental microorganisms; *Gliocladium viride*, was the control microorganism. Experimental data showed reductions from 70 to 90% (dry basis) after the 16 weeks period, with the exception of disposable diapers cellulosic material. Significant differences regarding loss of mass were found with C:N and cellulose:lignin ratios, whereas individual components of the cultivation substrates, and specific varieties of *P. djamor* played no significant role. Biological efficiency was relatively low in these essays (4 to 49%). Cellulose diaper substrates were discarded after the first four weeks since *P. djamor* mycelia failed to colonized them, as sodium polyacrilate, responsible compound of the high water absorbability of the diaper, trapped daily irrigation water hindering *Pleurotus* mycelia growth due to the low oxygen exchange through the jellied mass. The data from *in vitro* essays let suppose a combined activity of microbial cellulolytic species. This research line looks promising. It may help to minimize the mass of lignocellulosic and cellulosic urban residues. A

investigación se visualiza como una posible solución para la acumulación de materiales celulósicos y lignocelulósicos, sobre todo, de desechos orgánicos que se depositan separados de otros residuos, como el pasto, el penacho de piña y los "posos de café", ya que aunque en este experimento la presencia de *enriquecedores* no aumentó la rapidez de degradación, el tratamiento redujo la masa de todos los componentes de la mezcla. La biodegradación por *Pleurotus* podría utilizarse en pañales desechables usados, si al residuo se le sujeta previamente a un tratamiento que destruya la estructura gelificada del superabsorbente. Una línea de investigación, a futuro, podría ser la optimización de las condiciones adecuadas para la degradación de los materiales lignocelulósicos, buscando no solamente reducir su masa, sino producir hongos comestibles con un rendimiento biológico satisfactorio, desde el punto de vista práctico.

fringe benefit, in the future, may be to optimize cultivation environmental conditions so to produce edible mushrooms. This research line looks promising since it may help to minimize the mass of lignocellulosic and cellulosic urban residues, such as lawn cuts, pineapple heads, and coffee sediments. Although the mixtures did not show higher rates of degradation at the end they had the same final weight reduction. Disposable diapers cellulosic residues might be treated in the same way, once the superabsorbent polymer gel structure is destroyed by a specific pretreatment. A fringe benefit, in the future, may be to optimize environmental conditions not only to reduce the overall mass but to produce edible mushrooms.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

AC	En el ensayo <i>in vitro</i> , medio de cultivo agar-celulosa
ACL	En el ensayo <i>in vitro</i> , medio de cultivo agar-celulosa-lignina
ACS	En el ensayo <i>in vitro</i> , medio de cultivo agar-celulosa-material superabsorbente
ANDEVA	Abreviatura del tratamiento estadístico "análisis de varianza". En textos en inglés y traducciones, se le menciona como ANOVA (Analysis Of Variance)
Angiospermas	Plantas superiores cuyas semillas están desnudas
Axénico	Cultivo axénico es un cultivo puro, libre de otros agentes biológicos vivos
Azúcares	Cadenas cortas de hidratos de carbono que difieren entre sí por la orientación espacial de sus sustituyentes. Son ejemplos glucosa, xilosa, manosa, galactosa
Basidiomicetos	Un grupo de hongos cuya reproducción se hace por células llamadas basidios
Basidiocarpo	Cuerpo fructífero de un basidiomiceto
Basura	Material cuya vida útil ha concluido y que no puede reutilizarse ni reciclarse
Beta glucosídico	Enlace que une las unidades de glucosa en la molécula de celulosa. Este enlace es difícil de romper por medios bioquímicos
Bioconversión	Transformación de un compuesto en otro, como resultado de procesos metabólicos
Biodegradación	Conversión de la materia orgánica en moléculas más sencillas, como resultado del metabolismo celular
Biomasa	Masa de materia viva en una zona determinada o proveniente de materia viva
Biota	Totalidad de los organismos vivos presentes en un sistema
Café lavado	Residuo sólido de la percolación del grano de café (tostado y molido). También se le designa como "posos de café"
Carbono orgánico	Carbono presente bajo la forma de moléculas orgánicas incinerables a 650°C
Celulosa	Componente fundamental de la membrana celular en las plantas superiores, en muchas algas y en algunos hongos. La enzima que la hidroliza es la celulasa
CC	En el ensayo <i>in vitro</i> , medio de cultivo líquido caldo-celulosa
CM	En el análisis de varianza se le emplea para referirse a los cuadrados medios
Composta	Del latín <i>composita</i> , compuesto o mezcla. En la literatura anglosajona designa a las mezclas de residuos que, por métodos bioquímicos, son degradados y forman sustancias útiles para mejorar las características de los suelos agrícolas

Copolímero	Macromolécula que tiene dos unidades monoméricas distintas
Cutina	Mezcla compleja de productos de oxidación y condensación de los ácidos grasos, que forma la cutícula vegetal
Desecho	Residuo, desperdicio, material que ya no es útil
Digestión	Maceración en un líquido, a una temperatura elevada, en ausencia de oxígeno molecular
Eficiencia biológica	Peso fresco de hongos cosechados por unidad de peso seco del sustrato. Otros autores lo definen como peso seco de hongos cosechados por unidad de peso seco de sustrato
Envase "Tetrabrick"	Envase de cartón laminado con metal o plástico que se usa para conservar productos alimentarios como leche, jugos, salsas, etc.
Enzima	Proteína producida por las células vivas, que actúa como catalizador en procesos bioquímicos. Las enzimas intracelulares actúan en el interior de las células, en tanto que las extracelulares son secretadas al exterior que es donde se encuentra el sustrato
Esclerenquima	Tejido de resistencia, no vascular, generalmente muerto, en el cual las células tienen una pared celular bien definida y a menudo lignificada
Esquilmos	Provechos accesorios en los cultivos agrícolas
Esterilización	Proceso por el que un material queda libre de organismos vivos o viables
Estípite	Pedúnculo del cuerpo fructífero de los hongos
F calculado y F tablas	En el análisis de varianza, factor calculado a partir de los datos experimentales y factor teórico registrado en las tablas especializadas
Fibra	Filamentos delgados, de origen vegetal, animal o mineral, dispuestos en haces
Fotodegradable	Material que se descompone por la acción de la luz
FV	En el análisis de varianza, fuentes de variación
G	En el ensayo <i>in vitro</i> , referencia al hongo ligninolítico <i>Gliocladium</i> sp.
Gelatinizar	Convertir un líquido en un material semisólido gelatinoso
Gimnospermas	Plantas superiores que tienen la semilla protegida
g.l.	En el análisis de varianza, grados de libertad
Guayacilo	Estructura monomérica presente en la lignina
Hemicelulosa	Grupo heterogéneo de polisacáridos de cadena larga, cuyos monómeros son azúcares diferentes a la glucosa. Pueden actuar como alimentos de reserva

Hifa	Filamento del micelio de un hongo multicelular
Inoculación	Siembra de una porción pequeña de un microorganismo vivo o viable (inóculo) en un medio que permita su desarrollo
In vitro	Expresión que designa las reacciones fisiológicas que se estudian en el laboratorio, en tubos, probetas, portaobjetos, etc.
Lignina	Compuesto aromático complejo que se deposita en las paredes celulares del esclerénquima, confiriéndoles resistencia y rigidez
Ligninolítica	La actividad ligninolítica es el proceso de degradación de la lignina
Lignocelulósico	Complejo de lignina, celulosa, hemicelulosa y componentes menores, como la pectina
Lixiviado	Solución que resulta del paso de agua a través de materiales sólidos dispuestos en capas. El líquido arrastra consigo las sustancias solubles
Micelio	Término colectivo para designar la masa de hifas ramificadas que constituyen la parte vegetativa de un hongo
Mineralización	Transformación de la materia orgánica en materia inorgánica
Nitrógeno orgánico (Kjeldahl)	Nitrógeno presente en las moléculas orgánicas. Se le determina por la técnica de Kjeldahl, por lo que en ocasiones se le menciona como "nitrógeno Kjeldahl"
P	En el ensayo <i>in vitro</i> , referencia al hongo ligninolítico <i>Pleurotus</i>
PA	En el ensayo <i>in vitro</i> , referencia al hongo ligninolítico <i>Pleurotus</i> + organismos acompañantes
PAA	En el ensayo <i>in vitro</i> , referencia al hongo ligninolítico <i>Pleurotus</i> + organismos acompañantes + organismos ambientales
PG	En el ensayo <i>in vitro</i> , referencia a los hongos ligninolíticos <i>Pleurotus</i> + <i>Gliocladium</i>
PIQyQA	Programa de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental. Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México
Pileo	Casquete del cuerpo fructífero de los hongos macroscópicos
<i>Pleurotus djamor</i>	Hongo comestible degradador de celulosa (Del griego <i>pleurus</i> , <i>pleura</i> , costilla o costado). En algunas referencias aparece como <i>djamor</i> y en otras como <i>djamor</i> . En esta investigación se usará la primera acepción
Poliacrilato	Material superabsorbente. Copolímero de ácido poliacrílico y poliacrilato de sodio
Polisacárido	Hidrato de carbono cuya molécula está formada por la unión de un número

	elevado de moléculas de monosacárido
Primordios	Cuerpos fructíferos “primitivos”, antes de alcanzar su total desarrollo
Reciclable	Que se convierte en un material utilizable tras ser sometido a un tratamiento
Relleno sanitario	Sitio acondicionado para la disposición final, bajo condiciones seguras, de residuos (desechos) sólidos no peligrosos
Reutilizable	Que puede utilizarse para el mismo propósito, más de una vez
RSM	Residuos sólidos municipales
SC	En el análisis de varianza, suma de cuadrados
Semilla	En referencia al hongo <i>Pleurotus</i> , semillas de trigo invadidas por el micelio, como resultado de la inoculación intencional de un pequeño fragmento de dicho micelio
Septo	Tabique o pared que divide transversalmente las hifas de algunos hongos
Seta	Nombre popular de los cuerpos fructíferos comestibles de los hongos basidiomicetos
Siringilo	Estructura monomérica presente en la lignina
Subproductos	Según la legislación mexicana, cada una de las categorías en que se clasifican los residuos sólidos municipales
“Tetrabrick”	Ver “envase Tetrabrick”
Xilófago	Que se alimenta con madera
ZMVM	Zona Metropolitana del Valle de México, abarca el Distrito Federal y los municipios conurbados del Estado de México

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página	
Fig. 2.1	Hemicelulosa. Monómero y estructura del polímero	12
Fig. 2.2	Celulosa. Monómero y estructura del polímero	12
Fig. 2.3	Monómero y tipos de enlace presentes en su estructura	13
Fig. 2.4	Poliacrilato de sodio. Monómeros y estructura del polímero	17
Fig. 3.1	Técnica de Göering-van Soest para determinación de fibra cruda	33
Fig. 4.1	Reducción de peso a t=16 semanas. Variedades oscura y clara	42
Fig. 4.2	Reducción de peso a los t=4 y t=16 semanas. Variedad oscura	43
Fig. 4.3	Reducción de peso a los t=4 y t=16 semanas. Variedad clara	43
Fig. 4.4	Reducción de peso del sustrato en función del contenido de hemicelulosa. Variedad oscura	45
Fig. 4.5	Reducción de peso del sustrato en función del contenido de hemicelulosa. Variedad clara	45
Fig. 4.6	Reducción de peso del sustrato en función del contenido de celulosa. Variedad oscura	46
Fig. 4.7	Reducción de peso del sustrato en función del contenido de celulosa. Variedad clara	47
Fig. 4.8	Reducción de peso del sustrato en función del contenido de lignina. Variedad oscura	47
Fig. 4.9	Reducción de peso del sustrato en función del contenido de lignina. Variedad clara	48
Fig. 4.10	Reducción de peso del sustrato en función de la razón celulosa/lignina. Variedad oscura	48
Fig. 4.11	Reducción de peso del sustrato en función de la razón celulosa/lignina. Variedad clara	49
Fig. 4.12	Reducción de peso del sustrato en función del contenido de proteína. Variedad oscura	50
Fig. 4.13	Reducción de peso del sustrato en función del contenido de proteína. Variedad clara	50
Fig. 4.14	Reducción de peso del sustrato en función de la razón C/N. Variedad oscura	51
Fig. 4.15	Reducción de peso del sustrato en función de la razón C/N. Variedad clara	51
Fig. 4.16	Reducción de peso del sustrato en función del contenido de humedad. Variedad oscura	52
Fig. 4.17	Reducción de peso del sustrato en función del contenido de humedad. Variedad clara	52
Fig. 4.18	Reducción de peso y eficiencia biológica. Variedad oscura	58
Fig. 4.19	Reducción de peso y eficiencia biológica. Variedad clara	58

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1.1 Composición y biodegradabilidad de algunos residuos lignocelulósicos	3
Tabla 2.1 Porcentaje de composición y peso unitario de pañales desechables	7
Tabla 2.2 Porcentaje de degradabilidad (fracción biodegradable) de los materiales utilizados	14
Tabla 2.3 Contenido de fibra, celulosa y lignina en algunos residuos agrícolas	24
Tabla 3.1 Diseño experimental. Codificación, sustratos e inóculos en cada tratamiento	27
Tabla 3.2 Diseño del experimento <i>in vitro</i> . Sustratos e inóculos	31
Tabla 4.1 Composición promedio y valor de pH de los materiales utilizados para el cultivo de <i>Pleurotus djamor</i>	37
Tabla 4.2 Composición de los materiales de un pañal desechable	38
Tabla 4.3 Composición de los sustratos inoculados, a t=0.	39
Tabla 4.4 Composición de los sustratos residuales, a t=4 semanas	40
Tabla 4.5 Composición de los sustratos residuales a t=16 semanas	41
Tabla 4.6 Porcentaje de reducción de peso de los sustratos, por etapa de cultivo	44
Tabla 4.7 Contenido de las fracciones de fibra cruda a t=0 (inicial) y a t=16 semanas (final)	55
Tabla 4.8 Composición promedio de las setas y eficiencia biológica de los cultivos	56
Tabla 4.9 Identificación presuntiva de los organismos que proliferaron en los medios sólidos (realizada por investigadores del cepario de la Facultad de Química.UNAM)	63

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

	Página
Foto 3.1 Bolsa recién inoculada. Sustrato: Algodón	77
Foto 3.2 Bolsa recién inoculada. Sustrato: Paja	77
Foto 3.3 Bolsa recién inoculada. Sustrato: Pasto	78
Foto 3.4 Bolsa recién inoculada. Sustrato: Pañal desechable	78
Foto 3.5 Área de cultivo. Anaquel mostrando la disposición de las bolsas al inicio del experimento	79
Foto 3.6 Área de cultivo. Anaquel mostrando la apariencia de las unidades experimentales al finalizar el experimento	79
Foto 4.1 Setas de <i>P. djamor</i> cultivadas en paja-café 1:1	80
Foto 4.2 Setas de <i>P. djamor</i> cultivadas en algodón-café 1:1	80
Foto 4.3 Setas de <i>P. djamor</i> cultivadas en pasto	81
Foto 4.4 Setas de <i>P. djamor</i> cultivadas en algodón	81
Foto 4.5 Setas de <i>P. djamor</i> cultivadas en pasto	82
Foto 4.6 Setas de <i>P. djamor</i> cultivadas en paja	82
Foto 4.7 Setas de <i>P. djamor</i> cultivadas en pañal desechable	83
Foto 4.8 Masa y volumen aparentes de la bolsa con sustrato de algodón sin inocular y de los residuos finales de los sustratos: Algodón sin enriquecer y enriquecido	83
Foto 4.9 Masa y volumen aparentes de la bolsa con sustrato de paja sin inocular y de los residuos finales de los sustratos: Paja sin enriquecer y enriquecido1	84
Foto 4.10 Masa y volumen aparentes de la bolsa con sustrato de pasto sin inocular y de los residuos finales de los sustratos: Pasto sin enriquecer y enriquecido	84

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 Problemática

El cuidado del ambiente exige, como punto de partida para abordar la problemática ambiental en su conjunto, la búsqueda de soluciones a los problemas locales y regionales. Los cambios que ocurren en el ambiente, cualquiera que sea su origen, afectan la calidad de vida y la salud del ser humano, así como el entorno social, económico y político de los integrantes de una comunidad. En el ámbito inmediato, la calidad de vida puede mejorarse con acciones directas preventivas y prospectivas que establezcan una correlación entre ambiente y desarrollo (Aguilar, 1998; Flores y col., 1995).

La generación de desechos sólidos municipales se incrementa continuamente en todo el mundo. Dicho incremento se debe fundamentalmente al crecimiento demográfico, aunque también juegan un papel importante los nuevos hábitos de consumo que favorecen la aparición en el mercado de productos que satisfacen una "necesidad" que no existía. En el caso de estos productos nuevos, generalmente no se anticipa cual podría ser el destino final de los empaques y de los propios productos, al término de su vida útil.

Uno de los grandes problemas actuales de las zonas urbanas, es la creciente acumulación de desechos sólidos en los "tiraderos" de basura y en los rellenos sanitarios, práctica generalizada de saneamiento municipal que conduce a la saturación de dichos espacios y obliga a las autoridades a la búsqueda continua de nuevos sitios que puedan ser destinados a ese propósito.

Los tiraderos de basura a cielo abierto afectan la calidad del suelo, dañan el paisaje urbano, favorecen la proliferación de fauna nociva y contaminan el agua (lixiviados) y el aire (gases tóxicos e inflamables). La disposición en rellenos sanitarios, aunque no ocasiona esos problemas, no es una solución definitiva ya que cada vez es más difícil encontrar espacios convenientes para este fin. Los problemas mencionados hacen imperativo el desarrollo y la aplicación de procesos de separación y tratamiento que conduzcan a la reutilización o el reciclamiento de algunos de los *subproductos* de los residuos sólidos municipales que, en la actualidad, son considerados parte de la "basura".

La norma oficial NMX-AA-22-1985 (SEDUE, Subsecretaría de Ecología, 1985) clasifica los residuos sólidos municipales en *subproductos*, algunos de los cuales son denominados *materiales reciclables* o *materiales reutilizables*, pero la mayor parte, son considerados *materiales no recuperables*, es decir, "basura". La basura del Distrito Federal está compuesta (Valenzuela, 2000) por 34% de materiales reciclables que pueden ser reaprovechados (papel, cartón, plásticos, vidrio, metal, madera, tela,

aparatos inservibles, etc.), 47% de desechos orgánicos que pueden ser convertidos en composta o incorporados como parte de la alimentación animal (frutas y verduras, desechos de jardines, etc.) y, 19% de otros materiales cuyo aprovechamiento está fuertemente condicionado por la tecnología y los altos costos de su recuperación (pañales, pañuelos desechables, toallas sanitarias, material de curación, pilas agotadas, colillas de cigarro, envases de aerosol, etc.). Aunque sólo ese 19% de los desechos debería ser depositado en los rellenos sanitarios, en la actualidad se recupera menos de 10% del total por lo que se deposita como "basura" alrededor de 90% de ellos (González-del-Carpio, 2000), básicamente papel, vidrio, metales y algunos plásticos.

Hay interés por parte de las instancias de gobierno en dar tratamiento a otra clase de residuos; es así que una fracción de los residuos de jardinería se someten a tratamiento biológico para producir composta en una planta piloto operada por el Gobierno del Distrito Federal. A pequeña escala hay instalaciones domésticas para degradar, convirtiéndolos en composta, los desechos orgánicos del jardín y la cocina. El tratamiento es útil, pero conviene recordar que el proceso tradicional de composta no conduce a la degradación de la lignina ni de la celulosa.

1.1.1 Residuos sólidos celulósicos

El pañal desechable es un producto de consumo, de aparición relativamente reciente en el mercado mundial, que fue introducido en la sociedad mexicana en la década de los setenta (Kimberly Clark, Internet, redes internacionales, 2001). Gracias a que facilita el trabajo de la mujer-madre y su desempeño como miembro de la población

económicamente activa, ha dejado de ser un artículo suntuario privativo de algunos estratos socioeconómicos para convertirse en un "artículo de primera necesidad" y uso cotidiano, tanto en núcleos urbanos como suburbanos. Los pañales desechables usados son considerados "basura" debido a que no se les somete a tratamiento alguno.

En 1990, el residuo de pañal desechable representaba, a escala nacional, 4.96% de los desechos sólidos municipales (INE, 1995). En 1994, 3.42% de las 80,746 ton diarias de residuos sólidos municipales, es decir, alrededor de 2,800 ton, correspondían a pañales desechables (INE, 1999). En años recientes, se estima que en algunas localidades los pañales desechables usados representan cerca de 10% del total de los residuos sólidos (INEGI, 2000; González-del-Carpio, 2000).

El componente mayoritario del pañal desechable es la celulosa, biopolímero orgánico de lenta descomposición espontánea. En el caso del pañal desechable, el proceso de desintegración de su fracción celulósica es aún más lento debido a la manera en que los fabricantes recomiendan que se deseche el pañal usado. En el material de empaque se explica la forma en que se le debe envolver confinando el material celulósico al interior de un "paquete", cuya cubierta exterior, única que está expuesta al ambiente, es un material plástico recalcitrante o no degradable. Con excepción de los trabajos realizados en la UAM-Azcapotzalco por el grupo que encabeza Espinosa (Nava y Espinosa, 1992; Calva y Elías, 1993, Espinosa y col., 1999), no se encontraron referencias bibliográficas de estudios encaminados al tratamiento de los pañales desechables usados. La propuesta de los investigadores mencionados

consiste en someter el residuo a un proceso de biodegradación, utilizándolo como sustrato para el cultivo del hongo *Pleurotus* spp. Los autores informan haber obtenido resultados alentadores, aunque hacen notar la necesidad de realizar nuevos estudios que permitan identificar condiciones de cultivo que conduzcan a un proceso más eficiente, tanto respecto a la reducción de peso del desecho como en lo relativo a la eficiencia biológica del cultivo.

Otro desecho lignocelulósico que se genera en abundancia en las zonas urbanas, lo constituyen los residuos de jardín y particularmente, la "poda" de pasto. Un estimado reciente considera que en el Distrito Federal se generan diariamente alrededor de 3,700 toneladas de residuos de jardinería, que representan 3.55% de los residuos sólidos municipales (González-de-Carpio, 2000); no se tienen datos de la proporción en que se encuentra la poda de pasto dentro de ese desecho.

La composición de los residuos de jardinería varía dentro de límites amplios, aunque sus com-

ponentes son materiales lignocelulósicos que pueden contener entre 5 y 20% de lignina, biopolímero que además de ser de lenta y difícil degradación, obstaculiza la desintegración de otros materiales constituyentes de la fibra vegetal, entre ellos la celulosa y la hemicelulosa.

1.1.2 Biodegradación de materiales lignocelulósicos

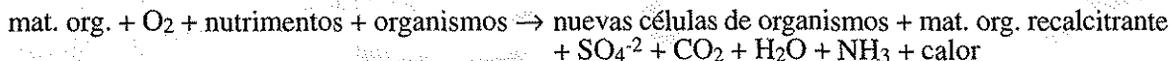
En el proceso tradicional de composta, la estructura rígida de los residuos de jardinería favorece la aireación de la mezcla de materiales orgánicos sujeta a la actividad bacteriana, favoreciendo su biodegradación, pero debido a que no abundan los organismos lignocelulolíticos en dicha comunidad de microorganismos, al finalizar el tratamiento quedan como remanentes la totalidad de la lignina y una fracción variable de la celulosa. La Tabla 1.1 muestra, a manera de ejemplo, el porcentaje de degradación espontánea, estimado a partir del contenido de lignina, de algunos residuos lignocelulósicos.

Tabla 1.1. Composición y biodegradabilidad de algunos residuos lignocelulósicos (Tchobanoglos y col., 1994)

Residuo	Sólidos volátiles (%) (materia orgánica)	Lignina (%)	Fracción biodegradable
Papel periódico	94.0	21.9	0.22
Papel de oficina	96.4	0.4	0.82
Cartón	94.0	12.9	0.47
Residuos de jardín	50-90	4.1	0.7

Los organismos (hongos y bacterias) xilófagos, entre ellos el hongo *Pleurotus* spp., transforman los materiales lignocelulósicos en energía y biomasa, debido a que en sus procesos metabólicos

se generan enzimas capaces de degradar dichos materiales, conforme a la siguiente ecuación (Manahan, 1997):



La dificultad que representa el metabolismo de la lignina, constituye un impedimento para la bioconversión del resto de los componentes de los residuos de jardín. Diversas especies del género *Pleurotus* han sido estudiadas en relación con la "combustión enzimática" de la lignina, Kirk y Farrell (1987) reportan haber observado, en cultivos *in vitro*, la degradación completa de la lignina.

En la literatura especializada se reportan los resultados de numerosos estudios relacionados con el cultivo de *Pleurotus* spp. sobre diversos desechos agroindustriales, pero la mayoría de ellos se dirige a evaluar la productividad del cultivo, como un medio de aprovechar los materiales propios de la región. En algunos estudios, entre ellos los de Bis'ko y Bilay (1992), Hadar y col. (1992) y Wang y col. (2001), se menciona la composición del sustrato y la velocidad o por-centaje de degradación del mismo al término del cultivo.

En los sustratos utilizados, se reportan valores de eficiencia biológica que van desde 8.6% hasta 178% (Acosta y col., 1988; Aguirre, 2000; Alvarado y Manzola, 1995; Bautista y col., 1998; Bermúdez y col., 1994; Bernabé-González y Arzeta-Gómez, 1994; Bis'ko y Bilay, 1992; Dunlop y Chang, 1980; Guzmán y col., 1993; Guzmán-Dávalos y col., 1987a, b; Guzmán y Martínez-Carrera, 1985; Herrera, 1997; Martínez-

Carrera y col., 1986, 1987, 1988, 1990; Martínez-Carrera y Larqué-Saavedra, 1990; Mata y Martínez-Carrera, 1988; Morales, 1987; Rinker, 1991; Salmenes y col., 2000; Sobal y col., 1988, 1992; Soto-Velazco y col., 1989, 2000; Soto-Velazco y Guzmán-Dávalos, 1986; Wang y col., 2001; Zervakis y Balis, 1992. En instalaciones destinadas a la producción comercial de *Pleurotus*, se espera que la eficiencia biológica sea de alrededor de 100%, es decir, que se coseche un kilogramo de hongos frescos por cada kilogramo de sustrato (en base seca).

Es costumbre, en trabajos relacionados con el cultivo de hongos comestibles, expresar la eficiencia biológica de los cultivos (EB) como fue propuesto por Tschierpe y Hartman (1977), es decir, como un índice que relaciona la masa fúngica (en fresco) con el peso seco del material utilizado como sustrato. En fechas más recientes, Wang y col. (2001) han sugerido que la eficiencia biológica se exprese como el porcentaje de conversión del sustrato (en base seca), en cuerpos fructíferos (en base seca); esta última forma de representar a la eficiencia biológica permite evaluar la proporción en que el sustrato fue mineralizado y la proporción en que se transformó en biomasa fúngica. En este trabajo se utilizarán ambos criterios al expresar la eficiencia biológica de los cultivos.

1.2 Objetivo

El objetivo de este estudio es investigar el efecto sobre el porcentaje de reducción de masa del sustrato, de parámetros relacionados con la composición de los materiales utilizados como sustrato para el cultivo de dos variedades: *Oscura* y *clara*, del hongo *Pleurotus djamor* y proponer, a partir de los datos obtenidos experimentalmente, un tratamiento para residuos celulósicos municipales que actualmente son depositados en los sitios de disposición final, residuos entre los que se incluyen la poda de pasto y la fracción celulósica del pañal desechable usado.

1.3 Hipótesis

Si en la composición del sustrato se identifican los parámetros, humedad, nitrógeno orgánico, carbono orgánico, celulosa, lignina, como factores que influyen en la eficiencia de la actividad lignocelulolítica del hongo *Pleurotus djamor*, se podrá utilizar dicha información para proponer un tratamiento que conduzca a disminuir la masa y, consecuentemente, el volumen de algunos residuos sólidos urbanos que se desechan separados, por lo que su acopio es fácil, entre ellos, el pañal desechable usado, la poda de pasto, el *café lavado* y el penacho de piña.

1.4 Actividades para demostrar la hipótesis

Con el propósito de demostrar que es posible mejorar la bioconversión de materiales lignocelulósicos a gases que son liberados al ambiente (CO₂ y vapor de agua), se desarrollaron en esta investigación las siguientes actividades:

- Comparar los datos de composición de algunos de los materiales *lignocelulósicos* que han sido reportados en la literatura como sustratos de “alta” o de “baja” eficiencia biológica para el cultivo del hongo *Pleurotus* spp. e identificar posibles relaciones entre la composición y la biodegradación de dichos materiales.
- Revisar la información de la literatura que pueda servir de base para el diseño y desarrollo de la fase experimental que conduzca a corroborar la hipótesis.
- Determinar experimentalmente la eficiencia de *Pleurotus djamor* para degradar fibra industrial de algodón, pasto, paja de trigo y el material celulósico del pañal desechable; cada uno de ellos, solo y “enriquecido” con penacho de piña o con *café lavado*. Identificar posibles relaciones entre la composición de los materiales utilizados como sustrato en el trabajo experimental y su biodegradación por la especie *P. djamor*.
- Identificar bibliográficamente posibles sinergias o antagonismos entre *P. djamor* y la biota acompañante (hongos y bacterias), en el proceso de degradación de materiales lignocelulósicos.

En el siguiente capítulo se presenta el marco conceptual en el que se basa esta investigación y en el tercer y cuarto capítulos se presentan la metodología empleada y los resultados que se obtuvieron, así como la discusión derivada de estos.

Finalmente, en el último capítulo se dan las conclusiones que pueden obtenerse de esta investigación y las sugerencias y perspectivas que se plantean para su seguimiento futuro.

CAPÍTULO 2

MARCO CONCEPTUAL

2.1 Materiales lignocelulósicos de desecho

Tanto en el medio rural como en el ámbito urbano y suburbano, se generan diariamente grandes cantidades de materiales de desecho. Los desechos rurales son los esquilmos y subproductos de la actividad agrícola que quedan en el campo una vez que ha sido levantada la cosecha. Estos residuos vegetales están compuestos de hemicelulosa, celulosa y lignina, polímeros orgánicos difíciles de degradar, debido a que sólo algunos hongos y un reducido número de especies bacterianas poseen los mecanismos bioquímicos necesarios para su descomposición.

Los desechos urbanos denominados en conjunto *residuos sólidos municipales* provienen de casas-habitación, sitios de servicios privados y públicos, establecimientos comerciales y de servicio, construcciones y demoliciones, por lo que su composición es muy diversa. Una fracción de los residuos sólidos municipales es “basura”, es decir, materiales sólidos generados en procesos de extracción, beneficio, transformación, consumo, utilización o tratamiento, cuya calidad no permite reinsertarlos en el proceso que los generó (Valenzuela, 2000). Los componentes individuales de los residuos sólidos municipales o subproductos son de índole variada e incluyen tanto materiales celulósicos como no celulósicos.

2.1.1 Residuos lignocelulósicos de origen urbano

La fracción lignocelulósica de los residuos sólidos municipales comprende, entre otros, papel, cartón, envases “Tetrabrick”, trapos, algunos desechos de la preparación de los alimentos, residuos de jardinería y pañales desechables usados. La proporción relativa de cada desecho es distinta en los diferentes municipios pero, considerados como un todo, representan alrededor del 40% del total de los residuos sólidos municipales de las grandes ciudades (INE, 1995; 1999). Algunos de esos desechos, entre ellos, el papel, el cartón y el trapo, son sometidos a algún tratamiento para recuperar o reutilizar la celulosa que contienen, por ejemplo, los desechos de cocina y una pequeña fracción de los residuos de jardinería se incorporan en mezclas para elaborar composta.

Un problema diferente es el que representan los “residuos complejos” (envases “Tetrabrick” y pañales desechables), en los que debido a que contienen materiales de distinta naturaleza química, se dificulta su tratamiento. Actualmente, sólo una mínima parte de los envases “tetrabrick” se acopia para someterla a procesos de recuperación de sus componentes. El pañal desechable usado no se somete a ningún

tratamiento, de aplicarse alguno, el acopio sería relativamente fácil ya que la mayor parte se desecha separado del resto de la "basura".

(a) Pañales desechables

Al igual que en los envases "Tetrabrick", el componente mayoritario de los pañales desechables es la celulosa, pero su recuperación o tratamiento se dificultan por la presencia de los demás componentes. Lo que conduce a que los pañales desechables usados sean simplemente depositados en los sitios de disposición final, lugar en que permanecen durante años, debido a lo difícil de su degradación.

El consumo de pañales desechables es cada vez mayor debido al crecimiento poblacional y a la creación de nuevos núcleos urbanos en áreas

rurales. Siendo un producto que facilita la vida moderna, su gran inconveniente es lo breve de su vida útil, ya que en sólo unas horas se convierte en un desecho que debe enviarse a disposición final (Anónimo, Redes internacionales, Internet, 1999).

En el mercado mexicano se comercializan diversos tipos y *tamaños* de más de una docena de marcas comerciales de pañales, cada uno de ellos con su propia composición y por ende, cantidad de fibra de celulosa. La Tabla 2.1 muestra la composición porcentual de algunas de las presentaciones comerciales que se expenden en la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM) y la disminución de peso por unidad observada en los últimos años para dos marcas comerciales (55.5 g versus 33 g, de 1998 a 2001).

Tabla 2.1. Porcentaje de composición y peso unitario de pañales desechables

COMPONENTE	PAÑAL DESECHABLE								
	1995		1998	2001					
	Predoblado*	Con gel*	A*	B**	C**	D**	E**	F**	G**
Año									
Tipo									
Celulosa	84%	71%	63%	46%	58%	59%	64%	58%	46%
Poliacrilato	0%	14%	13%	19%	11%	9%	4%	11%	19%
Polipropileno	0%	0%	14%	18%	8%	6%	8%	8%	18%
Adhesivos	0%	0%	0%	10%	9%	10%	11%	9%	10%
Elásticos y cintas	16%	15%	0%	4%	4%	4%	4%	4%	4%
Polietileno	n.d.	n.d.	10%	3%	10%	10%	9%	10%	3%
Peso	n.d.	n.d.	55.5 g	n.d.	n.d.	33 g	n.d.	n.d.	n.d.

- * En los tipos "pañal predoblado de 1995" y "A" que aparecen señalados con un asterisco*, los datos fueron obtenidos para esta investigación en el laboratorio
- ** En los tipos "B" a "G", la información es la que aparece impresa en el empaque del producto
- n.d., no se tienen datos

El pañal desechable usado tiene como componente principal a la celulosa, lo que lo hace un desecho celulósico. Hace 30 años, el contenido de celulosa equivalía a más de 90% del peso total del producto y en 1995 representaba alrededor de 85% de dicho peso. En los pañales actuales, la celulosa representa sólo entre 46 y 64% del peso total, correspondiendo el resto a las cubiertas de polietileno, polipropileno y poliuretano y a un componente muy importante, el poliacrilato de sodio, que es el polímero que absorbe los líquidos corporales.

El problema que representa la elevada generación de residuos de pañal desechable ha sido reconocido por los propios fabricantes, quienes han dado algunas soluciones, por ejemplo, reducir no sólo el contenido porcentual de celulosa, sino disminuir el peso unitario del pañal (Buchholz, 1996; Kimberly Clark, 2001). Esas acciones han sido positivas pero el consumo masivo de pañales desechables sigue contribuyendo a que se acumulen cantidades considerables de este desecho en los sitios de disposición final.

A escala mundial, cada vez se está más consciente de la acumulación de desechos sólidos, entre los que una fracción significativa, es de pañales desechables usados. Aunque se reconoce el problema, no se tiene información de acciones encaminadas a resolverlo, sólo algunas referencias vagas; por ejemplo, se hace mención de que en St. Cloud, Minesota, EEUUA, se realizaron pruebas para incorporar el pañal en un proyecto de "composta" (Anónimo, 1999), pero no fue posible obtener mayor información acerca de los resultados obtenidos o de la continuidad de esta práctica.

Como se sabe, la celulosa es un material degrada-

ble en el largo plazo. La fibra de celulosa presente en el pañal desechable usado, es aún más difícil de degradar debido a la manera en que al desechar el pañal se le envuelve en sus cubiertas plásticas. La posibilidad de dar tratamiento un tratamiento que conduzca a degradar la celulosa del pañal desechable tiene la ventaja de su facilidad de acopio, ya que en lugares destinados a la atención de niños pequeños, como guarderías, estancias y hospitales pediátricos, los pañales usados son depositados "separados" de los demás residuos y, si se instalaran receptáculos especiales en unidades habitacionales estos desechos serían recuperados con facilidad.

Si se degradara la celulosa contenida en los pañales desechables, se reduciría en 50% la masa total del desecho, quedando como residuo final los materiales plásticos y el poliacrilato de sodio (polímero superabsorbente). Estos materiales no son biodegradables y, están siendo objeto de atención por parte de los fabricantes de pañales, quienes han desarrollado y mantienen en experimentación polímeros fotodegradables o biodegradables que puedan sustituir a los plásticos poliméricos convencionales.

(b) Residuos de jardinería

En 1990, los "residuos de jardinería" representaron en la Ciudad de México el 3.55% del total de los residuos sólidos municipales (González-del-Carpio, 2000). Parte de esos residuos los representa la poda de pasto, desecho que en su mayor parte se colecta por separado, pero por no estar clasificado como un "subproducto" individual, no se encontró información de la cantidad o el porcentaje que de él se genera. El cuidado de las áreas jardinadas públicas y privadas de la ciudad

requiere de la poda frecuente del pasto y sucede que, en muchas ocasiones, el desecho no es recogido por los camiones recolectores de basura, lo que hace que se acumule en terrenos baldíos provocando contaminación visual y favoreciendo la proliferación de fauna nociva. Su degradación espontánea es lenta debido a su contenido de lignina.

Una fracción reducida de la generación total de este desecho se incorpora en procesos de "composta". Por ejemplo, en la Ciudad Universitaria se dispone de zonas especiales para formar pilas con los residuos de jardinería colectados en sus propias áreas verdes y biodegradarlos, convirtiéndolos en "composta" que es reincorporada para mejorar la calidad del suelo de esas mismas zonas jardinadas. No se da tratamiento al pasto cortado en otros espacios verdes de la Ciudad de México ni en los jardines privados, por lo que la acumulación de estos residuos es un problema que requiere solución.

(c) Paja de trigo

La paja de trigo (*Triticum aestivum*) es un desecho agrícola que se genera en abundancia en muchas regiones del mundo, por lo que es un recurso que se encuentra disponible, a título "gratuito". La composición de la paja de trigo (contenido de hemicelulosa, celulosa y lignina) varía entre ciertos límites, dependiendo de la zona de cultivo, variedad del grano, época del año, condiciones de almacenamiento, etc. La paja de trigo no es un desecho urbano pero se le incluyó en este trabajo como sustrato control, ya que su estructura física favorece la existencia de condiciones aerobias en el medio, factor que contribuye a la eficiencia biológica de los sustratos que se utilizan

para el cultivo de hongos comestibles, *Pleurotus* spp. (Guzmán y col., 1993).

(d) Fibra de algodón

La fibra de algodón es un componente del pañal desechable, por lo que en esta investigación se analizarán los datos obtenidos al utilizar como sustrato un material celulósico "puro", comparándolos con los obtenidos al utilizar pañales desechables usados, en que el componente celulósico está mezclado con materiales no degradables como el polietileno, el polipropileno y el poliacrilato de sodio. Se espera que los resultados obtenidos al utilizar la fibra de algodón industrial permitan evaluar indirectamente la posibilidad de degradación de la fracción celulósica del residuo de pañal desechable.

(d) Fibra de algodón

La fibra de algodón es un componente del pañal desechable, por lo que en esta investigación se analizarán los datos obtenidos al utilizar como sustrato un material celulósico "puro", comparándolos con los obtenidos al utilizar pañales desechables usados, en que el componente celulósico está mezclado con materiales no degradables como el polietileno, el polipropileno y el poliacrilato de sodio. Se espera que los resultados obtenidos al utilizar la fibra de algodón industrial permitan evaluar indirectamente la posibilidad de degradación de la fracción celulósica del residuo de pañal desechable.

(e) Desechos de café (posos de café o café lavado)

La pulpa de café (*Coffea arabica*) es un desecho

que se genera en las zonas cafetaleras del país (Chiapas, Veracruz y Oaxaca) y podría ser aprovechado como alimento para el ganado pero tiene el inconveniente de que contiene entre otras sustancias tóxicas, taninos y cafeína (González-Medina, 2001; Solís-Fuentes, 1997; Anónimo, 2001a). Salmones y col. (2000) estudiaron la liberación por hongos microscópicos de enzimas (cafeinasas y tanasas) que eliminarían dicho carácter tóxico. Investigadores del Instituto de Ecología de Xalapa y del Colegio de Posgraduados de Puebla (Guzmán y Martínez-Carrera, 1985; Bis'ko y Bilay, 1992; Salmones y col., 2000) han mostrado que el hongo *Pleurotus* spp. metaboliza 90% de la cafeína residual en la pulpa o la cascarilla de café, reduciendo de esa manera la toxicidad del desecho.

Diversos investigadores (Bis'ko y Bilay, 1992; Guzmán y Martínez-Carrera, 1985; Bermúdez y col., 1994; Salmones y col., 2000) han cultivado el hongo *Pleurotus* sobre residuos agrícolas adicionados con pulpa de café. Los resultados muestran que el contenido relativamente alto de nitrógeno orgánico (nitrógeno proteínico + nitrógeno de la cafeína) tiene un efecto "enriquecedor" sobre el sustrato, que eleva la eficiencia biológica del cultivo y el porcentaje de proteína en las setas.

La pulpa de café no es un desecho urbano a gran escala pero, en las grandes ciudades como la Ciudad de México, se genera un volumen importante de residuos de grano de café procesado: *Posos de café* o *café lavado* (desecho de la percolación del grano de café). El café lavado, al igual que la pulpa y la cascarilla de café, contiene restos de cafeína en cantidades que dependen de la variedad de café, su grado de molienda y tostado y, el proceso de percolación a que fue sometido. En

este estudio se incorporó este material, que se desecha por separado, para evaluar un posible efecto "enriquecedor" de los sustratos celulósicos, debido a la presencia de cafeína como fuente de nitrógeno.

(f) Penachos de piña

En las zonas tropicales de México, principalmente en los estados de Veracruz y Oaxaca, se cultivan grandes cantidades de piña (*Ananas comosus*), fruta que durante todo el año se vende en supermercados, mercados públicos y tianguis de la Zona Metropolitana del Valle de México. En el supermercado, se vende la piña con todo y penacho, en tanto que en los mercados públicos y en los tianguis, el vendedor elimina el penacho y lo deposita, como un desecho separado, en recipientes para "basura". Este desecho "separado" en el sitio de generación, puede ser colectado en plantas enlatadoras y envasadoras de productos de piña.

Bautista y col. (1998), investigadores del Instituto de Ecología de Xalapa realizaron estudios combinando el penacho de piña, que es un material rico en lignina, con un sustrato pobre en lignina (bagazo de caña), para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. La adición del penacho de piña condujo a una mayor eficiencia biológica del cultivo que la obtenida en los cultivos sobre bagazo de caña. Estos datos concuerdan con los resultados obtenidos por Bis'ko y Bilay (1992) en sustratos con contenidos variables de lignina.

La lignina es el componente de la fibra vegetal más difícil de degradar. Kirk y col. (1978) reportan la degradación de hasta 100% del contenido de lignina sintética, en ensayos *in vitro*, en que se utilizaron enzimas ligninolíticas aisladas de *Pleurotus* spp. "hongos de la pudrición blanca".

La presencia de lignina parece ser necesaria para la degradación de la celulosa presente en la fibra vegetal (Stamets y Chilton, 1983), por lo que en esta investigación se evalúa el posible carácter "enriquecedor" de este material rico en lignina sobre residuos celulósicos de origen urbano.

(g) Inóculo (granos de trigo invadidos por el micelio del hongo)

El inóculo o "semilla" del hongo, es el micelio que se desarrolló y está soportado en un sustrato rico en nutrimentos, como el grano de trigo (*Triticum aestivum*). Los granos de trigo no están considerados parte del sustrato pero debido a que se adicionan a éste en una proporción de 10% del peso seco total y aportan una fracción del contenido de nitrógeno del sustrato, al inicio del experimento, se analizó su composición para tomarla en cuenta al calcular la composición inicial de los diferentes sustratos empleados en esta investigación.

2.1.2 Componentes de los materiales que fueron usados como sustrato

Los componentes más importantes de los materiales que son usados como sustrato para el cultivo del hongo *Pleurotus* spp., son: La fibra y sus diferentes fracciones (hemicelulosa, celulosa y lignina), los materiales nitrogenados (proteínas y alcaloides), los minerales y el agua. A continuación se mencionan los datos más importantes de cada uno.

Fibra

El componente mayoritario de los vegetales es la

fibra. La fibra constituye la pared de las células vegetales y está conformada por proporciones variables de hemicelulosa, celulosa y lignina; además, contiene entre 5 y 10% de compuestos polifenólicos (complejos polisacáridos-proteína-polifenol) y una pequeña cantidad de polisacáridos neutros y grupos acetilo (Monro, 1996).

Los componentes de la fibra vegetal están organizados en estructuras tridimensionales complejas no uniformes que han sido descritas parcialmente para algunas especies y partes vegetales. Aman y Westerlund (1996) definen los tejidos parenquimatosos o lignificados, como matrices multicomponente de polímeros con ligaduras cruzadas en las que están incluidas las microfibrillas de celulosa. Las paredes celulares de las células vegetales contiguas están unidas por la lamela media, cemento intercelular que es una mezcla de polisacáridos: Pectinas y polímeros del ácido galacturónico parcialmente esterificado con grupos metilo. Los grupos carboxilo libres del ácido galacturónico interaccionan con iones inorgánicos formando pectatos (Haslam, 1981).

La degradación de la fibra vegetal es un proceso sustantivo dentro el ciclo del carbono, actividad biológica que es desarrollada en el medio natural por organismos saprófitos entre los que destacan los hongos basidiomicetos, como *Pleurotus* spp. y un número limitado de hongos unicelulares y bacterias.

Hemicelulosa

La hemicelulosa es un polímero natural constituido por cadenas lineales de azúcares diferentes a la glucosa, entre los que abunda la xilosa con sustituyentes diversos. Las moléculas de hemi-

celulosa no forman fibrillas, lo que hace que puedan ser hidrolizadas con mayor facilidad que las fibras de celulosa. La hidrólisis metabólica de la hemicelulosa es catalizada por enzimas hidrolíticas específicas que han sido identificadas en algunas bacterias y hongos (Eyzaguirre, 2000). La Figura 2.1 muestra el monómero típico y un fragmento de la estructura de este polímero.

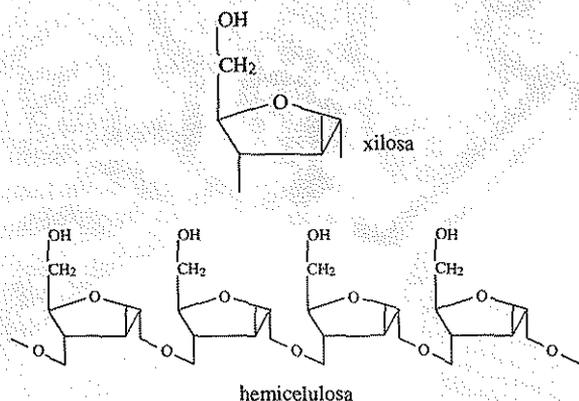


Figura 2.1 Hemicelulosa. Monómero y estructura del polímero (Lehninger, 1991)

Celulosa

La celulosa es el compuesto orgánico más abundante en la naturaleza. Las fibras de celulosa constituyen el esqueleto rígido de la madera y están presentes en todas las estructuras vegetales. La celulosa nativa se encuentra en forma de largas cadenas no ramificadas que contienen regiones ordenadas (cristalinas) combinadas con regiones sin estructura aparente (no cristalinas), lo que es parte de la complejidad y variaciones naturales de los polisacáridos en las plantas. Las variaciones en la estructura de la celulosa dependen de la especie, órgano, estado de desarrollo y condiciones

de crecimiento e influyen en su posibilidad de ser hidrolizadas (Aman y Westerlund, 1996).

Desde el punto de vista de su composición química, la celulosa es un polisacárido formado por cadenas lineales de unidades monoméricas de glucosa, que están unidas por enlaces β -glucosídicos. Los enlaces β -glucosídicos son hidrolizados por β -glucosidasas, enzimas que sólo se encuentran en cierta clase de hongos macroscópicos, entre ellos, más de 50 especies del género *Pleurotus*, en algunos de los microorganismos que se localizan en el tracto digestivo de los insectos xilófagos y de los rumiantes y en un número reducido de especies de hongos microscópicos y bacterias de vida libre (Bis'ko y Bilay, 1992). La molécula de celulosa es degradada por las enzimas hidrolíticas (1 \rightarrow 4) β -D-glucancelobio-hidrolasa; endo-(1 \rightarrow 4) β -D-glucan-4-glucan hidrolasa y β -D-glucósido glucohidrolasa, enzimas que no son producidas por el ser humano, organismo que no tiene la capacidad de degradar a la celulosa. La Figura 2.2 muestra el monómero y un fragmento de la estructura química de este polímero.

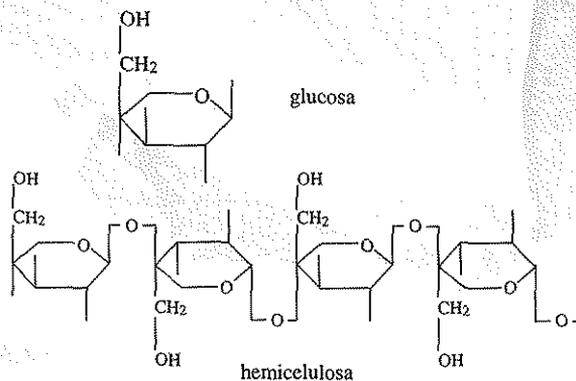


Figura 2.2 Celulosa y estructura del monómero (Lehninger, 1991)

Lignina

La lignina es un polímero tipo malla, conformado por un número muy elevado de unidades de fenilpropano. En las gimnospermas, las unidades monoméricas predominantes son los radicales guaiacilo, en tanto que en las angiospermas, además

de los radicales guaiacilo hay grupos siringilo (Kirk y Farrell, 1987; Higuchi, 1990). Su estructura tridimensional está conformada por cadenas lineales entrecruzadas unidas por grupos metoxi o fenoxi. La Figura 2.3 muestra tres de las unidades monoméricas y algunas de las estructuras de este polímero.

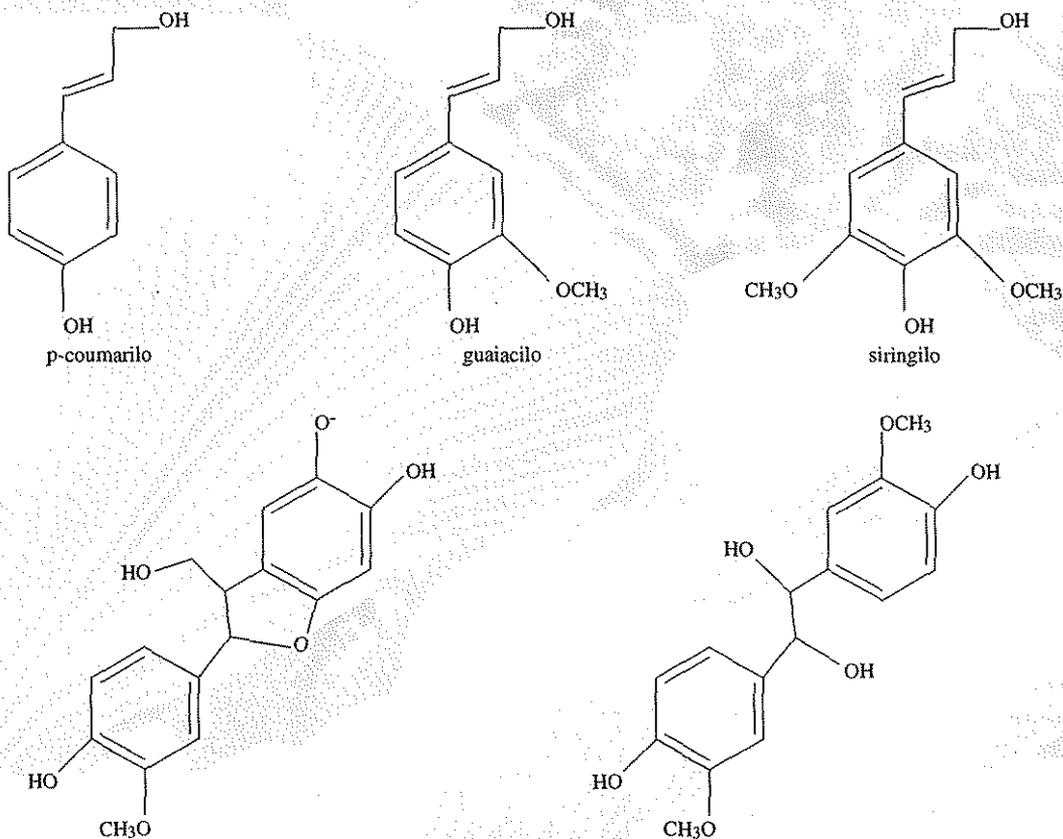


Figura 2.3 Lignina: Monómeros y tipos de enlace presentes (Higuchi, 1990)

La molécula de lignina es insoluble en agua y ocupa la zona intermedia entre la lamela y las microfibrillas celulósicas, está enlazada a la hemicelulosa y a las pectinas a través de enlaces de tipo covalente. La estructura de la lignina proporciona a la molécula una gran resistencia a la acción de los agentes químicos y de los sistemas enzimáticos de la mayoría de los organismos degradadores y es el componente de la fibra vegetal más difícil de ser degradado.

Las funciones más importantes de la lignina son: Reducir la permeabilidad del agua a través de la pared celular, impartir rigidez a los tejidos vegetales y unir las células vegetales creando una estructura resistente al impacto, a la compresión y a la deformación (Kirk y Farrell, 1987; Bis'ko y Bilay, 1992; Hadar y col., 1992), funciones que "protegen" de la acción de agentes químicos y biológicos a las demás fracciones de la fibra vegetal.

El elevado peso molecular (600 a 1000 kdaltones) de la molécula de lignina evita que penetre al interior de las células, por lo que su metabolismo debe ser extracelular. La degradación de la lignina es catalizada por enzimas con actividad oxidativa, entre las que una de las más importantes es una peroxidasa manganeso-dependiente. La degradación de la molécula de lignina requiere que sea limitada la concentración de nitrógeno en el sustrato (Kirk y col., 1978, Glenn y col., 1983).

Lignocelulosa

El complejo de hemicelulosa, celulosa y lignina, se denomina lignocelulosa. La proporción relativa de cada componente varía en las diferentes estructuras vegetales, por ejemplo, en la madera hay

entre 15 y 35% de hemicelulosa, entre 27 y 50% de celulosa y de 17 a 35% de lignina (Richard y Trautmann, 2000).

La resistencia que ofrece la molécula de lignina a ser degradada, permite estimar empíricamente el porcentaje de degradabilidad espontánea de un desecho lignocelulósico, a partir del porcentaje de lignina en la materia orgánica degradable. Se calcula con la siguiente fórmula (Tchobanouglos, 1994):

$$\text{Fracción biodegradable} = [0.83 - (0.028 \times \text{porcentaje de lignina})] \times 100 \quad (2-1)$$

En esta investigación se utilizó esa fórmula para calcular el porcentaje empírico de biodegradabilidad espontánea de los materiales que se usaron como sustrato para el cultivo del hongo *Pleurotus*. Los resultados aparecen en la Tabla 2.2.

Puede observarse que la degradación espontánea del penacho de piña es prácticamente nula (0%) debido a su elevado contenido de lignina, en tanto que la fibra de algodón tiene un porcentaje de degradabilidad de 83%. Para el resto de los materiales, el porcentaje de degradación corresponde al intervalo entre 16 y 70%.

Tabla 2.2. Porcentaje de degradabilidad (fracción biodegradable) de los materiales utilizados (Delfin-Alcalá y col., 2001)

Material	Fracción biodegradable
Paja de trigo	45%
Poda de pasto	67%
Fibra de algodón	83%
Café lavado	16%
Penachos de piña	0%

La fórmula permite calcular el porcentaje de degradación pero no el tiempo en que dicho proceso deberá ocurrir. Indiscutiblemente, los residuos celulósicos son biodegradables pero en el medio natural dicho proceso es muy lento y puede requerir muchos años para completarse. En materiales compuestos, como son los residuos urbanos en que la celulosa es parte de un complejo, como ocurre en los desechos de jardinería o en los pañales desechables usados, los otros materiales presentes dificultan el acceso de las enzimas hidrolíticas que pueden romper las moléculas de celulosa y de hemicelulosa.

En las pilas destinadas a la producción de composta se incorporan residuos de jardinería. El material residual de dicho proceso biológico (composta) consiste en fragmentos de madera que no fueron degradados y "ácidos húmicos". Ese residuo contiene casi la totalidad de la lignina y una fracción de la celulosa que estaban presentes en los materiales originales sometidos al tratamiento. La lignina y la celulosa son precisamente los materiales que puede degradar el hongo *Pleurotus* spp.

Componentes nitrogenados

Kirk y col. (1978) reportan que la fuente de nitrógeno y su concentración en el medio, son reguladores de la actividad de las enzimas lignocelulolíticas de los hongos. La oxidación metabólica de la lignina requiere que sea limitado el contenido de carbono, azufre o nitrógeno (Anónimo, 2001c). Glenn y col. (1983) encontraron en cultivos in vitro, en que utilizaron enzimas ligninolíticas para provocar la oxidación de ligninas sintéticas suspendidas en medios líquidos, que la lignina no se degradaba cuando había concentraciones elevadas de nitrógeno.

Los hongos son organismos que pueden utilizar el nitrógeno presente bajo la forma de nitritos, nitratos, sales de amonio y compuestos orgánicos, pero no tienen la capacidad de fijar el nitrógeno atmosférico (Anónimo, 2001c). Dosoretz y col. (cit. en Kokhraidze y Elisashvili, 1993) indican que los compuestos orgánicos son la fuente de nitrógeno más conveniente de nitrógeno para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*.

No se encontraron referencias de trabajos en que se relacione la degradación del sustrato con el contenido de nitrógeno, sólo hay algunos en que se relaciona dicho contenido de nitrógeno con la eficiencia biológica del cultivo. Por ejemplo, Sobal y col. (1988) elevaron la eficiencia biológica al incorporar rastrojo de haba y frijol (alto contenido de nitrógeno) a un sustrato de paja de cebada. Martínez-Carrera y col. (1990) informan haber obtenido bajo rendimiento al cultivar *Pleurotus ostreatus* en bagazo de caña (bajo contenido de nitrógeno), en comparación con la eficiencia biológica lograda al utilizar sustratos con alto contenido de nitrógeno, entre ellos, paja de cebada y pulpa de café. González y Huerta (2000) realizaron algunos ensayos tendientes a encontrar la concentración óptima de la razón carbono orgánico/nitrógeno para incrementar la eficiencia biológica de cultivos de *Pleurotus ostreatus*.

En la producción de composta, un parámetro importante es la relación carbono/nitrógeno (C:N). En dicho proceso, la razón C:N considerada óptima es de 30:1; cuando el porcentaje de nitrógeno es más elevado, el proceso es menos eficiente y se favorece la anaerobiosis (Richard y Trautman, 2000). El cultivo de *Pleurotus* y la reducción de peso del sustrato son un tipo espe-

cífico de "composta", por lo que conviene tener en cuenta la relación carbono orgánico/nitrógeno orgánico (C/N) al seleccionar los materiales que se van a acondicionar como sustrato para cultivar este hongo.

Proteínas

Entre los sustratos que se incluyen en este estudio, el algodón sólo contiene el nitrógeno aportado por el grano de trigo ("semilla" de *Pleurotus*). Los componentes del pañal desechable tampoco contienen nitrógeno pero, en los pañales usados, hay una cantidad indeterminada de ese elemento aportada por la orina y las heces del bebé. En los demás sustratos, el porcentaje de nitrógeno orgánico es mayor en el pasto que en la paja. Para convertir el porcentaje de nitrógeno orgánico en alimentos vegetales se utilizará el factor 6.25 que corresponde al 17% de contenido promedio de nitrógeno en la proteína vegetal (Lehningher, 1991).

Cafeína

La cafeína ($C_8H_{10}N_4O_2$) contiene 28.85% de nitrógeno, por lo que esta sustancia puede ser un aporte importante de nitrógeno orgánico (no proteínico). La cafeína está presente en la cascarilla y el grano de café, lo que permite suponer que queden residuos de esta sustancia en el *café lavado*. En ensayos con paja "enriquecida" con cascarilla de café, hubo un incremento en la eficiencia biológica y en el contenido de proteína de las setas (Guzmán y Martínez-Carrera, 1985), información bibliográfica que motivó que en este trabajo se utilizara *café lavado*, como posible "enriquecedor" de los desechos urbanos propuestos como sustrato para el cultivo del hongo.

Fósforo

El fósforo es un elemento esencial que está presente en las moléculas que participan en los procesos energéticos, entre ellas el ADP y el ATP, además de que forma parte de las moléculas de lecitina, proteínas y ácidos nucleicos (Lehningher, 1991; Conn y col., 2001). El grano de trigo que sirve como soporte a la "semilla" del hongo contiene entre 0.5 y 2% de ácido fítico (hexafosfato de mioinositol), además de otros compuestos que contienen fósforo en su molécula.

Minerales

Los iones metálicos más abundantes en las "cenizas" de los tejidos vegetales son: Calcio, magnesio, potasio, hierro y sodio. Se encuentran trazas de algunos otros elementos, entre ellos, boro y manganeso. El manganeso es un elemento importante para los hongos degradadores de madera, ya que forma parte de una de las enzimas ligninolíticas de los hongos basidiomicetos, entre ellos, *Pleurotus* spp. (Hadar y col., 1992).

El residuo insoluble de la serie de digestiones que conducen a la determinación de los componentes de la fibra vegetal, es fundamentalmente óxido de silicio, mineral presente en los tejidos vegetales. Este residuo siempre será menor que el contenido de cenizas, ya que en las cenizas están presentes minerales solubles, principalmente sales de sodio y potasio.

Agua

El contenido de agua en el sustrato es un factor fundamental en los procesos de invasión por el micelio del hongo y durante la fructificación de

Pleurotus. El sustrato debe contener 90-100% de humedad para que haya buena invasión por el micelio, 95% al inicio de la fructificación (aparición de los primordios) y un poco menos, 85-92% durante la cosecha propiamente dicha (Stamets y Chilton, 1983). En los sustratos lignocelulósicos, el contenido de agua depende en buena medida de la estructura y capacidad de retención de agua de los materiales.

Polímero superabsorbente

Uno de los componentes más importantes, desde el punto de vista de la funcionalidad de los pañales desechables, es el polímero superabsorbente (Buchholtz, 1996). Este material, al que en esta investigación se le refiere como poliácridato, es un copolímero del ácido acrílico o la acrilamida y el acrilato de sodio. El poliácridato fue incorporado a los pañales desechables, por primera vez en 1980 (Japón). En Estados Unidos se empezaron a comercializar, en 1984, pañales desechables con un polímero superabsorbente. Desde ese país llegaron a México esos pañales desechables altamente eficientes pero de alto costo, por lo que su uso era limitado. En el momento actual, prácticamente todas las marcas y presentaciones comerciales de pañales desechables contienen entre 7 y 10% de un polímero sintético que se gelatiniza al retener los líquidos corporales eliminados por el bebé.

Desde el punto de vista de su composición y estructura químicas, el poliácridato de sodio se puede visualizar como una molécula tridimensional constituida por un conjunto de cadenas hidrocarbonadas paralelas interconectadas por enlaces éster ($-\text{CO}-\text{O}-\text{C}-$), a distancias preestablecidas. La carga negativa de los grupos carbo-

xilo es compensada por los iones de sodio intercalados entre las cadenas. El grupo funcional éster tiene algunas propiedades químicas comunes con los enlaces metoxi y fenoxi que están presentes en la molécula de lignina ($-\text{C}-\text{O}-\text{Me}$; $-\text{C}-\text{O}-\phi$). En la lignina, las uniones $-\text{C}-\text{O}-$ son los puntos de ruptura de la molécula al oxidarse y, es posible, que algunos de los enlaces $-\text{C}-\text{O}-$ del poliácridato también sean sensibles a la acción de enzimas oxidativas. La Figura 2.4 muestra los monómeros y un fragmento de la estructura del "poliácridato".

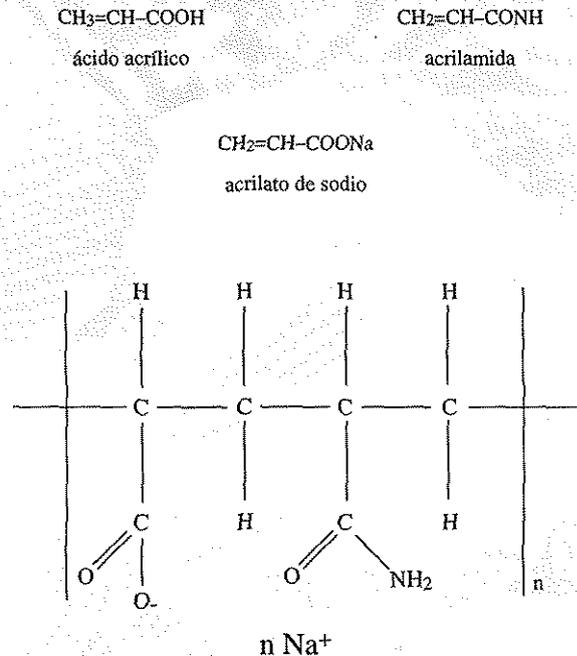


Figura 2.4 "Poliácridato de sodio": Monómero y estructura del polímero (Po, 1994)

2.2 Cultivo del hongo *Pleurotus* spp. en materiales lignocelulósicos

Uno de los componentes básicos de la nutrición de los hongos lo representan los carbohidratos. Muchas especies crecen sobre materiales amiláceos, relativamente fáciles de hidrolizar, pero son menos las que pueden invadir y metabolizar materiales lignocelulósicos. Los hongos basidiomicetos, entre ellos *Pleurotus* spp., desempeñan un papel fundamental como biodegradadores, ya que son organismos descomponedores de los materiales lignocelulósicos que constituyen la materia vegetal: Hemicelulosas, celulosas y ligninas. Kirk y Farrell (1987) reportan que los "hongos de la pudrición blanca", entre los que se incluye el género *Pleurotus*, son los degradadores más rápidos y eficientes de la lignina. Los hongos se utilizan como alimento en la nutrición humana. En muchas localidades de México se consumen variedades regionales que crecen espontáneamente en época de lluvias, algunas de las cuales se han empezado a cultivar en instalaciones domésticas, a pequeña escala. Se reconoce que las setas tienen un elevado valor nutricional, debido sobre todo, a su alto contenido de proteínas (Guzmán-Dávalos y Soto-Velazco, 1989). Entre los hongos cultivados comercialmente a nivel mundial, *Pleurotus* ocupa el segundo o tercer lugar en importancia (Solórzano y Noreña, 1992; Hernández y col., 1994; González y Huerta, 2000).

2.2.1 Descripción de *Pleurotus* spp.

Pleurotus spp. es un hongo del que se conocen más de 50 especies, de las que cerca de 20 son comestibles (Anónimo, 2001b). En estado silvestre, el hongo crece sobre el tronco de árboles

muerdos en los que, al degradarse la lignina (compuesto colorido), queda un residuo de color blanco (celulosa). Es debido a esta característica que se conoce a *Pleurotus* como "hongo de la pudrición blanca".

A nivel mundial son cultivadas comercialmente una docena de especies de *Pleurotus*, utilizando como sustrato: Madera, aserrín, paja y diversos esquilmos agrícolas (Kirk y Farrell, 1987). Las setas de las distintas especies de este género difieren en color, forma, tamaño y longitud del estípite. También hay diferencias en la velocidad de invasión del sustrato y en el tiempo y duración del período de fructificación. La especie que se cultiva con mayor frecuencia es *P. ostreatus*. En México se cultivan en instalaciones domésticas y semicomerciales, otras especies, entre ellas, *P. djamor* (Ancona y col., 2000) y *P. pulmonarius* (Guzmán y col., 2000).

El hongo *Pleurotus* es considerado un producto alimentario con alto valor nutricional ya que contiene más de 17% de proteína. En algunos reportes se mencionan contenidos de proteína hasta de 30-35%, pero deben tomarse con reserva si no se indica el factor de conversión utilizado, ya que parte del nitrógeno de los hongos está en forma de cutina, que es un compuesto nitrogenado no proteínico (Monro, 1996). El factor de conversión de nitrógeno a proteína, que se utilizó en este trabajo fue 4.38 (Ver Anexo 1).

La experimentación con *Pleurotus*, como hongo lignocelulolítico se facilita debido a que es un organismo cuyos requerimientos ambientales y nutricionales de cultivo son relativamente sencillos: Alta humedad, celulosa como fuente principal de carbono (puede crecer en sustratos

de un solo componente), aporte reducido de nitrógeno, concentración elevada de oxígeno y trazas de algunos iones minerales. Desde el punto de vista físico, si los materiales que se usan como sustrato carecen de estructura y no permiten la existencia de espacios con oxígeno atmosférico, el proceso se va a la anaerobiosis y puede inhibirse la degradación de la lignina (Stamets y Chilton, 1983). La colonización del sustrato por el micelio del hongo requiere entre 10 y 14 días después de la inoculación con la semilla (García, 1991; Herrera y Ulloa, 1990; Martínez-Carrera y col., 1988, 1991a, b, 1993; Guzmán y col., 1993).

En cultivos destinados a la producción comercial, deben cuidarse ciertos parámetros ambientales. Por ejemplo, en la etapa de fructificación es muy importante la ventilación eficiente del local para evitar que el contenido de bióxido de carbono exceda 0.07%, lo que retrasaría el crecimiento de las setas. Para un desarrollo máximo de las setas y una conversión biológica eficiente de los materiales, es necesario contar con dispositivos que permitan controlar la temperatura y cuidar que durante las etapas de fructificación y cosecha, el cultivo esté sometido a un ciclo de luz/oscuridad de 12 x 12 horas (García, 1991; Guzmán y col., 1993; Rodríguez y col., 1994).

Desde los años 70 se han realizado estudios encaminados a evaluar la eficiencia del hongo para colonizar y producir cuerpos fructíferos sobre esquilmos y desperdicios agrícolas. Con dicho propósito se han utilizado, entre otros, pulpa de café, hojas de plantas herbáceas, bagazo de caña de azúcar, paja de cebada, lirio acuático, etc.

Pleurotus tiene la capacidad de degradar hasta 60% de la compleja estructura molecular de la

lignina presente en las estructuras vegetales debido a que produce enzimas que dan lugar a una serie de cambios oxidativos, entre ellos, la despolimerización progresiva y la ruptura de los anillos aromáticos. Como resultado de esos procesos bioquímicos, la molécula se rompe liberando fragmentos que, por su bajo peso molecular, pueden ser metabolizados intracelularmente. El proceso ligninolítico es mediado por un sistema enzimático extracelular inespecífico, de carácter oxidativo que se encuentra dentro de las vainas hifales de mucopolisacáridos de los hongos (Palmer y col., cit. en Kirk y Farrell, 1987), por lo que para la oxidación de la lignina es necesario que haya contacto estrecho entre ésta y el micelio.

A pesar de que la energía potencial de la lignina es mayor que la de la celulosa, los hongos parecen no tener la capacidad de utilizar a aquella como fuente de carbono o de energía: La degradación de la molécula de lignina requiere de una fuente de energía utilizable como cosustrato. A un incremento en la degradación de la lignina corresponde un incremento en la degradación de la celulosa (Anónimo, 2001c). En experimentos *in vitro* (Higuchi, 1990) se encontró que la descomposición de 5 mg de lignina requería el consumo de 100 mg de glucosa que, al actuar como una fuente inmediata de energía, explica la conveniencia de utilizar como sustratos, materiales previamente fermentados (Guzmán-Dávalos y col., 1987b; Wang y col., 2001).

La enzima clave en la degradación de la lignina es la ligninasa, aunque también intervienen: La lacasa (enzima oxidante de los fenoles), una peroxidasa Mn-dependiente y un conjunto de enzimas formadoras de H₂O₂ (Kirk y Farrell, 1987). Los resultados de las investigaciones de

esos investigadores muestran que la mayor actividad de la lacasa o polifenol oxidasa (Poly-Phenol-Oxidase, PPO, por sus siglas en inglés) se presenta a los 4 días de incubación. La actividad de esta enzima decrece cuando el micelio del hongo ha invadido completamente el sustrato y se inicia la formación de primordios. En experimentos realizados utilizando sustratos que contienen algodón como uno de sus componentes, se reportan eficiencias bajas de actividad de la PPO (Kirk y Farrell, 1987).

En la etapa inicial del cultivo, durante el crecimiento de la biomasa micelial, predomina la degradación de la celulosa sobre la degradación de la lignina, debido a que la actividad de la celulasa sobrepasa la actividad de la monofenol oxigenasa, dicha actividad hidrolítica aumenta al aparecer los primordios. Como resultado de la actividad enzimática de la celulasa se forman polisacáridos extracelulares constituidos fundamentalmente por glucosanos, con escasa presencia de manosa y galactosa. La producción de celulasas está ligada a la aparición de los cuerpos fructíferos y disminuye después de la cosecha (Kirk y Farrell, 1987; Danilyac y col., 1989, cit. en Bis'ko y Bilay, 1992; Soto-Velazco y col., 2000).

Bis'ko y Bilay (1992) investigaron el efecto de la relación celulosa/lignina sobre la eficiencia de la degradación de los sustratos inoculados con *Pleurotus*. Los sustratos que emplearon fueron: Paja de trigo, paja de lino y residuos de girasol previamente sometidos a esterilización (por calentamiento a 200°C durante 40 minutos). Al inocular con un cultivo puro de *P. ostreatus*, los sustratos que habían sido sometidos a ese tratamiento térmico, se obtuvieron cultivos

axénicos. En este ensayo, hubo mayor degradación de celulosa que de lignina durante la etapa de invasión, lo que mantuvo constante la proporción celulosa/lignina. En cambio, durante la etapa de fructificación, la lignina se degradó en mayor proporción que la celulosa. El mayor porcentaje de degradación en los sustratos experimentales con que trabajaron estos investigadores correspondió al residuo de girasol (celulosa / lignina = 1.17) y el menor porcentaje a la paja de lino (celulosa / lignina = 0.78). La paja de trigo tenía una relación celulosa / lignina = 1.64. A partir de sus resultados, los autores indican que el grado de degradación de la celulosa y de la lignina depende de múltiples factores, entre ellos, la actividad enzimática, la disponibilidad de oxígeno, la composición del sustrato, la interacción entre el micelio y el sustrato, el genotipo de la cepa y los estadios morfogenéticos.

Como resultado del proceso metabólico, parte de la materia orgánica se libera bajo la forma de CO₂, etileno y agua, con lo que aumenta el contenido porcentual de nitrógeno en el sustrato residual. Bis'ko y Bilay (1992) reportan un incremento de "proteína cruda" en los residuos del cultivo de *P. ostreatus*, de 12 a 33% en paja de trigo, de 4 a 58% en paja de lino y de 20 a 80% en residuos de girasol. Otro factor que contribuye al incremento de la concentración de nitrógeno es la bioasimilación de este elemento por organismos fijadores de nitrógeno atmosférico (Durán-Domínguez-Bazúa, 1987). Debe tenerse cuidado con este parámetro ya que un valor demasiado elevado en el contenido de nitrógeno puede inhibir el crecimiento del hongo *Pleurotus*, como ya se mencionó.

En condiciones de baja presión de oxígeno y alta concentración de CO₂ (20,000 ppm), como las

que se presentan durante el periodo de invasión del micelio, se inhibe el desarrollo de competidores del hongo *Pleurotus*, lo que reduce la posibilidad de contaminación por hongos y bacterias que podrían competir por el sustrato, ya que no son óptimas para el desarrollo de esos organismos (Zadrazil y Grabbe, 1983).

2.2.2 Antecedentes del cultivo de *Pleurotus* usando residuos agrícolas

El tratamiento que se propone en este estudio para la reducción de los desechos urbanos es la descomposición bioquímica de la celulosa, utilizando como agente biológico un hongo con actividad celulolítica, *Pleurotus djamor*. El cultivo de *Pleurotus* spp. es un proceso productivo que se aplica con frecuencia a desechos agrícolas en entornos rurales, pero que no se ha utilizado en residuos sólidos municipales.

Las actividades agrícolas generan grandes volúmenes de residuos lignocelulósicos de índole variada, parte de ese desecho se utiliza para la alimentación animal, en tanto que el resto representa un problema de contaminación, al que se ha dado solución parcial acondicionándolo como sustrato para el cultivo del hongo comestible *Pleurotus* spp.; el residuo del cultivo puede finalmente ser suministrado como alimento para el ganado.

En un ensayo tendiente a incrementar la digestibilidad del rastrojo de maíz, se encontraron reducciones de peso de la materia seca, hasta de 70% (Soto-Velazco y col., 2000). Entre los estudios encaminados a evaluar la productividad de los desechos agrícolas regionales, hay referencias a residuos "enriquecidos" o mezclas de

residuos. Generalmente, las mezclas se hacen de una manera empírica, sin considerar la composición de los materiales, por lo que no se pueden predecir los resultados esperados.

Entre los factores químicos que inciden en la eficiencia biológica se han mencionado la relación celulosa/lignina y la existencia de una fuente de nitrógeno biodisponible; la productividad fue mayor en sustratos que contenían concentraciones altas de proteína y 70% de humedad (grano de cebada residual de la producción de cerveza), así como un elevado porcentaje de carbohidratos de bajo peso molecular Wang y col. (2001). Cuando hay exceso de nitrógeno hay liberación de amoníaco lo que hace que se prolongue el proceso al inhibirse el crecimiento micelial, en tanto que los carbohidratos de fácil aprovechamiento pueden convertirse en alimento para competidores del hongo *Pleurotus* (Stamets y Chilton, 1983).

En investigaciones realizadas en la UAM Azcapotzalco, utilizando pañales desechables usados como sustrato para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* IE-8, se han obtenido reducciones significativas de volumen (hasta de 60%) y de peso (hasta de 80%) del sustrato, pero su reproducibilidad ha sido limitada; la eficiencia biológica de esos cultivos fue baja, alrededor de 300 g de setas en fresco por kg de sustrato seco (Nava y Espinosa, 1992; Espinosa y col., 1999). La falta de reproducibilidad es fácil de entender si se considera la heterogeneidad de la composición del sustrato, ya que en una muestra de pañales desechables usados están mezclados pañales de diferente composición que contienen cantidades variables de orina y heces fecales.

El propósito del presente trabajo fue el de evaluar

el proceso biológico de degradación de residuos celulósicos, como el pañal desechable y la poda de pasto, tratamiento que puede conducir a reducir la masa de residuos lignocelulósicos urbanos que deben ser enviados a disposición final. Para ello se determinó la composición de cuatro desechos sólidos municipales y se analizó la posible relación entre su contenido de lignina y celulosa y la eficiencia de biodegradación de esos materiales (reducción de peso del sustrato). En esta investigación, el término eficiencia se usa en referencia al porcentaje de reducción de peso o biodegradación del sustrato; la producción de biomasa comestible o productividad se menciona como "eficiencia biológica" del cultivo.

2.2.3 Materiales empleados como materia prima

En los estudios realizados por diversos investigadores sobre un mismo sustrato, hay diferencias significativas en cuanto a la productividad del cultivo. Es poco frecuente que se mencione la composición del sustrato, sólo se indican los materiales usados: Pasto de pangola, pulpa de café, paja fermentada y paja de amaranto (González y Huerta, 2000); madera y orujo de vid (Mendivil-Salmón y col., 2000); rastrojo de maíz, cascarilla de cacahuete, acahual, paja de trigo (Aguirre, 2000); zacate de maíz, rastrojo de frijol y paja de cebada (Pérez y Alfaro, 1994); paja de trigo (Acosta y col., 1994); desechos de aguacate y piña (Jiménez-Nájera y col., 2000; Bautista y col., 1998); aserrín de caoba y cedro, fibra de coco y olote de maíz (Herrera, 1997); pulpa de café (Hernández y col., 1994); paja de cebada y pulpa de café (Martínez-Carrera y col., 1994); bagazo de henequén fermentado (Burgos y col., 1994); rastrojo de maíz (Rodríguez y col., 1994); residuos

de lino (Rinker, 1991). En las investigaciones en las que había referencias a la composición del sustrato, se reportan diferentes valores para un mismo desecho, datos que tampoco coinciden con los publicados en tablas de composición de alimentos y forrajes, entre ellas, las de Mc Dowell y col. (1974) y Cornell (1998).

Las diferencias de composición mencionadas pueden deberse a que se hayan utilizado distintas especies o variedades de un mismo género, la localización geográfica de las zonas de cultivo, el tipo de suelo en que fueron cultivadas, el clima, la estación del año y los sistemas de recolección, almacenamiento y demás prácticas agrícolas (Tejada, 1983).

Otra fuente de variación es la propia técnica analítica de la fibra y sus componentes, método empírico en el que, para obtener resultados reproducibles, se deben controlar cuidadosamente factores como: Tiempo que tarda en empezar la ebullición en cada uno de los procesos de digestión, tiempo efectivo de ebullición, tamaño y clase del embudo de filtración, temperatura de ebullición (es afectada por la altitud), etc., condiciones que ofrecen dificultades técnicas para ser reproducidas en un laboratorio, aunque sí con un intervalo de confianza que se puede determinar.

Debido a esas discrepancias en los valores publicados, para poder comparar los resultados experimentales que se obtendrían, los materiales específicos que se utilizaron en esta investigación fueron analizados en uno de los laboratorios de química de la UAM Azcapotzalco, por un mismo analista y teniendo especial cuidado en el control de las variables experimentales. Bajo las mismas condiciones se hicieron los análisis de fibra cruda

en los residuos finales, al concluir la etapa de experimentación.

En la Tabla 2.3 se ilustran algunas de las diferencias a que se hizo referencia, para ello se muestran

los valores reportadas por diversos investigadores para el contenido de fibra y sus fracciones, en residuos agroindustriales que fueron utilizados como sustrato para el cultivo de *Pleurotus* spp.

Tabla 2.3 Contenido de fibra, celulosa y lignina en algunos residuos agrícolas

Sustrato	Celulosa %	Lignina %	Fibra %	Referencia	
Paja de cebada	48.0	11.0		Lynch, 1995	
			37.7	Flores, 1988	
			25.4	<i>Ibid.</i>	
Pulpa de café			15.10	Guzmán y col., 1993	
			27.26 (pulpa fresca)	Rojano y col., 1995, cit. en González-Medina, 2001	
			27.91 (pulpa seca)	<i>Ibid.</i>	
			13.2 (pulpa fresca)	Elías, 1978, cit. en Solís-Fuentes, 1997	
			19.50 (pulpa seca almacenada)	Gómez-Brenes y col., 1985, cit. en Solís-Fuentes, 1997	
			16.22 (pulpa seca)	Zuloaga cit. en Solís-Fuentes, 1997	
Corona de piña	30.0	90.0		Bautista y col., 1998	
		7.0		Lynch, 1995	
Paja de trigo		8.9		Lynch, 1995	
		14.0		<i>Ibid.</i>	
		30.5		<i>Ibid.</i>	
		34.0		<i>Ibid.</i>	
		42.0		<i>Ibid.</i>	
		27.3		Bis'ko y Bilay, 1992	
		36.9		Flores, 1988	
Residuos de girasol	31.2	26.6		<i>Ibid.</i>	
		19.0		Bis'ko y Bilay, 1992	
Cáscara de arroz	19.42	19.18		Lynch, 1995	
Residuos de algodón	46.5	22.1		Aguilar, cit. en Vázquez, 1995	
	42.0	15.0		Lynch, 1995	
Orujo de uva		12.0		<i>Ibid.</i>	
		23.38 (sarmientos)		Lynch, 1995	
Bagazo de caña de azúcar	26.89	15.31		Flores, 1988	
			49.6		Aguilar y col., 1982, cit. en Vázquez, 1995
Olote de maíz	17.74	10.47		Flores, 1988	
	28.0	7.0		Aguilar, cit. en Vázquez, 1995	
	36.5			Lynch, 1995	
Rastrojo de maíz	28.2	14.1		<i>Ibid.</i>	
			3.9		Aguilar, cit. en Vázquez, 1995
			11.0		Lynch, 1995
					<i>Ibid.</i>
					81.46
Residuos de lino	30.9	39.4	30.8	Soto-Velazco y col., 1989	
			40.6	Flores, 1988	
				Bis'ko y Bilay, 1992	
Penca de agave			32.39	Flores, 1988	
Cacahuete	42	23		Lynch, 1995	
Paja de arroz	32.1	12.5		Lynch, 1995	
			31.7		Flores, 1988
Salvado de arroz	9.6	7.7		De Rege, cit. en Solís-Fuentes, 1997	
	12.8	13.1		Shibuya, cit. en Solís-Fuentes, 1997	
Desechos de frijol	38.0	16.0		Lynch, 1995	
Aserrín	42.0	27.8		Lynch, 1995	
	39.0	23.0		<i>Ibid.</i>	

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y MÉTODOS

Con objeto de alcanzar los objetivos propuestos, a continuación se describen los materiales utilizados y las condiciones en que se mantuvieron las unidades experimentales, así como los parámetros de respuesta medidos. Se hace referencia también a las técnicas analíticas empleadas para determinar la composición de los materiales y al tratamiento matemático aplicado a los datos obtenidos.

3.1 Inóculo

Se utilizó como inóculo, semilla de trigo invadida por el micelio de *Pleurotus djamor*. Se trabajó con dos variedades de este hongo que fueron donadas por la Unión de Cultivadores de Setas del Estado de México. La diferencia entre ambas variedades era el color de los hongos (más oscuro o más cremoso), por lo que se les identificó como “variedad oscura” y “variedad clara”, respectivamente.

3.2 Sustratos

Como sustrato se utilizaron residuos municipales, celulósicos y lignocelulósicos: Pañal desechable usado, fibra de algodón industrial, poda de pasto, *café lavado* y penachos de piña, solos y combinados, además de paja de trigo, como control.

3.2.1 Diseño experimental

Se propuso un diseño multifactorial, con cuatro sustratos básicos: Algodón (A), paja (Pj), pasto (Ps) y residuo de pañal (Pñ). Esos materiales fueron acondicionados solos y en combinación con dos materiales que, conforme a la literatura, funcionan como *enriquecedores* del sustrato: *Café lavado* (C) y penachos de piña (Pi). El carácter de *enriquecedor* se asigna a la pulpa de café (residuo no disponible en áreas urbanas), por su contenido de cafeína (Guzmán y col., 1993); en este experimento se esperaba que la adición de *café lavado*, desecho que también contiene cafeína, tuviera un efecto semejante. Al mezclar algunos sustratos con el penacho de la piña, se han obtenido eficiencias biológicas más elevadas (Bautista y col., 1998), por lo que se adicionó a los sustratos en estudio.

Cada tratamiento se montó por triplicado, identificándose las unidades experimentales por las iniciales del sustrato y un número. Los sustratos con los números 1, 2 y 3 fueron inoculados con la variedad oscura, en tanto que los identificados como 4, 5 y 6, se inocularon con la variedad clara, de *P. ostreatus*

(Tabla 3.1).

3.2.2 Fuente de los materiales

1. La fibra de algodón industrial fue adquirida en una ferretería del Estado de México que vende, a granel, fibra de desecho de una industria textil.
2. La paja fue suministrada por un cultivador de trigo de la región del Bajío.
3. El pasto (cortado y seco) se colectó en las áreas jardinadas de la Facultad de Estudios Superiores (antes ENEP) Iztacala de la UNAM.
4. Los pañales desechables usados, de diferentes marcas y clases, pero sólo con residuos líquidos, fueron proporcionados por madres que tenían niños pequeños.
5. El café lavado se obtuvo en una cafetería de Naucalpan, Estado de México.
6. Los penachos de piña se colectaron como desecho en un mercado público de Naucalpan, Estado de México.
7. En los sustratos mixtos, la adición de los agentes enriquecedores fue en una proporción de 1:1 en masa, con respecto al material "base" (Tabla 3.1).

3.2.3 Acondicionamiento

Para ser usados como sustratos del hongo, los materiales se acondicionaron previamente de la manera que se indica a continuación:

- Reducción mecánica de tamaño, hasta convertirlos en fragmentos de 1 a 2 cm de longitud (con excepción del café lavado que no requería dicho proceso).
- Mezcla de los componentes, en las proporciones preestablecidas para cada tratamiento. A los sustratos que solamente contenían algodón, se les incorporaron pedazos de envases de plástico (PET) limpios. La rigidez del PET proporcionaba estructura al algodón húmedo, permitiendo la presencia de una "cámara" de aire.
- Pesado de la cantidad prevista, 250 g de material en base seca, de la mezcla de materiales. Previamente se había medido el contenido de humedad de cada uno de los materiales.
- Una vez pesados, los sustratos fueron colocados en bolsas de tamaño adecuado e hidratados. Se usaron bolsas de polipapel porque este material, a diferencia del polietileno, resiste la esterilización en autoclave.
- Hidratación de los sustratos a la humedad recomendada para el cultivo del hongo entre 75 y 85%. La cantidad de agua que debía agregarse, se calculó a partir del contenido de humedad en los diferentes materiales. El agua adicionada era destilada.
- El residuo de pañal desechable no se ajustó al mismo contenido de humedad que los demás sustratos debido a que su grado de humectación era heterogéneo desde que se le colectó. La falta de homogeneidad persistió a pesar de que se le redujo a fragmentos y se le mezcló. El material superabsorbente de los pañales desechables puede retener hasta 500 veces su peso de agua, por lo que el promedio de humedad era superior al 200% en los fragmentos de pañal desechable. Debido a lo anterior, a estos sustratos no se les adicionó agua y se les manejó con su contenido de humedad original.
- Cerrado de las bolsas y esterilización de los sustratos en autoclave (15 minutos a 121°C). Las bolsas con el sustrato se retiraron del autoclave y dejaron enfriar por exposición al ambiente. Una vez a temperatura ambiente, los sustratos esterilizados fueron inoculados.

Tabla 3.1. Diseño experimental. Codificación, sustratos e inóculos en cada tratamiento

Sustrato (250 g de peso seco)	Inóculo (25 g de semilla de trigo invadida con micelio)					
	<i>Pleurotus djamor</i> , variedad oscura			<i>Pleurotus djamor</i> , variedad clara		
Algodón	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5	A-6
Algodón + piña 1:1	APi-1	APi-2	APi-3	APi-4	APi-5	APi-6
Algodón + café 1:1	AC-1	AC-2	AC-3	AC-4	AC-5	AC-6
Pasto	Ps-1	Ps-2	Ps-3	Ps-4	Ps-5	Ps-6
Pasto + piña 1:1	PsPi-1	PsPi-2	PsPi-3	PsPi-4	PsPi-5	PsPi-6
Pasto + café 1:1	PsC-1	PsC-2	PsC-3	PsC-4	PsC-5	PsC-6
Paja	Pj-1	Pj-2	Pj-3	Pj-4	Pj-5	Pj-6
Paja + piña 1:1	PjPi-1	PjPi-2	PjPi-3	PjPi-4	PjPi-5	PjPi-6
Paja + café 1:1	PjC-1	PjC-2	PjC-3	PjC-4	PjC-5	PjC-6
Pañal	Pñ-1	Pñ-2	Pñ-3	Pñ-4	Pñ-5	Pñ-6
Pañal + piña 1:1	PñPi-1	PñPi-2	PñPi-3	PñPi-4	PñPi-5	PñPi-6
Pañal + café 1:1	PñC-1	PñC-2	PñC-3	PñC-4	PñC-5	PñC-6

3.3 Cultivo en los sustratos lignocelulósicos

Para el desarrollo del hongo se siguió la técnica de cultivo propuesta por Guzmán y col. (1993), con la diferencia de que los sustratos no fueron pasteurizados sino esterilizados, con el propósito de evitar posibles riesgos a la salud asociados con el manejo de residuos humanos que pudieran contener organismos patógenos (residuos peligrosos biológico-infecciosos).

3.3.1 Inoculación con *P. djamor*

Las bolsas con los sustratos fueron abiertas en un área estéril y se les agregó, distribuyéndola en forma de una capa central, la "semilla" de una de

las dos variedades de *P. djamor*. La semilla se agregó en proporción de 10%, es decir, 25 g de "semilla" a cada unidad experimental que contenía 250 g de sustrato (en base seca). Para evaluar la degradación espontánea, se montaron unidades experimentales "control", con los sustratos sin inocular.

Las bolsas se cerraron herméticamente para evitar pérdida de humedad y contaminación por organismos ambientales ubicuos y adaptables a variaciones amplias en los parámetros físico-químicos del ambiente. La apariencia de las unidades experimentales al inicio de la etapa de experimentación se muestra en las Fotos 3.1 (algodón, como sustrato base), 3.2 (paja como

sustrato base), 3.3 (pasto, como sustrato base) y 3.4 (pañal desechable como sustrato base), del Anexo 2.

3.3.2 Crecimiento micelial

Las bolsas con los sustratos inoculados se distribuyeron al azar en los entrepaños del anaquel de la cámara de cultivo. La disposición de los sustratos en el anaquel se muestra en la Foto 3.5 del Anexo 2. El anaquel se cubrió con una cubierta de plástico negro, para mantener los cultivos en la oscuridad. Los cultivos se dejaron a temperatura ambiente durante dos semanas. Cada día, entre 9 y 10 de la mañana, fueron medidas la temperatura y la humedad relativa de la cámara de cultivo. (Temp.= 17-18°C; humedad relativa=64-70%). Éstas se mantuvieron de manera manual con un ventilador de aspas marca Hanstai y un humidificador marca Birtman.

Al terminar la primera etapa se reemplazó la cubierta oscura por una cubierta transparente y se hicieron perforaciones a las bolsas de polipapel, para permitir el intercambio gaseoso y de ese modo disminuir la concentración de CO₂ en el interior del sustrato. Las unidades experimentales fueron mantenidas dos semanas más, a temperatura ambiente, bajo iluminación por luz natural.

La técnica de Guzmán y col. (1993) indica que durante la fase de invasión, el sustrato debe tener concentraciones altas de CO₂. En este ensayo no se midió dicha concentración, sólo se supuso que al mantener cerradas las bolsas que contenían el sustrato, el CO₂ producto de la respiración sería retenido en el interior de la bolsa.

Al finalizar la etapa de invasión. (t=4 semanas),

la mayoría de los sustratos, con excepción del pañal desechable, mostraban un grado de invasión que se consideró (apreciación visual) superior al 70%, por lo que se modificaron las condiciones de cultivo para que diera inicio la fructificación del hongo.

3.3.3 Fructificación

Al terminar la fase de invasión, las bolsas se abrieron por completo para facilitar un mayor intercambio gaseoso y crear un ambiente aerobio en el interior del sustrato, ambiente necesario para la aparición de los primordios. En esta segunda etapa, que se prolongó por 12 semanas y concluyó al cosechar los hongos, las bolsas se mantuvieron a la temperatura ambiente bajo el periodo natural de luz-oscuridad, que en esa época en la Cuenca de México era de 12 h de luz y 12 h de oscuridad, con riego diario (aspersión) de agua destilada.

Al rociar para reponer el agua perdida por evaporación y evotranspiración del micelio del hongo, la cantidad de agua que cada sustrato retenía era diferente, por lo que las bolsas se rociaban con un aspersor, una vez al día, entre las 9 y las 10 de la mañana, hasta que cada unidad experimental estaba, en apariencia, saturada con agua, lo que requería aproximadamente 50-60 mL.

Para hacer más eficiente el intercambio gaseoso y reducir la concentración de CO₂ en los sustratos, 3 ó 4 veces al día se hacía funcionar durante 15-30 minutos, el mismo ventilador doméstico usado en la etapa de crecimiento micelial. La temperatura y la humedad relativa ambientes no se controlaron, sólo se midieron cada día, entre las 9 y las 10 de

la mañana; los valores encontrados fueron: Temp. = 17-20°C; humedad relativa = 58-70%. La Foto 3.6 del Anexo 2 muestra la disposición y apariencia de los sustratos finales en el anaquel.

3.3.4 Cosecha

Se dejaron crecer los primordios hasta que se convirtieron en cuerpos fructíferos maduros, lo que se reconoce porque los bordes del hongo tien-

- ◆ Eficiencia biológica (b.h.) = peso fresco de hongos/peso seco del sustrato (Tschierpe y Hartman, 1977)
- ◆ Eficiencia biológica (b.s.) = peso seco de hongos/peso seco del sustrato (Wang y col., 2001)

3.3.5 Cámara de cultivo

El periodo de experimentación fue de junio a septiembre de 2000. Como cámara de cultivo se adaptó uno de los laboratorios del área de Procesos y Medio Ambiente de la UAM Azcapotzalco (4 x 3 m), que tiene una ventana que permite el paso de la luz del sol. Se restringió el acceso a dicho espacio, limitándose a aquellas personas que tuvieran relación con la investigación. Los sustratos se colocaron en los entrepaños de un anaquel metálico, que se podía cubrir con una funda de plástico, negra para tener condiciones de oscuridad y transparente para permitir el paso de la luz. Como ya se mencionó, la cámara de cultivo no disponía de sistemas para el control de la temperatura ni para la humedad relativa, por lo que estos parámetros fueron sólo medidos (cada día, entre 9 y 10 de la mañana): Semana 0 a 4 (invasión): Temp. = 17-18°C; humedad ambiente relativa, 64-70%; semana 4 a 16 (fructificación): Temp. = 17-20°C; humedad ambiente relativa,

den a cambiar de cóncavos a convexos. El corte se hizo a 0.5 cm de la superficie del sustrato, utilizando un bisturí esterilizado. Se registró el peso fresco de los hongos cosechados por día, en cada unidad experimental.

Se calculó la eficiencia biológica de los cultivos, aplicando los dos criterios a que se hace referencia en el Capítulo 1:

58-70%. Para mantener alta la humedad ambiente, durante la etapa de fructificación funcionaba las 24 horas del día, el humidificador de tipo doméstico. Se favorecía el intercambio gaseoso poniendo a funcionar, dos o tres veces al día, por periodos de 15 a 30 minutos, el ventilador doméstico.

3.4 Cultivos *in vitro* (microcultivos)

Con objeto de evaluar el efecto de la presencia de otros organismos presentes en los diferentes sistemas en estudio, se realizó posteriormente, el cultivo *in vitro* de la variedad oscura de *Pleurotus djamor*. Se eligió esta variedad debido a que en los cultivos sobre residuos lignocelulósicos había mostrado mayor velocidad de invasión de los sustratos. Como inóculo se utilizó la misma "semilla" que se había sembrado en los materiales lignocelulósicos, "semilla" que había sido mantenida en refrigeración a 4°C, durante 6 meses.

3.4.1 Inóculos

Se prepararon cinco inóculos:

1. *Pleurotus djamor*. Con un asa de cultivo se tomó una pequeña porción del micelio superficial de la "semilla". Ese fragmento constituyó el inóculo (*Pleurotus* = P).
2. *P. djamor* + organismos acompañantes en el inóculo. Una porción de micelio, tomada del interior de la "semilla", fue suspendida en agua destilada estéril durante 15 minutos (bajo condiciones asépticas). Esta suspensión constituyó el inóculo (*Pleurotus* + acompañantes = PA).
3. *P. djamor* + organismos acompañantes en el inóculo + biota ambiental. El inóculo se preparó en la "cámara de cultivo", bajo condiciones no asépticas. Para ello se suspendió en agua destilada estéril, una porción de micelio tomada del interior de la "semilla", la suspensión se dejó 30 minutos expuesta al ambiente de la cámara de cultivo, para permitir la contaminación con los organismos que pudieron haber estado presentes en la primera parte de la experimentación sobre residuos celulósicos. Esta suspensión constituyó el inóculo (*Pleurotus* + acompañantes + biota ambiental = PAA).
4. *Gliocladium viride*. Es un hongo lignocelulósico que se conserva por resiembra en agar-extracto de malta, la cepa fue suministrada por el cepario de la Facultad de Química/UNAM.

Se utilizó como control de los medios de cultivo utilizados en esta parte del experimento. Una pequeña porción del micelio constituyó el inóculo (*Gliocladium* = G).

5. *G. viride* + *P. djamor*. Un fragmento de los inóculos 1 y 4, fue sembrado simultáneamente en una misma caja de Petri. Esta mezcla constituyó el inóculo (*Pleurotus* + *Gliocladium* = PG).

3.4.2 Medios de cultivo

Como medios de cultivo se prepararon, un medio líquido y tres medios sólidos, a partir de un medio básico para el cultivo de hongos celulolíticos, carente de fuentes de carbono:

Medio básico (MB) para el cultivo de hongos celulolíticos (Atlas, 1993), que contiene sólo los iones minerales indispensables para el crecimiento celular, en este medio se sustituyó el extracto de levadura por los micronutrientes (minerales y vitaminas) recomendados por Balch (1977, cit. en Kirk y col., 1978).

1. Medio líquido caldo-celulosa (CC). Se adicionaron, como fuente de carbono, 8 gramos de celulosa en forma de fragmentos de papel filtro Whatman # 1, por litro de medio básico (MB).
2. Medio sólido agar-celulosa (AC). Se adicionaron 30 g de agar simple, por litro de medio líquido caldo-celulosa (CC).
3. Medio sólido agar-celulosa-lignina (ACL). Se adicionaron 2 g de material leñoso en polvo, por litro de medio sólido agar celulosa (AC).
4. Medio sólido agar-celulosa-superabsorbente (ACS). Se adicionaron 7.5 g de "superabsorbente" (poliacrilato de sodio), por litro de medio sólido agar celulosa (AC). Este medio de cultivo se utilizó para determinar si la presencia de su-

perabsorbente podría haber liberado alguna sustancia tóxica o que inhibiera el crecimiento del hongo *P. djamor*, en los experimentos con pañal desechable usado.

3.4.3 Cultivo e identificación

Los cultivos líquidos fueron sembrados en tubos con campana de Durham, conteniendo 10 mL de medio CC. Los cultivos sólidos se hicieron en cajas Petri con 10 mL de alguno de los medios: AC, ACL o ACS. Los inóculos P, G y PG se sembraron por asada y los PA y PAA, agregando 1 mL de la suspensión correspondiente a cada tubo o caja Petri. Cada tratamiento se montó por

triplicado y tanto los cultivos líquidos como los sólidos se mantuvieron a la temperatura ambiente (medición diaria, entre 9 y 10 de la mañana, Temp.=17.5-23°C). El esquema general del montaje del experimento *in vitro* se muestra en la Tabla 3.2.

Los cultivos líquidos se mantuvieron durante 6 semanas, revisándose diariamente. Los tubos en que apareció turbidez (indicio de crecimiento microbiano), se resembraron en medios específicos para la identificación presuntiva de las bacterias presentes. Los cultivos sólidos se mantuvieron durante 3 semanas. Se tomó nota de la fecha de aparición y las características de las colonias.

Tabla 3.2. Diseño del experimento *in vitro*. Sustratos e inóculos

INÓCULOS	MEDIOS DE CULTIVO											
	CC			AC			ACL			ACS		
P	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
PA	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
PAA	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
G	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
PG	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

P=*Pleurotus djamor*; PA=*Pleurotus* + acompañantes; PAA=*Pleurotus* + acompañantes + biota ambiental; G=*Gliocladium viride*; PG=*P. djamor* + *G. viride*; CC=medio caldo-celulosa; AC=medio agar-celulosa; ACL=medio agar-celulosa-lignina; ACS=medio agar-celulosa-superabsorbente.

Con el apoyo de expertos del Cepario de la Facultad de Química de la UNAM y de la FES Iztacala, fueron identificados, a nivel de género, los hongos encontrados. Las bacterias se identificaron a nivel de grupo.

3.5 Determinaciones analíticas

Las determinaciones analíticas fueron realizadas en uno de los laboratorios del Departamento de Energía, de la UAM Azcapotzalco, aplicando técnicas previamente estandarizadas. Las muestras se analizaron por triplicado, con excepción de las determinaciones de fibra cruda que fueron realizadas por duplicado.

Se midió la reducción de peso (en base seca) y la concentración de los componentes seleccionados: humedad, cenizas, nitrógeno orgánico, lignocelulosa, celulosa y lignina en los sustratos, en tres momentos del experimento: Tiempos 0, 4 y 16 semanas. Se midió el peso de hongos frescos recolectados y sus contenidos porcentuales de nitrógeno orgánico y de humedad.

3.5.1 Humedad, cenizas y nitrógeno

Las determinaciones analíticas de humedad (secado a 105°C), cenizas (calcínación a 650°C) y nitrógeno Kjeldahl (digestión en medio ácido y titulación del amoníaco desprendido) de los materiales que se acondicionaron como sustrato, se hicieron conforme a los métodos estándar (AOAC, 1995). En la medición de humedad y cenizas se tomaron en cuenta los señalamientos de Park

(1996), respecto a la volatilización de compuestos orgánicos de bajo peso molecular.

3.5.2 Carbono orgánico

El carbono orgánico se calculó a partir del porcentaje de materia orgánica (materia "volátil" a 650°C), conforme a lo que establece la Norma Oficial Mexicana NMX AA67-1985 (Sedue, Subsecretaría de Ecología, 1985). La Norma indica como factor de conversión para el carbono orgánico de los "residuos sólidos municipales" el valor de 0.40 pero, en este trabajo se utilizó el factor de 0.46, calculado a partir del contenido porcentual de carbono en los materiales que se utilizaron como sustrato: "Biomasa" $C_5H_7O_2NP_{0.2}$ (Manahan, 2000) y celulosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$). Para determinar el contenido de carbono orgánico se aplicaron las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ de materia orgánica} = \% \text{ peso seco} - \% \text{ cenizas} \quad (3.1)$$

$$\% \text{ carbono orgánico} = \% \text{ de materia orgánica} \times \text{factor} \quad (3.2)$$

$$\therefore \% \text{ C orgánico} = (\% \text{ peso seco} - \% \text{ cenizas}) (0.46) \quad (3.3)$$

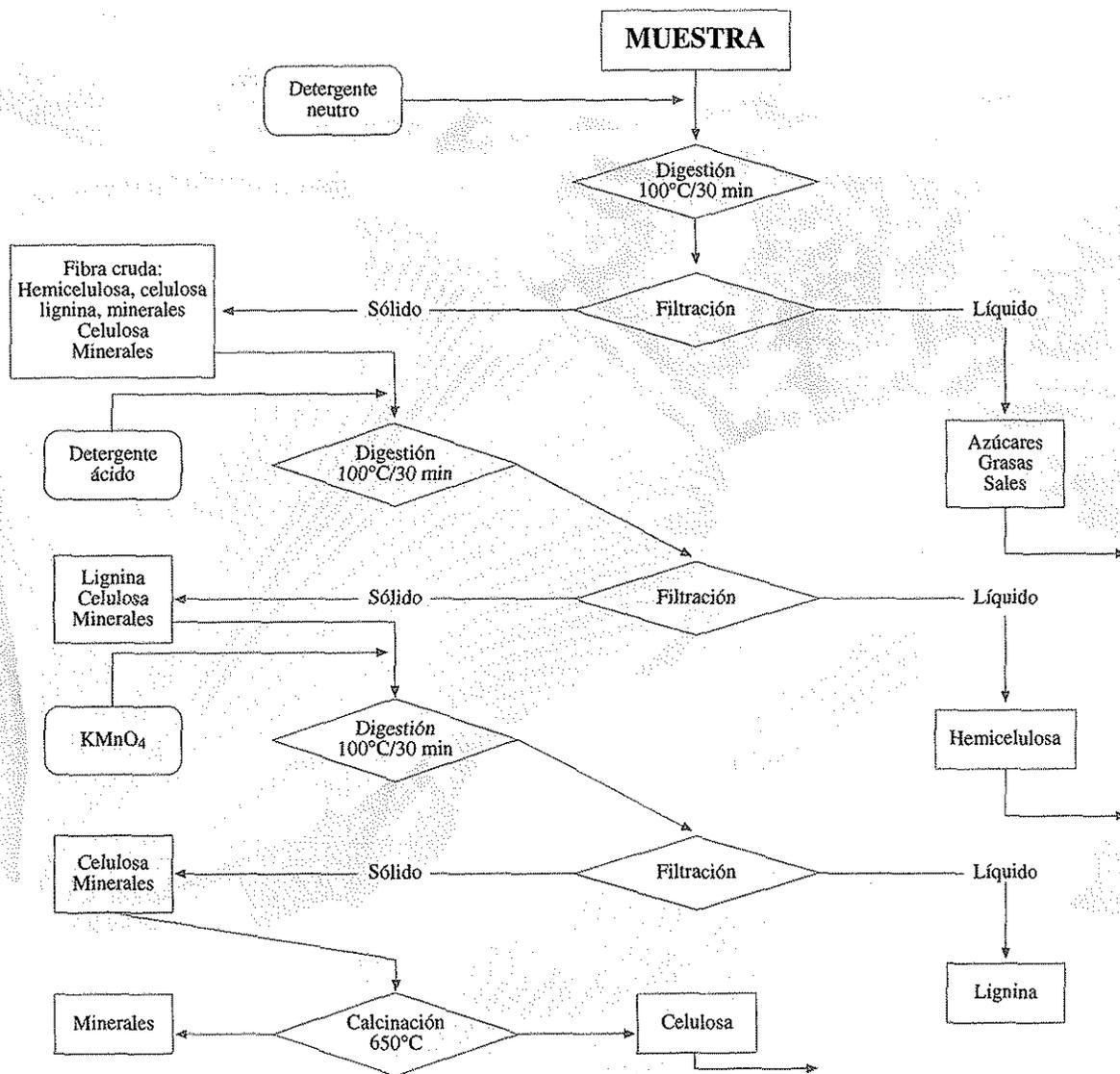
3.5.3 Fibra cruda, hemicelulosa, celulosa y lignina. Técnica de Göering-van Soest

La técnica de Göering y van Soest, 1970 (cit. en Tejada, 1983) consiste en tres digestiones sucesivas, con soluciones de "detergente" (lauril sulfonato de sodio, SLS) neutra, oxidante y ácida. El paso final es una calcínación a 650°C. Los componentes individuales se determinan por las diferencias de peso del residuo antes y después de cada paso. Con el propósito de obtener datos que fueran comparables entre sí, la técnica fue realizada bajo condiciones cuidadosamente controladas, ya que la solubilidad de los com-

ponentes de la fibra puede conducir a resultados no reproducibles (Aman y Westerlund, 1996). Aunado a que, durante las primeras digestiones, la lignina es parcialmente degradada a intermedios solubles en agua (Monro, 1996). A continuación se describen las etapas de la técnica, mismas que se ilustran en la Figura 3.1.

1. En la primera etapa, denominada: Paredes celulares (fibra neutra-detergente) y contenido celular, el material insoluble en el disolvente neutro no tiene un significado fisiológico pero corresponde bastante bien con lo que en la dieta humana se define como "fibra".

Figura 3.1 Técnica de Göering-van Soest para determinación de fibra cruda (Tejada, 1983)



2. La segunda etapa, denominada: Fibra, por el método ácido-detergente, la digestión con un detergente ácido, disuelve la fracción hemicelulósica de la "fibra" y elimina las proteínas, quedando como materiales insolubles: Celulosa, lignina, cutina y cenizas insolubles.
3. La tercera etapa, denominada: Lignina, celulosa y silicio (cenizas insolubles) consiste en una digestión con una solución de permanganato, que oxida a la lignina y la disuelve, quedando como materiales insolubles: Celulosa, cutina y cenizas-insolubles.
4. La cuarta etapa, denominada: Celulosa y silicio (minerales insolubles), consiste en someter el residuo a un proceso de calcinación a 650°C, que carboniza y elimina como CO₂ y agua, el material orgánico (básicamente celulosa ya que la cantidad de cutina es pequeña), dejando como residuo las cenizas insolubles.

3.6 Muestras

Los materiales analizados en el laboratorio fueron muestras de los materiales que se utilizaron como sustrato: Fibra de algodón industrial, paja de trigo, poda de pasto de jardín, penacho de piña, *café lavado* y pañales desechables usados. Se analizó también la semilla del hongo y el material biológico generado.

3.6.1 Pañal desechable

Debido a que las muestras de pañal desechable no eran homogéneas no fue posible obtener muestras representativas, por lo que la composición del pañal desechable se analizó de manera distinta a los demás sustratos. Se separaron manualmente pequeños fragmentos "puros" de

los materiales identificables visualmente en un pañal nuevo. La composición elemental de los componentes, con excepción del polímero superabsorbente (a simple vista se veía contaminado), fue medida en un analizador elemental Carlo Erba Modelo 200 equipado con graficador, del laboratorio del PIQAYQA de la Facultad de Química de la UNAM, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Esta determinación confirmó la identidad de los componentes del pañal desechable que aparecen en el material de empaque del producto. El instrumento es útil para determinar la composición elemental de compuestos orgánicos puros, pero no permite conocer con precisión la de materiales de composición heterogéneo, en los que sería difícil separar muestras pequeñas (3-5 mg) que fueran verdaderamente representativas. Este instrumento sólo se utilizó para analizar los componentes "puros" del pañal desechable.

3.6.2 Desechos urbanos

Al tiempo 0, inicio de la fase experimental se determinó el contenido de humedad de los materiales (paja, pasto, algodón, penachos de piña y *café lavado*). La técnica empleada fue por determinación de la pérdida de peso en estufa, a 105°C (peso constante). Las demás determinaciones analíticas se hicieron sobre las muestras previamente secadas:

- Contenido de cenizas
- Contenido de nitrógeno orgánico, Kjeldahl
- Contenidos de lignina, celulosa, hemicelulosa y minerales insolubles
- Contenido de carbono orgánico (por cálculo)

Al finalizar el período de invasión por el hongo

($t=4$ semanas), se determinó, por secado a 105°C hasta peso constante, el contenido de humedad de los sustratos. Las determinaciones analíticas se hicieron sobre las muestras previamente secadas:

Peso total (húmedo)
 Contenido de cenizas
 Contenido de nitrógeno orgánico, Kjeldahl
 Contenido de carbono orgánico (por cálculo)
 Reducción de masa en base seca (de $t=0$ a $t=4$ semanas)

Al finalizar el período de fructificación y cosecha ($t=16$ semanas) se determinó el contenido de humedad por secado a 105°C y, sobre las muestras secas, se evaluó en cada sustrato:

Peso total (húmedo)
 Contenido de cenizas
 Contenido de nitrógeno orgánico, Kjeldahl
 Contenidos de lignina, celulosa, hemicelulosa y minerales insolubles
 Contenido de carbono orgánico (por cálculo)
 Reducción de masa seca (de $t=0$ a $t=16$ semanas)
 Reducción de masa seca (de $t=4$ semanas a $t=16$ semanas)

3.6.3 Semilla del hongo

Se determinó, por secado a 105°C , el contenido de humedad de la semilla de ambas variedades: oscura y clara, de *P. ostreatus* y sobre las muestras secas se midieron:

Contenido de cenizas
 Contenido de nitrógeno orgánico, Kjeldahl
 Contenidos de lignina, celulosa, hemicelulosa

y minerales insolubles
 Contenido de carbono orgánico (por cálculo)

3.6.4 Material biológico generado

A las "setas" cosechadas en cada sustrato se les midió primero su contenido de humedad y, sobre el material previamente secado, se determinó:

Peso total húmedo (cosecha en fresco)
 Contenido de cenizas
 Contenido de nitrógeno orgánico, Kjeldahl

3.7 Degradación

La reducción de peso (en base seca) del sustrato se interpretó como degradación, ya que dicha disminución indica su mineralización o transformación a CO_2 y agua que fueron liberados al ambiente. Se determinó la degradación o reducción de masa en la primera etapa del cultivo, como la diferencia entre el peso del sustrato al momento de la inoculación y el peso al término de las primeras cuatro semanas; la degradación total corresponde a la diferencia entre los pesos inicial y final de los sustratos.

3.8 Tratamiento de datos

Algunas determinaciones analíticas se hicieron sobre muestras que no habían sido secadas previamente; en estos casos, los resultados experimentales de los ensayos (peso total, cenizas, nitrógeno Kjeldahl, fibra, hemicelulosa, celulosa, lignina y minerales insolubles) se ajustaron por cálculo a su equivalente a *base seca*, a partir del contenido de humedad del sustrato.

El contenido total de nitrógeno (en gramos), presente al inicio del experimento se utilizó para calcular el balance de nitrógeno en cada etapa de cultivo. En el cálculo correspondiente al término del experimento ($t=16$ semanas), además del contenido de nitrógeno en el sustrato residual se consideró el nitrógeno presente en las setas cosechadas.

No se revisó el balance de "cenizas" debido a que al hacer una estimación presuntiva de dicho valor se encontró que el contenido final de cenizas era muy bajo en relación al contenido inicial. Esa disminución de minerales puede haberse debido a que durante la segunda etapa del cultivo, los

sustratos fueron asperjados con agua todos los días, lo que hizo que parte de los iones solubles fueran arrastrados por el agua.

El análisis de los datos se hizo 1) a través de comparaciones pareadas de las dos variedades del hongo; 2) a través de comparaciones pareadas de cada componente del sustrato inicial con el porcentaje de reducción de peso, calculándose el coeficiente de correlación correspondiente; 3) aplicando a los datos un diseño de Andeva por bloques completamente aleatorios, con un nivel de confianza $\alpha=0.05$; este tratamiento matemático fue procesado con la hoja de cálculo Excel, versión Office 2000.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Datos Analíticos de los materiales utilizados como materia prima

Los resultados del análisis de los materiales específicos que fueron utilizados en la fase experimental, con excepción de los correspondientes al pañal desechable, se muestran en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1 Composición promedio y valor pH de los materiales utilizados para el cultivo de *Pleurotus djamor*

Material	pH	Peso seco %	Cenizas %	Nitrógeno %	Celulosa %	Lignina %
ALGODÓN	7.33	71.32±.05	3.68±.01	1.17±.03	88.0±.91	0.0±.00
PAJA	5.68	84.32±.40	3.20±.12	4.30±.07	36.6±.65	13.6±.30
PASTO	6.65	89.27±.20	9.23±.16	14.43±.05	32.0±.15	5.8±.20
PIÑA	5.90	25.91±.12	3.43±.04	4.94±.03	30.0±.35	43.0±.37
CAFÉ	5.43	80.01±.06	8.10±.20	1.32±.06	1.2±.15	24.0±.12
PAÑAL	* La muestra no era homogénea. Se determino la composición elemental de los componentes de un pañal desechable nuevo (Tabla 4.2)					
SEMILLA var. OSCURA	4.80	38.94±.40	4.06±.15	3.04±.06	7.8±.26	12.5±.25
SEMILLA var. CLARA	7.96	31.77±.28	4.94±.12	2.11±.05	8.0±.20	10.6±.29

Los resultados mostrados corresponden a la media de tres determinaciones ± la desviación estándar

Las diferencias en la composición de la semilla prácticamente no influyen en la composición del sustrato ya que el inóculo se incorpora en proporción de 10%

Como puede notarse al comparar estos resultados con los que aparecen en la Tabla 2.3, hay diferencias importantes con los valores reportados por otros autores. Por ejemplo, para la paja de trigo se encontró un contenido de celulosa de 36.6% y hay reportes de concentraciones entre 7 y 40%; el contenido de lignina encontrado fue de 13.6%, en tanto que otros autores reportan entre 8.9 y 42%. Se encontró 43% de lignina en el penacho de piña, los reportes de la literatura indican contenidos de lignina entre 7 y 90%.

Los valores de pH de los materiales usados como sustrato correspondieron al intervalo de 5.43 a 7.33, valores similares a los que tenían las "semillas" de *Pleurotus* que se utilizaron como inóculo: 4.80 (variedad oscura) y 7.96 (variedad clara). El caldo nutritivo que sirvió de base para preparar los

Tabla 4.2 Composición de los materiales de un pañal desechable

Material	Nitrógeno %	Carbono %	Hidrógeno %	Oxígeno* &	Formunla mínima
Fibra algodón (celulosa)	*0.76±.09	44.47±.06	8.53±.05	46.99	C ₆ H ₁₃ O ₅
Tela azul (polipropileno)	*1.56±.07	87.33±.05	21.94±.08	0.00	C ₃ H ₉
Tela blanca (polipropileno)	*1.16±.07	79.21±.04	19.66±.03	0.00	C ₃ H ₈
Plástico (polietileno)	*1.23±.02	78.23±.07	19.80±.05	0.00	C ₂ H ₅
Esponja (poliuretano)	5.78±.03	59.41±.02	10.21±.08	24.61	C ₁₃ H ₂₆ O ₄ N

Los datos mostrados corresponden a la media de tres determinaciones ± la desviación estándar. El oxígeno se calculó por diferencia, sin tomar en cuenta el pequeño porcentaje de nitrógeno en los compuestos que por su naturaleza no contienen este elemento*

medios del cultivo *in vitro*, tenía un pH de 6.8. Los datos de pH mencionados parecen indicar que *Pleurotus* sp. puede desarrollarse en un intervalo amplio de pH, desde ácido hasta ligeramente alcalino.

En la Tabla 4.2 se muestran los resultados del análisis elemental de los componentes de un pañal desechable nuevo, excepto el polímero superabsorbente (poliacrilato). No se determinó la composición del poliacrilato debido a que al tratar de separar una muestra "pura" eran visibles minúsculas fibras de celulosa sobre los gránulos del polímero.

Las fórmulas mínimas de los materiales analizados concuerdan con la fórmula teórica de composición de dichos materiales, lo que permite corroborar la información impresa en los materiales de empaque de los pañales desechables. De los componentes analizados, el único que contiene nitrógeno es el poliuretano, pero es un polímero de difícil degradación por lo que no puede ser considerado como una fuente de nitrógeno disponible para el crecimiento del hongo.

En un pañal desechable usado, la orina y las evacuaciones del bebé-usuario son fuentes de nitrógeno, la cantidad aportada dependerá de la composición de esos desechos y de la cantidad retenida en el pañal; sin embargo, aún considerando ese aporte no cuantificado de nitrógeno, el contenido de nitrógeno no llegaría a concentraciones tan altas que pudieran inhibir el crecimiento del hongo. En una muestra real de pañales usados, están mezclados pañales "muy sucios" con pañales "casi limpios".

4.2 Composición de los sustratos

Los sustratos utilizados en la fase experimental son mezclas de materiales de composición relativamente uniforme, en cuya parte central se dispersa el inóculo. Para que fuera representativa, la muestra debería ser una muestra compuesta, pero la toma de dicha muestra al inicio de la fase experimental habría podido contaminar el sustrato recién inoculado. Fue por ello que la composición de los sustratos iniciales no fue medida experimentalmente sino calculada a partir de la composición de las "materias primas". Para las determinaciones

analíticas subsecuentes, a 4 y 16 semanas de la inoculación, se trabajó con muestras compuestas obtenidas al combinar porciones pequeñas tomadas de diferentes zonas del sustrato residual.

4.2.1 Composición al inicio del experimento. Inoculación (t=0)

La composición de los sustratos al momento de

la inoculación se determinó por cálculo a partir de la composición promedio de las "materias primas" (Tabla 4.1) con que se prepararon los sustratos para el cultivo de *P. djamor*. El contenido de humedad inicial se ajustó a 80%. La Tabla 4.3 resume la composición inicial (en base seca) de los sustratos, considerando el contenido del inóculo. En la Tabla no se incluyen los sustratos que contenían pañal desechable, por las dificultades

Tabla 4.3 Composición de los sustratos inoculados, a t= 0

Componente	Variedad	SUSTRATOS								
		ALGODÓN			PAJA			PASTO		
		solo	c/piña	c/café	solo	c/piña	c/café	solo	c/piña	c/café
Humedad %		80.00	80.00	80.00	80.00	80.00	80.00	80.00	80.00	80.00
Cenizas %	Oscura	3.71	3.60	5.72	3.28	3.38	5.51	8.76	6.12	8.25
	Clara	3.80	3.68	5.80	3.36	3.46	5.59	8.84	6.20	8.45
Fibra %	Oscura	86.81	77.95	54.08	78.87	91.75	66.76	70.26	70.80	45.81
	Clara	86.79	77.94	51.04	78.82	91.71	66.72	70.21	70.76	45.78
Hemicelulosa %	Oscura	6.28	21.74	11.53	32.72	34.96	24.75	35.38	36.38	26.06
	Clara	6.32	21.77	11.56	32.75	34.99	24.78	35.40	36.31	26.10
Celulosa %	Oscura	80.44	54.07	40.80	33.71	47.35	34.07	29.53	28.62	15.35
	Clara	80.39	54.02	40.75	33.66	47.30	34.02	29.48	28.57	15.30
Lignina %	Oscura	0.09	2.17	1.75	12.44	9.44	7.94	5.35	5.90	4.40
	Clara	0.08	2.15	1.73	12.41	9.42	7.92	5.33	5.88	4.38
Celulosa / lignina	Oscura	934.50	17.73	22.77	2.70	5.00	4.27	5.49	4.83	3.46
	Clara	921.00	17.91	23.18	2.71	5.01	4.28	5.51	4.85	3.48
Carbono orgánico %	Oscura	9.19	9.98	13.62	10.08	6.06	4.47	4.40	2.56	3.86
	Clara	9.88	7.69	15.12	8.01	3.60	3.31	2.82	2.30	4.49
Nitrógeno orgánico %	Oscura	0.134	0.305	0.141	0.419	0.448	0.283	1.339	0.908	0.744
	Clara	0.126	0.297	0.132	0.410	0.439	0.275	1.331	0.900	0.735
Carbono org./ nitrógeno org.	Oscura	68.58	32.72	96.60	24.06	13.53	15.80	3.29	2.82	5.19
	Clara	78.41	25.89	114.55	19.54	8.20	12.04	2.12	2.55	6.11
Pasto seco (g)	Oscura	250.00	250.00	250.00	250.00	250.00	250.00	250.00	250.00	250.00
	Clara	250.00	250.00	250.00	250.00	250.00	250.00	250.00	250.00	250.00

Los valores mostrados se obtuvieron por cálculo, a partir de los valores promedio de los componentes individuales, que aparecen en la Tabla 3.1.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

técnicas que fueron mencionadas con anterioridad. Como puede verse, la composición inicial de cada una de las parejas de sustratos correspondientes a un mismo tratamiento, con las dos variedades (oscura y clara) de *Pleurotus djamor*, es prácticamente la misma. La humedad y el peso seco de los sustratos iniciales fueron preestablecidos.

4.2.2 Composición al término de la primera etapa de cultivo: Fin de la etapa de invasión, (t=4 semanas)

Al finalizar la primera etapa de cultivo, se secaron a 105°C, muestras compuestas de los sustratos

residuales de cada unidad experimental. La Tabla 4.4 resume los resultados obtenidos en las determinaciones analíticas.

Al igual que en el t=0, por las razones ya mencionadas, en esta etapa tampoco se analizaron los sustratos en que el pañal desechable era uno de los componentes.

Se determinó el peso (base seca) de las unidades control que tenían los sustratos no inoculados. En estos sustratos control se encontró que el peso seco residual era igual o mayor a los 240 g, es decir, quedaba 95% del peso inicial. Esa reducción

Tabla 4.4 Composición de los sustratos residuales, a t= 4 semanas

Componente	Variedad	SUSTRATOS								
		ALGODÓN			PAJA			PASTO		
			c/piña	c/café		c/piña	c/café		c/piña	c/café
Humedad %	Oscura	76.31	74.71	64.68	74.68	83.44	84.77	81.67	88.31	83.36
		±40	±18	±36	±33	±27	±39	±17	±40	±26
	Clara	77.85	77.49	63.76	79.13	86.58	83.97	87.67	91.04	90.24
		±32	±27	±12	±35	±40	±50	±11	±13	±20
Cenizas %	Oscura	5.41	4.17	3.23	5.39	11.55	9.76	16.76	14.94	12.60
		±0.8	±0.4	±1.2	±3.0	±2.5	±2.0	±1.6	±2.8	±6.0
	Clara	5.67	6.95	3.37	16.07	8.69	9.21	14.98	16.29	14.69
		±1.0	±1.4	±2.0	±0.8	±1.3	±3.0	±3.0	±1.9	±2.5
Nitrógeno orgánico %	Oscura	0.329	0.206	0.364	0.512	1.120	0.665	1.218	1.034	0.858
		±0	±0.2	±0.7	±3.8	±1.13	±0.7	±4.5	±1.3	±0.8
	Clara	0.276	0.388	0.317	0.536	0.430	0.959	0.884	0.798	1.199
		±0.1	±0.5	±0.5	±0.7	±0.7	±0.8	±1.1	±0.6	±0.4
Pasto seco residual, en g	Oscura	64.12	135.90	123.80	166.05	61.68	60.67	101.11	46.11	60.11
		±3.54	±6.85	±3.50	±12.79	±3.04	±5.86	±7.13	±3.04	±4.62
	Clara	79.72	101.19	107.23	112.61	64.59	70.73	74.81	49.89	40.01
		±5.1	±2.94	±2.53	±10.48	±4.23	±3.90	±3.37	±4.7	±9.6

Los datos mostrados corresponden a la media de tres determinaciones ± la desviación estándar.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

de peso (degradación espontánea del sustrato) se consideró poco significativa comparada con la de los sustratos inoculados, por lo que no se tomó en cuenta al calcular las reducciones de peso de las unidades experimentales.

Al terminar esta etapa se segregaron, además de los sustratos "control", los que contenían pañal desechable, porque además de la escasa invasión del micelio, estos sustratos parecían atraer insectos (pequeñas mosquitas).

Tabla 4.5 Composición de los sustratos residuales, a t= 16 semanas

Componente	Variedad	SUSTRATOS								
		ALGODÓN			PAJA			PASTO		
			c/piña	c/café		c/piña	c/café		c/piña	c/café
Cenizas %	Oscura	1.61	2.75	2.23	8.44	4.96	5.68	12.75	6.97	7.18
		±03	±10	±05	±09	±02	±25	±08	±07	±06
	Clara	1.20	3.67	2.53	9.27	5.56	5.75	10.28	6.14	6.08
		±01	±07	±10	±02	±02	±08	±12	±01	±04
Minerales insolubles %	Muestra combinada	0.75	0.86	0.25	11.79	3.65	3.34	9.85	9.28	4.03
		±02	±02	±07	±04	±11	±08	±01	±06	±09
Fibra %	Muestra combinada	86.39	97.71	83.31	50.19	35.63	66.29	66.73	88.98	95.73
		±26	±43	±35	±32	±40	±27	±18	±36	±12
Hemicelulosa %	Muestra combinada	15.95	7.87	9.64	6.98	4.95	20.90	36.12	56.22	63.00
		±10	±09	±01	±06	±10	±10	±07	±12	±21
Celulosa %	Muestra combinada	65.79	81.41	58.53	25.99	21.74	34.74	13.02	16.58	20.66
		±10	±13	±19	±07	±30	±21	±20	±26	±09
Lignina %	Muestra combinada	3.87	3.23	6.62	6.19	5.28	7.25	7.82	6.96	7.97
		±01	±07	±10	±01	±06	±19	±07	±13	±20
Celulosa / lignina	Muestra combinada	17.00	25.20	8.84	4.20	4.12	4.79	1.66	2.38	2.59
Nitrógeno orgánico %	Oscura	0.394	0.589	0.658	0.728	0.804	1.426	0.818	0.779	1.252
		±04	±11	±11	±14	±11	±06	±47	±13	±08
	Clara	0.379	0.762	0.596	0.917	0.835	1.257	0.832	0.788	1.220
		±06	±02	±19	±09	±03	±09	±02	±01	±05
Peso seco residual, en g	Oscura	60.34	60.03	85.33	46.51	21.99	38.34	43.53	27.79	33.55
		±1.77	±1.66	±49	±2.25	±1.64	±2.08	±1.95	±98	±1.17
	Clara	58.30	58.09	86.78	45.59	37.60	41.23	46.35	27.4	31.34
		±90	±1.67	±89	±1.54	±2.29	±1.27	±82	±53	±92

Los datos mostrados corresponden a la media de tres determinaciones ± la desviación estándar

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.2.3 Composición al término del experimento. Fin de la etapa de fructificación (t=16 semanas)

Los sustratos residuales se dejaron secar por exposición al ambiente y después en estufa a 105°C hasta peso constante. Las determinaciones analíticas se hicieron sobre muestras compuestas secas de cada unidad experimental. Los resultados se resumen en la Tabla 4.5.

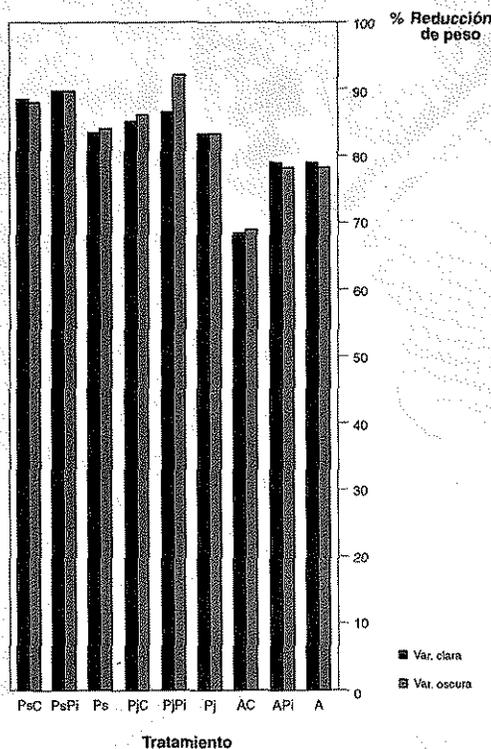


Figura 4.1 Reducción de peso a t= 16 semanas. Variedad oscura y clara

A: Algodón; API: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

4.3 Reducción de peso del sustrato: Degradación

La diferencia entre los pesos secos, inicial y final, se considera en este estudio como biodegradación. En los sustratos no inoculados, la biodegradación fue poco significativa al compararla con la encontrada en los sustratos que habían sido inoculados, en el algodón y la paja, la reducción de peso al término de 16 semanas fue menor al 2% y en el pasto fue de 4.6%. Al hacer el análisis de los resultados no se tomaron en cuenta estas reducciones de peso "espontáneas".

4.3.1 Reducción de peso del sustrato por variedad del hongo *P. djamor*, al término de la etapa experimental, t=16 semanas

En la Figura 4.1 se comparan gráficamente los porcentajes de degradación de los sustratos, en función de la variedad del hongo. No hay diferencias significativas en la pérdida de masa, entre una u otra variedades del hongo.

Los resultados cuantitativos se muestran en la Tabla 4.6. el sustrato que presentó la mayor diferencia (5.67) fue paja-piña 1:1. el análisis de varianza con un nivel de confianza $\alpha = 0.05$, arroja un valor de $f_{calculada} = 3.83$ menor que el valor de $f_{tablas} = 4.6$, lo que indica que no hay diferencias significativas en relación con la actividad degradadora de las variedades oscura y clara (Tabla 1 del Anexo 3).

4.3.2 Reducción de peso del sustrato, por etapa de cultivo

La Tabla 4.6 muestra la reducción de peso por etapa de cultivo y por variedad del hongo. La

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

pérdida de peso fue calculada para cada unidad experimental; los datos individuales aparecen en las Tablas 1 y 2 del Anexo 1.

La mayor reducción de peso ocurre en la primera etapa de cultivo, durante el periodo de colonización del sustrato en el que la biomasa de *Pleurotus* crece de manera importante, lo que representa un

alto consumo de energía. En el caso del algodón, el “enriquecimiento” afectó negativamente la velocidad de degradación, a diferencia de lo observado en la paja y el pasto, para los que el “enriquecimiento” aceleró la velocidad de degradación del sustrato. Dado que la única diferencia del algodón con los otros sustratos es la baja concentración de lignina, ésta podría ser una varia-



Figura 4.2 Reducción de peso a los t= 4 y t= 16 semanas. Variedad oscura

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

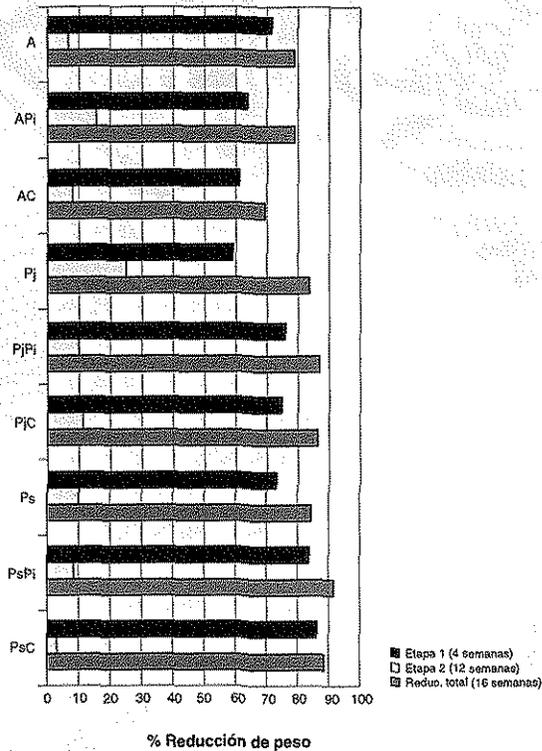


Figura 4.3 Reducción de peso a los t= 4 y t= 16 semanas. Variedad clara

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

ble importante cuyo efecto, en este experimento, no coincide con lo informado en la literatura (Anónimo, 2001c).

Es importante mencionar que en la reducción de peso de los sustratos que contenían paja puede haber errores debido a que cuando se retiraron las bolsas que los contenían, perdieron consistencia, lo que hizo que parte de la masa se desprendiera del residuo y se perdiera al caer al suelo.

La Figura 4.2 muestra la pérdida de peso del sustrato en cada etapa, por tratamiento, durante el cultivo de la variedad oscura de *Pleurotus* y la

Figura 4.3 muestra los resultados correspondientes a la variedad clara. Como puede observarse, la reducción de peso es más rápida en la primera que en la segunda etapa del cultivo, para ambas variedades del hongo.

Al término de la primera etapa, la mayor reducción de peso (84%) correspondió al tratamiento PsC 4, 5, 6 (variedad clara de *P. djamor* cultivada en el sustrato pasto-café 1:1). El sustrato que registró mayor reducción de peso al finalizar la segunda etapa (91%), fue el correspondiente al tratamiento PjPi 1, 2, 3 (variedad oscura de *P. djamor* cultivada en el sustrato paja-piña 1:1).

Tabla 4.6 Porcentaje de reducción de peso de los sustratos, por etapa de cultivo

Reducción de peso	Variedad	SUSTRATOS								
		ALGODÓN			PAJA			PASTO		
			c/piña	c/café		c/piña	c/café		c/piña	c/café
		%	%	%	%	%	%	%	%	%
Primera etapa: En 4 semanas	Oscura	76.78 ±3.54	50.58 ±6.85	54.98 ±3.50	39.62 12.79	77.57 ±3.04	77.94 ±5.86	63.23 ±7.13	83.23 ±3.04	78.14 ±4.62
	Clara	71.01 ±0.1	63.20 ±0.5	61.01 ±0.5	59.05 ±0.7	76.51 ±0.7	74.28 ±0.8	72.80 ±1.1	81.86 ±0.6	85.45 ±0.4
Segunda etapa: En 12 semanas	Oscura	1.38 ±1.88	27.59 ±7.81	13.99 ±3.45	43.40 ±14.32	14.43 ±5.02	8.18 ±4.41	20.94 ±10.23	6.67 ±2.11	9.66 ±5.34
	Clara	7.79 ±0.52	15.68 ±2.43	7.43 ±3.41	24.37 ±11.93	9.82 ±5.11	10.73 ±4.73	10.34 ±2.68	8.18 ±0.79	3.15 ±1.77
Total: En 16 semanas	Oscura	78.06 ±1.77	78.17 ±1.66	68.97 ±4.9	83.09 ±2.25	92.00 ±1.64	86.06 ±2.08	84.17 ±1.95	89.90 ±0.98	87.80 ±1.17
	Clara	78.80 ±0.6	78.88 ±0.2	68.44 ±1.9	83.42 ±0.9	86.33 ±0.3	85.01 ±0.9	83.14 ±0.2	90.04 ±0.1	88.60 ±0.5

4.3.3 Reducción de peso en función de la composición del sustrato

En los gráficos que aparecen a continuación se relaciona la composición inicial de los diferentes componentes individuales del sustrato: hemicelulosa, celulosa, lignina, nitrógeno orgánico, humedad y las razones celulosa/lignina y carbono orgánico/nitrógeno orgánico, con la reducción de peso por tratamiento, al término del experimento.

4.3.3.1 Materiales lignocelulósicos

Hemicelulosa

La Figura 4.4 muestra la relación entre el contenido de hemicelulosa (%) en el sustrato inicial y la reducción de peso al término del experimento (16 semanas), para la variedad oscura del hongo. La Figura 4.5 muestra la relación entre las mismas variables, para la variedad clara.

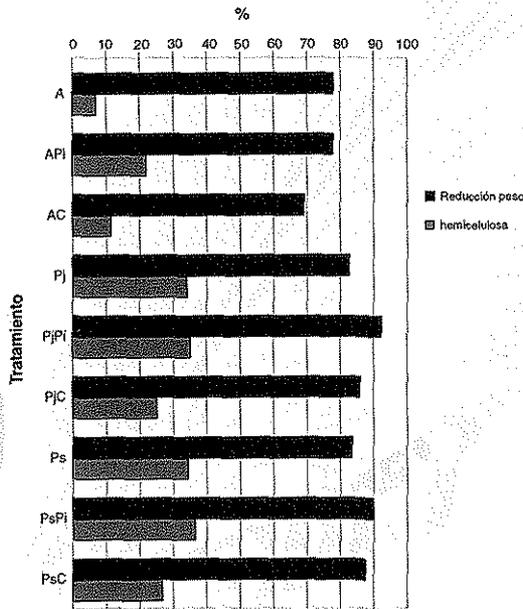


Figura 4.4 Reducción de peso del sustrato en función del contenido de hemicelulosa. Variedad oscura

A: Algodón; API: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

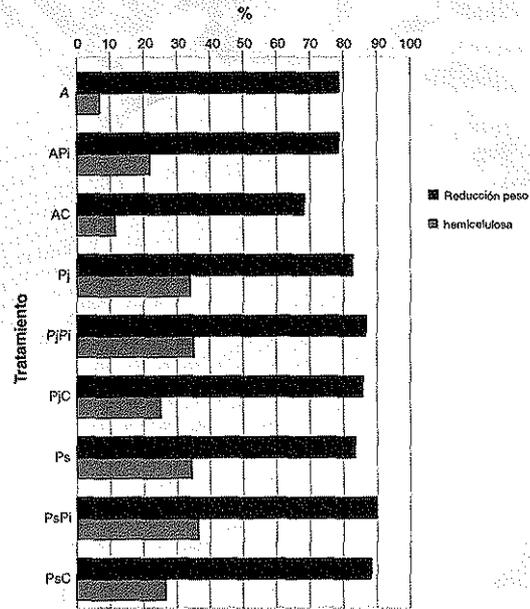


Figura 4.5 Reducción de peso del sustrato en función del contenido de hemicelulosa. Variedad clara

A: Algodón; API: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

En la variedad oscura, el coeficiente de correlación entre ambas variables es de 0.78, valor significativo desde el punto de vista estadístico ya que es mayor a dos veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 61%.

En la variedad clara, el coeficiente de correlación es de 0.73, valor estadísticamente significativo por ser mayor que dos veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 54%.

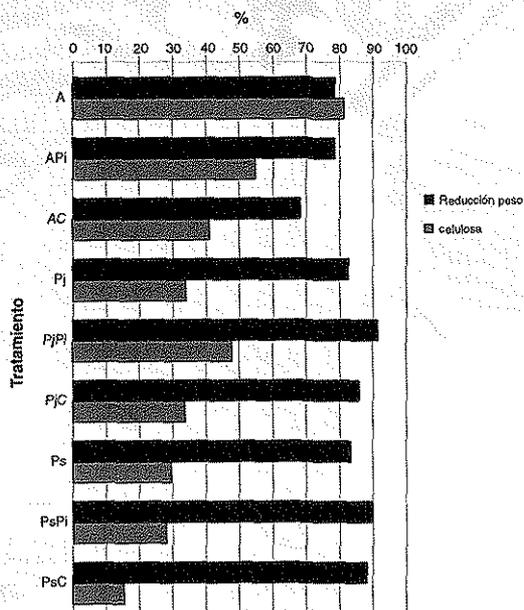


Figura 4.6 Reducción de peso del sustrato en función del contenido de celulosa. Variedad oscura

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

La definición química de la "hemicelulosa", como es medida por esta técnica, no corresponde a una sustancia específica, ya que con ese término se designa a la fracción de la fibra cruda que se disuelve durante la ebullición por 30 minutos, en una solución ácida de detergente (lauril sulfonato de sodio); de manera general se considera que se disuelven las cadenas lineales y ramificadas de monosacáridos diferentes a la glucosa. La digestión no hidroliza sólo esos polímeros sino que también rompe las cadenas polipeptídicas y una fracción de las cadenas celulósicas de bajo peso molecular. La "hemicelulosa" es, entonces, una mezcla de sustancias que son más sensibles que la celulosa a la hidrólisis, cuya ruptura libera moléculas de bajo peso molecular que aportan energía para la actividad metabólica del hongo. Esta sensibilidad a la hidrólisis puede explicar la correlación entre el contenido de hemicelulosa y la degradación.

Celulosa

La Figura 4.6 muestra la relación entre el contenido de celulosa (%) en el sustrato inicial y la reducción de peso al término del experimento (16 semanas), para la variedad oscura del hongo. La Figura 4.7 muestra la relación entre las mismas variables, para la variedad clara.

En la variedad oscura, el coeficiente de correlación entre las variables es de 0.41, valor no significativo desde el punto de vista estadístico ya que es menor que dos veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 16%.

En la variedad clara, el coeficiente de correlación es de 0.45, valor no significativo desde el punto de vista estadístico, ya que es menor que dos

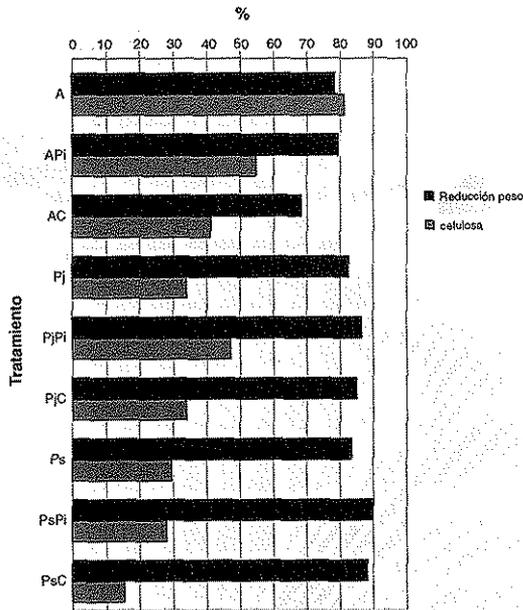


Figura 4.7 Reducción de peso del sustrato en función del contenido de celulosa. Variedad clara

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 20%.

La falta de correlación entre el contenido de celulosa y la reducción de peso se explica porque aunque la celulosa es el componente mayoritario, no es el único y debe considerarse la degradación simultánea de la lignina.

En una gráfica posterior se analiza la correlación entre la pérdida de peso del sustrato y la relación celulosa/lignina presente en los sustratos iniciales.

Lignina

La lignina representa un porcentaje significativo de la fibra vegetal, por lo que su degradación también influye en la pérdida de peso del sustrato. El algodón industrial no contiene lignina, la pequeña cantidad que se encontró al hacer el análisis debe estar relacionada con el error experimental asociado con la técnica analítica. La Figura 4.8 muestra la relación entre el contenido de lignina (%) en el sustrato inicial y la reducción de peso al término del experimento (16 semanas), para la

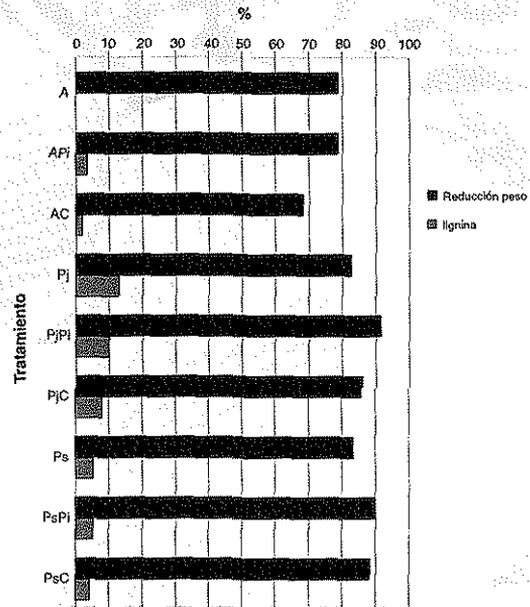


Figura 4.8 Reducción de peso del sustrato en función del contenido de lignina. Variedad oscura

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

variedad oscura del hongo. La Figura 4.9 muestra la relación entre las mismas variables, para la variedad clara.

En la variedad oscura, el coeficiente de correlación entre ambas variables es de 0.59, valor que no es significativo desde el punto de vista estadístico, ya que es menor que dos veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 34%.

En la variedad clara, el coeficiente de correlación entre ambas variables es de 0.52, valor que no es

significativo desde el punto de vista estadístico, ya que es menor que dos veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 27%.

Celulosa/lignina

Bis'ko y Bilay (1992) han propuesto que la razón celulosa/lignina en el sustrato inicial es más significativa que la concentración individual de esos componentes, en relación a la degradación.

La Figura 4.10 muestra la relación entre la razón celulosa/lignina (cel/lig) en el sustrato inicial y

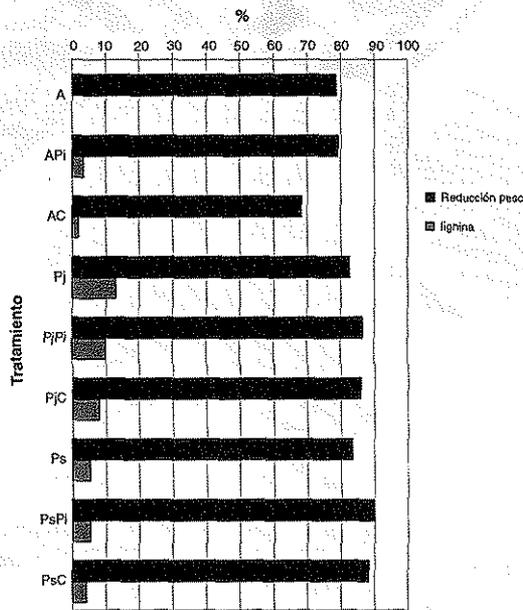


Figura 4.9 Reducción de peso del sustrato en función del contenido de lignina. Variedad clara

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

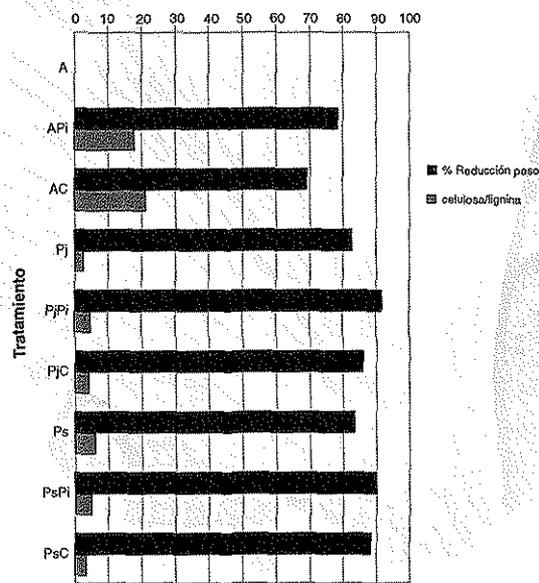


Figura 4.10 Reducción de peso del sustrato en función del contenido de celulosa/lignina. Variedad oscura

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

la reducción de peso al término del experimento (16 semanas), para la variedad oscura del hongo. La Figura 4.11 muestra la relación entre esas mismas variables, para la variedad clara.

En la variedad oscura, el coeficiente de correlación entre ambas variables es de 0.88, valor significativo desde el punto de vista estadístico, ya que es mayor que dos veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 77%.

En la variedad clara, el coeficiente de correlación entre ambas variables es de 0.90, valor significa-

tivo desde el punto de vista estadístico, ya que es mayor que dos veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 81%.

Este resultado parece indicar que ambos componentes: Celulosa y lignina, son cometabolizados y degradados simultáneamente por *Pleurotus djamor* actuando, uno como fuente energética (la celulosa) y el otro como disparador de la liberación de enzimas hidrolíticas (lignina).

4.3.3.2 Componentes nitrogenados

Nitrógeno orgánico

El contenido de nitrógeno en los sustratos afecta la eficiencia y velocidad del desarrollo del micelio del hongo y su eficiencia biológica (Glenn y col., 1983; Bis'ko y Bijay, 1992; Desentz y col., cit. en Kokhraidze y Élisashvili, 1993). Con el propósito de resaltar las diferencias en el contenido de nitrógeno, se optó por calcular su equivalencia en proteína (factor=6.25), y utilizar estos datos al construir las gráficas.

La Figura 4.12 muestra la relación entre el contenido de nitrógeno orgánico, expresado como proteína, (%) en el sustrato inicial y la reducción de peso al término del experimento (16 semanas), para la variedad oscura del hongo. La Figura 4.13 muestra la relación entre las mismas variables, para la variedad clara.

En la variedad oscura, el coeficiente de correlación entre ambas variables es de 0.50, valor no significativo desde el punto de vista estadístico, ya que es menor que dos veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 25%.

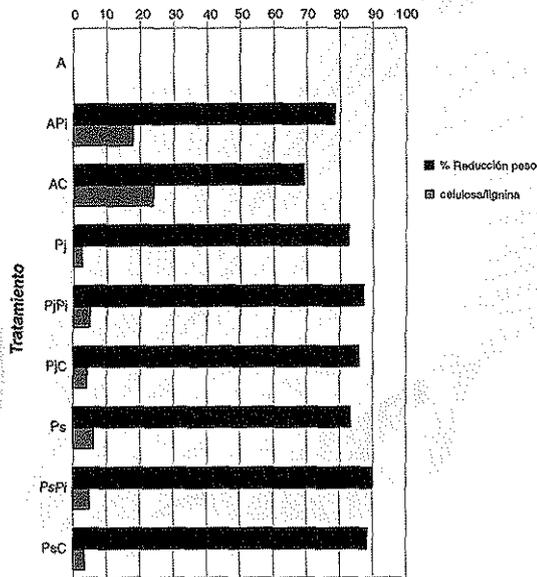


Figura 4.11 Reducción de peso del sustrato en función del contenido de celulosa/lignina. Variedad clara

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

En la variedad clara, el coeficiente de correlación entre las mismas variables es de 0.54, valor no significativo desde el punto de vista estadístico, ya que es menor que dos veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 29%. Estos resultados indican que en el intervalo de concentración de nitrógeno orgánico, manejado en el experimento (0.126-1.331%), este parámetro individual no muestra relación con la reducción de peso del sustrato. De manera similar a lo realizado en el caso de la celulosa y la lignina,

se va a graficar la relación carbono orgánico/nitrógeno orgánico.

Carbono/nitrógeno

En el proceso de composta, una de las variables más importantes que se deben controlar es la relación: carbono orgánico/nitrógeno orgánico, C/N (Richard y Trautmann, 2000). Esa misma proporción, entre el contenido de carbono orgánico y el contenido de nitrógeno orgánico, fue explorada

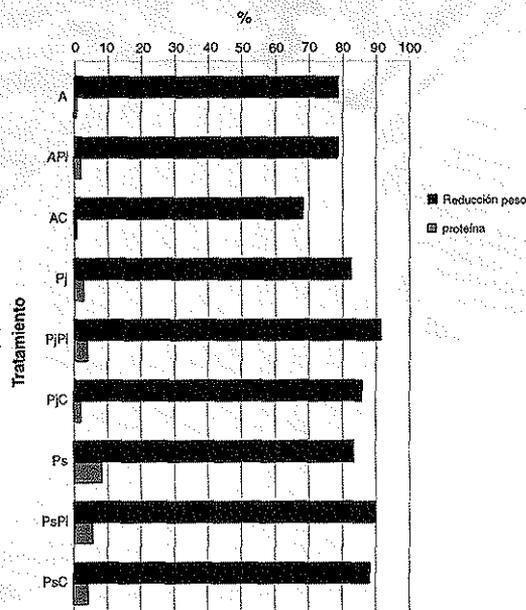


Figura 4.12 Reducción de peso del sustrato en función del contenido de proteína. Variedad oscura

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

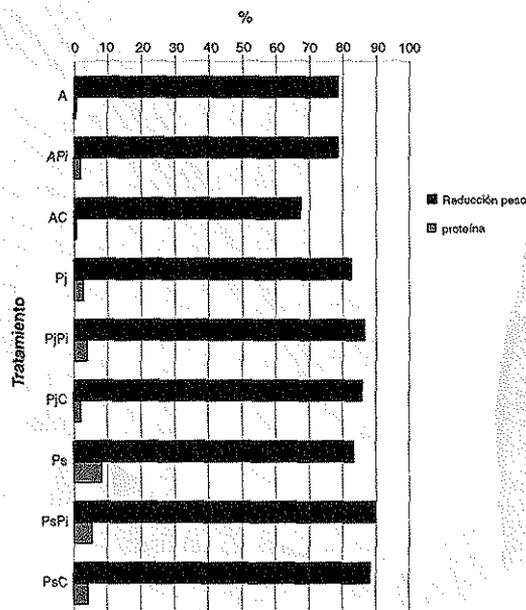


Figura 4.13 Reducción de peso del sustrato en función del contenido de proteína. Variedad clara

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

por González y Huerta (2000) en cultivos de *P. ostreatus*, los investigadores encontraron que la relación C/N afecta el desarrollo de este hongo cuando se le cultiva sobre sustratos lignocelulósicos.

La Figura 4.14 muestra la relación entre la relación C/N en el sustrato inicial y la reducción de peso al término del experimento (16 semanas), para la variedad oscura del hongo. La Figura 4.15 muestra la relación entre las mismas variables, para la variedad clara.

En la variedad oscura, el coeficiente de correlación entre ambas variables es de 0.89, valor significativo desde el punto de vista estadístico, ya que es mayor que dos veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 79%.

En la variedad clara, el coeficiente de correlación entre ambas variables es de 0.90, valor significativo desde el punto de vista estadístico, ya que es mayor que dos veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 81%.

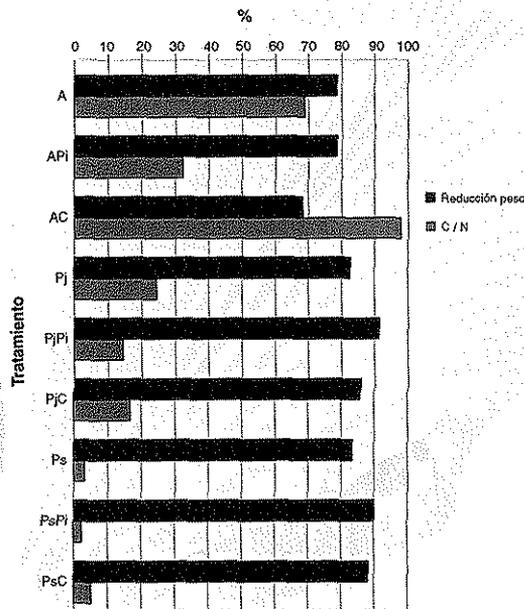


Figura 4.14 Reducción de peso del sustrato en función de la relación C/N. Variedad oscura

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

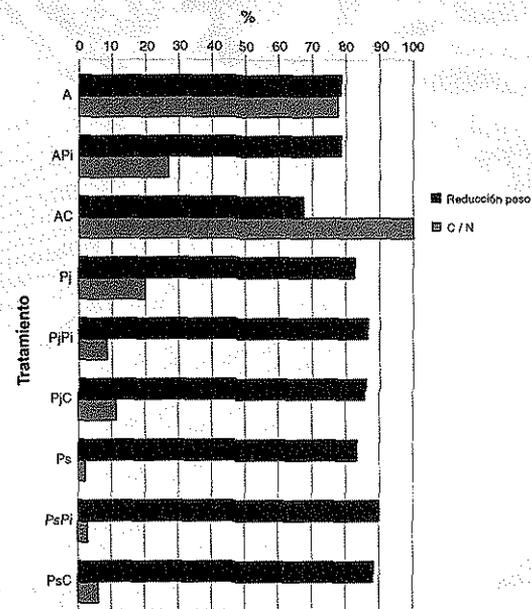


Figura 4.15 Reducción de peso del sustrato en función de la relación C/N. Variedad clara

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

Se aprecia que no hay diferencia significativa entre las variedades del hongo, en ambas el coeficiente de correlación reafirma que el porcentaje de reducción del sustrato, si bien no tiene relación con el contenido absoluto de nitrógeno, si parece depender de la relación entre el carbono orgánico y el nitrógeno orgánico.

4.3.3.3 Contenido de humedad

La humedad inicial de los sustratos fue ajustada para cada sustrato, pero una vez abiertas las bolsas,

variaba dependiendo de la capacidad de retención de agua de los materiales que contenía cada bolsa. La Figura 4.16 muestra la relación entre el contenido de humedad al término de la etapa de invasión (4 semanas) y la reducción de peso del sustrato, para la variedad oscura del hongo. La Figura 4.17 muestra la relación entre las mismas variables, para la variedad clara.

Durante las primeras dos semanas, la humedad se mantuvo constante ya que las bolsas estaban cerradas herméticamente. Las semanas siguientes,

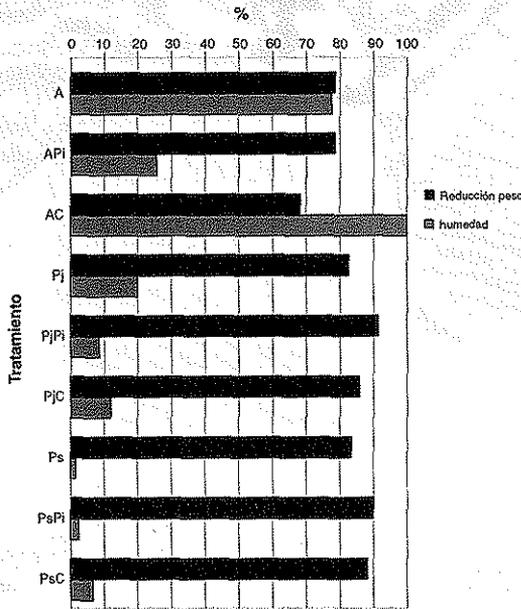


Figura 4.16 Reducción de peso del sustrato en función del contenido de humedad. Variedad oscura

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

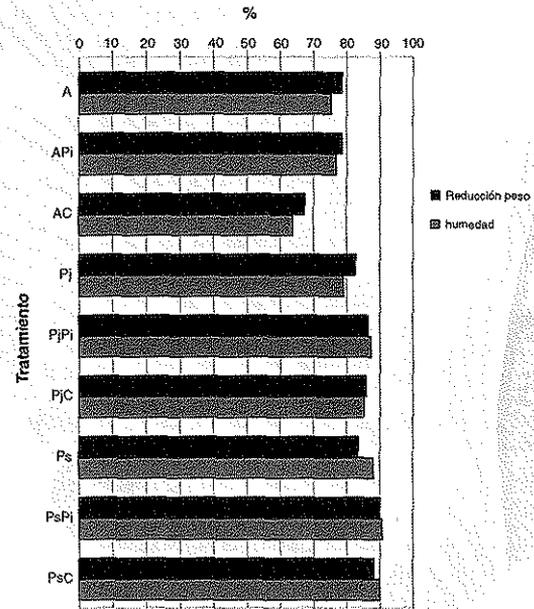


Figura 4.17 Reducción de peso del sustrato en función del contenido de humedad. Variedad clara

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

las bolsas perdían humedad dependiendo de la capacidad de los diferentes materiales para retener el agua y tomar agua del ambiente húmedo en que se les mantenía. Los porcentajes de agua que se aplicaron en las Figuras 4.16 y 4.17, corresponden a un momento determinado por lo que son sólo un indicador de la capacidad de retención de agua de las unidades experimentales sometidas a los diferentes tratamientos.

En la variedad oscura, el coeficiente de correlación entre ambas variables es de 0.93, valor significativo desde el punto de vista estadístico, ya que es mayor que dos veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 86%.

En la variedad clara, el coeficiente de correlación entre ambas variables es de 0.92, valor significativo desde el punto de vista estadístico, ya que es mayor que dos veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 84%.

La estrecha relación que se observa entre la reducción de peso y el contenido de humedad debe tomarse con reserva, ya que a lo largo de la segunda etapa de cultivo, la humedad del sustrato variaba continuamente debido a la evaporación y a la reposición diaria por rociado de las unidades experimentales.

4.3.4 Análisis estadístico de la relación entre la reducción de peso y la composición de los sustratos

Los datos de las gráficas anteriores (Fig. 4.3 a 4.17) se sometieron a un análisis de varianzas de diseño por bloques completamente aleatorios,

con un valor de confianza de 95%. en el anexo 3 se muestran, en detalle, los cálculos y resultados.

◆ En todos los tratamientos, con excepción de los cultivos desarrollados en pasto, no hubo diferencias significativas en reducción de peso del sustrato, entre las variedades oscura y clara de *P. ostreatus* (Tablas 1-15).

◆ En la primera etapa del cultivo (periodo de invasión):

Se obtuvieron diferencias significativas en reducción de peso del sustrato, entre los sustratos básicos: algodón, paja o pasto (Tabla 1); algodón con o sin enriquecimiento (Tabla 2); paja con o sin enriquecimiento (Tabla 3); pasto con o sin enriquecimiento (Tabla 4) y contenido de humedad (Tabla 8).

No se obtuvieron diferencias significativas en función de: contenido de nitrógeno orgánico (Tabla 5); razón C/N (Tabla 6); razón celulosa/lignina (Tabla 7).

◆ En la segunda etapa del cultivo (fructificación y cosecha):

Se obtuvieron diferencias significativas en reducción de peso del sustrato, entre los sustratos básicos: algodón, paja o pasto (Tabla 9); algodón con o sin enriquecimiento (Tabla 10); paja con o sin enriquecimiento (Tabla 11); pasto con o sin enriquecimiento (Tabla 12); razón C/N (Tabla 14) y razón celulosa/lignina (Tabla 15).

No se obtuvieron diferencias significativas en reducción de peso del sustrato, en función del contenido de nitrógeno (Tabla 13).

Al considerar los componentes individuales de los sustratos, con excepción de la hemicelulosa, no se puede afirmar que alguno tenga influencia sobre la actividad metabólica que conduce a la reducción de peso. En cuanto a la hemicelulosa, los resultados muestran que hay correlación entre la degradación del material lignocelulósico y el contenido inicial de hemicelulosa. Entre los polímeros presentes en la fibra, la hemicelulosa es el material más fácil de degradar, lo que permite suponer que su hidrólisis pudiera estar dando lugar a la formación de moléculas pequeñas cuyo metabolismo genere energía útil para metabolizar a la celulosa y a la lignina. Esta hipótesis se apoya en resultados de estudios en que se han utilizado como sustrato "materiales fermentados", es decir, parcialmente hidrolizados; la fermentación da lugar a la hidrólisis de los componentes solubles del desecho: Arabinoxilanos, arabinogalactanos, glucanos mixtos y pectinas e incluso una fracción de la propia celulosa, transformándolos en moléculas simples con alto contenido energético, como la glucosa (Aman y Westerlund, 1996).

En el algodón, material que al acondicionarse como sustrato, contenía sólo la lignina aportada por la "semilla" del hongo, la reducción de peso durante la etapa de invasión fue más rápida que en los sustratos en que este sustrato base había sido enriquecido con *café lavado* o con penacho de piña, materiales que aportaban lignina. La lignina aparece como un elemento que, si bien es indispensable para el proceso metabólico, al aumentar su concentración hace que disminuya la velocidad de biodegradación de la celulosa.

- ♦ La mayor reducción (promedio) de peso (90.23%) correspondió al cultivo de la variedad oscura en un "sustrato control", el sustrato

paja-piña 1:1, en que la relación celulosa/lignina tenía un valor de 5.0 y, la razón C/N era igual a 13.53 (Tabla 4.3). En este sustrato, el contenido de humedad antes de retirar las bolsas era de 83.44% (Tabla 4.4).

- ♦ Entre los sustratos con materiales urbanos de desecho, la mayor reducción de peso (90.03%) correspondió al cultivo de la variedad clara en pasto-piña 1:1, en que la razón celulosa/lignina tenía un valor de 4.85 y, la razón C/N era igual a 2.55 (Tabla 4.3). En este sustrato, el contenido de humedad antes de retirar las bolsas era de 88.31% (Tabla 4.4).
- ♦ El sustrato en que hubo la menor reducción de peso (68.45%) fue el del cultivo de la variedad clara en algodón-café 1:1, en que la razón celulosa/lignina tenía un valor de 23.18 y, la razón C/N era igual a 114.5 (Tabla 4.3). En este sustrato, el contenido de humedad antes de retirar las bolsas era de 63.76% (Tabla 4.4).

4.3.5 Degradación de las diferentes fracciones de la fibra

La Tabla 4.7 muestra la reducción de peso (promedio) de las tres fracciones de la fibra, al ser metabolizadas por el hongo *Pleurotus*.

Hemicelulosa: El porcentaje de degradación fue menor en el algodón (54.45%) y en el algodón-café (75.99%). En el resto de los sustratos, la degradación de este componente fue superior al 92%.

Celulosa: El porcentaje de degradación fue más bajo en el algodón-café (64.06%), en el algodón-piña (85.27%) y en el algodón (85.27%). En el

resto de los sustratos, la degradación de este componente fue superior al 90%.

Lignina: El porcentaje de degradación fue de 0% en el algodón y muy bajo (5.40%) en el algodón-café; en el algodón piña fue regular (73.20%). En el resto de los sustratos, la degradación de este componente fue superior al 92%.

Como puede verse, los sustratos con menor degradación fueron los que contenían algodón, en los que la relación entre celulosa y lignina era $>20:1$, en los demás, dicha relación fue de 2.7 a 5.5. Otro factor que influyó en la eficiencia de la degradación fue la falta de "estructura" del sustrato, que carecía de espacios vacíos que permitieran la invasión del micelio y su oxigenación. De los tres tratamientos que contenían algodón, el sustrato algodón-piña fue el único que tenía cierta rigidez en la estructura interna. Esa imposibilidad de ai-reacción y de espacio para la invasión del sustrato fue también una de las causas de que no hubiera desarrollo en los pañales desechables.

Los resultados corroboran el carácter indispensable de la lignina, para el cultivo de *Pleurotus*, ya que en el algodón, hubo menor degradación tanto de la celulosa como de la hemicelulosa y la reducción de peso fue más lenta que en los otros sustratos.

4.4 Cuerpos fructíferos

En el experimento, no hubo una verdadera separación entre las cosechas, una vez iniciada la fructificación, los primordios seguían apareciendo de manera continua. Pese a lo anterior, se podrían considerar dos cosechas: Los hongos de la primera cosecha tuvieron la forma típica de *Pleurotus*, setas bien formadas y con estípite lateral corto (Foto 4.1 del Anexo 2); los hongos de las cosechas subsiguientes tenían forma atípica e irregular, con píleos pequeños de bordes regulares (Foto 4.2 del Anexo 2) o irregulares (Foto 4.3 del Anexo 2) soportados por estípites anormalmente largos y robustos.

En algunos de los sustratos crecieron setas que además de su forma atípica, tenían en la superficie

Tabla 4.7 Contenido de las fracciones de fibra cruda a $t=0$ (inicial) y a $t=16$ semanas (final)

FRACCIÓN		TRATAMIENTO								
		A	APi	AC	Pj	PjPi	PjC	Ps	PsPi	PsC
Hemicelulosa	Inicial (g)	17.32	59.81	31.70	90.00	96.19	68.11	97.32	99.77	71.67
	Final (g)	7.89	3.89	7.61	2.50	1.36	5.16	7.22	6.18	5.20
	% degradación	54.45	93.50	75.99	97.22	98.59	92.42	92.58	93.81	99.64
Celulosa	Inicial (g)	221.1	148.63	112.15	92.65	130.13	93.64	81.15	78.65	42.13
	Final (g)	32.57	40.30	40.24	9.29	5.98	8.60	2.86	1.82	1.70
	% degradación	85.27	72.88	64.06	89.97	95.40	90.82	96.70	97.69	95.97
Lignina	Inicial (g)	1.25	5.97	4.81	34.21	25.96	21.84	14.71	16.23	12.10
	Final (g)	1.74	1.60	4.55	2.21	1.45	1.79	1.06	0.76	0.66
	% degradación	0.00	73.20	5.40	93.54	94.41	91.80	92.79	95.32	94.55

un “polvo” blanco, que posiblemente era un hongo contaminante (Foto 4.4). Se presume la contaminación a partir de los resultados de los experimentos *in vitro*, que mostraron que la “semilla”

de *Pleurotus* estaba contaminada con *Fusarium* spp. Los resultados del cultivo *in vitro* se describen en la Sección 4.7.

Tabla 4.8 Composición promedio de las setas y eficiencia biológica de los cultivos

Componente	Variedad	SUSTRATOS								
		ALGODÓN			PAJA			PASTO		
		solo	c/piña	c/café	solo	c/piña	c/café	solo	c/piña	c/café
Humedad %	Oscura	87.28 ±19	82.19 ±40	82.08 ±64	87.16 ±12	79.61 ±1.00	87.95 ±58	85.27 ±36	88.53 ±48	90.86 ±81
	Clara	91.77 ±52	90.84 ±20	90.10 ±1.20	87.95 ±78	79.28 ±70	90.97 ±60	85.08 ±35	82.66 ±90	86.95 ±27
Cenizas %	Oscura	7.30 ±12	8.03 ±20	7.35 ±15	9.71 ±11	9.39 ±01	9.46 ±26	12.09 ±19	11.08 ±08	11.56 ±22
	Clara	9.72 ±06	10.08 ±20	10.50 ±52	12.44 ±16	12.20 ±18	12.04 ±15	10.91 ±13	14.70 ±20	11.13 ±05
Nitrógeno orgánico %	Oscura	0.329 ±0521	0.206 ±080	0.364 ±019	0.512 ±056	1.120 ±220	0.665 ±040	1.218 ±062	1.034 ±201	0.858 ±026
	Clara	0.276 ±022	0.388 ±041	0.317 ±053	0.536 ±024	0.430 ±009	0.959 ±185	0.884 ±048	0.798 ±033	1.199 ±031
Peso húmedo g	Oscura	90.0	135.5	97.0	65.3	37.5	68.0	72.0	31.5	436.9
	Clara	67.9	73.2	119.5	35.2	27.5	36.8	31.9	22.4	9.9
Peso seco g	Oscura	13.50	23.33	14.55	9.80	5.62	10.19	10.81	4.73	7.49
	Clara	10.19	10.98	17.92	5.28	4.12	5.52	4.48	3.36	5.54
Eficiencia Biológica*	Oscura	32.73 ±6.29	49.28 ±11.54	35.27 ±6.28	23.75 ±5.37	13.63 ±5.67	24.71 ±6.72	26.20 ±12.85	11.46 ±4.25	18.15 ±9.64
	Clara	24.71 ±12.46	26.62 ±5.20	43.44 ±7.49	12.80 ±2.99	9.99 ±10.68	13.39 ±1.96	11.63 ±6.22	8.14 ±1.71	13.43 ±1.83
Eficiencia Biológica**	Oscura	4.90 ±0.94	8.48 ±1.73	5.29 ±0.94	3.56 ±0.80	2.04 ±0.85	3.70 ±1.00	3.93 ±1.92	1.72 ±0.63	2.72 ±1.44
	Clara	3.70 ±1.86	3.99 ±0.78	6.52 ±1.12	1.92 ±0.44	1.49 ±1.60	2.00 ±0.29	1.62 ±0.93	1.22 ±0.25	2.01 ±0.27

Los resultados mostrados corresponden a la media de tres determinaciones ± la desviación estándar

* Peso fresco de hongos obtenido a partir de 100 g de peso seco de sustrato (Tschierpe y Hartman, 1977)

** Peso seco de hongos obtenido a partir de 100 g de peso de sustrato (Wang y col., 2001)

Otra alteración observada en algunos cuerpos fructíferos fue un crecimiento micelial, blanco algodonoso, que semeja pequeños icebergs (Foto 4.5 del Anexo 2). Al microscopio se observan hifas no septadas, característica que no corresponde a *Pleurotus*.

En algunas de las cosechas tardías crecieron basidiocarpios secundarios (Foto 4.6 del anexo 2), este crecimiento anormal es descrito por Zadrzil y Grabbe (1983) en cultivos sometidos a iluminación insuficiente y/o elevada concentración de CO₂ (aireación deficiente). En los cultivos que presentaron estas estructuras secundarias no hubo contaminación visible, lo que concuerda con lo informado por los investigadores mencionados: El cultivo en condiciones de baja presión de oxígeno inhibe el desarrollo de organismos competidores de *Pleurotus*.

4.4.1 Análisis de los cuerpos fructíferos (setas)

La composición promedio de las setas corresponde al intervalo reportado en trabajos realizados por diferentes investigadores (Martínez y col., 1991; Vázquez, 1995; Bautista y col., 1998; Mendivil-Salmón y col., 2000). La Tabla 4.8 muestra los resultados promedio de tres determinaciones analíticas, hechas sobre muestras compuestas de los hongos cosechados en cada tratamiento.

La eficiencia biológica de los sustratos que contenían pasto fue semejante a la obtenida en la paja pero menor a la encontrada en los que tenían algodón. Los hongos cosechados en pasto tienen mayor contenido de nitrógeno orgánico, característica que se asocia con "concentraciones elevadas" de nitrógeno en el sustrato (Wang y col., 2001). Esta diferencia podría deberse a la

mayor concentración de nitrógeno en el pasto. Si se busca mejorar la calidad nutrimental de las setas, se podría aumentar el contenido de nitrógeno en el sustrato, sea combinando residuos de bajo contenido de nitrógeno con otros que tuvieran mayor concentración de este elemento o adicionando sustancias que puedan aportar nitrógeno, como la urea.

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza de diseño por bloques completamente aleatorios, con un valor de confianza de 95%. Los cálculos y resultados detallados se presentan en el anexo 3. No hubo diferencias significativas de eficiencia biológica entre los tratamientos: algodón, paja y pasto (Tabla 16); algodón enriquecido y sin enriquecer (Tabla 17); paja enriquecida y sin enriquecer (Tabla 18) y pasto enriquecido y sin enriquecer (Tabla 19).

4.4.2 Relación entre pérdida de peso y eficiencia biológica de los sustratos

La degradación de la materia orgánica conduce a la liberación de bióxido de carbono y agua y a la síntesis de biomasa fúngica. Cuando uno de los procesos se hace más eficiente, disminuye la eficiencia del otro.

Las Figuras que aparecen a continuación muestran los valores de reducción de peso y eficiencia biológica (Tschierpe y Hartman, 1977) de los tratamientos, por variedad del hongo *Pleurotus djamor*. La Figura 4.18 corresponde a la variedad oscura del hongo.

En la variedad oscura, el coeficiente de correlación entre ambas variables es de 0.85, valor que es significativo desde el punto de vista estadístico,

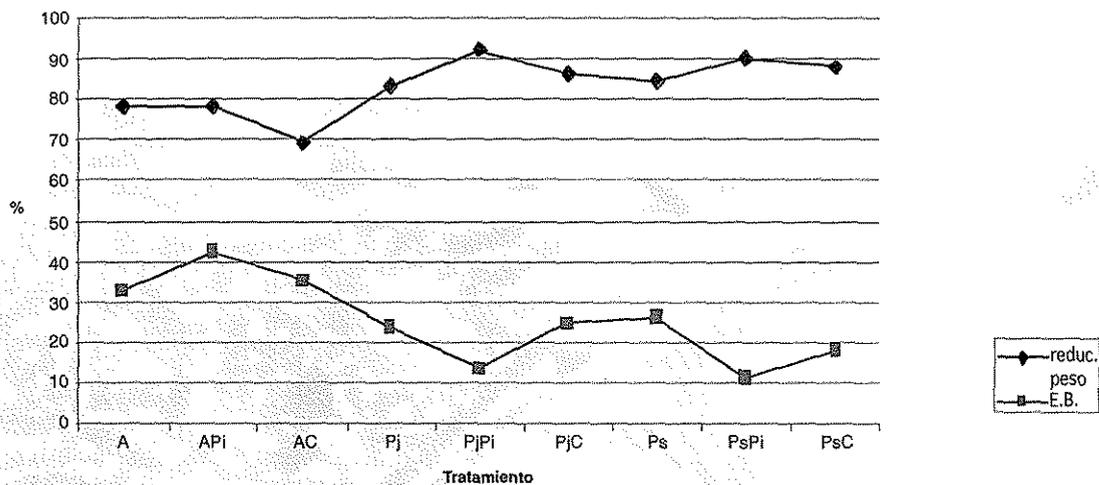


Figura 4.18 Reducción de peso del sustrato y eficiencia biológica del cultivo. Variedad oscura

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

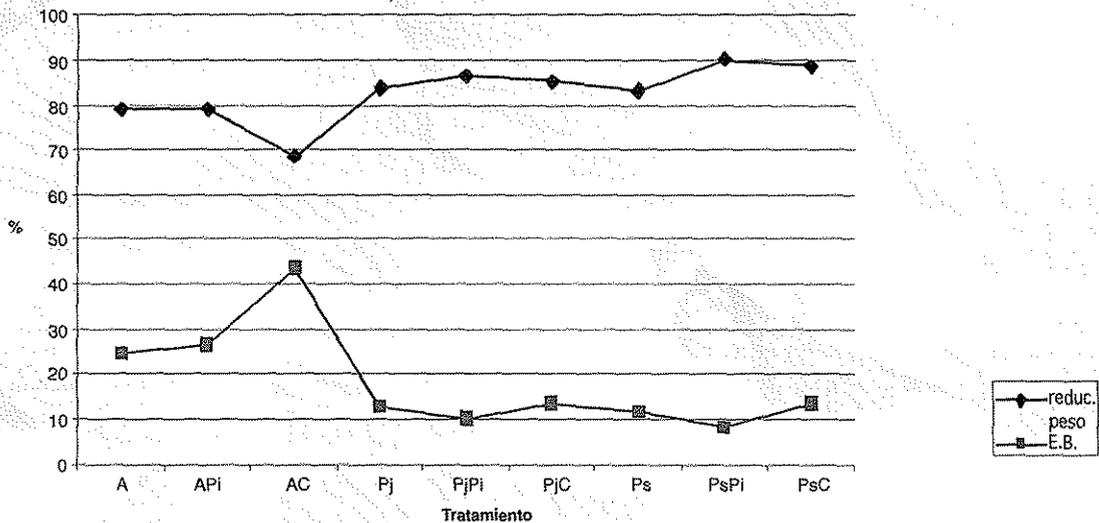


Figura 4.19 Reducción de peso del sustrato y eficiencia biológica del cultivo. Variedad clara

A: Algodón; APi: Algodón-piña; AC: Algodón-café; Pj: Paja; PjPi: Paja-piña; PjC: Paja-café; Ps: Pasto; PsPi: Pasto-piña; PsC: Pasto-café

ya que es mayor que dos veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 72%.

La Figura 4.19 muestra los datos correspondientes a la variedad clara. En ambas figuras se observa que hay una relación inversa entre los parámetros considerados, al aumentar el valor de uno de las variables, la otra disminuye.

En la variedad clara, el coeficiente de correlación entre ambas variables es de 0.95, valor que es significativo desde el punto de vista estadístico, ya que es mayor que dos veces el error estándar; el coeficiente de correlación porcentual, $r^2 \cdot 100$ es de 90%.

4.4.3 Balance de nitrógeno

Los materiales utilizados tenían concentraciones bajas de nitrógeno orgánico (Tabla 4.3). El nitrógeno es un elemento fundamental para la producción de biomasa, por lo que si la cantidad de nitrógeno es limitada, esto puede afectar la eficiencia biológica del cultivo.

En el Anexo 1 se resumen los datos relacionados con el balance de nitrógeno por etapa y por tratamiento. Los datos correspondientes a la variedad oscura aparecen en la Tabla 3, los de la variedad clara se muestran en la Tabla 4.

El nitrógeno orgánico total presente al finalizar el experimento, se calculó sumando la cantidad presente en el sustrato residual de cada tratamiento con la que contenían los hongos cosechados en esas mismas unidades experimentales. Se encontraron desbalances de nitrógeno, tanto por exceso como por defecto:

- ◆ En 40% de las unidades experimentales hubo una reducción de la cantidad de nitrógeno. Es posible que en estas unidades experimentales se haya liberado parte del nitrógeno, como amoníaco o hidracina.
- ◆ En 60% de los sustratos hubo mayor cantidad de nitrógeno orgánico al finalizar el experimento, que el que contenían los materiales que se acondicionaron como sustrato. Este incremento en el contenido de nitrógeno se debe, al menos en parte, a la actividad de especies fijadoras de nitrógeno que están presentes en el entorno y sólo necesitan humedad para ser activas (Durán-Domínguez-de-Bazúa, 1987). Esta hipótesis se basa en los resultados obtenidos por Martínez y Amora (2000), al experimentar con cultivos *in vitro* de *Pleurotus sajor-caju*, en los que se puso de manifiesto la liberación de sustancias que tenían actividad quimiotáctica hacia bacterias de vida libre, fijadoras de nitrógeno.

4.5 Resultados obtenidos en los experimentos con pañal desechable

En el fondo de las bolsas que contenían pañales desechables se acumulaba un material gelatinoso de color ámbar y apariencia translúcida. Este material gelificado era el poliacrilato hidratado al absorber la orina del bebé. Se podían observar grumos del gel sobresaliendo de la superficie del sustrato. En estas unidades experimentales fue muy limitada la colonización por el micelio del hongo, el proceso que debería haberse completado dos semanas de cultivo mostraba al cabo de ese tiempo apenas una invasión de 10 a 20%. A pesar del bajo porcentaje de invasión, los cultivos

que contenían los sustratos de pañal desechable se mantuvieron dos semanas más en el área de cultivo, sujetos a las mismas condiciones de fructificación que el resto de los sustratos.

En los espacios que dejaba libres el gel brotaron algunos primordios que dieron lugar a setas pequeñas de apariencia enfermiza. Casi desde que se perforaron las bolsas, al inicio del periodo de fructificación, los sustratos de pañal desechable atraeron insectos (pequeñas mosquitas) que infestaban los cuerpos fructíferos.

Debido a esas dificultades técnicas, todas las unidades experimentales que contenían pañal desechable, se retiraron del experimento sin tomar registros ni de humedad ni de reducción de peso del sustrato. Sin embargo, dada la importancia que tendría minimizar el volumen de los pañales desechables usados que se envían a disposición final, es conveniente realizar nuevos experimentos que permitan solucionar los problemas encontrados en este trabajo, quizá a través del diseño de un pretratamiento que rompa la estructura del gel sin afectar la composición de la fibra de celulosa.

Sólo en tres tratamientos que tenían pañal desechable hubo fructificación. El peso total, sumando los hongos cosechados en las tres unidades experimentales fue de 46.85 g, distribuidos de la siguiente manera:

- ◆ 12.08 g del tratamiento Pñ-1. Eficiencia biológica=4.39 con base en el peso fresco de hongos, equivalente a una eficiencia biológica de 0.65 si se calcula en base al peso seco de los hongos.

- ◆ 7.16 g del tratamiento Pñ-4. Eficiencia biológica=2.60 con base en el peso fresco de hongos, equivalente a una eficiencia biológica de 0.24 si se calcula en base al peso seco de los hongos.

- ◆ 23.91 g del tratamiento PñC-4. Eficiencia biológica=8.70 con base en el peso fresco de hongos, equivalente a una eficiencia biológica de 0.47 si se calcula en base al peso seco de los hongos.

En estos sustratos fue más productiva la variedad clara de *Pleurotus*. La diferencia entre ambas variedades es estadísticamente significativa, aunque debe ser confirmada debido a que para obtener ese resultado sólo se contó con 3 datos. En la Foto 4.7 se ven algunas de las setas que crecieron entre los grumos de gel y los fragmentos de polietileno.

El tratamiento ensayado no fue útil para la degradación de la fracción celulósica del pañal desechable debido a que el crecimiento del micelio del hongo fue bloqueado por las características físicas del poliacrilato, material que retenía grandes cantidades de agua impidiendo la existencia de cámaras de aire que mantuvieran la oxigenación del sustrato. Sin embargo, si se toma en cuenta que los resultados obtenidos con la fibra de algodón pueden ser, en cierta forma, válidos para el material celulósico del pañal desechable, a continuación se comentan dichos resultados.

La adición de penacho de piña al sustrato celulósico (algodón) disminuyó la velocidad de biodegradación sin afectar el porcentaje de reducción de peso. El metabolismo de la lignina antecede al de la celulosa, pero en este sustrato,

dicho proceso oxidativo fue limitado por la oxigenación insuficiente causada por la compactación del algodón hidratado. Una vez que se inició la degradación de la lignina, empezó a hidrolizarse la celulosa que liberó la energía requerida para la colonización masiva del sustrato por el micelio del hongo.

La adición de *posos de café* al sustrato celulósico (algodón) disminuyó la velocidad de degradación y el porcentaje de degradación del sustrato. Algunos autores han referido eficiencias biológicas bajas en sustratos de pulpa de café (González y Huerta, 2000), indicando que una de las posibles causas es el valor elevado de la relación carbono/nitrógeno (C/N) ya que concentraciones altas de nitrógeno afectan negativamente el metabolismo de *Pleurotus* al inhibir la actividad de las enzimas ligninolíticas. Los resultados de este trabajo coinciden con lo reportado por esos autores. En las Fig. 4.14 y 4.15 se puede ver que hay una relación directa entre el porcentaje de degradación del sustrato y la relación C/N: En los sustratos que tuvieron una reducción de masa superior al 90%, el cociente C/N era menor a 15; en tanto que en los sustratos en que el cociente C/N fue mayor a 24, la reducción de masa fue inferior a 90%.

4.6 Reducción de masa

El cultivo del hongo *P. djamor* sobre residuos urbanos celulósicos condujo a una reducción importante de la masa de los materiales que fueron utilizados como sustrato. El tratamiento fue muy eficiente en los sustratos que contenían pasto. El peso del residuo seco disminuyó 60-70% en las primeras cuatro semanas de cultivo y llegó a 80% al término de 16 semanas.

Al mezclar pasto con penacho de piña, la degradación fue más rápida y más eficiente que en los sustratos que sólo contenían pasto. En cuatro semanas disminuyó en 80% el peso del sustrato y al término de 16 semanas la disminución de peso fue de 90%.

Como se ve, la mezcla con "enriquecedores" tuvo un efecto distinto sobre el algodón y sobre el pasto. Uno de los factores que influyó en esa diferencia fue la estructura física de cada material, pues en tanto que el contacto entre el algodón y los fragmentos de piña era limitado por la compactación del algodón, el pasto y la superficie de los fragmentos de piña estaban en estrecho contacto. Además de la influencia de las características estructurales de los sustratos, deben considerarse los resultados reportados por Bautista y col. (1998). En sus experimentos, la incorporación de un material rico en lignina (penacho de piña) a un sustrato pobre en lignina (bagazo de caña) elevó la eficiencia biológica del cultivo. Bis'ko y Bilay (1992) también reportan que una alta concentración de lignina favorece el cultivo del hongo *Pleurotus*.

En las fotos 4.8 (algodón), 4.9 (paja) y 4.10 (pasto) del Anexo 2, se puede apreciar la diferencia entre la masa aparente de los sustratos al inicio del tratamiento y la masa de los residuos finales. En la parte posterior (segundo plano) se muestra la bolsa que contiene 250 g (en base seca) de algodón, paja o pasto. Al frente (primer plano) se observan tres "residuos" que corresponden respectivamente a sustrato sin enriquecer, sustrato enriquecido con piña y sustrato enriquecido con café. Estas imágenes muestran que la reducción de masa estuvo acompañada por una significativa reducción de volumen.

4.7 Resultados del cultivo *in vitro*

La identificación presuntiva de los organismos que se desarrollaron en los medios, tanto sólidos como líquidos, no fue realizada en esta investigación. Sin embargo, las muestras se enviaron a investigadores del Cepario del Departamento de Biología, de la Facultad de Química de la UNAM, para su identificación presuntiva. A continuación se presentan estos resultados. Un estudio a fondo de los resultados, la identificación de los organismos y sus interrelaciones están fuera del alcance de esta investigación.

4.7.1 Medios de cultivo sólidos

A continuación se indican los días transcurridos para que fueran visibles las colonias de hongos y se describen brevemente sus características macroscópicas. Con base en esas características se identificó presuntivamente, el género de los organismos presentes en los distintos medios de cultivo. El color de las colonias fue uno de los elementos que se utilizó para diferenciar las colonias verdes de *Gliocladium* y *Stemphyllium*, de las colonias blancas de *Pleurotus* y *Fusarium*. Otros elementos utilizados fueron la forma y el modo como las colonias invadían el sustrato.

Fusarium es un hongo de micelio algodonoso que puede ser blanco o coloreado (rosa, púrpura o amarillo), las que fueron observadas en los medios de cultivo eran blancas con una ligera tonalidad rosada. Al microscopio, las hifas de *Fusarium* no muestran septos. El micelio de *Pleurotus* también es blanco algodonoso pero sus hifas son septadas y al ir invadiendo la superficie del medio de cultivo parece como si un material algodonoso muy tenue fuera empujado por el viento.

Inóculo 1 *P. djamor*

- Agar-celulosa. No hubo desarrollo aparente en seis semanas.
- Agar-celulosa-lignina. Desarrollo lento (la colonización fue visible 3 semanas después de la siembra) y limitado de micelio blanco-algodonoso. *Pleurotus*.
- Agar-celulosa-superabsorbente. Desarrollo lento (la colonización fue visible 3 semanas después de la siembra) y limitado de micelio blanco-algodonoso. *Pleurotus*.

Inóculo 2 *P. djamor* + microbiota acompañante

- Agar-celulosa. Aparición de 2 ó 3 colonias aisladas de color blanco y apariencia algodonosa, 2 semanas después de la siembra. El aspecto de las colonias se modificó transformándose en una especie de cubierta blanca que cubría apenas 10% de la superficie del agar y, adquirió en 10-12 días, una tonalidad rosada. *Fusarium*.
- Agar-celulosa-lignina. En 10 días aparecieron colonias individuales de color blanco y aspecto algodonoso que se transformaron progresivamente en una capa blanca de colonias difusas con tonalidad rosada, que cubrían alrededor de 70% de la superficie del agar. *Fusarium*.
- Agar-celulosa-superabsorbente. En 10 días se hicieron visibles colonias individuales blancas, de apariencia algodonosa que se transformaron progresivamente en una capa de colonias difusas blancas con tonalidad rosada, que cubrían alrededor de 70% de la superficie del agar. *Fusarium*.

Inóculo 3 *P. djamor* + microbiota acompañante + microbiota ambiental

- Agar-celulosa. Se observó la aparición de 2 ó 3 colonias aisladas, de color verde oscuro, a los 7 días de la siembra. Cinco días después,

la mayor parte de la superficie estaba ocupada por colonias de apariencia gelatinosa y color verde muy oscuro, había además una cubierta blanca que abarcaba menos de 5% de la superficie del medio y adquirió una tonalidad rosada. *Stemphyllium* y *Fusarium*.

- Agar-celulosa-lignina. Desarrollo rápido (en 10 días) de numerosas colonias de apariencia gelatinosa y color verde muy oscuro, que cubrían casi por completo la superficie del agar. Era visible además una cubierta blanca que abarcaba menos de 5% del medio y adquirió una tonalidad rosada. *Stemphyllium* y *Fusarium*.
- Agar-celulosa-superabsorbente. Desarrollo rápido (en 10 días) de numerosas colonias de apariencia gelatinosa y color verde muy oscuro, que casi cubrían la superficie del agar; se veía además una cubierta blanca que abarcaba menos

de 5% del medio y adquirió una leve tonalidad rosada. *Stemphyllium* y *Fusarium*.

Inóculo 4 *Gliocladium viride*

- Agar-celulosa. No hubo desarrollo aparente en seis semanas.
- Agar-celulosa-lignina. Desarrollo rápido, en una semana. Colonias aisladas pequeñas, de color verde intenso. *Gliocladium*.
- Agar-celulosa-superabsorbente. Desarrollo rápido, en una semana. Colonias aisladas pequeñas, de color verde intenso. *Gliocladium*.

Inóculo 5 *P. djamor* + *G. viride*

- Agar-celulosa. Aparición de un pequeño número de colonias verde oscuro y una colonia blanca, muy pequeña.

Tabla 4.9 Identificación presuntiva de los organismos que proliferan en los medios sólidos (realizada por investigadores del cepario de la Facultad de Química, UNAM)

Medio de cultivo	Inóculo	Tiempo en días	Organismo
Agar-celulosa	P	No hubo colonias	No hay
	PA	14	<i>Fusarium</i> sp.
	PAA	7	<i>Stemphyllium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp.
	G	No hubo colonias	No hay
	PG	7	<i>Gliocladium</i> sp.
Agar-celulosa-lignina	P	21	<i>Pleurotus djamor</i>
	PA	10	<i>Fusarium</i> sp.
	PAA	10	<i>Stemphyllium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp.
	G	7	<i>Gliocladium</i> sp.
	PG	10	<i>Stemphyllium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Gliocladium</i> sp.
Agar-celulosa-superabsorbente	P	21	<i>Pleurotus djamor</i>
	PA	10	<i>Fusarium</i> sp.
	PAA	10	<i>Stemphyllium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp.
	G	7	<i>Gliocladium</i> sp.
	PG	10	<i>Stemphyllium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Gliocladium</i> sp.

- Agar-celulosa-lignina. Desarrollo rápido, en una semana. Superficie cubierta parcialmente (50%) por colonias de apariencia gelatinosa y color verde muy oscuro, 10% por colonias blancas que aparecieron después que las anteriores; se observan algunas colonias aisladas de color verde intenso. *Stemphyllium*, *Fusarium* y *Gliocladium*.
- Agar-celulosa-superabsorbente. Desarrollo rápido, en una semana. Superficie cubierta parcialmente (50%) por colonias de apariencia gelatinosa y color verde oscuro, 10% por colonias blancas que aparecieron después que las anteriores, se observan algunas colonias aisladas de color verde intenso. *Stemphyllium*, *Fusarium* y *Gliocladium*.

En la Tabla 4.9 se resumen los datos de los resultados obtenidos en los medios sólidos de cultivo.

4.7.2 Medios de cultivo líquidos

En los tubos que fueron inoculados con cultivos puros (P, G y PG) no hubo desarrollo aparente visualmente. En los inóculos mixtos (PA, PAA y GA), a las cuatro semanas de incubación, se observó turbidez provocada por la presencia de microorganismos. En la superficie del líquido se formó una "nata" y presencia de gas en la campana de Durham, los fragmentos de papel (celulosa) que se agregaron como fuente de carbono perdieron consistencia y casi desaparecieron. Una gota del cultivo líquido en que hubo desarrollo, se tiñó y observó al microscopio. Una muestra se resembró en medios específicos para identificación de bacterias. La tinción de gram mostró la presencia, en el cultivo original, de bacilos cortos gram (+), cocobacilos gram variable y levaduras.

La siembra del cultivo en gelosa-sangre, con incubación en aerobiosis por 24 horas, dio lugar a la aparición de colonias grandes, convexas, de color beige tendiendo a café. Al microscopio se observan bacilos cortos, gram variable. Se hizo una resiembra en gelosa-chocolate (GC), con incubación en anaerobiosis, que dio lugar a la aparición de colonias convexas, redondas, de color gris; al microscopio, se ven bacilos cortos gram (+); la prueba de catalasa resultó catalasa (+). A partir de los datos mencionados se presume la existencia de microorganismos del grupo *Corynebacterium*.

El cultivo se resembró en agar-fenil-alcohol (pea, por sus siglas en inglés phenyl ethyl agar) y se incubó en anaerobiosis. A las 72 horas se observaron dos tipos de colonias: unas eran colonias planas, de bordes indefinidos que al ser observadas al microscopio mostraban la presencia de bacilos muy largos, gram (+), con aparentes esporas o gránulos metacromáticos, posiblemente se trata de microorganismos de la familia *Lactobacillaceae*. Las otras colonias eran más pequeñas y convexas, de color beige; al ser observadas al microscopio mostraban la presencia de bacilos muy grandes, semejantes a los anteriores, gram (-); hay además bacilos cortos, delgados y curvos, posiblemente del grupo *Corynebacterium*.

4.7.3 Análisis de los resultados

En los cultivos *in vitro* hubo diversas interacciones no identificadas entre los organismos presentes. Por ejemplo, se observó que el hongo *Pleurotus* no se desarrolló cuando fue sembrado en un medio de cultivo sólido, que tenía celulosa como única fuente de carbono, en tanto que otras especies ligninolíticas, entre ellas *Fusarium* y *Gliocladium*,

que son organismos ambientales ubicuos y con gran poder de adaptación a variaciones en los parámetros fisicoquímicos del entorno (Jennings, 1995), sí crecieron en ese medio limitado.

Se encontró que en los cultivo *in vitro*, la presencia de *Fusarium* favoreció el desarrollo de *Pleurotus*, lo que podría ser un indicio de que alguna(s) de las especies acompañantes de la "semilla" del hongo o de los microorganismos ambientales inicia el proceso de degradación de la lignina y libera la energía requerida para la hidrólisis de la celulosa por el hongo *Pleurotus*.

En el cultivo que se sembró con un inóculo en que intencionalmente se había permitido la "contaminación" con microorganismos ambientales, hubo un desarrollo rápido de un contaminante ambiental, *Stemphyllium* sp., que inhibió casi por completo el crecimiento de *Pleurotus* y de *Fusarium*. La eficiencia degradadora de los hongos

ambientales es muy reducida, como se demuestra con la limitada, menor al 5%, reducción de peso obtenida en los sustratos sin inocular.

Las dos variedades de *pleurotus djamor* con que se trabajó requirieron, además de celulosa como fuente de carbono, lignina u otro cosustrato que contuviera enlaces -c-o- (éter o éster). Ese tipo de enlace existe en la molécula de lignina y en la estructura del poliacrilato de los pañales desechables. En los medios sólidos que contenían lignina o poliacrilato, además de celulosa, sí hubo proliferación de *Pleurotus*. El propósito de incorporar poliacrilato al medio de cultivo fue investigar si alguna fracción del polímero se solubilizaba y fuera su presencia la que inhibiera la colonización del pañal desechable por el micelio de *pleurotus*. Los resultados obtenidos descartan esa hipótesis ya que el poliacrilato, más que impedir, favoreció el crecimiento de *Pleurotus*.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Aunque autoridades municipales, entre ellas, el Gobierno del Distrito Federal difunden a través de los medios de comunicación el problema de la generación de 10,000 a 14,000 toneladas diarias de basura y la necesidad de reducir la generación y dar tratamiento a esos desechos, todavía la comunidad no ha tomado conciencia de separar la “basura” para que en lugar de ser un problema sea un recurso. Cuando la “basura” se deposita separada, el porcentaje de recuperación o reciclamiento de los subproductos se eleva por encima del 10% que se estima actualmente. Los residuos urbanos celulósicos, entre ellos la poda de pasto, el pañal desechable usado, el penacho de piña y el “café lavado”, cuyo tratamiento se estudió en esta investigación, se desechan por separado en las fuentes de generación, lo que facilita su acopio y tratamiento. A continuación se presentan las conclusiones de esta investigación, pero se debe tomar en cuenta que el conjunto de experimentos que se realizaron no tuvo réplica, por lo que los datos obtenidos son presuntivos y es necesario confirmarlos repitiéndolos en instalaciones dotadas con dispositivos, no únicamente para el registro, sino para el control de las variables ambientales.

5.1 Pañal desechable

Debido a las dificultades técnicas para obtener muestras homogéneas del sustrato y a que el cultivo del hongo *Pleurotus djamor* sobre pañales desechables se interrumpió en una etapa temprana, no se obtuvieron datos directos de la eficiencia de degradación del residuo celulósico de este desecho. Se cuenta, sin embargo, con información indirecta a partir de los resultados encontrados en los sustratos que contenían algodón industrial (fibra de celulosa). El tratamiento biotecnológico utilizado aparece como una alternativa conveniente para la degradación de la celulosa, ya que en las primeras cuatro semanas (invasión del sustrato por el micelio del hongo) hubo una reducción de peso seco de 72 a 75%. Cuando el proceso se mantuvo durante 16 semanas (invasión y fructificación) la disminución de peso fue de 78%. Ni desde el punto de vista de la eficiencia de degradación ni de la eficiencia biológica parece ser importante prolongar el tratamiento.

La mezcla de la fibra de algodón con penacho de piña (aporte de lignina) o “posos de café” (aporte de nitrógeno) afectó negativamente la eficiencia del proceso de biodegradación. Sin embargo, la adición de desechos de piña u otros residuos de estructura rígida permite la existencia de espacios de aire, en ausencia de esos materiales la fibra de algodón debe combinarse con materiales rígidos inertes, por ejemplo, fragmentos de plástico.

Los pañales desechables forman parte de la categoría “otros residuos” en la que se incluye a aquellos

desechos cuyo aprovechamiento está condicionado por la tecnología y los altos costos de su recuperación (Valenzuela, 2000), por lo que a pesar de la falta de resultados que hubo en este experimento, se debe insistir en la minimización de ese residuo, para lo que es necesario diseñar y ensayar pretratamientos que eliminen al poliacrilato o impidan su gelificación. La estructura del gel no se altera por el calentamiento a 120°C/20 minutos (esterilización en autoclave) pero es sensible a soluciones salinas y a la luz directa del sol, por lo que el residuo de pañal podría ser sometido a uno de esos tratamientos, antes de inocularlo con la semilla del hongo. La cámara de cultivo se puede acondicionar en espacios domésticos. El alto contenido proteínico del hongo hace que su cultivo sea recomendable para producir un recurso que, si bien pudiera ser rechazado para consumo humano, sería útil como complemento alimentario o como alimento para animales.

Desde el punto de vista de su productividad, el cultivo es más eficiente cuando el sustrato se esteriliza ya que se reduce la posibilidad de que se desarrollen organismos competidores, especies omnipresentes que se activan en presencia de humedad. Por el contrario, si el objetivo es reducir la masa del desecho, conviene adicionar al sustrato carbohidratos de bajo peso molecular que favorezcan el desarrollo de hongos celulolíticos competidores de *Pleurotus*, lo que será en detrimento de la productividad ya que se inhibirá por completo el desarrollo de los cuerpos fructíferos o sólo se producirán hongos pequeños.

El nitrógeno orgánico presente en las heces y la orina del bebé puede liberarse como amoníaco, sustancia que inhibe el desarrollo del micelio y,

por tanto, afecta el proceso de degradación. Dicho problema se puede evitar si los desechos de pañal se combinan con otros residuos orgánicos de origen urbano, que tengan bajo contenido de nitrógeno (penacho de piña, bagazo de caña, etc.).

En sustratos que contienen carbohidratos de cadena corta se inicia más pronto el metabolismo de los materiales lignocelulósicos, por lo que una "composta" inconclusa, en la que parte de los almidones se han convertido en monosacáridos y disacáridos, puede ser un sustrato conveniente para el cultivo de *Pleurotus djamor*.

En conclusión, los resultados de investigaciones anteriores (Espinosa y col., 1999) y los obtenidos en esta investigación permiten considerar que este proceso de tratamiento es una buena alternativa para reducir el peso y el volumen del residuo de pañal desechable, si previamente se aplica al residuo algún tratamiento que elimine el problema causado por la estructura del gel.

Mediante este tratamiento podría reducirse en 80 a 90% la fracción celulósica del pañal desechable, lo que representa alrededor de 600 toneladas diarias menos de residuos sólidos municipales que, en el Distrito Federal, deban ser enviados a un relleno sanitario. Esta estimación es muy optimista ya que implica que se someta a tratamiento el total del desecho generado, una visión más práctica es considerar la posibilidad de dar tratamiento sólo a los pañales desechables que se generan en centros de cuidado infantil, como guarderías, estancias infantiles, salas de ginecoobstetricia (cuneros) y salas de consulta y hospitalización pediátrica.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5.2 Poda de pasto

El pasto cortado o poda de pasto se genera por separado en áreas jardinadas. Este desecho puede ser considerado un material "limpio", pero su acumulación da lugar a contaminación visual y favorece la proliferación de fauna nociva.

El cultivo de *Pleurotus djamor* sobre la poda de pasto de jardín minimizó el desecho, reduciendo en cuatro semanas, 63% del peso seco inicial y, en 16 semanas, 84% de dicho peso. En 5-6 semanas pueden cosecharse hongos comestibles cuyo consumo, a diferencia de los obtenidos en pañales desechables, no tiene por qué provocar rechazo en los consumidores. Si se controlan las condiciones de oxigenación y concentración de nitrógeno, el cultivo del hongo sobre poda de pasto puede ser una actividad productiva, desde el punto de vista económico.

El tratamiento ensayado genera un recurso apreciado por una fracción importante de la población mexicana y, es una alternativa a la actual fabricación de composta utilizando mezclas de desechos que contienen poda de pasto. El producto de la composta es un "mejorador del suelo", material de costo relativamente bajo y en el que aún están presentes sin degradar, parte de la celulosa y casi la totalidad de la lignina; si la composta se usa como sustrato para el cultivo de *Pleurotus djamor*, el hongo degradará a la celulosa y a la lignina residuales. La eficiencia biológica del cultivo en este último sustrato será alta ya que no habrá carbohidratos de bajo peso molecular que favorezcan el desarrollo de hongos competidores.

A diferencia de lo que ocurre con la fibra de algo-

dón ("celulosa"), la combinación de la poda de pasto con penachos de piña (aporte de lignina) o con "posos de café" (aporte de nitrógeno) aceleró la velocidad y porcentaje de degradación del sustrato, llevándolo a una reducción de 90% del peso seco inicial. La estructura rígida del desecho de piña benefició el cultivo al permitir la oxigenación del micelio del hongo.

En conclusión, los resultados de trabajos anteriores y los obtenidos en esta investigación permiten considerar a este tipo de tratamiento como una buena alternativa para reducir el peso y el volumen de la poda de pasto. Este desecho se separa en el sitio de generación, por lo que es fácil acopiarlo "limpio", para enviarlo a tratamiento.

5.3 Sugerencia de futuras investigaciones

En este trabajo se utilizaron como sustrato para el cultivo del hongo *Pleurotus djamor*, "desechos urbanos", a los que se les determinó el contenido de humedad, hemicelulosa, celulosa, lignina, cenizas y nitrógeno orgánico. En futuras investigaciones podrían utilizarse otros desechos urbanos, solos o combinados, sobre todo los residuos que se depositan habitualmente en contenedores individuales, por ejemplo, cáscaras de naranja, bagazo de caña, hojas de elote, práctica que facilita su acopio. Si se determina previamente la composición de esos "nuevos" desechos y se compara con los incluidos en este informe, los resultados pueden servir como guía para decidir si conviene mezclarlos y en qué proporciones, de modo que sus relaciones celulosa/lignina y carbono orgánico/nitrógeno orgánico conduzcan a una rápida y efectiva reducción de masa del residuo.

El tratamiento biológico que se propone puede ser considerado una composta *sui generis*. por lo que la concentración de nitrógeno es uno de los parámetros más importantes a controlar. Cuando en una composta "clásica" hay poco nitrógeno, no se eleva la temperatura y, en cambio, si este elemento se encuentra en exceso, la temperatura se eleva tanto que puede matar a los microorganismos aerobios y facultativos sensibles a temperaturas "altas", incluyendo a la semilla del hongo y hacer que la biodegradación proceda a través de mecanismos anaerobios (Richard y Trautmann, 2000).

En futuros experimentos, a mayor escala y, dependiendo del propósito del cultivo, es recomendable, bien sea utilizar condiciones ambientales y composición de los sustratos tales que favorezcan la reducción de masa (eficiencia de biodegradación) o, por el contrario, si lo que se desea es la producción de hongos (eficiencia biológica), enriquecer las mezclas de residuos lignocelulósicos con pequeñas cantidades de materiales nitrogenados. En ambos casos, es necesario que al menos uno de los materiales proporcione al sustrato una estructura rígida que permita la existencia de cámaras de aire, ya que para degradar la lignina se requiere una alta concentración de oxígeno. Otros materiales que pueden incorporarse a los sustratos destinados al cultivo de *Pleurotus*, son los desechos orgánicos que habitualmente se utilizan para composta.

La eficiencia degradadora de *Pleurotus* cultivado sobre residuos celulósicos puede elevarse al combinar este tratamiento con el proceso de "composta". Ambos tratamientos, "composta" y cultivo del hongo, pueden realizarse en forma secuencial: 1) Primero exponer la mezcla de

desechos celulósicos, previamente humedecida, a las condiciones adecuadas para producir composta y, 2) Interrumpir la composta e inocular los residuos del proceso de composta con la semilla de *Pleurotus*, para degradar la lignina y la celulosa residuales. Durante esta segunda etapa es necesario remover periódicamente la pila de composta para asegurar las condiciones aerobias que permitan la colonización del sustrato por el micelio del hongo.

Alternativamente, los dos tratamientos mencionados pueden iniciarse de manera simultánea. Para ello, se inocularía la pila de "composta", con la semilla de *Pleurotus* manteniéndola en condiciones estáticas durante 8-10 días. Si la temperatura no sobrepasa durante 48 horas la temperatura de 45°C, la semilla del hongo permanecerá viable y ocurrirán simultáneamente la degradación de los compuestos orgánicos de fácil aprovechamiento y la colonización del sustrato por el micelio del hongo *Pleurotus*. Transcurridos esos 8 o 10 días, una vez que el sustrato haya sido colonizado, el material debe removerse periódicamente para que el hongo disponga del oxígeno que le es indispensable para la degradación de la lignina. La aireación del sustrato debe realizarse a lo largo del periodo de fructificación.

En este experimento, se evitó el riesgo de contaminación con materiales biológico-infecciosos (pañales desechables usados) por medio de la esterilización del material, antes de inocularlo con la semilla del hongo. Al escalar el procedimiento y aplicarlo a volúmenes grandes, la esterilización del sustrato podría representar un problema de tipo técnico pero es probable que en las dos alternativas de tratamiento combinado descritas anteriormente, el proceso de formación

de composta reduzca o elimine por completo la carga bacteriana del residuo, sobre todo en cuanto a los microorganismos patógenos para el hombre que podrían estar presentes en los pañales desechables usados y representar un riesgo de infección.

Para reducir el riesgo de infección conviene recordar también que la fermentación eleva la temperatura del sustrato debido a que provoca la hidrólisis de algunos biopolímeros como los almidones, convirtiéndolos en moléculas sencillas. El calor liberado por la hidrólisis provoca la muerte de los organismos patógenos (González y Huerta, 2000), por lo que también se puede experimentar con materiales previamente fermentados, sin esterilizarlos ni pasteurizarlos. La degradación del material sería más eficiente en sustratos no estériles ya que están presentes otros organismos degradadores.

Es posible que en sustratos que no hayan sido esterilizados no haya fructificación o, que la cosecha de setas sea muy pobre debido a la competencia de otros hongos xilófagos. Por ejemplo, el hongo ambiental *Trichoderma* spp. libera metabolitos que inhiben el desarrollo de *Pleurotus* y degradan su pared celular (Benítez y Huerta, 2000). En estos sustratos el material lignocelulósico se degradará pero no se obtendrán

hongos, el residuo puede ser una opción en dietas para animales (Soto-Velazco y col., 2000).

Los resultados muestran que no necesariamente el cultivo en que hubo mayor reducción de masa fue el de mayor eficiencia biológica, por el contrario, la reducción de masa y la eficiencia biológica son inversamente proporcionales. Por ello, cuando se desea elevar la productividad del cultivo, los parámetros que se deben modificar pueden ser distintos de los mencionados. Por ejemplo, Wang y col. (2001), obtuvieron mayor rendimiento de setas y éstas tuvieron un mayor contenido de nitrógeno, cuando trabajaron con sustratos "fermentados". También puede recurrirse al enriquecimiento del sustrato con urea u otra fuente de nitrógeno orgánico aprovechable.

Una línea de experimentación que pudiera interesar a especialistas en microbiología es la identificación de las especies de los microorganismos asociados con el micelio de *Pleurotus*. Otra línea de investigación interesante para especialistas en bioquímica es el estudio de las reacciones enzimáticas que ocurren en la degradación de estas combinaciones de sustratos específicos y la forma de optimar las conversiones para reducir los tiempos requeridos para la reducción de peso y/o la producción de setas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO 1
DATOS EXPERIMENTALES

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 1 Reducción de peso de los sustratos en las dos etapas de cultivo de *Pleurotus djamor*, variación oscura.

Sustrato	Unidades Experimentales	Reducción de peso		
		De 0 a 4 semanas	De 4 a 16 semanas	De 0 a 16 semanas
		%	%	%
Algodón	A1	73.95	5.72	79.67
	A2	74.41	1.17	75.59
	A3	81.68	2.77	78.91
Algodón Piña	APi1	40.99	38.25	79.24
	APi2	56.62	19.74	76.36
	APi3	54.13	24.78	78.91
Algodón Café	AC1	55.07	14.60	69.67
	AC2	50.64	18.02	68.66
	AC3	59.23	9.35	68.58
Paja	Pj1	45.11	35.05	80.16
	Pj2	22.69	62.97	58.66
	Pj3	52.86	30.59	83.44
Paja Piña	PjPi1	73.35	20.89	94.24
	PjPi2	78.96	12.46	91.42
	PjPi3	80.40	9.96	90.36
Paja Café	PjC1	80.16	8.21	88.37
	PjC2	70.47	12.83	83.31
	PjC3	84.45	2.05	86.50
Pasto	Ps1	54.85	31.81	86.67
	Ps2	62.56	19.33	81.89
	Ps3	72.28	11.68	83.96
Pasto Piña	PsPi1	85.95	4.92	90.86
	PsPi2	78.88	9.64	88.53
	PsPi3	84.87	5.43	90.30
Pasto Café	PsC1	83.24	2.95	86.19
	PsC2	72.93	16.02	88.95
	PsC3	78.26	10.01	88.27

Tabla 2 Reducción de peso de los sustratos en las dos etapas de cultivo de *Pleurotus djamor*, variación clara.

Sustrato	Unidades Experimentales	Reducción de peso		
		De 0 a 4 semanas	De 4 a 16 semanas	De 0 a 16 semanas
		%	%	%
Algodón	A4	71.71	8.30	80.04
	A5	70.57	7.91	78.48
	A6	70.73	7.15	77.88
Algodón Piña	APi4	66.32	11.86	78.18
	APi5	59.25	18.01	77.26
	APi6	64.04	17.15	81.19
Algodón Café	AC4	58.12	10.03	68.15
	AC5	60.87	6.66	67.53
	AC6	54.68	14.98	69.66
Paja	Pj4	71.39	11.31	82.70
	Pj5	51.09	34.48	85.57
	Pj6	74.85	7.15	82.00
Paja Piña	PjPi4	72.32	16.61	88.94
	PjPi5	82.36	4.33	86.69
	PjPi6	75.08	8.28	83.36
Paja Café	PjC4	77.69	6.00	83.69
	PjC5	70.07	14.51	84.58
	PjC6	68.86	17.88	86.74
Pasto	Ps4	78.88	4.63	83.51
	Ps5	70.64	11.33	81.98
	Ps6	74.10	9.85	83.95
Pasto Piña	PsPi4	85.83	3.72	89.55
	PsPi5	86.64	5.14	90.78
	PsPi6	85.51	3.27	89.78
Pasto Café	PsC4	83.81	4.76	88.58
	PsC5	86.02	1.47	87.49
	PsC6	84.16	5.59	89.75

Tabla 3 Balance de nitrógeno. Variedad oscura de *P. djamour*

Sustrato	Unidades	Gramos de nitrógeno						Diferencia % (t=0)(t=2)
		Sustrato			Cosecha	Total t= 2	Diferencia (t= 0) (t= 2)	
		t= 0	t= 1	t= 2				
Algodón	A1	0.37	0.21	0.22	0.34	0.56	-0.43	116.2
	A2	0.37	0.21	0.30	0.51	0.82	-0.68	183.8
	A3	0.37	0.20	0.20	0.36	0.55	-0.42	113.5
	APi1	0.84	0.31	0.20	0.82	1.02	-0.71	84.5
	APi2	0.84	0.28	0.46	1.03	1.49	-1.18	140.5
	APi3	0.84	0.24	0.42	0.57	0.99	-0.68	80.9
	AC1	0.39	0.47	0.63	0.52	1.15	-1.01	258.9
	AC2	0.39	0.53	0.53	0.53	1.06	-0.92	235.9
	AC3	0.39	0.36	0.52	0.54	1.06	-0.93	235.9
Paja	Pj1	1.15	0.73	0.36	0.21	0.57	-0.15	13.0
	Pj2	1.15	1.04	0.30	0.35	0.64	-0.22	19.1
	Pj3	1.15	0.73	0.35	0.23	0.59	-0.17	14.8
	PjPi1	1.23	0.78	0.10	0.30	0.40	0.04	3.3
	PjPi2	1.23	0.76	0.16	0.21	0.36	0.08	6.5
	PjPi3	1.23	0.53	0.29	0.13	0.43	0.02	1.6
	PjCi1	0.78	0.38	0.52	0.20	0.72	-0.44	56.4
	PjCi2	0.78	0.49	0.70	0.43	1.12	-0.84	107.7
	PjCi3	0.78	0.30	0.42	0.38	0.80	-0.52	66.7
Pasto	Ps1	3.68	1.77	0.28	0.80	1.08	0.26	7.1
	Ps2	3.68	1.39	0.46	0.21	0.66	0.68	18.5
	Ps3	3.68	0.67	0.34	0.45	0.79	0.55	14.9
	PsPi1	2.50	0.40	0.20	0.25	0.45	0.46	18.4
	PsPi2	2.50	0.68	0.25	0.08	0.33	0.58	23.2
	PsPi3	2.50	0.38	0.20	0.22	0.43	0.48	19.2
	PsCi1	2.05	0.40	0.63	0.10	0.73	0.01	0.5
	PsCi2	2.05	0.62	0.27	0.52	0.79	-0.05	2.4
	PsCi3	2.05	0.53	0.39	0.33	0.73	0.02	1.0

t= 0, 0 semanas; t= 1, 4 semanas y t= 2, 16 semanas

Tabla 4 Balance de nitrógeno. Variedad clara de *P. djamour*

Sustrato	Unidades	Gramos de nitrógeno						Diferencia % (t= 0)(t= 2)
		Sustrato			Cosecha	Total t= 2	Diferencia (t= 0) (t= 2)	
		t= 0	t= 1	t= 2				
Algodón	A4	0.35	0.23	0.17	0.16	0.33	-0.21	60.0
	A5	0.35	0.20	0.28	0.52	0.80	-0.68	194.3
	A6	0.35	0.21	0.21	0.23	0.44	-0.32	91.4
	APi4	0.82	0.31	0.47	0.36	0.84	-0.54	65.9
	APi5	0.82	0.44	0.41	0.50	0.92	-0.62	75.6
	APi6	0.82	0.40	0.44	0.44	0.88	-0.58	70.7
	AC4	0.36	0.35	0.74	0.79	1.53	-1.40	388.8
	AC5	0.36	0.31	0.28	0.52	0.80	-0.67	186.1
Paja	AC6	0.36	0.42	0.54	0.64	1.18	-1.05	291.7
	Pj4	1.13	0.49	0.55	0.07	0.63	-0.22	19.5
	Pj5	1.13	0.55	0.32	0.12	0.43	-0.02	1.8
	Pj6	1.13	0.38	0.39	0.23	0.62	-0.21	18.6
	PjPi4	1.21	0.30	0.28	0.03	0.31	0.13	10.7
	PjPi5	1.21	0.17	0.29	0.34	0.64	-0.20	16.5
	PjPi6	1.21	0.35	0.36	0.19	0.55	-0.11	9.1
	PjC4	0.76	0.60	0.56	0.15	0.70	-0.43	56.6
Pasto	PjC5	0.76	0.78	0.41	0.20	0.61	-0.34	44.7
	PjC6	0.76	0.77	0.63	0.17	0.80	-0.52	68.4
	Ps4	3.66	0.45	0.41	0.11	0.52	0.81	22.1
	Ps5	3.66	0.73	0.36	0.38	0.74	0.59	16.1
	Ps6	3.66	0.64	0.38	0.16	0.54	0.79	21.6
	PsPi4	2.48	0.30	0.23	0.08	0.31	0.59	23.8
	PsPi5	2.48	0.30	0.20	0.15	0.35	0.55	22.2
	PsPi6	2.48	0.28	0.22	0.16	0.38	0.52	21.0
PsC4	2.02	0.46	0.42	0.24	0.66	0.08	3.9	
PsC5	2.02	0.44	0.30	0.26	0.56	0.18	8.9	
PsC6	2.02	0.53	0.41	0.20	0.62	0.12	5.9	

t= 0, 0 semanas; t= 1, 4 semanas y t= 2, 16 semanas

ANEXO 2
ACERVO FOTOGRAFICO

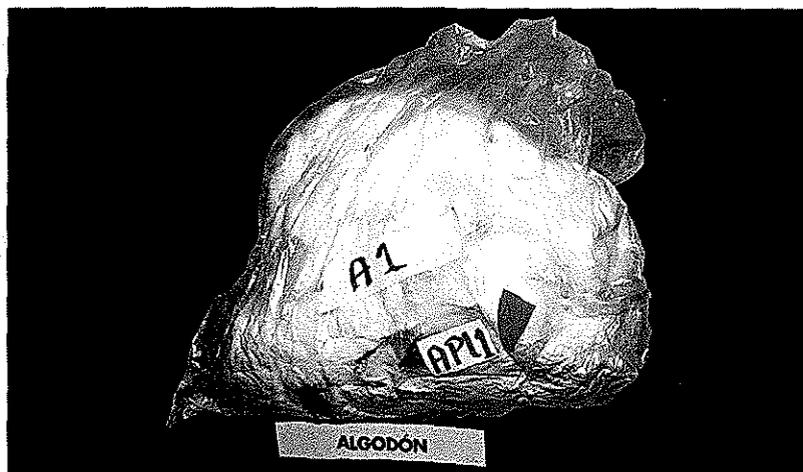


Foto 3.1 Bolsa recién inoculada. Sustrato: Algodón

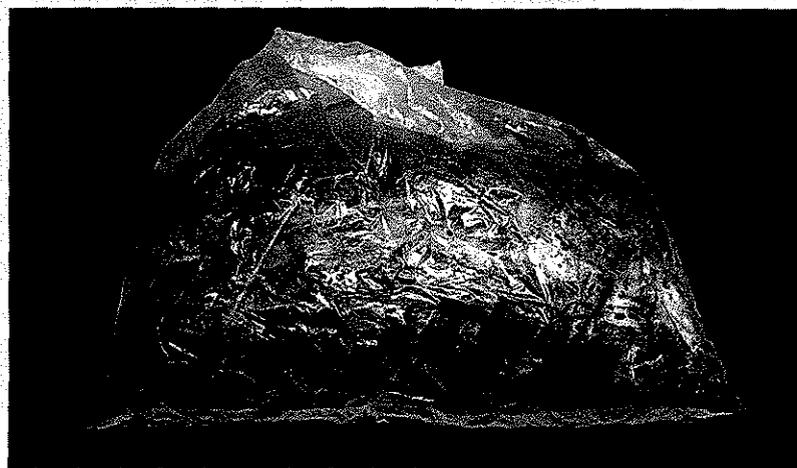


Foto 3.2 Bolsa recién inoculada. Sustrato: Paja

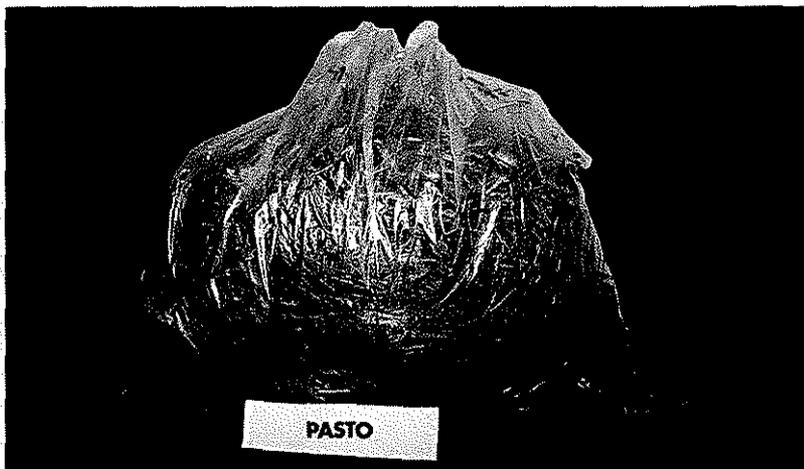


Foto 3.3 Bolsa recién inoculada. Sustrato: Pasto

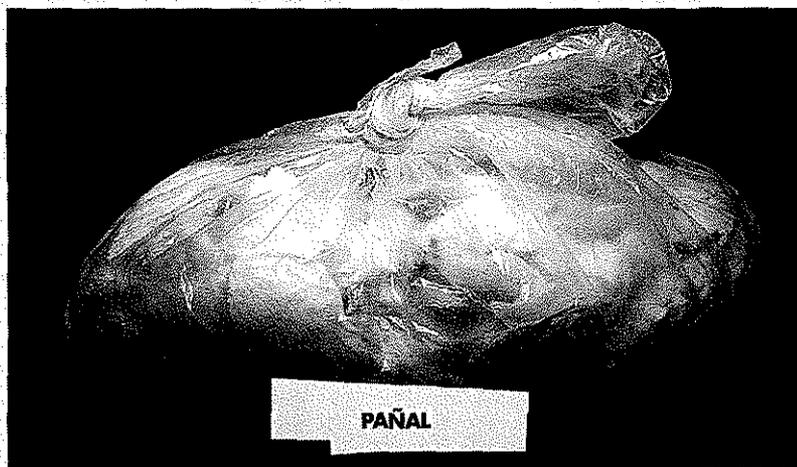


Foto 3.4 Bolsa recién inoculada. Sustrato: Pañal desechable

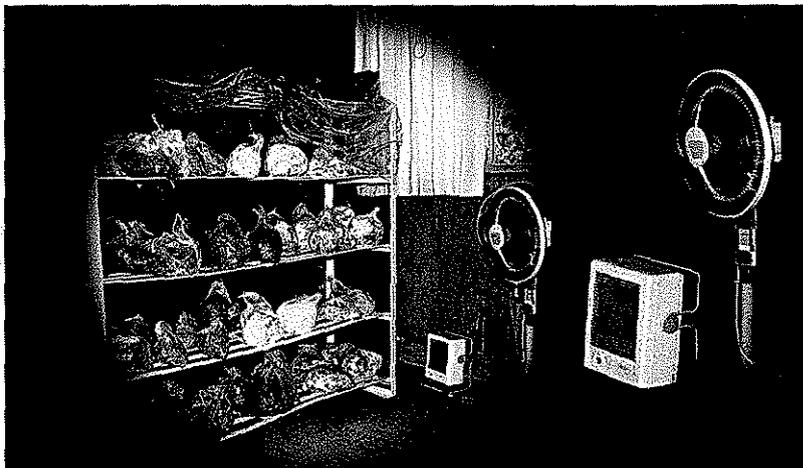


Foto 3.5 Área de cultivo. Anaquel mostrando la disposición de las bolsas al inicio del experimento. Se ven el ventilador, el humidificador, la ventana y las cubiertas de plástico para cubrir el anaquel

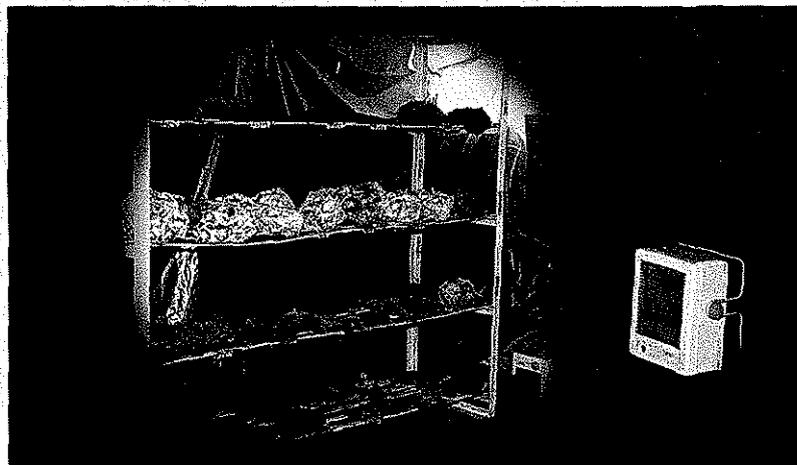


Foto 3.6 Área de cultivo. Anaquel mostrando la apariencia de las unidades experimentales al finalizar el experimento

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

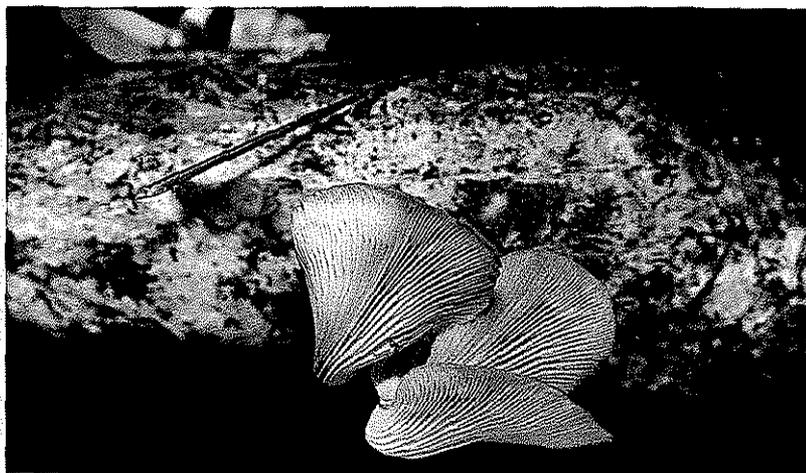


Foto 4.1 Setas de *P. djamour* cultivadas en paja-café 1:1. La forma del píleo es normal, con bordes regulares, soportado por un estípote lateral corto

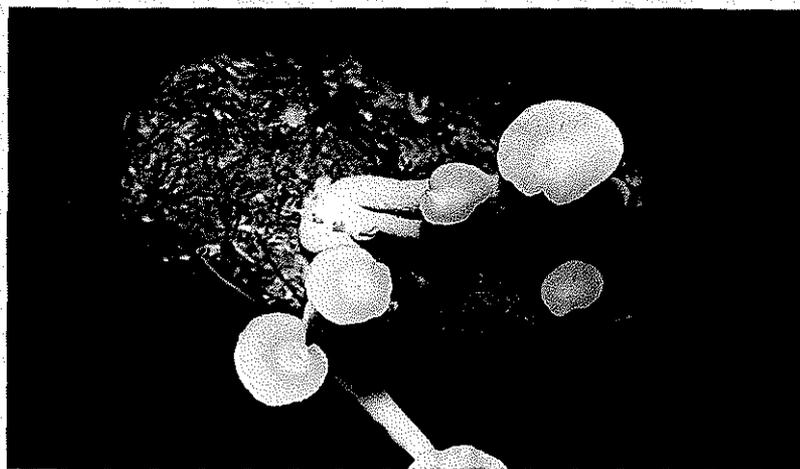


Foto 4.2 Setas de *P. djamour* cultivadas en pasto. La forma del píleo es atípica, con bordes irregulares, soportado por un estípote central anormalmente largo

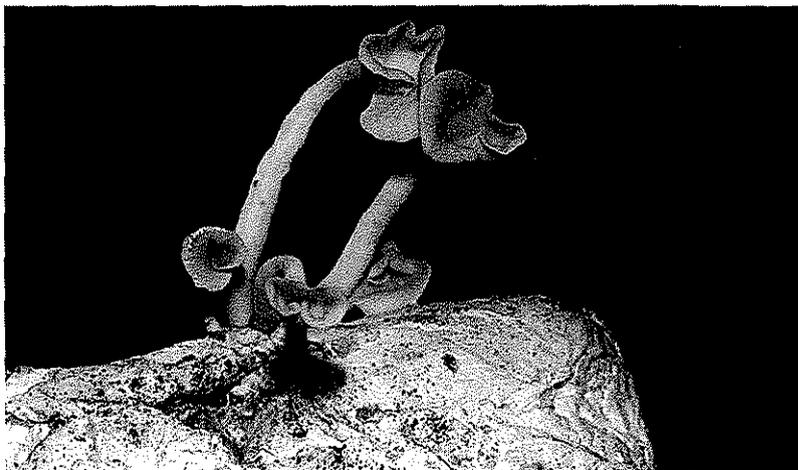


Foto 4.3 Setas de *P. djamour* cultivadas en algodón-café 1:1. La forma del píleo es atípica con bordes irregulares, soportado por un estípite dental anormalmente largo

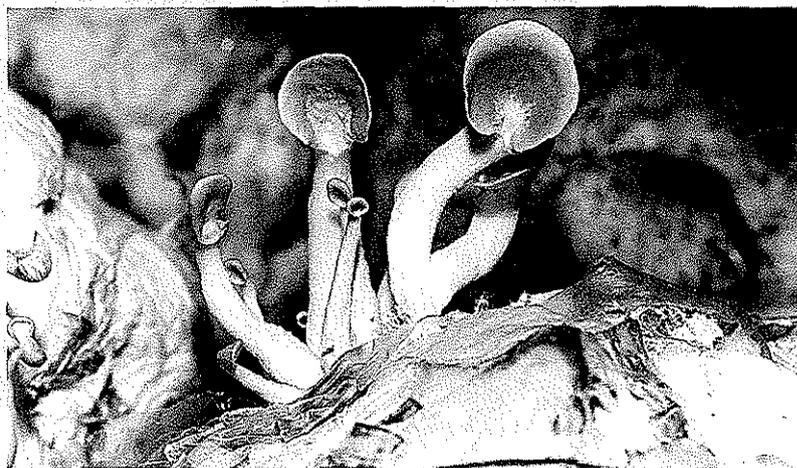


Foto 4.4 Setas de *P. djamour* cultivadas en algodón. La forma del píleo es atípica con bordes regulares, sopor por un estípite anormalmente largo. En la superficie del centro del píleo se ve un poivillo blanco, indicio de contaminante biológico



Foto 4.5 Setas de *P. djamour* cultivadas en pasto. La forma del píleo es atípica y su tamaño pequeño en contraste con la apariencia robusta del estípite. La superficie del sustrato está invadida por micelio de un hongo contaminante no septado



Foto 4.6 Setas de *P. djamour* cultivadas en paja. La forma del píleo es atípica y su tamaño pequeño, es contraste con el estípite que es largo y robusto. Sobre los hongos se ven basidiocarpios secundarios, similares a los que en abundancia crecen sobre el sustrato



Foto 4.7 Setas de *P. djamour* cultivadas en pañal desechable. La forma de los hongos, pñleo y estípíte son completamente atípicas y su apariencia enfermiza. Se distinguen brumos de superabsorbente gelificado

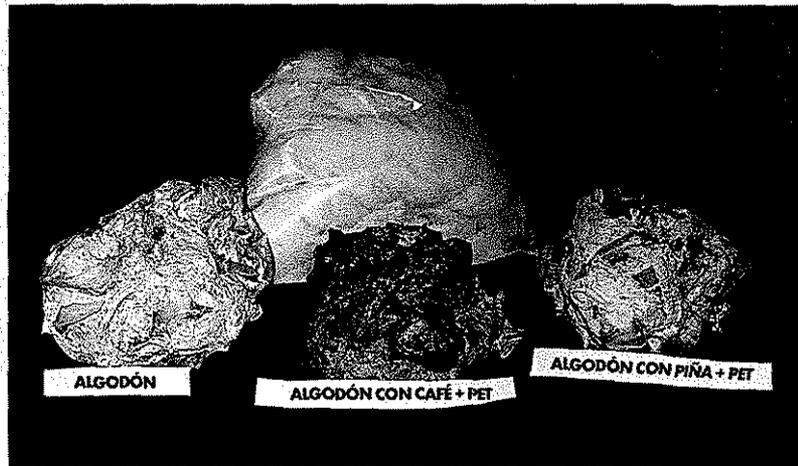


Foto 4.8 Masa y volúmen aparentes de la bolsa con sustrato de algodón sinocular y de los residuos finales de los sustratos: Algodón sin enriquecer y enriquecido

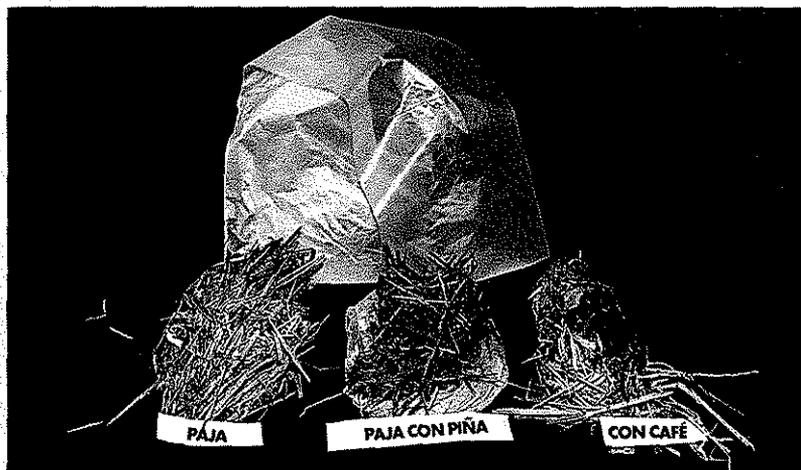


Foto 4.9 Masa y volúmen aparente de la bolsa con sustrato de paja sinocular y de los residuos finales de los sustratos: Paja sin enriquecer y enriquecida



Foto 4.10 Masa y volúmen aparente de la bolsa con sustrato de pasto sinocular y de los residuos finales de los sustratos: Pasto sin enriquecer y enriquecido

ANEXO 3

ANÁLISIS ESTADÍSTICO
(ANÁLISIS DE VARIANZA, Andeva)

Tablas de Andeva por bloques complementarios aleatorios. Los cálculos fueron realizados con la hoja de cálculo Excel, versión Office 2000 ($\alpha = 0.05$). Significado de las abreviaturas que aparecen en las tablas:

FV = factor de variación

g.l. = grados de libertad

SC = suma de cuadrados

CM = cuadrados medios

F = factor (calculado a partir de los datos experimentales o tomado de tablas)

Tabla 1. Peso intermedio del sustrato a t= 4 semanas, en función del sustrato base

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	10765.01	5382.50	5.60	3.74
Bloques	1	3679.39	3679.39	3.83	4.6
Error	14	13453.84	960.99		
Total	17	27898.24	1641.07		

Tratamientos: Sustratos A, Pj y Ps. Hay diferencias significativas entre los tratamientos

Bloques: Variedad oscura y clara. No hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 2. Peso intermedio del sustrato a t= 4 semanas, en función del sustrato base "algodón", con y sin enriquecimiento

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	8936.90	4468.45	16.13	3.74
Bloques	1	367.48	367.48	1.33	4.6
Error	14	3879.30	277.09		
Total	17	13183.68	775.51		

Tratamientos: Sustratos A, Pj y AC. Hay diferencias significativas entre los tratamientos

Bloques: Variedad oscura y clara. No hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 3. Peso intermedio del sustrato al t= 4 semanas, en función del sustrato base "paja", con y sin enriquecimiento

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	16332.19	8166.09	7.88	3.74
Bloques	1	1283.05	1283.05	1.24	4.6
Error	14	14511.75	1036.56		
Total	17	32126.99	1889.82		

Tratamientos: Sustratos Pj, PsPi y PjC. Hay diferencias significativas entre los tratamientos
 Bloques: Variedad oscura y clara. No hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 4. Peso intermedio del sustrato a t= 4 semanas, en función del sustrato base "pasto", con y sin enriquecimiento

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	6267.39	3133.70	17.74	3.74
Bloques	1	1604.04	1604.04	1.33	4.6
Error	14	2473.44	176.67		
Total	17	10344.88	608.52		

Tratamientos: Sustratos Ps, PsPi y PsC. Hay diferencias significativas entre los tratamientos
 Bloques: Variedad oscura y clara. Hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 5. Peso intermedio del sustrato a t= 4 semanas, en función de la concentración de nitrógeno

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	5317.87	2658.94	2.65	3.74
Bloques	1	783.68	783.68	1.33	4.6
Error	14	14049.15	1003.51		
Total	17	20150.71	1185.34		

Tratamientos: Las concentraciones de nitrógeno se agruparon en 3 clases: **baja, media y alta**.
 No hay diferencias significativas entre los tratamientos
 Bloques: Variedad oscura y clara. No hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 6. Peso intermedio del sustrato a t= 4 semanas, en función de la relación C/N

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	5015.15	2507.58	2.45	3.74
Bloques	1	783.68	782.68	0.76	4.6
Error	14	14351.87	1025.13		
Total	17	20150.71	1185.34		

Tratamientos: Los valores de la razón C/N se agruparon en 3 clases: **baja, media y alta.**

No hay diferencias significativas entre los tratamientos

Bloques: Variedad **oscura y clara.** No hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 7. Peso intermedio del sustrato a t= 4 semanas, en función de la relación celulosa / lignina

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	3811.03	1905.52	1.71	3.74
Bloques	1	783.68	783.68	0.71	4.6
Error	14	15555.99	1111.14		
Total	17	20150.71	1185.34		

Tratamientos: Los valores de la razón celulosa/lignina se agruparon en 3 clases: **baja, media y alta.**

No hay diferencias significativas entre los tratamientos

Bloques: Variedad **oscura y clara.** No hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 8. Peso intermedio del sustrato a t= 4 semanas, en función del contenido de humedad

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	12359.65	6179.83	12.37	3.74
Bloques	1	783.68	783.68	157	4.6
Error	14	7007.37	55.53		
Total	17	20150.71	1185.34		

Tratamientos: Los contenidos de humedad se agruparon en 3 clases: **baja, media y alta.**

Hay diferencias significativas entre los tratamientos

Bloques: Variedad **oscura y clara.** No hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 9. Peso final del sustrato a t= 16 semanas, en función del sustrato base

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	768.28	384.14	14.06	3.74
Bloques	1	0.01	0.01	0.00	4.6
Error	14	382.51	27.32		
Total	17	1150.80	67.69		

Tratamientos: A, Pj y Ps. Hay diferencias significativas entre los tratamientos

Bloques: Variedad oscura y clara. No hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 10. Peso final del sustrato a t= 16 semanas, en función del sustrato base "algodón", con y sin enriquecimiento

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	2886.76	1443.38	89.08	3.74
Bloques	1	3.22	3.22	0.20	4.6
Error	14	226.84	16.20		
Total	17	3116.81	183.34		

Tratamientos: A, APi y AC. Hay diferencias significativas entre los tratamientos

Bloques: Variedad oscura y clara. No hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 11. Peso final del sustrato a t= 16 semanas, en función del sustrato base "paja", con y sin enriquecimiento

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	806.78	403.39	7.94	3.74
Bloques	1	154.65	154.65	157	4.6
Error	14	711.28	50.81		
Total	17	1672.70	98.39		

Tratamientos: Pj, PjPi y PjC. Hay diferencias significativas entre los tratamientos

Bloques: Variedad oscura y clara. No hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 12. Peso final del sustrato a t= 16 semanas, en función del sustrato "pasto", con y sin enriquecimiento

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	961.49	480.75	33.30	3.74
Bloques	1	0.03	0.03	0.00	4.6
Error	14	202.10	14.44		
Total	17	1160.62	68.45		

Tratamientos: Ps, PsPi y PsC. Hay diferencias significativas entre los tratamientos
 Bloques: Variedad oscura y clara. No hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 13. Peso final del sustrato a t= 16 semanas, en función de la concentración de nitrógeno

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	1476.20	238.11	2.46	3.74
Bloques	1	11.31	11.31	0.03	4.6
Error	14	4197.96	299.85		
Total	17	5685.48	334.44		

Tratamientos: Las concentraciones de nitrógeno se agruparon en 3 clases: baja, media y alta.
 No hay diferencias significativas entre los tratamientos
 Bloques: Variedad oscura y clara. No hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 14. Peso final del sustrato a t= 16 semanas, en función de la relación C/N

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	3970.90	1985.45	16.60	3.74
Bloques	1	12.62	12.62	157	4.6
Error	14	1674.03	119.57		
Total	17	5657.55	332.80		

Tratamientos: Los valores de la razón C/N se agruparon en 3 clases: baja, media y alta.
 Hay diferencias significativas entre los tratamientos
 Bloques: Variedad oscura y clara. No hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 15. Peso final del sustrato a t= 16 semanas, en función de la relación celulosa / lignina

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	4022.78	2011.39	17.28	3.74
Bloques	1	12.95	12.95	0.11	4.6
Error	14	1629.55	116.40		
Total	17	5665.28	333.25		

Tratamientos: Los valores de la razón C/N se agruparon en 3 clases: bajos, medios y altos.

Hay diferencias significativas entre los tratamientos

Bloques: Variedad oscura y clara. No hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 16. Producción de hongos (EB) en función del sustrato base

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	3221.50	1610.75	2.10	3.74
Bloques	1	4134.74	4134.74	5.38	4.6
Error	14	10750.15	767.87		
Total	17	18106.38	1065.08		

Tratamientos: A, APj y Ps. No hay diferencias significativas entre los tratamientos

Bloques: Variedad oscura y clara. Hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 17. Producción de hongos (EB) en función del sustrato base "algodón", con y sin enriquecimiento

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	3026.10	1513.05	1.47	3.74
Bloques	1	1922.21	1922.21	1.87	4.6
Error	14	14369.61	1026.40		
Total	17	19317.91	1136.35		

Tratamientos: A, APi y AC. No hay diferencias significativas entre los tratamientos

Bloques: Variedad oscura y clara. No hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 18. Producción de hongos (EB) en función del sustrato base "paja", con y sin enriquecimiento

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	165.15	82.57	0.17	3.74
Bloques	1	2362.14	2362.14	4.98	4.6
Error	14	6642.26	474.45		
Total	17	9169.55	539.39		

Tratamientos: Pj, PjPi y PjC. No hay diferencias significativas entre los tratamientos
 Bloques: Variedad oscura y clara. Hay diferencias significativas entre los bloques

Tabla 19. Producción de hongos (EB) en función del sustrato base "pasto", con y sin enriquecimiento

FV	g.l.	SC	CM	F calculado	F tablas
Tratamiento	2	1818.14	909.07	1.57	3.74
Bloques	1	1850.96	1850.96	1.87	4.6
Error	14	8130.29	580.74		
Total	17	11799.39	694.08		

Tratamientos: Ps, PsPi y PsC. No hay diferencias significativas entre los tratamientos
 Bloques: Variedad oscura y clara. No hay diferencias significativas entre los bloques

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, U.L.; Bustos, Z.G. y Portugal, P.D. [1988] **Aislamiento y caracterización de cepas de *Pleurotus ostreatus* y su cultivo en residuos agroindustriales en el Estado de Morelos.** Rev. Mex. Mic., 4:13-20.
- Acosta, U.L.; Bautista, R.N.; Mora, V.M.; López, L.; Portugal, D. y Bustos, V.M. [1994] **Primer cultivo de una cepa silvestre de *P. ostreatus*, de México.** Memorias del V Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. de Micología, p. 28. México D.F., México.
- Aguilar, P.O. [1998] **Legalidad y Normatividad Ambiental.** En: Memorias de "Hacia una renovación ambiental en México". Universidad Autónoma del Estado de Morelos, pp. 187-192. Cuernavaca, Mor., México.
- Aguirre, G.H.F. [2000] **Aislamiento y caracterización de cepas de *Pleurotus ostreatus* nativas de Morelos y su cultivo en cuatro sustratos.** En: Memorias del VII Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. de Micología, p. 6. México D.F., México.
- Alvarado, L.G. y Manzola, C.J. [1995] **Cultivo de hongos comestibles silvestres en los bosques de coníferas de la región central del país.** En: BIEN, Boletín de investigación, educación y sus nexos. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM. Vol 2: 40-41. México D.F., México.
- Aman, P. y Westerlund, E. [1996] **Cell wall polysaccharides. Structural, chemical and analytical aspects.** En: Carbohydrates in food, Cap 4:191-226. Marcel Dekker, Nueva York, EEUUA.
- Ancona, I.; Belmar, R.; Sandóval, C. y Mendoza, H. [2000] **Experiencias sobre el aprovechamiento integral de productos regionales en el cultivo de *Pleurotus djamour*, en Dzidzantún, Yuc., México.** Asoc. Latinoam. Micol. Memorias del Primer Simposio Latinoamericano del Cultivo de Hongos Comestibles, p14. Xalapa, Ver. México.
- Anónimo [1999]. **Diaper industry workshop identifies research needs to minimize environmental impacts.** J. Air Waste Manag. Assoc., 41(10):1294-1296.
- Anónimo [2001a] **Tecnología innovadora para el aprovechamiento de la pulpa de café.** Semanario de la UAM, Vol. VII (35):2-5. México, D.F., México.
- Anónimo [2001b] ***Pleurotus ostreatus*.** Redes internacionales. Internet: www.nju.edu.cn/foode/jun/b17.htm.
- Anónimo [2001c] **Degradación de lignina.** Redes internacionales. Internet: www.leviatan.ifisiol.unam.mx/revfbuscared/html.
- AOAC [1995] **Official methods of analysis.** 15 ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, EEUUA.
- Atlas, R. M. [1993] **Handbook of microbiological media.** CRC Press, p. 207. Boca Raton, FL, EEUUA.
- Bautista, J.M.; Franco, B.L.; Martínez, S.G.; Gamiño, S.Z. y Ocaña, C.R. [1998] **Valor nutritivo de setas (*Pleurotus ostreatus*) cultivadas en desechos de aguacate y piña.** Acta universitaria, 8 (1). Redes internacionales. Internet.
- Benítez, C.F.A. y Huerta, P.G. [2000] **Evaluación de la resistencia de cepas de *Pleurotus djamour* nativas de Chiapas al hongo contaminante *Trichoderma* spp.** Memorias del VI Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. de Micología, p. 49. México D.F., México.
- Bermúdez, R.C.; Traba, J.A.; Verdecia, M.J. y Gross, P. [1994] **Producción de *Pleurotus* sp. cfr. florida sobre residuales de la agroindustria cafetalera en Cuba.** Micol. Neotrop. Appl., 7:47-50.
- Bernabé-González, T. y Arzeta-Gómez, J. M. [1994] **Cultivation of *Pleurotus ostreatus* on peanut hull and dry corn leaves.** Rev. Mex. Mic., 10:15-20.
- Bis'ko, N. A. y Bilay, V. T. [1992] **The growth of *Pleurotus ostreatus* on lignocellulosic materials.** Micol. Neotrop. Appl., 5:49-57.
- Buchholz, F. L. [1996] **Superabsorbent polymers. An idea whose time has come.** J. Chem. Ed., 73:512-515.
- Burgos, R.D.; Ancona, L.M. y Guzmán, H.G. [1994] **Cultivo del hongo *Pleurotus djamour* y su comparación con el cultivo de *P. ostreatus* en bagazo de henequén fermentado.** Memorias del V Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. de Micología, p. 33. México D.F., México.
- Calva, P.P. y Elías, A.L. [1993] **Reciclaje de pañales desechables.** Proyecto terminal. Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco. México D.F., México.
- Conn, E.E.; Stumpf, P.K.; Bruening, G. y Doi, R.H. [2001] **Bioquímica fundamental.** Limusa-Wiley. México D.F., México.
- Cornell [1998] **Lignin and other constituents of selected organic materials.** Redes internacionales. Internet: www.cte.cornell.edu/compost/calcc/enratio/html.
- Delfín-Alcalá, I.; Durán-de-Bazúa, M.C.; Espinosa, R.M. y Mata, B.I.P. [2001] **Estudio de factores que afectan la biodegradación de desechos urbanos celulósicos.** Memorias de la División de Química Ambiental, XXXVI Congreso Mexicano de Química. Sociedad Química de México, pp. 64-70. México D.F., México.
- Dunlop, L. y Chang, Ch.S.T. [1980] **Cellulose degradation. Utilization and recycle of agricultural wastes and residues.** CRC Press, pp. 20-59. Boca Raton, FL, EEUUA.

- Durán-Domínguez-de-Bazúa, C. [1987] **Reaprovechamiento de aguas residuales de la industria del maíz en México usando métodos biológicos de tratamiento.** Reihe 15 Umwelt-technik. Nr. 51. VDI Verlag. Düsseldorf, RFA.
- Espinosa, V.R.M.; Turpin, M.S.; Delfín, A.I. y Hernández, O.A. [1999] **Minimización de pañales desechables.** En: Memorias del VI Congreso Interamericano sobre el Medio Ambiente. Disquete. Monterrey, México.
- Eyzaguirre, J. [2000] **Lignocellulose biodegradation.** Enzyme structure and function. Redes internacionales. Internet: www.Bio.puc.cl/profs/jezag/jezag1.htm.
- Flores, M.J.A. [1988] **Bromatología animal.** Limusa. México D.F., México.
- García, R.M. [1991] **Cultivo de setas y trufas.** Mundi Prensa, Madrid, España.
- Glenn, J.K.; Morgan, M.A.; Mayfield, M.B.; Kuwahara, M. y Gold, M.H. [1983] **An extracellular H₂O₂-requiring enzyme preparation involved in lignin biodegradation by the white rot basidiomycete.** Biochem. & Biophys. Res. Commun., 114(3):1077-1083.
- González, B.P.I. y Huerta, G. [2000] **Optimización de la relación carbono-nitrógeno en sustrato fermentado para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*.** En: Memorias del VII Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. de Micología, p. 51. México D.F., México.
- González-del-Carpio, Ch. [2000] **Planta de composta de desechos de poda.** Residuos México. 1:20-22. Wastex 2000 Inc. México D.F., México.
- González-Medina, J.J. [2001] **Aprovechamiento integral de pulpa de café. Remoción de cafeína y taninos usando lixiviación con agua.** Tesis profesional para obtener el título de Químico de alimentos. Facultad de Química, UNAM. México D.F., México.
- Guzmán, E.J.C.; Ramírez, M.R. y Barradas, R.A. [2000] **Producción de setas comestibles *Pleurotus pulmonarius* a partir de residuos agropecuarios de la zona Minatitlán-Cosoleacaque, Veracruz.** Asoc. Latinoam. Micol. Memorias del Primer Simposio Latinoamericano del Cultivo de Hongos Comestibles, p14. Xalapa, Ver. México.
- Guzmán, G. y Martínez-Carrera, D. [1985] **Planta productora de hongos comestibles sobre pulpa de café.** Ciencia y Desarrollo, 65:41-48.
- Guzmán, G.; Mata, G.; Salmones, D.; Soto-Velazco, C. y Guzmán-Dávalos, L. [1993] **El cultivo de los hongos comestibles: Con especial atención a especies tropicales y subtropicales en esquilmos y residuos agro-industriales.** Instituto Politécnico Nacional. México D.F., México.
- Guzmán-Dávalos, L.; Soto-Velazco, C. y Martínez-Carrera, D. [1987a] **El bagazo de caña de azúcar como sustrato para la producción de *Pleurotus ostreatus* en Jalisco.** Rev. Mex. Mic., 3:79-82.
- Guzmán-Dávalos, L.; Martínez-Carrera, D.; Morales, P. y Soto-Velazco, C. [1987b] **El cultivo de hongos comestibles [*Pleurotus*] sobre el bagazo de maguey de la industria tequilera.** Rev. Mex. Mic., 3:47-49.
- Guzmán-Dávalos, L. y Soto-Velazco, C. [1989] **El cultivo de los hongos comestibles como una alternativa en el uso de los desechos agroindustriales de Jalisco.** Tiempos de Ciencia. Universidad de Guadalajara, Jal., México, 15: 35-40.
- Hadar, Y.; Kerem, Z.; Gorodecki, B. y Ardon, O. [1992] **Utilization of lignocellulosic waste by the edible mushroom, *Pleurotus*.** Biodegradation, 3:189-205.
- Haslam, E. [1981] **Vegetable tannins.** Biochemistry of plants: A comprehensive treatise. Ed. Stumpf, P.K. y Conn, E. Vol 17. Academic Press. Londres, RU.
- Hernández, I.H.; Sánchez, V.J.E. y Calvo, B.L.A. [1994] **Aislamiento y cultivo de cepas nativas de *Pleurotus* en el Soconusco, Chiapas.** Memorias del V Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. de Micología, p. 31. México D.F., México.
- Herrera, T. y Ulloa, M. [1990] **El Reino de los hongos.** Micología básica y aplicada. UNAM-Fondo de Cultura Económica. México D.F. México.
- Herrera, A.K. [1997] **Cultivo de una cepa mexicana de *Pleurotus* utilizando aserrín de caoba y cedro, fibra de coco y olote de maíz.** Memorias del VI Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. de Micología, p. 141. México D.F., México.
- Higuchi, T. [1990] **Lignin biochemistry: Biosynthesis and biodegradation.** Wood Sci. Technol., 24:23-63.
- INE [1995] **Informe de la situación general en materia del equilibrio ecológico.** Instituto Nacional de Ecología, 1993-94, p. 237. México D.F., México.
- INE [1999] **Indicadores ambientales Instituto Nacional de Ecología.** Redes internacionales. Internet: www/gob.ine.com.mx
- Jennings, D.H. [1995] **The physiology of fungal nutrition.** University Press. Cambridge, R.U.
- Jiménez- Nájera, T.; Bernal- Rodríguez, E.; Castro, S.A.; Pineda, C.M. y Márquez-López, E. [2000] **Evaluación del rendimiento de dos sustratos en la producción de la seta *Pleurotus ostreatus*.** Memorias del VII Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. de Micología, p. 64. México D.F., México.

- Kimberly Clark [2001] **Pañales desechables**. Redes internacionales. Internet: www.giga.com/ercher/FAQspan.htm#how.2001.
- Kirk, T.K.; Schultz, E.; Connors, W.J.; Lorenz, L.F. y Zeikus, J.G. [1978] **Influence of culture parameters on lignine metabolism by *Phanerochaete chrysosporium***. Arch. Microbiol., 117:277-285.
- Kirk, T.K. y Farrell, R.L. [1987] **Enzymatic "combustion": The microbial degradation of lignin**. Ann. Rev. Microbiol., 41:465-505.
- Kokhreizde, N.G. y Élisashvili, V.I. [1993] **Lignocellulolytic activity of *Pleurotus ostreatus* IBK-191 in the solid-phase fermentation of the wastes of tea production**. Appl. Biochem. Microbiol., 29 (2):169-173.
- Lehninger, L. A. [1991] **Principios de bioquímica**. Omega. Madrid, España.
- Lynch, J.M. [1995] **Lignocellulolysis in composts**. En: Compost production, quality and use (M. de Bertoldi, M.P.Ferranti, P.L. Hermite y F.Zucconi, Ed.) Elsevier Appl. Sci. Nueva York, EEUUA.
- Manahan, S. E. [1997] **Environmental science and technology**. Boca Ratón, FL, EEUUA.
- Manahan, S. E. [2000] **Environmental chemistry**. CRC Press. 7a ed. Boca Ratón, FL, EEUUA.
- Martínez, L.G. y Amora, L.E. [2000] **Efecto quimiotáctico de sustancias liberadas durante el crecimiento de *Pleurotus sajor-caju* hacia bacterias fijadoras de nitrógeno, de vida libre**. Memorias del VII Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. de Micología, p. 169. México D.F., México.
- Martínez, M.; Soto-Velazco, C. y Guzmán-Dávalos, L. [1991] **Cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatoroseus* en tres sustratos lignocelulósicos y análisis químico proximal de los carpóforos obtenidos**. Memorias del IV Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. de Micología, p. 90. México D.F., México.
- Martínez-Carrera, D.; Morales, P.; Soto-Velazco, C.; Murrieta, E. y Guzmán, G. [1986] **Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre hojas usadas en la extracción de aceites esenciales**. Rev. Mex. Mic., 2:119-124.
- Martínez-Carrera, D., Morales, P. y Sobal, M. [1987] **Cultivo de diversas cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus* sobre pulpa de café y paja de cebada**. Rev. Mex. Mic., 3:133-136.
- Martínez-Carrera, D.; Soto-Velazco, C.; Morales, P. y Guzmán, G. [1988] **El cultivo de los hongos comestibles**. Ciencia, 39:217-221.
- Martínez-Carrera, D. y Larqué-Saavedra, A. [1990] **Biotecnología en la producción de hongos comestibles**. Ciencia y Desarrollo, 95:53-62.
- Martínez-Carrera, D.; Morales, P. y Sobal, M. [1990] **Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre bagazo de caña enriquecido con pulpa de café o paja de cebada**. Micol. Neotrop. Appl., 3:49-52.
- Martínez-Carrera, D.; Morales, P.; Sobal, M.; Chang, S. T. y Larqué-Saavedra, A., [1991a]. **Edible mushroom cultivation for rural development in tropical America**. Science and Cultivation of Edible Fungi, Maher. Balkema, pp. 805-811. Rotterdam, Holanda.
- Martínez-Carrera, D., Leben, R.; Morales, P.; Sobal, M. y Larqué-Saavedra, A. [1991b] **Historia del cultivo comercial de hongos comestibles en México**. Ciencia y Desarrollo, 96:39-47.
- Martínez-Carrera, D.; Larqué-Saavedra, A.; Morales, P.; Sobal, M.; Martínez, W. y Aguilar, A. [1993] **Los hongos comestibles en México: Biotecnología de su reproducción**. Ciencia y Desarrollo, 111:41-50.
- Martínez-Carrera, D.; Morales, A.P.; Martínez, S.W.; Sobal, C.M. y Larqué, S.A. [1994] **Incorporación del cultivo de hongos comestibles a las zonas rurales de México**. Memorias del V Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. de Micología, p. 32. México D.F., México.
- Mata, G. y Martínez-Carrera, D. [1988] **Estimación de la producción anual de residuos agroindustriales potencialmente utilizables para el cultivo de hongos comestibles en México**. Rev. Mex. Mic., 4:287-296.
- Mc Dowell, L.R.; Conrad, J.H.; Thomas, J.E. y Harris, L.E. [1974] **Latin American Tables of Feed Composition**. University of Florida. Gainesville, FL, EEUUA.
- Mendivil-Salmón, C.; Esqueda, M.; Sánchez, A.; Grijalva, M.I.; Vázquez, F.A. [2000] **Composición química de *Pleurotus* cultivado sobre residuos vitivinícolas**. Memorias del VII Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. de Micología, p. 168. México D.F., México.
- Monro, J.A. [1996] **Dietary fiber. Physical characterization and nutrient analysis**. En Handbook of food analysis, 1(25):1051-1087. Marcel Dekker. Nueva York, EEUUA.
- Morales, P., [1987] **Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre la pulpa de cardamomo**. Rev. Mex. Mic., 3:71-73.
- Nava, L.E. y Espinosa, V.R.M. [1992] **Tratamiento de pañales desechables empleando un cultivo de hongos comestibles**. Memorias del VIII Congreso Soc. Mex. de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Cap. V. Desechos sólidos, s/pp. Cocoyoc, Mor. México.

- Park, Y.W. [1996] Determination of moisture and ash contents of foods. Physical characterization and nutrient analysis. En Handbook of food analysis, 1(3):59-89. Marcel Dekker. Nueva York, EEUUA.
- Pérez, C.C. y Alfaro, M.C. [1994] **Evaluación de tres sustratos (maíz, frijol, cebada) para la producción de *Pleurotus ostreatus* y *P. djamour* en Chapingo, México.** Memorias del V Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. de Micología, p. 27. México D.F., México.
- Po, R. [1994] **Water absorbent polymers. A patent survey.** Macromol. Sci.J., 2:607-662.
- Richard, T. y Trautmann, N. [2000] **Composting.** Redes internacionales. Internet: www.cte.cornell.edu/compost/calc/cn_ratio.html.
- Rinker, D. L. [1991] **Residuo de lino como sustrato para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*.** Micol. Neotrop. Appl., 4:1-7.
- Rodríguez, H.M.; Soto-Velasco, C.; Alonso, B.W.; Villaseñor, I.L.; Camino, V.M. y Guzmán-Dávalos, L. [1994] **Evaluación de cepas de *Pleurotus* en relación con las condiciones ambientales y temperatura.** Memorias del V Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. de Micología, p. 55. México D.F., México.
- Salmones, D.; Mata, G.; Waliszewski, K. [2000] **Selección y adaptación de cepas de *Pleurotus* a la pulpa de café.** Memorias del VII Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. de Micología, p. 43. México D.F., México.
- SEDUE, Subsecretaría de Ecología. [1985] **NOM NMX-AA-22-1985. Protección al ambiente-Contaminación del suelo-Residuos sólidos municipales-Selección y clasificación de subproductos.** Dirección General de Normas. México D.F., México.
- SEDUE, Subsecretaría de Ecología. [1985] **NOM AA67-1985. Protección al ambiente-Contaminación del suelo-Residuos sólidos municipales-Determinación de la relación carbono/nitrógeno.** Dirección General de Normas. México D.F., México.
- Sobal, M.; Morales, P. y Martínez-Carrera, D. [1988] **Utilización de los rastrojos de haba y frijol como sustratos para el cultivo de *Pleurotus*.** Micol. Neotrop. Appl., 6:137-141.
- Sobal, M.; Soto-Hernández, M.; Larqué-Saavedra, A. y Martínez-Carrera D. [1992] **Producción de etileno por *Pleurotus ostreatus* empleando sustratos pasteurizados.** Micol. Neotrop. Appl., 5:59-66.
- Solis-Fuentes, J.A. [1997] **El aprovechamiento de residuos sólidos y líquidos de la agroindustria alimentaria. Cinco ejemplos.** Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencia de los Alimentos. Facultad de Química, UNAM. México D.F., México.
- Soto-Velasco, C. y Guzmán-Dávalos, L. [1986] **La producción de los hongos comestibles sobre la pulpa de café en la región de Xalapa-Coatepec, Ver., durante 1985-1986.** Rev. Mex. Mic., 2:437-441.
- Soto-Velasco, C.; Álvarez, I.; Taylor, P.J. y Estrada, M.G.S. [2000] **Efecto del crecimiento de los hongos *Pleurotus ostreatus* sobre la digestibilidad del rastrojo de maíz.** Memorias del VII Congreso Nacional de Micología. Soc. Mex. Micol., p. 42. México D.F., México.
- Soto-Velasco, C.; Guzmán-Dávalos, L. y Rodríguez, O. [1989] **Cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* sobre bagazo de maguey tequilero fermentado y mezclado con paja de trigo.** Rev. Mex. Mic., 5:97-101.
- Stamets, P. y Chilton, J. S. [1983] **The mushroom cultivator. A practical guide to growing mushrooms at home.** Agarikon Press. Olympia, Washington, EEUUA.
- Tchobanouglos, G.; Theisen, H. y Vigil, S. A. [1994] **Gestión integral de residuos sólidos.** Vol I. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid, España.
- Tejada, I. [1983] **Manual de laboratorio para análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal.** Patronato de apoyo a la investigación y experimentación pecuaria en México, A.C., México D.F., México.
- Tschierpe, H.J. y Hartman, K. [1977] **A comparison of different growing methods.** Mush. J., 60:404-416.
- Valenzuela, L.A.E. [2000] **Separarnos.** Residuos México, 1:10-12. Wastex 2000 Inc. México D.F., México.
- Vázquez, S.L. [1995] **Cultivo de tres cepas comerciales del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* sobre los subproductos del beneficiado de café (pulpa, capulín y pergamino).** Tesis para obtener el título de Licenciatura en Biología. ENEP Iztacala. UNAM. México D.F., México.
- Wang, D.; Sakoda, A. y Suzuki, M. [2001] **Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain.** Bioresource Tech., 17:293-300.
- Zadrazil, F.; Grabbe, K. [1983] **Edible mushrooms. Physiological basis of mushroom cultivation.** Biotechnology. Vol. 3. Cap. 1e, pp. 149-156. Dellweg Ed. Verlag Chemie. Deerfield Beach, FL, EEUUA.
- Zervakis, G. y Balis, C. [1992] **Estudio comparativo de los caracteres de cultivo en especies de *Pleurotus* bajo la influencia de diferentes sustratos y temperaturas de fructificación.** Micol. Neotrop. Appl., 5:39-47.