

# BIOTECNOLOGÍA EN EL SECTOR AGROPECUARIO Y AGROINDUSTRIAL

Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias · Universidad del Cauca

## **PUBLICACIÓN ANTICIPADA EN LÍNEA**

El Comité Editorial de Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial informa que este manuscrito ha cumplido los requisitos editoriales y científicos y ha sido aprobado para publicación, con base en los conceptos emitidos por los pares evaluadores. Se publica anticipadamente, en versión pdf, de manera provisional, con base en la última versión electrónica del manuscrito y sin haber sido sometido a los procesos de edición, diagramación y corrección de estilo.

La versión anticipada de este manuscrito puede ser descargada, usada y citada, aclarando que la versión definitiva que se va a encontrar en la plataforma de la revista, puede diferir de ésta e aspectos de forma.

# Producción de un material biocompuesto a base de micelio por medio de fermentación sólida usando *Pleurotus ostreatus*\*

## Production of a mycelium-based biocomposite material through solid-state fermentation using *Pleurotus ostreatus*

MEDINA-GUTIÉRREZ, ANDREA-CAROLINA<sup>1</sup>; MEDINA-RODRÍGUEZ, PAULA-JIMENA<sup>2</sup>; SUESCA-DÍAZ, ADRIANA<sup>3</sup>; MORALES-FONSECA, DIANA<sup>4</sup>

### RESUMEN

El poliestireno expandido (EPS) es un material generalmente utilizado como embalaje y la cantidad de desechos de EPS acumulados en los vertederos ha impulsado el avance en la producción de materiales biocompuestos como los producidos a partir de micelios fúngicos. Este estudio tuvo como objetivo principal la producción de un material biocompuesto obtenido a partir

---

\* Proyecto de grado de pregrado de origen: "Evaluación de un biocompuesto obtenido a partir de *Pleurotus ostreatus* y biomasa residual vegetal para su implementación en procesos de empaque o embalaje". Financiación: Universidad de América. Culminación: 10 de junio de 2023

<sup>1</sup> Fundación Universidad de América, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Semillero de Investigación BIOSIDE. Estudiante de Ingeniería química. Bogotá, Colombia. <https://orcid.org/0009-0005-4235-0812>

<sup>2</sup> Fundación Universidad de América, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Semillero de Investigación BIOSIDE. Estudiante de Ingeniería Química. Bogotá, Colombia. <https://orcid.org/my-orcid?orcid=0009-0000-3259-5254>

<sup>3</sup> Fundación Universidad de América, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Semillero de Investigación BIOSIDE, Msc. en Ingeniería Química. Bogotá, Colombia. <https://orcid.org/0000-0002-0566-1946>

<sup>4</sup> Fundación Universidad de América, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, Grupo GPS Grupo en procesos de separación no convencionales, Msc. en Ingeniería Química. Bogotá, Colombia

### Cómo citar este artículo

MEDINA-GUTIÉRREZ, ANDREA-CAROLINA; MEDINA-RODRÍGUEZ, PAULA-JIMENA; SUESCA-DÍAZ, ADRIANA; MORALES-FONSECA, DIANA. Producción de un material biocompuesto a base de micelio por medio de fermentación sólida usando *Pleurotus ostreatus*. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, v. 22, n. 2, 2024, p. xx-xx. Doi:

**Correspondencia:** [adriana.suesca@profesores.uamerica.edu.co](mailto:adriana.suesca@profesores.uamerica.edu.co)

### Historial del artículo

Recibido para evaluación: 10 de Agosto 2023

Aprobado para publicación: 13 de Abril 2024

del micelio de la cepa *Pleurotus ostreatus* usando afrecho de malta y salvado de trigo como sustrato con miras a ser usado como material para empaques y embalajes. Se realizaron tres mezclas diferentes, mezcla A (50 % afrecho y 50 % salvado); mezcla B (30 % afrecho y 70 % salvado) y mezcla C (0 % afrecho y 100 % salvado) para la realización de fermentaciones sólidas. Para la caracterización se midió el contenido de humedad, resistencia a la compresión, densidad, absorción de agua, conductividad eléctrica y pH. La mezcla que obtuvo mejor colonización y propiedades fue la mezcla A con valores de esfuerzo de compresión promedio de 110,04 kPa para un 10 % de deformación, absorción de agua máxima de 172,01 % (36 horas), pH de 5,88, conductividad eléctrica de 1860  $\mu\text{S}/\text{cm}$  y una densidad de 233,17  $\text{kg}/\text{m}^3$ . Al comparar las propiedades con el EPS se encuentra que el esfuerzo a la compresión es similar, sin embargo, propiedades como la densidad y la absorción del agua presenta valores muy altos para que el biocompuesto pueda usarse en embalaje.

**PALABRAS CLAVE:** Afrecho de malta; Biocompuesto; Caracterización; Esfuerzo de compresión; Materiales biodegradables; Micelios fúngicos; Poliestireno expandido; Residuos agroindustriales; Salvado de trigo

## ABSTRACT

Expanded polystyrene (EPS) is a material used as packaging and the amount of EPS waste accumulated in landfills has driven progress in the production of biocomposite materials such as those produced from the mycelium generated by white rot fungi. The main objective of this study was the production of a biocomposite material obtained from the mycelium of *Pleurotus ostreatus* strain using malt bran and wheat bran as a substrate to be use as packaging material. We propose three mixtures: mixture A (50 % malt and 50 % wheat); mixture B (30 % malt and 70 % wheat) and mixture C (100 % wheat) using solid fermentations. Properties like moisture content, compressive strength, density, water absorption, electrical conductivity and pH were measured for each mixture. The best results were obtained in the mixture A with average compressive stress values of 110,04 kPa for 10 % deformation, maximum water absorption of 172,01 % (36 hours), pH of 5,88, electrical conductivity of 1860  $\mu\text{S}/\text{cm}$  and density of 233,17  $\text{kg}/\text{m}^3$ . When comparing the properties with EPS, it was found that the compressive stress is similar, however, properties such as density and water absorption present remarkably high values for the biocomposite to be used in packaging.

**KEYWORDS:** Agroindustrial waste; Biocomposite; Biodegradable materials; Characterization; Compression strength; Expanded polystyrene; Fungal mycelium; Malt bran; Wheat bran

## INTRODUCCIÓN

Uno de los materiales más utilizados en la actualidad es el plástico, por sus propiedades versátiles (Horton, 2022), sin embargo, los plásticos son materiales basados en recursos no renovables, no son biodegradables y en la mayoría de los casos solo se pueden reciclar parcialmente. Por lo tanto, el consumo en masa de este material contribuye a desafíos ambientales por la gran cantidad de desechos acumulados en vertederos y océanos (Nilsen-Nygaard *et al.*, 2021).

Uno de los plásticos que causa problemas ambientales es el poliestireno expandido (EPS), dado que después de su uso, generalmente termina en vertederos o incinerado y a pesar de que actualmente existen técnicas químicas y térmicas para el reciclaje de estos residuos, estas implican el uso de solventes peligrosos (Martínez-López and Laines-Canepa, 2013). El EPS suele ser un plástico de un solo uso y ocupa el 30 % de los vertederos, dado su gran volumen y su vida útil mínima de 500 años pues cuenta con una alta resistencia a la biodegradación (Palmer *et al.*,

2022). En Colombia se producen cerca de 80.000 toneladas al año de EPS de los cuales se reciclan cerca de 500 toneladas (García, 2019), mostrando una problemática real en la que se debe avanzar implementando tecnologías para la producción de nuevos materiales más sostenibles.

Se ha demostrado que es posible obtener materiales biocompuestos a partir del micelio de diferentes especies de hongos (Alemu *et al.*, 2022), mediante procesos que tienen una gran ventaja y es el aprovechamiento de residuos agrícolas, ya que son una buena fuente de contenido lignocelulósico, que actúa como alimento para el microorganismo y le proporciona los nutrientes suficientes para su crecimiento (Joshi *et al.*, 2020). Se ha encontrado que la especie *Pleurotus ostreatus* tiene la capacidad de crecer en diferentes sustratos orgánicos con alto contenido de celulosa y lignina, conformando biocompuestos con diferentes aplicaciones (Colmenares *et al.*, 2018). Estos materiales biocompuestos a base de micelio ofrecen características similares a las del EPS, además que son versátiles para adecuarse a moldes de figuras complejas y son biodegradables (Sivaprasad *et al.*, 2021).

Los sustratos lignocelulósicos son colonizados por un gran número de especies de hongos generalmente donde *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus pulmonarius* son las especies de mayor importancia, dada la viabilidad económica para su cultivo (Butu *et al.*, 2020). *P. ostreatus* como hongo de la podredumbre blanca descompone la celulosa, hemicelulosa y lignina como principal fuente de nutrientes para el crecimiento del micelio (Doroški *et al.*, 2022).

El afrecho de malta es un subproducto de la industria cervecera que contiene alrededor de 17 % de celulosa, 28 % de polisacáridos no celulósicos y 28 % de lignina, además, es un residuo que no cuenta con un uso posterior, resaltando que su contenido de humedad es del 80 % aproximadamente, haciendo que no se pueda almacenar por largos periodos de tiempo a menos de que sea secado. Sin embargo, se ha encontrado que el afrecho de malta como sustrato tiene éxito en el crecimiento de *Pleurotus ostreatus*, permitiendo su aprovechamiento para este fin (Gregori *et al.*, 2008). Por otro lado, la producción de trigo es abundante a nivel mundial, con un mercado de \$61,8 billones de dólares a nivel mundial en 2021 con Rusia y Estados Unidos como los mayores exportadores (OEC, 2022). Derivado de la producción del trigo se presenta al salvado de trigo que es un subproducto que representa entre el 14,5 % del grano (Xueju *et al.*, 2008) y cuenta con 40-50 % de celulosa, 25-35 % de hemicelulosa y 15-20 % de lignina (Araya-Farias *et al.*, 2019) lo que le ha permitido su uso para el crecimiento fúngico (Sisti *et al.*, 2021). Aparte del seguimiento del crecimiento y el desarrollo del micelio sobre los sustratos sólidos, los materiales biocompuestos son analizados en términos de sus propiedades mecánicas, densidad, compresión, absorción de agua y resistencia térmica, ya que el desarrollo del material depende de el microorganismo usado, el sustrato y las condiciones de crecimiento entre otros factores (Butu *et al.*, 2020).

El objetivo de esta investigación es desarrollar fermentación en estado sólido para la producción de un material biocompuesto a partir de diferentes mezclas entre de afrecho de malta y salvado de trigo utilizando el hongo *Pleurotus ostreatus*. El material biocompuesto se caracterizará según propiedades fisicoquímicas y mecánicas con el fin de determinar si es apto para su uso en procesos de empaque y embalaje.

## **MÉTODO**

### **Producción de Inóculo**

Se utilizó semilla de *Pleurotus ostreatus*, marca Nutrisetas. Para la propagación inicial del micelio, se tomaron las semillas y se dejaron en un medio de cultivo de Agar Dextrosa Sabouraud con Cloranfenicol, esterilizado por 15 min a 120 °C. Los medios fueron incubados a una temperatura de 30 °C, al pH final de  $5,6 \pm 0,2$ , durante 14 días (Melo, 2021) y los experimentos fueron llevados a cabo en el Laboratorio de bioprocesos de la Universidad de América en la ciudad de Bogotá.

### **Acondicionamiento de los sustratos**

El afrecho de malta fue obtenido de una empresa de cerveza artesanal y fue secado en un horno de convección forzada a 70 °C por 48 horas. Se usó salvado de trigo marca Toning. Los sustratos se trituraron utilizando un procesador de cuchilla y se tamizaron.

### **Propagación del micelio**

Para la preparación del agar se utilizó el extracto obtenido al filtrar la mezcla de 175 g de salvado de trigo en 1 L de agua, tras 1 h de reposo. A la mezcla se añadieron 1,25 g de nitrato de amonio, 2 g de extracto de levadura, 10 g de glucosa, 18 g de agar-agar, 0,1 g de fosfato de potasio, 0,05 g de sulfato de magnesio, 0,076 g de sulfato de manganeso y 0,076 g de sulfato de cobre, los cuales fueron ajustados a un pH de 4,5. El medio se esterilizó en la autoclave por 15 minutos a 120 °C y luego fueron inoculadas con micelio y las cajas se incubaron a 30 °C durante 8 días (Vásquez *et al.*, 2023).

### **Primera fermentación sólida**

Se planteó un diseño de experimentos unifactorial de 3 niveles (Cuadro 1), que representan las mezclas de sustratos a trabajar para la colonización del micelio y la obtención del material, donde se desea estudiar el efecto de la adición de afrecho de malta en distintas proporciones al salvado de trigo. La proporción con 100 % de afrecho de malta bajo las condiciones realizadas de los experimentos no presentó crecimiento del hongo (Datos no mostrados).

**Cuadro 1.** Diseño de experimentos.

Nombre de la mezcla	Factor Proporción Afrecho de malta: Salvado de trigo
Mezcla A	50:50
Mezcla B	30:70
Mezcla C	0:100

Se prepararon 100 g para cada mezcla, con las cantidades correspondientes de cada sustrato en una bolsa de polipropileno (23 cm x 32 cm). A cada una se le agregaron 100 mL de agua y se dejaron en reposo 24 horas (Melo, 2021), luego, las mezclas fueron esterilizadas en la autoclave por 15 minutos a 120 °C, se inocularon agregando el micelio obtenido en una caja de Petri del medio Agar-Salvado de trigo, en una relación inóculo:sustrato de 2:10 (p/p) y se incubaron a 15 °C en oscuridad por 12 días.

**Preparación y selección de moldes.** Se utilizaron diferentes moldes para la formación del material. Para la caracterización de la resistencia a la compresión, se elaboraron moldes cilíndricos en PVC con una relación de diámetro y altura de 1:2 de acuerdo con la norma ASTM D695 (ASTM INTERNATIONAL, 2015), mientras que para la determinación de las demás

propiedades se utilizaron moldes acrílicos rectangulares (25 x 10 x 0,5 cm y 8 x 1 x 0,5 cm), cuadrados (2 x 2 x 0,8 cm) y en forma de corbatín.

**Segunda fermentación sólida y determinación del contenido de humedad.** Luego de la incubación por 15 días, se tomaron fracciones del conjunto micelio-sustrato y se colocaron en los moldes previamente esterilizados en la autoclave durante 15 minutos a 120 °C. El material moldeado se dejó en la incubadora a 30 °C durante 8 días. Al finalizar, este se secó en el horno de convección forzada a 60 °C durante 48 horas. Para determinar el contenido de humedad, se secó a 70 °C hasta peso constante luego de lo cual las láminas permanecieron en el desecador hasta su caracterización.

**Determinación de la resistencia a la compresión.** Se siguió la norma ASTM D695 que permite la determinación de la compresión para plásticos rígidos. Para ello, se hizo uso de la Máquina Universal de Ensayos Shimadzu Model AGS-50kNX, cuya capacidad es de 50 kN y cuenta con una celda de carga de 5 kN. El ensayo se realizó a una velocidad de 1 mm/min y las dimensiones de las probetas utilizadas tuvieron un promedio de 15,84 mm de altura y 17,37 mm de diámetro. Se realizaron 3 réplicas para cada mezcla.

**Determinación de densidad.** Se realizó siguiendo la norma ISO:9427 (International Organization for Standardization, 2003), donde se tomaron 3 muestras por mezcla de material obtenido en moldes cuadrados. Se registró el peso inicial de cada una, se midió el espesor y las dimensiones.

**Determinación de absorción de agua.** Se realizó con base a la norma ASTM C272/C272M-18 (ASTM INTERNATIONAL, 2018), tomando 3 muestras del material para cada mezcla, utilizando los moldes cilíndricos, se tomó el peso inicial de cada muestra y se sumergieron en 80 mL de agua a temperatura ambiente durante 60 horas, y se registró el peso cada 12 horas.

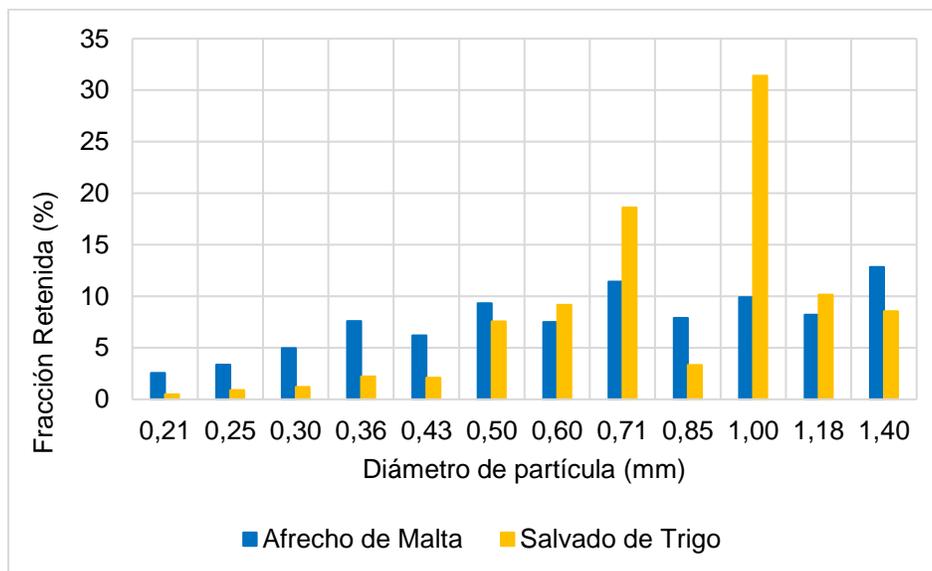
**Determinación de conductividad eléctrica y pH.** Se hicieron mediciones de estas propiedades antes y después de la colonización del microorganismo. La muestra fue triturada y luego tamizada en una malla 10, asegurando un tamaño de partícula menor a 2 mm Posteriormente, 5 g de la muestra se mezclaron con 50 mL de agua durante 30 minutos (Aiduang *et al.*, 2022) y se realizó la lectura de pH y conductividad eléctrica. Los equipos utilizados para tomar las mediciones fueron un potenciómetro Hanna Edge HI-2002-01 y un conductímetro EZDO COND5022.

**Análisis estadístico.** Los resultados provenientes de la caracterización fueron analizados mediante un análisis de varianza de un factor, utilizando el programa *IBM SPSS Statistics* para utilizando un intervalo de confianza del 95 %.

## RESULTADOS

### Acondicionamiento de los sustratos

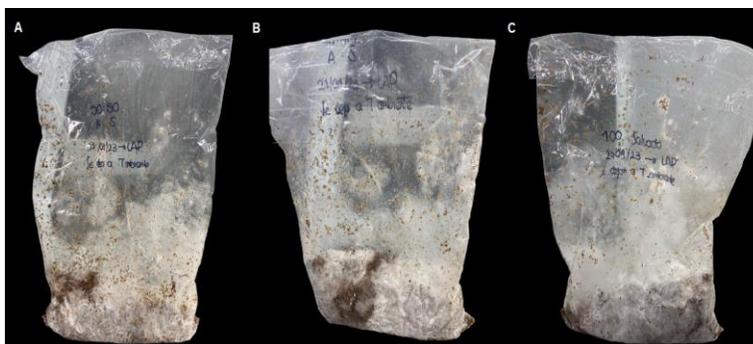
El tamaño de partículas del afrecho de malta es más heterogéneo al compararlo con el del salvado de trigo (Figura 1). El 50 % del afrecho presentó un tamaño entre 0,21 y 0,71 mm. Para el salvado de trigo, la mayor parte del material quedó retenido en las mallas de mayor diámetro, por lo tanto, el 50 % del sustrato tuvo un diámetro que oscila entre 0,71 y 1,00 mm, lo que equivale a retención del material en las mallas 18 y 25.



**Figura 1.** Perfil de tamaño de partícula de los sustratos usados.

### Primera fermentación sólida

Luego de 12 días de incubación a una temperatura promedio de 15 °C en la oscuridad, se observó el crecimiento del micelio de *Pleurotus ostreatus* sobre las mezclas de los sustratos, donde este cubrió la mayor parte de la superficie de estos. La mezcla con mayor porcentaje de colonización (90-95 %) fue la mezcla C, como se observa en la figura 2, seguida por A (85-90 %) y la mezcla con un menor porcentaje de colonización fue la B (75-80 %), que se encuentra relacionado con algunos factores que pueden afectar el crecimiento del micelio, donde se destacan la humedad del aire y la disponibilidad de aire y nutrientes (Bellettini *et al.*, 2019). Dado que todas las mezclas fueron incubadas a las mismas condiciones, la diferencia en el crecimiento del micelio se puede asociar a los nutrientes disponibles en cada mezcla, los cuales varían acorde al sustrato y su composición. El pretratamiento realizado a los sustratos permite que exista una mayor uniformidad en los tamaños de partícula presentes, lo que facilita su mezcla, haciendo que la fermentación sólida del micelio en las bolsas sea efectiva.



**Figura 2.** Imagen de la primera fermentación sólida tras 12 días de incubación, para las mezclas A, B, y C

### Segunda fermentación

En la figura 3 se observa que las 3 mezclas presentaron una colonización parcial de más del 80 % tras la segunda fermentación, sin embargo, las mezclas A y B cuentan con mayor proporción de micelio cubriendo toda la superficie y gran parte del fondo del molde, a diferencia de mezcla C que contó con una mayor proporción de sustrato pendiente por colonizar al fondo, sin embargo, en la superficie se encontraba completamente colonizado.



**Figura 3.** Imagen del resultado de la segunda fermentación sólida en moldes tras 8 días de incubación.

En el Cuadro 2 se presentan los resultados de la caracterización de las tres mezclas. Como resultado del ANOVA se encuentra que todas las propiedades tienen un valor de  $p < 0,05$ , indicando que hay diferencias significativas entre las medias de las propiedades, exceptuando por resistencia a la compresión. Al realizar la comparación múltiple con la prueba HSD Tukey, se encuentra cuales de las medias son significativamente diferentes.

**Cuadro 2.** Resultados de la caracterización para cada mezcla según la propiedad evaluada.

Caracterización	Mezcla A	Mezcla B	Mezcla C	Valor p ( $\alpha = 0,05$ )
Contenido de humedad (%)	59,26 +/- 1,35 a	34,28 +/- 5,13 b	61,80 +/- 1,56 a	<0,001
Absorción de agua (%)	118,58 +/- 26,95 a	219,23 +/- 52,54 b	127,48 +/- 28,84 a	0,011
Resistencia a la compresión (kPa) al 10 % de deformación	110,04 +/- 11,95 a	170,8 +/- 27,94 a	353,05 +/- 83,81 a	0,188
Densidad (kg/m <sup>3</sup> )	233,17 +/- 23,85 ab	308,43 +/- 20,45 a	217,87 +/- 16,90 b	0,043
pH **	6,70 +/- 0,05 a	7,13 +/- 0,01 b	7,52 +/- 0,00 c	<0,001
pH ***	5,88 +/- 0,10 a	5,52 +/- 0,04 bc	5,51 +/- 0,07 c	<0,001
Conductividad eléctrica **( $\mu$ S/cm)	1116,32 +/- 32,64 a	1200 +/- 18,35 b	1500 +/- 17,32 c	<0,001
Conductividad eléctrica ***( $\mu$ S/cm)	1860 +/- 46,59 a	1976 +/- 21,20 bc	1999 +/- 0,11 c	0,006

\*Los resultados son media  $\pm$  desviación estándar. Letras diferentes en una misma fila se consideran significativamente diferentes según la prueba de rangos múltiples de Duncan ( $p \leq 0,05$ ).

\*\* Antes de la colonización

\*\*\* Después de la colonización

### Determinación del contenido de humedad del biocompuesto

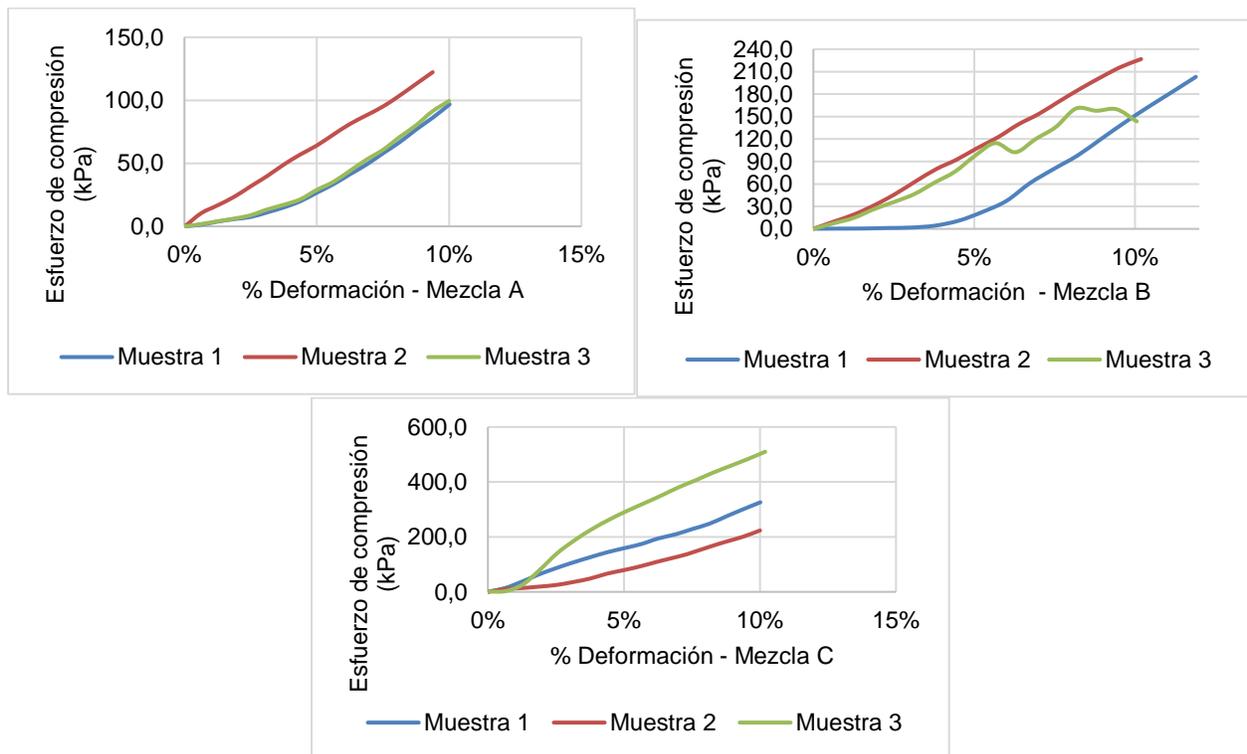
Respecto a la humedad (Cuadro 2), el análisis indica que existen diferencias significativas en el contenido de humedad de los materiales obtenidos para alguna de las tres mezclas, sin embargo, como los valores de humedad obtenidos para las mezclas A y C no tienen diferencias significativas, en consecuencia, la mezcla que genera el factor diferenciador es B. Por lo tanto, se ha establecido que el porcentaje de humedad es una variable que influye sobre las

propiedades fisicoquímicas y mecánicas (principalmente la resistencia a la compresión) del material (Nashiruddin *et al.*, 2022), por lo que es de esperarse que las propiedades de la mezcla B difieran de las obtenidas en la mezcla A y C.

### Determinación de la resistencia a la compresión

Los resultados de la resistencia a la compresión fueron reportados en el Cuadro 2 para cada una de las mezclas realizadas, encontrando que del análisis estadístico que no hay diferencias significativas de los resultados debido a la variabilidad del resultado de resistencia a la compresión de las distintas mezclas, por la falta de homogeneidad de las mismas donde en una misma probeta o muestra se podían encontrar zonas mas densas de micelio que otras. Se tiene en cuenta que para el análisis de los datos se registraron los valores con 10 % de deformación (Figura 4) para el material biocompuesto, pues los datos de comparación registrados en la literatura versus esfuerzo de compresión (kPa) para el EPS se encuentran a dicho porcentaje.

Se encontró que las mezclas A y C contaron con un comportamiento similar donde a medida que aumentó el esfuerzo de compresión de las tres muestras, aumentó el porcentaje de deformación, resaltando que para estas mezclas las probetas no se fracturaron ni llegaron al punto de rotura. Sin embargo, para un mismo porcentaje de deformación (10 %) se presentaron diferentes valores de esfuerzo en cada muestra, lo que puede atribuirse principalmente a los espacios internos vacíos (Jones *et al.*, 2020; Houette *et al.*, 2022), y también a que las probetas no contaron con la misma área de sección transversal, pues no se logró obtener una homogeneidad en los diámetros, por lo que la fuerza aplicada no se distribuyó uniformemente sobre el material. La mezcla B presentó un comportamiento similar al mencionado para A y C, a excepción de la muestra 2 que presenta dos fracturas entre el 6 y 9 % de deformación, donde B fue la mezcla con menor resistencia a la compresión, pues para A y C no se presentaron puntos de fractura o rotura.



**Figura 4.** Esfuerzo de compresión para 3 muestras de cada mezcla (A, B y C) hasta el 10 % de deformación del material biocompuesto.

Se ha encontrado que los materiales biocompuestos de micelio con mayor densidad cuentan con menor resistencia a la compresión (Ghazvinian *et al.*, 2019) lo cual aplica en este caso, pues el material de la mezcla B resultó ser el más denso y con una menor resistencia a la compresión, pues este presentó fracturas y llegó al punto de rotura durante la ejecución de la prueba.

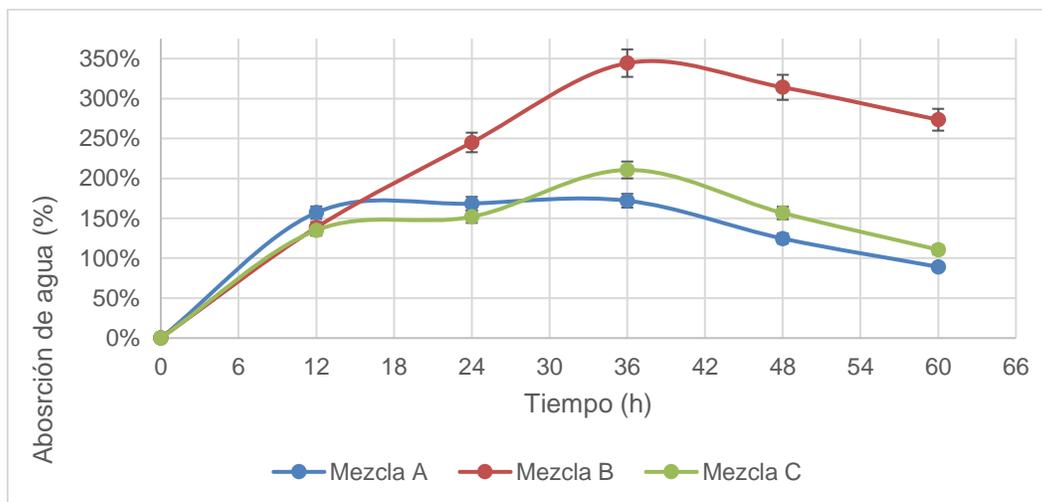
### **Determinación de densidad**

Según lo presentado en el Cuadro 2, para el estudio de la densidad de los materiales biocompuestos, al evaluar el análisis de varianza, se corrobora que sí existen diferencias significativas entre alguna de las mezclas, que pueden estar ligadas al peso del material con respecto al grado de colonización, dado que entre mayor sea la cantidad de biomasa fúngica presente, menor será el peso de este pues el microorganismo crece y se desarrolla en el medio. Se observa que hay una diferencia significativa entre la mezcla B y la mezcla C.

El EPS presenta una densidad entre 11 y 60 kg/m<sup>3</sup>, donde el valor más alto es el utilizado para la construcción (Stylite, 2018). Las diferencias con respecto a las densidades calculadas se relacionan con la porosidad y los sustratos utilizados para la obtención del material, puesto que, según los reportes, el salvado de trigo presenta una densidad que varía desde 180 hasta 260 kg/m<sup>3</sup> (Charrondiere *et al.*, 2012), mientras que el afrecho de malta oscila entre 148 y 354 kg/m<sup>3</sup> (Pérez *et al.*, 2017), que indica que, a menor grado de porosidad, menor será su densidad dado que existió una variación del grado de compactación entre el micelio, que actúa como aglutinante con los sustratos. Por ello, a un mayor nivel de porosidad, aumenta la transmisión de aire a través del material (Jones *et al.*, 2020; Houette *et al.*, 2022), siendo esto un factor que indica que la ramificación de las hifas producidas por el microorganismo no fue lo suficientemente abundante y resistente, afectando la compactación del material (Teixeira *et al.*, 2018), por lo tanto, el material biocompuesto obtenido en esta investigación, al ser mucho más denso que el EPS, el peso del conjunto empaque-producto será mayor, lo que puede llegar a aumentar los costos de transporte.

### **Determinación de absorción de agua**

Los resultados relacionados en Figura 5 indican que el material cuenta con una capacidad de absorción de agua superior al 100 %, que es fibroso debido a que en su composición predominan la celulosa, hemicelulosa y lignina, capaces de retener agua y almacenarla en su interior, debido a su alto nivel de porosidad. En contraste con los polímeros sintéticos, los estudios de absorción de agua del EPS indican que no es un material higroscópico, debido a que su capacidad de absorción de agua no supera el 5 % (Stylite, 2018; Ramli Sulong *et al.*, 2019).



**Figura 5.** Porcentaje de absorción de agua en función del tiempo para cada mezcla.

Consecuentemente, si el material obtenido se encuentra expuesto a fuentes hídricas, puede afectar su resistencia y rigidez al tener una alta capacidad de absorción de agua, por lo que se reducirá su vida útil, además de ocasionar inconvenientes al incrementar su peso y volumen, lo que dificulta su transporte, manipulación y almacenamiento, estos datos fueron analizados por medio del diseño en bloque aleatorizado con nivel de significancia de 0,05. Del análisis que encontró que del bloque tiene un efecto grande con un valor F de 8,039, además, el factor mezcla presento un valor de p de 0,011 por lo tanto la absorción del agua depende de la mezcla usada. Al realizar la prueba de Tukey, se encuentra que la mezcla B es diferente significativamente que la mezcla A y la mezcla C (Cuadro 2), sin embargo, al analizar el tiempo se encuentra que las diferencias entre las horas solo son significativamente diferentes con respecto al tiempo cero.

### Determinación de la Conductividad eléctrica y pH

Al evidenciar una disminución del pH de las mezclas después de la colonización (Cuadro 2), esta se justifica con el grado de colonización de la cepa, pues si este es mayor, indica que el proceso de digestión enzimática de la lignina y celulosa fue favorable para el microorganismo (Aiduang *et al.*, 2022) y también existe una mayor producción de ácidos orgánicos como el ácido oxálico y ácido fórmico (Mäkelä *et al.*, 2002). Se encuentra que existen diferencias significativas entre el pH de las mezclas previo a la colonización y posterior a la colonización demostrando que la proporción del sustrato tiene influencia entre el pH inicial y final de las mezclas.

Respecto a la conductividad eléctrica al analizar los datos presentado en el Cuadro 2, donde a es la propiedad antes de la colonización y b es después de la colonización fúngica, se encuentra que hay diferencias significativas entre los valores entre mezclas, mostrando que la proporción del tipo de sustrato influye en la conductividad. El incremento de la conductividad al finalizar el periodo de colonización puede estar relacionado con la actividad enzimática del microorganismo al llevar a cabo la degradación (Aiduang *et al.*, 2022), aumentando las cantidades de materia inorgánica junto con los iones en solución.

Se realizó un comparativo entre las propiedades reportadas para el poliestireno expandido y los resultados obtenidos para el material (Cuadro 3), con el fin de poder seleccionar la mezcla de sustratos que permite obtener un material biocompuesto cercano al poliestireno expandido, teniendo en cuenta que para empaques se utilizan el EPS35 de baja densidad, el EPS70 de

media densidad y el EPS100 y EPS150 de alta densidad, los demás tipos de EPS se utilizan principalmente para aplicaciones de aislamiento y construcción (Stylite, 2018; Molygran, 2021).

**Cuadro 3.** Comparación de las propiedades del EPS con las del material biocompuesto producido.

Propiedad		Resistencia a la compresión (10 % de deformación) kPa	Densidad (kg/m <sup>3</sup> )	Absorción de agua (%)
Poliestireno expandido (EPS)	EPS35	35	12	<= 10
	EPS70	70	15	<= 10
	EPS100	100	20	<= 10
	EPS150	150	25	<= 10
	EPS200	200	30	<= 10
	EPS500	500	60	<= 10
Biocompuesto	A (50:50)	110,04	233,17	172,01
	B (30:70)	191,1	308,43	320
	C (0:100)	353,05	217,87	210,6

La mezcla C (0:100) cuenta con menor densidad y menor capacidad de absorción de agua que la mezcla A y B, sin embargo, ninguna de las mezclas es capaz de sustituir el EPS al comparar sus propiedades físicas, pues como se observa en el Cuadro 3, los valores obtenidos para el biocompuesto para estas propiedades son muy lejanos con respecto a las propiedades de distintos tipos de EPS, ya que este último no supera el 10 % de absorción de agua y la densidad máxima para el EPS500 utilizado en construcción es de 60 kg/m<sup>3</sup>. Por lo tanto, para la selección de la mezcla más adecuada se utilizaron únicamente los resultados obtenidos al medir la resistencia a la compresión, pues es la propiedad en donde el material tiene el potencial de sustituir el EPS; a partir de ello, y considerando que para aplicaciones de empaques o embalaje se usa entre el EPS 35 y el EPS150, cuya resistencia a la compresión esta entre 35 y 150 kPa, la mezcla A (50:50) es la más indicada por contar con el esfuerzo de compresión más bajo (110,04 kPa), a comparación de las mezclas B y C, que serían de mejor utilidad en aplicaciones de aislamiento y de construcción, pues cuentan con valores de esfuerzo más grandes. Asimismo, dentro del proceso es importante buscar el máximo aprovechamiento de los residuos agroindustriales seleccionados como sustratos (afrecho de malta y salvado de trigo).

Finalmente, de acuerdo con los resultados obtenidos, se plantea una propuesta del procedimiento de obtención de este a partir de la mezcla A como la más prometedora, al emplear los dos sustratos en la misma proporción, y la cual tuvo resultados del esfuerzo de compresión promedio equivalente a 110,04 kPa para un 10 % de deformación, absorción de agua máxima de 172,01 % (36 horas), pH de 5,88, conductividad eléctrica de 1860  $\mu$ S/cm y una densidad de 233,17 kg/m<sup>3</sup>. En la figura 6 se presenta el diagrama de flujo propuesto para la producción del material. El rendimiento producto sustrato del proceso (Yp/s) obtenido fue de 0,768 g/g.

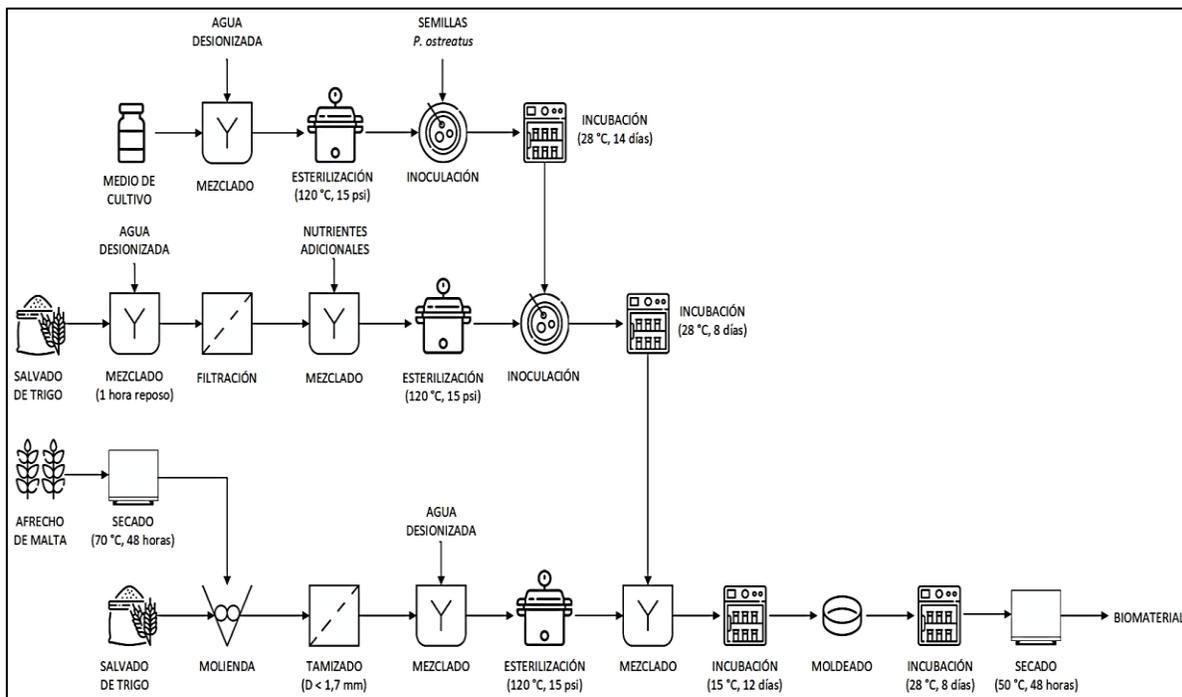


Figura 6. Diagrama PFD del proceso

## CONCLUSIONES

La fermentación sólida usando *Pleurotus o.* sobre los sustratos afrecho de malta y salvado de trigo se logró de forma exitosa en el tiempo de estudio y mezclas trabajadas ya que el material biocompuesto obtenido presentó una colonización del hongo con porcentajes de superiores al 75%. Se observa que las propiedades físicas del material se encuentran relacionadas entre sí, las mezclas A (50:50) y C (0:100) tuvieron porcentajes de humedad similares y, presentaron valores cercanos para la densidad y para la absorción de agua. Estos resultados difieren de los de la mezcla B, cuyo porcentaje de humedad fue menor, haciendo que este material sea más denso y con una capacidad de absorción de agua mucho mayor. De acuerdo con los resultados obtenidos al caracterizar los materiales producidos se encuentra que el material aún no es recomendable para su implementación en procesos de embalaje, por su alta densidad y absorción de agua. Respecto a las propiedades químicas medidas (pH y conductividad eléctrica), donde se demostró que existen diferencias entre las mezclas de los sustratos usadas debido a que esto influye directamente, ya que con diferente sustrato el proceso de colonización asociado a la digestión enzimática realizada por el microorganismo varía. Con el fin de proponer un diseño conceptual del proceso se definió que la mezcla con una proporción 50:50 de afrecho de malta y salvado de trigo es la más adecuada, al tener el valor más bajo para el esfuerzo de compresión al 10 % de la deformación, el cual fue de 110,04 kPa. De acuerdo con los resultados de este estudio se encuentra definitivo determinar la influencia de la concentración de celulosa y lignina a la hora de determinar bajo que parámetros coloniza de una forma más efectiva el microorganismo y como esto influye en propiedades importantes como la densidad del producto durante la fermentación sólida.

## REFERENCIAS

- AIDUANG, WORAWOOT; KUMLA, JATURONG; SRINUANPAN, SIRASIT; THAMJAREE, WANDEE; LUMYONG, SAISAMORN; SUWANNARACH, NAKARIN. Mechanical, Physical, and Chemical Properties of Mycelium-Based Composites Produced from Various Lignocellulosic Residues and Fungal Species. *Journal of Fungi*, v. 8, n. 11, 2022, 1125.  
<https://doi.org/10.3390/jof8111125>
- ALEMU, DIGAFE; TAFESSE, MESFIN; KANTI, AJOY; Mondal Mycelium-Based Composite: The Future Sustainable Biomaterial. *International Journal of Biomaterials*, 2022, 8401528.  
<https://doi.org/10.1155/2022/8401528>
- ARAYA-FARIAS, MONICA; HUSSON, ERIC; SAAVEDRA-TORRICO, JORGE; GÉRARD, DORIANE; ROULARD, ROMAIN; GOSSELIN, ISABELLE; RAKOTOARIVONINA, HARIVONI; LAMBERTYN, VIRGINIE; RÉMOND, CAROLINE; SARAZIN, CATHERINE. Wheat Bran Pretreatment by Room Temperature Ionic Liquid-Water Mixture: Optimization of Process Conditions by PLS-Surface Response Design. *Frontiers in Chemistry*, v. 7, 2019.  
<https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00585>
- ASTM INTERNATIONAL. American Society for Testing and Materials D695-15: Standard Test Method for Compressive Properties of Rigid Plastics. Pennsylvania (USA): 2015, 8 p.
- ASTM INTERNATIONAL. American Society for Testing and Materials C272/C272M: Standard Test Method for Water Absorption of Core Materials for Sandwich Constructions. Pennsylvania (USA): 2018, 4 p.
- BELLETTINI, MARCELO-BARBA; FIORDA, FERNANDA-ASSUMPÇÃO; MAIEVES, HELAYNE-APARECIDA; TEIXEIRA, GERSON-LOPES; ÁVILA, SUELEN; HORNUNG, POLYANNA-SILVEIRA; JÚNIOR, AGENOR-MACCARI; RIBANI, ROSEMARY-HOFFMANN. Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 26, n. 4, 2019, p. 633-646.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.005>
- BUTU, ALINA; RODINO, STELIANA; MIU, BOGDAN ANDREI; BUTU, MARIAN. Mycelium-based materials for the ecodesign of bioeconomy. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, v. 15, n. 4, 2020, p. 1129-1140.  
[https://chalcogen.ro/1129\\_ButuM.pdf](https://chalcogen.ro/1129_ButuM.pdf)
- CHARRONDIÈRE, RUTH; HAYTOWITZ, DAVID; STADLMAYR, BARBARA. FAO/INFOODS Density Database Version 2.0. Food and agriculture organization of the United Nations technical workshop report. 2012, 24 p.  
<https://www.fao.org/3/ap815e/ap815e.pdf>
- COLMENARES, ELICEL; BAUTISTA, LUIS; OLIVEROS, CLEOMARY. Material ecológico con fines de embalaje a partir del hongo *Pleurotus ostreatus* y residuos orgánicos agroindustriales. *Revista Científica Unet*, v. 30, n. 1, 2018, p 324–332.  
[https://www.researchgate.net/publication/328412004\\_Material\\_ecologico\\_con\\_fines\\_de\\_embalaje\\_a\\_partir\\_del\\_hongo\\_Pleurotus\\_ostreatus\\_y\\_residuos\\_organicos\\_agroindustria](https://www.researchgate.net/publication/328412004_Material_ecologico_con_fines_de_embalaje_a_partir_del_hongo_Pleurotus_ostreatus_y_residuos_organicos_agroindustria)  
[les](https://www.researchgate.net/publication/328412004_Material_ecologico_con_fines_de_embalaje_a_partir_del_hongo_Pleurotus_ostreatus_y_residuos_organicos_agroindustria)
- DOROŠKI, ANA; KLAUS, ANITA; REŽEK, ANET; DJEKIC, ILIJA. Food Waste Originated Material as an Alternative Substrate Used for the Cultivation of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*): A Review. *Sustainability*, v. 14, n. 19, 2022, 12509.  
<https://www.mdpi.com/2071-1050/14/19/12509>
- GARCIA, NATALIA. Evaluación del impacto ambiental de la aplicación de un plan de gestión posconsumo de poliestirenoexpandido (EPS) utilizado en el envase de alimentos en Colombia [Tesis de Maestría en Ingeniería de Procesos]. Bogotá (Colombia): Universidad EAN, 2019, 121 p.
- GHAZVINIAN, ALI; FARROKHSIAR, PANIZ; VIEIRA, FABRICIO; PECCHIA, JHON; GURSOY, BENAY. Mycelium-Based Bio-Composites For Architecture: Assessing the Effects of

- Cultivation Factors on Compressive Strength. *Matter - Material Studies And Innovation*, v. 2, 2019, p. 505-514.  
[https://doi.org/10.5151/proceedings-ecaadesigradi2019\\_465](https://doi.org/10.5151/proceedings-ecaadesigradi2019_465)
- GREGORI, ANDREJ; ŠVAGELJ, MIRJAN; PAHOR, BOJAN; BEROVIČ, MARIN; POHLEVEN, FRANC. The use of spent brewery grains for *Pleurotus ostreatus* cultivation and enzyme production. *New Biotechnology*, v. 25, n. 2-3, 2008, p. 157-161.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nbt.2008.08.003>
- HORTON, ALICE. Plastic pollution: When do we know enough? *Journal of Hazardous Materials*, v. 422, 2022, 126885.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126885>
- HOUETTE, THIBAUT; MAURER, CHRISTOPHER; NIEWIAROWSKI, REMIK; GRUBER, PETRA. Growth and Mechanical Characterization of Mycelium-Based Composites towards Future Bioremediation and Food Production in the Material Manufacturing Cycle. *Biomimetics*, v. 7, n. 3, 2022, p. 103.  
<https://doi.org/10.3390/biomimetics7030103>
- SWITZERLAND. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION: 9427 Wood-based panels — Determination of density. Geneva (Switzerland): 2003, 3p.
- JONES, MITCHELL; MAUTNER, ANDREAS; LUENCO, STEFANO; BISMARCK, ALEXANDER; JOHN, SABU. Engineered mycelium composite construction materials from fungal biorefineries: A critical review. *Materials & Design*, v. 187, 2020, 108397.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matdes.2019.108397>
- JOSHI, KSHITJI; MEHER, MUKESH-KUMAR; POLURI, KRISHNA-MOHAN. Fabrication and Characterization of Bioblocks from Agricultural Waste Using Fungal Mycelium for Renewable and Sustainable Applications. *ACS Applied Bio Materials*, v. 3, n. 4, 2020, p. 1884-1892.  
<https://doi.org/10.1021/acsabm.9b01047>
- MÄKELÄ, MIIA; GALKIN, SARI; HATAKKA, ANNELE; LUNDELL, TAINA. Production of organic acids and oxalate decarboxylase in lignin-degrading white rot fungi. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 30, n. 4, 2002, p. 542-549.  
[https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00012-1](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00012-1)
- MARTÍNEZ-LÓPEZ, CRYSTELL; LAINES-CANEPA, JOSÉ. Poliestireno Expandido (EPS) y su problemática ambiental. *KUXULKAB*, v. 19, n. 3, 2013, p. 63-65.  
<https://revistas.ujat.mx/index.php/kuxulkab/article/download/339/262>
- MELO-PARRA, CLAUDIA-GIOVANNA. Evaluación de la colonización del hongo *Pleurotus ostreatus* en sustratos lignocelulósicos [Tesis ingeniería química]. Bogotá (Colombia): Fundación Universidad de América, Facultad de Ingeniería, 2021, 116p.
- NASHIRUDDIN, NOOR-IDAYU; CHUA, KAI SHIN; MANSOR, AZMI-FADZIYANA; RAHMAN, ROSHANIDA; LAI, JAU-CHOY; WAN-AZELEE, NUR-IZYAN; EL-ENSHASY, HESHAM. Effect of growth factors on the production of mycelium-based biofoam. *Clean Technologies and Environmental Policy*, v. 24, n. 1, 2022, p. 351-361.  
<https://doi.org/10.1007/s10098-021-02146-4>
- MOLYGRAN. EPS Technical Data from Molygran. 2021. <https://www.molygran.com/our-advice/eps-technical-data/> [consultado mayo 1 de 2023].
- NILSEN-NYGAARD, JULIE; FERNÁNDEZ, ESTEFANÍA.; RADUSIN, TANJA; ROTABAKK, BJØRN-TORE; SARFRAZ, JAWAD; SHARMIN, NUSRAT; SIVERTSVIK, MORTEN; SONE, IZUMI; PETTERSEN, MARIT-KVALVÅG. Current status of biobased and biodegradable food packaging materials: Impact on food quality and effect of innovative processing technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 20, n. 2, 2021, p. 1333-1380.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1541-4337.12715>

- OBSERVATORY OF ECONOMIC COMPLEXITY (OEC). Wheat. 2022. <https://oec.world/en/profile/hs/wheat> [Consultado febrero 22 de 2024].
- PALMER, KEVIN J.; LAUDER, KERRI; CHRISTOPHER, KYESHAUN; GUERRA, FATIMA; WELCH, REBECCA; BERTUCCIO, ALEX J. Biodegradation of expanded polystyrene by larval and adult stages of *Tenebrio molitor* with varying substrates and beddings. *Environmental Processes*, v. 9, n. 1, 2022, p. 3. <https://doi.org/10.1007/s40710-021-00556-6>
- PÉREZ, V.; MURILLO, J.M.; BADOS, R.; ESTEBAN, L.S.; RAMOS, R.; SÁNCHEZ, J.M. Preparation and gasification of brewers' spent grains. Athens (Greece): Proceedings of the 5th International Conference on Sustainable Solid Waste Management, 2017, p. 1-12.
- PRÜCKLER, MICHAEL; SIEBENHANDL-EHN, SUSANNE; APPRICH, SILVIA; HÖLTINGER, STEFAN; HAAS, CORNELIA; SCHMID, ERWIN; KNEIFEL, WOLFGANG. Wheat bran-based biorefinery 1: Composition of wheat bran and strategies of functionalization. *LWT - Food Science and Technology*, v. 56, n. 2, 2014, p. 211-221. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.004>
- RAMLI-SULONG, NOR-HAFIZAH; MUSTAPA, SITI-AISYAH-SYAERAH; ABDUL-RASHID, MUHAMMAD-KHAIRI. Application of expanded polystyrene (EPS) in buildings and constructions: A review. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 136, n. 20, 2019, 47529. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/app.47529>
- SISTI, LAURA; GIOIA, CLAUDIO; TOTARO, GRAZIA; VERSTICHEL, STEVEN; CARTABIA, MARCO; CAMERE, SERENA; CELLI, ANNAMARIA. Valorization of wheat bran agro-industrial byproduct as an upgrading filler for mycelium-based composite materials. *Industrial Crops and Products*, v. 170, 2021, 113742. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113742>
- SIVAPRASAD, S.; BYJU, SIDHARTH. K.; PRAJITH, C.; SHAJU, JITHIN; REJEESH, C.R. Development of a novel mycelium bio-composite material to substitute for polystyrene in packaging applications. *Materials Today: Proceedings*, v. 47, 2021, p. 5038–5044. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.04.622>
- STYLITE. Stylite Expanded Polystyrene - Datasheet. 2018. [Consultado mayo 11 de 2023].
- TEIXEIRA, JUAN-LOPEZ; MATOS, MAXWELL-PACA; NASCIMENTO, BRENNO-LIMA; GRIZA, SANDRO; HOLANDA, FRANCISCO-SANDRO-RODRIGUES; MARINO, REGINA-HELENA. Production and mechanical evaluation of biodegradable composites by white rot fungi. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 42, n. 6, 2018, p. 676–684. <https://doi.org/10.1590/1413-70542018426022318>
- VÁSQUEZ, LAURA S.; SOPO, VALENTINA; SUESCA-DÍAZ, ADRIANA; MORALES-FONSECA, DIANA. Elaboration of a Biomaterial from *Pleurotus ostreatus* Mycelium and Residual Biomass, as an Alternative to Synthetic Materials. *Chemical Engineering Transactions*, v. 99, 2023, p. 91-96. <https://doi.org/10.3303/CET2399016>
- XIE, XUEJU (SHERRY); CUI, STEVE W.; LI, WEI; TSAO, RONG. Isolation and characterization of wheat bran starch. *Food Research International*, v. 41, n. 9, 2008, p. 882-887. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.07.016>.