

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA

ESCUELA DE INGENIERÍA FORESTAL

**DESARROLLO DE UN BIOCOMPUESTO DENSIFICADO DE FIBRA DE PIÑA Y
MICELIO (*Ganoderma lucidum* & *Pleurotus ostreatus*)**

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE INGENIERA FORESTAL CON ÉNFASIS
EN MANEJO Y PRODUCCIÓN FORESTAL CON EL GRADO ACADÉMICO DE
LICENCIATURA

MELANNIE MAYORGA JIMÉNEZ

CARTAGO, COSTA RICA

ABRIL 2023

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA

ESCUELA DE INGENIERÍA FORESTAL

**DESARROLLO DE UN COMPUESTO DENSIFICADO DE FIBRA DE PIÑA Y
MICELIO (*Ganoderma lucidum* & *Pleurotus ostreatus*) COMO BIOMATERIAL.**

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE INGENIERA FORESTAL CON ÉNFASIS
EN MANEJO Y PRODUCCIÓN FORESTAL CON EL GRADO ACADÉMICO DE
LICENCIATURA

MELANNIE MAYORGA JIMÉNEZ

CARTAGO, COSTA RICA

ABRIL 2023

DESARROLLO DE UN COMPUESTO DENSIFICADO DE FIBRA DE PIÑA Y MICELIO (*Ganoderma lucidum* & *Pleurotus ostreatus*) COMO BIOMATERIAL.

Melannie Mayorga Jiménez ¹

RESUMEN

En los últimos años, se ha visto una revolución tecnológica dirigida al diseño y creación de productos provenientes de fuentes naturales y ecológicamente amigables, entre ellos materiales lignocelulósicos combinados con la acción de hongos- El objetivo de la presente investigación fue desarrollar un compuesto densificado de fibra de piña y micelio de *Ganoderma lucidum* y *Pleurotus ostreatus*, estableciendo el sustrato que brinde las mejores condiciones de crecimiento, así como el micelio que se adapte mejor a estas condiciones. Además, se determinaron las características físico-mecánicas y químicas (densidad, contenido de humedad, estabilidad dimensional, flexión, dureza, cohesión interna, FTIR, TGA) del compuesto densificado de micelio. Los resultados mostraron que las fibras lavadas presentaron menores tiempos de crecimiento (40 y 61 días), mientras que, para las fibras sin lavar, la duración fue mayor (72 y 88 días). El micelio con mejor capacidad de adaptación correspondió a *P. ostreatus*, ya que, destacó positivamente en los resultados de las características físico-mecánicas y químicas. Entre las características físicas, la densidad varió entre 0,29 a 0,32 g/cm³, el contenido de humedad entre 4,35-5,9%, y la estabilidad dimensional, medido por la absorción de agua, varió de 10,16% hasta 15,21%. Con respecto a las características mecánicas, el mayor módulo de ruptura se presentó en las fibras sin lavar con el micelio de *G. lucidum* con 342,26 MPa y una dureza de 14,33 kg. Por otra parte, las fibras sin lavar con el micelio de *P. ostreatus* y las fibras lavadas con el micelio de *G. lucidum* presentaron la mayor fuerza de cohesión interna, con 0,027 kg/cm². Además, el tratamiento de fibras sin lavar con el micelio de *P. ostreatus* se destacó por obtener el segundo mejor resultado de dureza (10,68 kg). En la prueba de fuego, destacó *P. ostreatus* obteniendo el mayor tiempo de resistencia (11 min y 44 seg) y la menor pérdida de peso (34%). Con respecto a los análisis de TGA, los tratamientos de *P. ostreatus* presentan una mayor curva a *G. lucidum*, siendo así que, hubo una mejor asimilación del sustrato por parte de *P. ostreatus*. Por otra parte, el FT-IR mostró una curva algo distinta para el tratamiento de fibras sin lavar y *P. ostreatus*, corroborando nuevamente, el aprovechamiento eficiente del sustrato.

Palabras clave: Madera, Fibra de piña, Sustrato, Hongo, Biomaterial.

ABSTRACT

In recent years, a technological revolution has been seen aimed at the design and creation of products from natural and ecologically friendly sources, including lignocellulosic materials combined with the action of fungi. The objective of this research was to develop a densified fiber composite of pineapple and mycelium of *Ganoderma lucidum* and *Pleurotus ostreatus*, establishing the substrate that provides the best growth conditions, as well as the mycelium that best adapts to these conditions. In addition, the physical-mechanical and chemical characteristics (density, moisture content, dimensional stability, bending, hardness, internal cohesion, FTIR, TGA) of the mycelium-densified composite were determined. The results showed that the washed fibers had shorter growth times (40 and 61 days), while for the unwashed fibers, the duration was longer (72 and 88 days). The mycelium with the best adaptation capacity corresponded to *P. ostreatus* since it stood out positively in the results of the physical-mechanical and chemical characteristics. Among the physical characteristics, the density varied between 0.29 to 0.32 g/cm³, the moisture content between 4.35-5.9%, and the dimensional stability, measured by water absorption, varied from 10, 16% up to 15.21%. Regarding the mechanical characteristics, the highest modulus of rupture occurred in the unwashed fibers with the *G. lucidum* mycelium with 342.26 MPa and a hardness of 14.33 kg. On the other hand, the unwashed fibers with the *P. ostreatus* mycelium and the washed fibers with the *G. lucidum* mycelium presented the highest internal cohesive force, with 0.027 kg/cm². In addition, the treatment of unwashed fibers with the mycelium of *P. ostreatus* stood out for obtaining the second-best hardness result (10.68 kg). In the acid test, *P. ostreatus* stood out, obtaining the longest resistance time (11 min and 44 sec) and the lowest weight loss (34%). With respect to the TGA analyses, the *P. ostreatus* treatments present a higher curve than *G. lucidum*, thus, there was a better assimilation of the substrate by *P. ostreatus*. On the other hand, the FT-IR showed a somewhat different curve for the treatment of unwashed fibers and *P. ostreatus*, once again corroborating the efficient use of the substrate.

Key words: Wood, Pineapple fiber, Substratum, Mushroom, Biomaterial.



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

¹Mayorga, M. (2023). Desarrollo de un compuesto densificado de fibra de piña y micelio (*Ganoderma lucidum* & *Pleurotus ostreatus*) como biomaterial. Cartago, Costa Rica. Escuela de Ingeniería Forestal, Tecnológico de Costa Rica.

ACREDITACIÓN

CONSTANCIA DE DEFENSA PÚBLICA DE PROYECTO DE GRADUACIÓN

Trabajo final de graduación defendido públicamente ante el Tribunal Evaluador, integrado por el Dr. Roger Moya Roque, Dr. Alexander Berrocal Jiménez y M.Sc. Johana Gaitán Álvarez como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería Forestal con énfasis en Manejo y Producción Forestal, del Instituto Tecnológico de Costa Rica.



Roger Moya Roque, Dr.
Escuela de Ingeniería Forestal
Director de Tesis



Alexander Berrocal Jiménez, Dr.
Escuela de Ingeniería Forestal
Lector



Johana Gaitán Álvarez, M.Sc.
Escuela de Ingeniería Forestal
Lector



Dorian Carvajal Vanegas
Escuela de Ingeniería Forestal
Coordinador de Trabajos Finales de
Graduación



Melanné Mayorga Jiménez
Escuela de Ingeniería Forestal
Estudiante

DEDICATORIA

A mí,

A Ange,

A mi familia,

A mis amigos, Mariela, Brenda y Carlos,

A mis amigos 2018,

Y a todos aquellos que me han apoyado.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia,

A Ange,

A mi profesor guía, Roger Moya Roque,

Al profesor Alexander Berrocal Jiménez,

A Johana Gaitán Álvarez,

A la profe María Rodríguez,

A Robert Cubero,

A Carlos Olivares,

Y a Carolina Tenorio.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
ACREDITACIÓN	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
ÍNDICE GENERAL.....	vi
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	5
MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
Preparación del material.	6
Producción	10
Pruebas Físicas.....	11
Pruebas Mecánicas.....	13
Pruebas Químicas.....	14
Análisis de estadísticos	15
RESULTADOS	16
Crecimiento del micelio.....	16
Tiempo de crecimiento.....	18
Producción	19
Análisis físicos y mecánicos.....	20
Resistencia a fuego	21
Análisis químicos.....	22
Análisis Termogravimétrico (TGA):.....	22
FTIR y análisis de espectros infrarrojos:.....	24
DISCUSIÓN.....	25
CONCLUSIONES.....	29

RECOMENDACIONES	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
ANEXOS	38

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos realizados para la fabricación del compuesto de fibra y micelio.....	8
Cuadro 2. Propiedades físicas y mecánicas del compuesto de fibra y micelio densificado.	20
Cuadro 3. Datos termogravimétricos para la degradación térmica del compuesto de fibra y micelio densificado.....	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sistema de funcionamiento de la máquina propuesta para desfibrar las hojas de <i>A. comosus</i>	7
Figura 2. Patrón de corte de los tableros de CMD para obtener las probetas de los diferentes ensayos.....	11
Figura 3. Mecanismo diseñado para la prueba de resistencia de fuego.....	13
Figura 4. Ensayos mecánicos realizados según la norma ASTM D1037.	14
Figura 5. Etapas de crecimiento y colonización de los hongos en la formación del compuesto de micelio.	16
Figura 6. Vista macro y microscópica del compuesto de fibra de piña y micelio.....	17
Figura 7. Comparación visual de las muestras del CMD antes y después del prensado.	18
Figura 8. Tiempo de colonización según el tratamiento.....	19
Figura 9. Producción de CMD en las diferentes etapas según el tratamiento.	19
Figura 10. Pérdida de peso del CMD durante la exposición al fuego, tiempo en la etapa de inicio, tiempo en la etapa intermedia y tiempo de coloración negra en la etapa final.....	21
Figura 11. Variación de masa remanente al final de la producción y derivada del peso (DTG) del CMD.	23
Figura 12. FT-IR y análisis de espectros infrarrojos de los tratamientos propuestos para la fabricación de CMD.	24

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Presencia de agentes biocontroladores de <i>P. ostreatus</i> y <i>G. lucidum</i> en las bolsas de ensayo.	39
---	----

INTRODUCCIÓN

Los materiales han estado presentes desde el inicio de la humanidad, desde la Edad de Piedra, donde eran de origen natural como la madera, cuerda, algodón, lana e incluso piedra (Vivas *et al.*, 2021). Con el paso del tiempo, los materiales continuaron transformándose hasta llegar a la Revolución Industrial dando lugar a herramientas cada vez más refinadas hasta llegar a la actualidad (López & Alcalde, 2020).

Con el aumento de la población, se ha incrementado la demanda de los productos de las diferentes industrias; la mayoría de estos productos son a base de polímeros, plástico, nylon, silicona, entre otros (Vivas *et al.*, 2021). Si bien, la producción de algunos de estos es más barata, otros implican una alta demanda energética y el uso de materia prima contaminante. Esto causa un impacto importante para el medio ambiente, debido a que, su proceso de fabricación es altamente contaminante y los materiales utilizados para su elaboración muy pocas veces tienen la posibilidad de ser reutilizados o reciclados, quedando acumulados en vertederos, terrenos y hasta ríos (Falcón & De la Rosa, 2013). Por esta razón, surge una tendencia mundial a buscar y elaborar materiales que sean provenientes de fuentes sostenibles. Algunos de estos materiales de carácter renovable, toman como base estas fibras lignocelulósicas de distintos productos agrícolas, madera y sus derivados (Fernández *et al.*, 2019), en combinación otros materiales como ciertos tipos de hongos para formar nuevos biomateriales renovables (Vivas *et al.*, 2021).

La madera, como material lignocelulósico, gracias a su composición química puede ser utilizada de muchas formas y puede ser fuente de materia primas para la generación de otros materiales (Rosato y Traversa, 2017). Los materiales lignocelulósicos, en general, se encuentran en grandes cantidades de residuos, los cuales, en muchas ocasiones pueden ser aprovechados (Moya *et al.*, 2013; Chan *et al.*, 2021). Sin embargo, para la generación de otros materiales compuestos, se requieren del uso de adhesivos y formaldehídos para su adhesión, lo cual tiene como desventaja que pueden resultar perjudiciales para la salud humana y generar un impacto negativo en el ambiente (Chan *et al.*, 2021).

Por otra parte, nuevas tecnologías avanzan hacia el desarrollo y uso de los residuos agrícolas, especialmente las fibras agrícolas. Muchas de estas fibras eran desechadas como resultado de la producción agrícola mientras que otras han ganado popularidad (Fernández *et al.*, 2019). Existen diferentes plantas que proveen fibras que en la actualidad son utilizadas en áreas bioinnovadoras, especialmente en lo que son mascarillas (Casa, 2021), biotextiles (Villegas & González, 2013), juguetes, entre otros. También se utilizan en áreas más conservadoras como lo son biocombustibles y biopulpaje. Entre estas plantas se encuentran la planta de abacá (Aguilar, 2023), algodón, cáñamo, lino (López & Alcalde, 2020), coco (Villegas & González, 2013), piña (Moya et al., 2023), entre otros.

La piña (*Anana comosus*) es una planta muy utilizada en la agricultura de Costa Rica. Esta crece en zonas tropicales (Moya & Camacho, 2014). Esta fue introducida al país en el año 1970 gracias al establecimiento de plantaciones piñeras de PINDECO. Se calcula que al año 2019, la cantidad de plantaciones piñeras era de 65 mil ha aproximadamente (Arguedas *et al.*, 2021). Costa Rica es el principal exportador de piña a nivel mundial, exportando hasta 143 millones de piñas en el primer trimestre del 2017 (INEC, 2017).

Sin embargo, lo único que se aprovecha es el fruto de la planta, mientras que el sobrante (hojas y tallo) es considerado como desecho, alcanzando hasta 13,5 millones de toneladas de residuos (Araya, 2021). Esto representa un problema ambiental, debido a la gran cantidad de material y a la lenta degradación del mismo (Álvarez & Ortiz, 2016; Araya, 2021). Por lo que, se debe recurrir al uso de herbicidas tóxicos; como dicloruro de dimetil-4,4'- bipiridilo conocido como Paraquat, para deshidratar el material e incinerar posteriormente. (Araya, 1998; Araya, 2021).

Por ello, un uso que se le puede dar a los rastrojos de piña o PALF (por sus siglas en inglés Pineapple Leaf Fiber) es la transformación en fibras naturales que pueden ser utilizadas en la industria textil como desarrollo de cuerdas y telas (Banik *et al.*, 2011; Huallpa & Alcántara, 2019). Además, de su versatilidad, ya que, puede ser mezclada con otras fibras naturales como algodón, yute, abacá, entre otras (Banik *et al.*, 2011). Otra forma de utilización del PALF, es la fibrilación y producción de celulosa, una de las estructuras mayoritariamente presentes en la fibra (Moya et al., 2023). De esta forma, se utiliza PALF para biopulpaje, papel y cartón (Araya, 2021), y reducir la demanda de otros materiales contaminantes.

Desde la industria biotecnológica, se ha investigado constantemente el comportamiento de tejidos y microorganismos como lo son bacterias, protozoarios y hongos. Este último destaca especialmente por la variedad de metabolitos que produce como las enzimas, ácidos orgánicos y antibióticos (Royse & Sánchez, 2017; Tizapantzi *et al.*, 2019). Entre los principales campos de investigación se puede mencionar el área médica donde se actualiza constantemente para la producción de medicamentos y tejidos (Ávila & Yáñez, 2020). También se destacan en la producción de alimentos, principalmente la producción de hongos comestibles como lo son *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii*, *Amanita virosa* (Estrada & Bautista, 2016), *Ganoderma lucidum* (Ávila & Yáñez, 2020), entre otros. Además, recientemente, se ha investigado la posibilidad de generar textiles a partir del micelio de algunos hongos. Esto con el fin de producir fibras biodegradables y reducir el uso de partes animales. (Ávila & Yáñez, 2020)

En esta misma línea, muchos residuos agrícolas presentan un alto contenido de celulosa; principal compuesto de las paredes celulares. Seguido de la celulosa, se encuentran la lignina y la hemicelulosa, el primero es un compuesto complejo aromático que se localiza entre las moléculas de celulosa (Díaz *et al.*, 2019). Dada su morfología estos compuestos son altamente difíciles de degradar. Por lo que, únicamente algunos individuos tienen la capacidad de digerirlos y posteriormente degradarlos. Dentro de los organismos que poseen las enzimas para aprovechar estos compuestos, se encuentran los hongos de pudrición blanca (Garzón & Cuervo, 2008; Díaz *et al.*, 2019), entre los que destaca industrialmente las siguientes especies *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum* (Díaz *et al.*, 2019, Kuhar, 2012). Se les conoce de esta manera, debido a que son capaces de degradar la lignina presente en la madera y otras plantas. Estas enzimas se conocen como ligninasas o enzimas modificadoras de ligninas dentro de las cuales destaca principalmente la lacasa, así como lignina peroxidasa (LiP) y la manganeso peroxidasa (MnP) (Kuhar, 2012). Seguidamente se hace referencia a dos de los principales tipos de hongos: *Ganoderma lucidum* y *Pleurotus ostreatus*:

- *Ganoderma lucidum*, conocido comúnmente como “reishi”, es un hongo basidiomycete que pertenece a la familia Ganodermataceae (Ávila & Yáñez, 2020). Se encuentra distribuido en todo el mundo, principalmente en zonas templadas. Este

hongo se clasifica como saprófito, ya que, naturalmente su micelio se alimenta de la madera muerta de árboles latifoliados (Batra *et al.*, 2013). Su cuerpo fructífero es coriáceo, con forma de riñón y comúnmente de color marrón rojizo (Ávila & Yáñez, 2020). *G. lucidum* se caracteriza por ser un tipo de hongo de pudrición blanca. Esto indica que dentro de su comportamiento tiende a degradar principalmente moléculas de lignina (Kuhar, 2012) gracias a las enzimas y los polifenoles que produce. Muchos de estos compuestos le han abierto la puerta a *G. lucidum* al área de la medicina, debido a que, produce efectos farmacológicos, por lo que, se utiliza en la fabricación de cápsulas, inyecciones, tabletas, bebidas médicas (Liu & Zhang, 2018), extractos y suplementos dietéticos (Wu *et al.*, 2017). También se utiliza en la industria alimenticia por ser una especie rica en compuestos bioactivos como polisacáridos, esteroides, ácidos grasos, proteínas y glicopéptidos (Cör *et al.*, 2018; Mafla & Calvache, 2022).

- *Pleurotus ostreatus* es conocido como “hongo ostra”. Es un hongo perteneciente a la familia Tricholomataceae (Hoa & Wang, 2015). Se desarrolla tanto en bosques tropicales como en bosques templados (Mata *et al.*, 2017). Su cuerpo fructífero crece de forma gregaria. Este hongo saprófito se alimenta de troncos caídos o en pie y de otros restos vegetales. Su coloración varía desde blanco cremoso a azul o negro grisáceo (Estrada, 2022). Al igual que *G. lucidum*, *P. ostreatus* se caracteriza por ser un hongo de pudrición blanca. El género *Pleurotus* es altamente llamativo, ya que, posee diferentes aplicaciones biotecnológicas gracias a las enzimas de degradación que produce, las cuales por su capacidad de defensa ante interacciones antagónicas, en algunas ocasiones, pueden ser utilizadas como nematocidas (Tizapantzi *et al.*, 2019). Las especies de *Pleurotus* se conocen por ser ricas en proteínas, minerales (P, Ca, Fe, K y Na) y vitaminas; como tiamina, niacina, riboflavina y ácido fólico (Szabová *et al.*, 2013; Hoa & Wang, 2015), por lo que también se utiliza ampliamente en la industria médica y farmacéutica. Además de ser un alimento ideal para pacientes de hipertensión y problemas cardíacos (Dehariya *et al.*, 2013; Hoa & Wang, 2015); por el alto contenido de potasio de sodio, y para pacientes diabéticos por sus efectos hipoglucémicos (Chorváthová *et al.*, 1993; Hoa & Wang, 2015).

Actualmente, con el aumento de las industrias se observa una mayor demanda en los materiales de transporte, incurriendo así en una escasez de los materiales tradicionalmente utilizados (CSIC, 2021). Además, en los últimos años, se ha visto una revolución ideológica, donde un pensamiento ecológico mueve la sociedad y las líneas tecnológicas que buscan nuevos productos alternativos que sean de fuentes naturales y ecológicamente amigables (Vivas *et al.*, 2021). Por esta razón, se pueden realizar productos y materiales que sean 100% naturales y que satisfagan las necesidades y demandas del mercado (Vivas *et al.*, 2021).

OBJETIVOS

Dado lo expuesto anteriormente, el objetivo de la presente investigación es desarrollar un compuesto densificado de fibra de piña (PALF) y aserrín de *Gmelina arborea* asociado con micelio de pudrición blanca (*Ganoderma lucidum* y *Pleurotus ostreatus*), estableciendo en el sustrato las mejores condiciones de crecimiento, así como el micelio que se adapte mejor a estas condiciones de crecimiento. Además de determinar las características físico-mecánicas y químicas (densidad, contenido de humedad, estabilidad dimensional, flexión, dureza, cohesión interna FTIR, TGA) del compuesto densificado de micelio.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en el campus central del Tecnológico de Costa Rica, en el Laboratorio de Biomateriales de la Escuela de Ingeniería Forestal. Ubicado en las coordenadas 9°50'59.8"N, 83°54'40.2"O a los 1360 m.s.n.m. La temperatura del lugar varía entre 13°C a 25°C.

Preparación del material.

Preparación inicial: Para los cultivos madre de micelio, se utilizaron los hongos *Ganoderma lucidum* (CIIBI007A) y *Pleurotus ostreatus* (CIIBI002), provenientes del cepario de la Escuela de Ingeniería Forestal del Tecnológico de Costa Rica (TEC). El micelio de *G. lucidum* fue extraído de un conjunto de *Casuarina equisetifolia* ubicadas en la autopista San José-Cartago en Lomas de Ayarco, Curridabat, San José. Mientras que, el micelio de *P. ostreatus* fue obtenido en el Campus Central del Tecnológico de Costa Rica, en Cartago, Costa Rica. El cultivo madre de micelio se mantuvo en placas Petri de 10 cm de diámetro con medio de cultivo de papa dextrosa agar (PDA), se incubó a 26 °C durante 7 a 15 días y se almacenó a 4 °C para su posterior subcultivo.

Las hojas para la obtención de las fibras de piña fueron recogidas de plantaciones de PINDECO en Buenos Aires de Puntarenas. Se utilizó aserrín de *Gmelina arborea* (melina) proveniente de una plantación forestal de 8 años en Bonifacio de Limón, Costa Rica, en las coordenadas 09°46'43" N, 82°54'59" O. Además, se utilizó carbonato de calcio (CaCO₃) de grano medio de la marca Carbotico y germen de trigo comercial para cocina.

Extracción de la fibra

Para la extracción de la fibra de piña, se utilizó el método propuesto por Moya y Camacho (2014) (Figura 1). Este consiste en procesar las hojas de la piña (1a) en una desfibradora. Se introduce la mitad de la hoja de piña con la punta hacia el frente (1d). Luego, se retira la hoja con un movimiento de retroceso de la hoja (1e). Se introduce nuevamente la hoja de la piña con la base de la hoja hacia el frente (1f) y se retira de la misma manera (1g). Finalmente, ya se encuentra liberada la fibra de piña (1c).

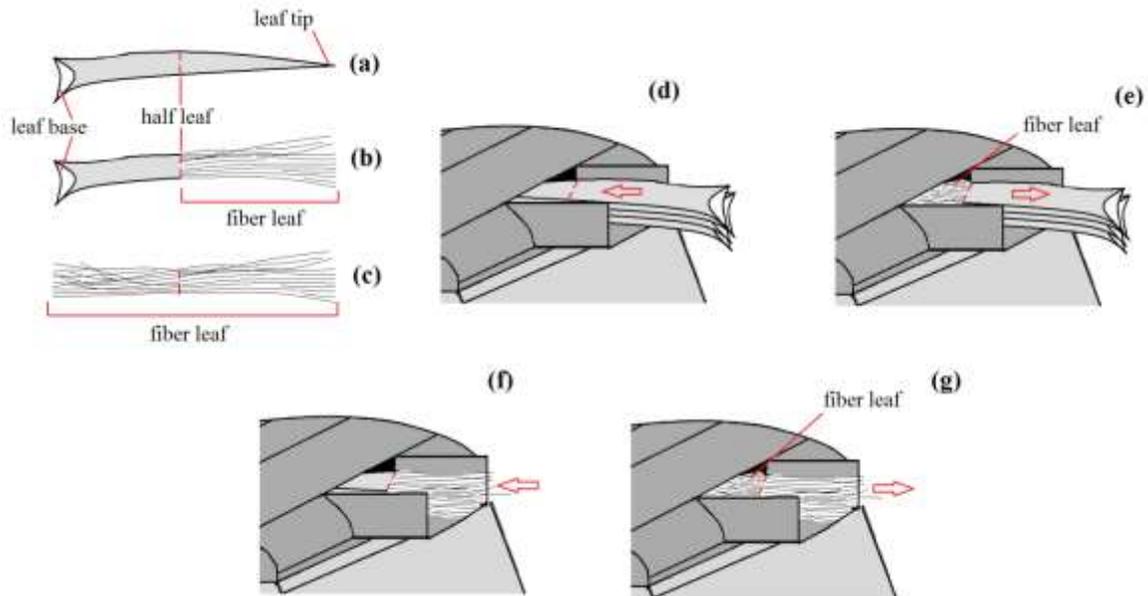


Figura 1. Sistema de funcionamiento de la máquina propuesta para desfibrar las hojas de *A. comosus*. Fuente: Moya & Camacho (2014).

Preparación del sustrato

En la preparación de las fibras de piña se tomaron dos condiciones de la fibra, por lo que estos se convierten en tratamientos. El tratamiento 1: consiste en el lavado de fibra para eliminar la clorofila y luego la fibra se secó hasta que alcanzó una humedad de ~10%. Esto se verificó por medio de una termobalanza. El tratamiento 2: la fibra extraída y sin eliminar la clorofila, con ayuda de la termobalanza se verificó que el porcentaje de humedad de las fibras fuera del ~60°C. Ambos tipos de fibras se cortaron a aproximadamente 1 cm de largo y se mezclaron con agua en una proporción 2:1 en peso para alcanzar una humedad del 60% para la fibra del tratamiento 1 (fibra lavada) y en el caso del tratamiento 2 no se le agregó agua. Esta condición de 60% permitió generar una condición favorable para el crecimiento del micelio (Sinailín & Titusunta, 2022).

Posteriormente, se mezclaron las fibras de piña con el complemento de aserrín, germen y carbonato de calcio (CaCO_3) en una proporción 4:3 en peso. El aserrín seco, al ~10% de humedad, se tamizó con un tamiz manual para eliminar las partículas de mayores a 2 mm de diámetro. El CaCO_3 también se tamizó para separar y eliminar las partículas mayores a 250 μm . Después, el aserrín, el germen de trigo y el CaCO_3 se mezclaron en seco con porcentajes de 76%, 20% y 4% peso/peso, respectivamente, esto para dar nutrición adicional y ajustar el

nivel de pH de la mezcla. Luego se agregó agua en proporciones de 40% mezcla de aserrín-CaCO₃-germen de trigo y 60% agua destilada. El compuesto se envasó en bolsas de polietileno autoclavables, se esterilizó a 120 °C en autoclave durante 120 minutos y se enfrió a temperatura ambiente antes de la inoculación con los granos de micelio.

Fabricación del compuesto fibra y micelio. Las bolsas de sustrato fueron inoculadas con micelio de dos tipos de hongos *G. lucidum* y *P. ostreatus* que estaba creciendo previamente en placas de PDA. Con un sacabocados de laboratorio, el micelio en PDA se cortó en círculos de 6 mm de diámetro, y se mezcló con el sustrato esterilizado dentro de una bolsa. Se utilizó el inóculo de micelio de media placa Petri para la inoculación de cada bolsa de sustrato. A continuación, se selló la bolsa, se agitó abundantemente y se ajustó a un molde para dar una línea de crecimiento al compuesto. El molde era de tipo cuadro con las dimensiones de 33,5 cm x 25 cm x 5 cm. Debido a que este molde es de forma rectangular el compuesto de fibras-hongos presentaban una dimensión aproximada de 22 cm x 15 cm.

El material inoculado se dejó en una cámara de incubación sin luz y sin control de temperatura o humedad hasta que el crecimiento de la red de micelio se extendiera uniformemente y cubra completamente las superficies externas del sustrato. Se prepararon 10 bolsas de sustrato por cada tratamiento. La descripción de los tratamientos se muestra a continuación en el Cuadro 1:

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos realizados para la fabricación del compuesto de fibra y micelio.

Código	Condición de fibra	Tipo de hongo	Descripción
CG	Sin lavar	<i>Ganoderma lucidum</i>	Las fibras provienen de hojas frescas, recién procesadas,
CP	Sin lavar	<i>Pleurotus ostreatus</i>	sin ningún tipo de lavado ni secado. Conténían la clorofila natural. No se agregó agua.

SG	Lavada	<i>Ganoderma lucidum</i>	Las fibras fueron lavadas después de ser extraídas.
SP	Lavada	<i>Pleurotus ostreatus</i>	Además, fueron secadas a la intemperie y se les agregó agua para su utilización. No contenían clorofila.

Densificación del compuesto del micelio: Una vez que el hongo hubiese colonizado todo el sustrato (100%), se secó al horno a 85°C durante 24 horas para así solidificar el material y detener el crecimiento del micelio. Luego la totalidad del compuesto se colocó en una prensa termohidráulica de dimensiones de 60 x 60 cm con calor a 120°C hasta alcanzar un espesor final de aproximadamente 6 a 10 mm. Seguidamente, las muestras se secaron a 85°C durante 24 horas adicionales para eliminar la humedad restante.

Evaluación del proceso de producción

Se evaluaron dos aspectos durante el proceso de colonización del micelio: crecimiento del micelio medido por tiempo en alcanzar el 100% de colonización y la producción o rendimiento al final de la colonización.

El crecimiento del micelio: se determinó conforme este abarcó visualmente la bolsa de crecimiento. Se establecieron cinco etapas desde el inicio del proceso, que corresponde al día en el que se inoculó el material (día 0) hasta la colonización completa del sustrato (100%). La primera etapa corresponde al momento donde se comenzó a ver pequeños puntos donde el micelio comenzó a desarrollarse, en este punto se determinó un porcentaje de crecimiento del 1%. Las etapas 2, 3 y 4 se definió cuando el micelio ya se había extendido y cubierto visualmente el sustrato en un 30%, 50% y 70% respectivamente. Finalmente, la última etapa (100%) se delimitó al recubrimiento total del sustrato en la bolsa, además de ser un material sólido y consistente.

Producción: Para determinar la producción del compuesto de fibra y micelio, se midió en 3 períodos diferentes: luego de alcanzar el 100%, luego del proceso de prensado y la finalizar el proceso de secado. El valor de la producción al alcanzar el 100% corresponde a la colonización completa del sustrato por parte del hongo. Con esto se aplicó la ecuación 1:

$$Producción = \frac{\text{masa de la producción}}{\text{masa inicial}} * 100 \quad (1)$$

Donde la masa inicial corresponde a la suma de las masas de los componentes del sustrato antes de ser inoculados y la masa de la producción es la masa en los diferentes puntos de la producción. El porcentaje de producción se calculó para cada una de las etapas durante la producción.

Evaluación del compuesto de fibra y micelio densificado (CMD)

Para la evaluación final del compuesto se estableció un patrón de corte detallado en la figura 2 para obtener las muestras y así obtener las diferentes características del CMD. De cada tablero se cortaron 2 piezas (A y B) a los costados de 3,8 cm de ancho y aproximadamente 20 de largo. Estas piezas eran destinadas a las pruebas de tensión y flexión. Además, se definieron 5 piezas en la columna central destinadas a las pruebas de estabilidad dimensional, %CH, cohesión interna y dureza. Estas piezas tenían como dimensiones 3,8cm de alto y 5 cm de ancho.

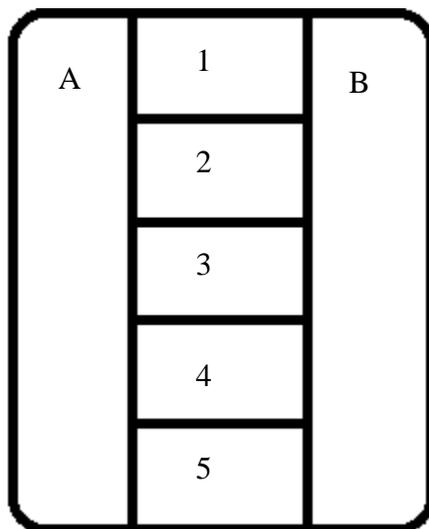


Figura 2. Patrón de corte de los tableros de CMD para obtener las probetas de los diferentes ensayos.

Pruebas físicas

Las pruebas físicas fueron basadas en las normas ASTM D1037 que evalúa los materiales a base de madera y paneles de fibras y partículas.

Para determinar **la densidad** del material, se hizo la medición directa de la masa de todas las piezas de cada tablero, así como, la medición directa del volumen midiendo el largo, ancho y altura de las todas las piezas que se extrajeron de cada tablero. Seguidamente, se calculó la densidad por medio de la ecuación 2:

$$d = \frac{\sum m}{\sum v} \quad (2)$$

Donde d es la densidad (g/cm^3), m es la masa en gramos (g) y v es el volumen en centímetros cúbicos (cm^3).

Para definir **el contenido de humedad** de las piezas del compuesto de micelio densificado (CMD), inicialmente se pesaron las piezas No 3 de cada tablero (Figura 2) después de ser cortadas. Luego, se llevaron al horno a 105°C durante 24 horas para eliminar la humedad en la pieza y se utilizó la ecuación 3:

$$CH\% = \frac{mhúmedo - mseco}{mhúmedo} * 100 \quad (3)$$

Donde, CH% es el contenido de humedad de la pieza, mhúmedo es la masa de la pieza en húmedo y mseco es la masa de la pieza anhidra.

Estabilidad dimensional: Para obtener la estabilidad de las muestras fue medido por la capacidad de absorción o ganancia de agua y se utilizó la pieza 2 de cada tablero (Figura 2). Se midió la masa de las muestras en seco. Luego, se ingresaron las piezas a un ambiente controlado a 21% de humedad y se extrajeron pasados 22 días. Donde se volvió a medir la masa de las muestras. Finalmente, para determinar el porcentaje de ganancia de masa se utilizó la ecuación 4:

$$\%ganancia = \frac{masa\ ganada}{masa\ seco} * 100 \quad (4)$$

Prueba de retardancia de fuego: Para determinar la resistencia a la exposición al fuego se basó en la metodología propuesta por Reza (2012). Se tomó una muestra por tablero de dimensiones de 12 cm de largo, 3.8 cm de ancho y entre 0.8 y 1.3 cm de espesor. Se colocó la pieza en un ángulo 45° sobre un mechero a 2,7 cm de la llama. Para cumplir la condición anterior, el tamaño de la llama se definió a 2 cm de altura. Se definieron 3 etapas durante la prueba.

- La etapa inicial: tiempo donde se ve una coloración negra en forma de círculo o banda perpendicular mayor a 1 cm, en la cara inferior de la pieza.
- Etapa intermedia: corresponde al tiempo que tarda en aparecer la coloración negra en la cara superior de la pieza. Puede verse en forma de círculo o banda perpendicular mayor a 1,5 cm, preferiblemente cuando abarque la mitad del ancho de la pieza.
- Etapa final: tiempo que tarda en marcarse la coloración negra total o “formación de un anillo” en la cara superior de la pieza. Esta última determina final del experimento. En cada etapa se tomó el tiempo medido con un cronómetro digital.



Figura 3. Mecanismo diseñado para la prueba de resistencia de fuego.

Pruebas mecánicas

Al igual que las pruebas físicas, las pruebas mecánicas fueron basadas en las normas ASTM D1037 y fue determinado en flexión estática, cohesión interna, dureza y tensión. La prueba de flexión estática (Figura 4a) fue determinado el módulo de ruptura con la siguiente ecuación 5:

$$MOR = \frac{1,5 * carga\ máxima * L}{b * d^2} \quad (5)$$

Donde, L corresponde al entre apoyos (cm), b es el ancho de la muestra (cm), d² es el espesor de la muestra y la carga máxima corresponde a la fuerza impartida por la máquina para generar la falla.

En la resistencia en **la cohesión interna**; figura 4c, (resistencia a la tracción perpendicular a la superficie), se utilizaron las piezas número 5 de cada tablero. Luego, se calculó la resistencia según la ecuación 6:

$$Resistencia = \frac{Fuerza\ máxima}{a * b} \quad (6)$$

Donde: a es el ancho en cm y b corresponde al largo de la muestra.

En la resistencia a la dureza (figura 4b) se utilizaron las piezas 1 y 4 de cada tablero (figura 2). La **prueba de tensión** (Figura 4d y 4e) no se pudo hacer la prueba de tensión debido a que las piezas fallaban antes de ser ensayadas.



Figura 4. Ensayos mecánicos realizados según la norma ASTM D1037.

Pruebas químicas

Análisis termogravimétrico: Para el análisis termogravimétrico, se tomaron tres muestras de cada tratamiento; de entre 5 y 9 mg aproximadamente del compuesto denso de micelio y fibra. Esta prueba se llevó a cabo a una velocidad de 20 °C/min en una atmósfera de nitrógeno (N₂ UAP) y alcanzando a una temperatura de hasta 700°C en aproximadamente 15 minutos. Para esto se utilizó, un Analizador Termogravimétrico modelo TGA 5000, marca Instrument NBr y el programa de computadora TA Instruments Universal Analysis 2000. Este análisis facilitó la relación de la pérdida de peso del material con respecto a la temperatura, a través de las curvas DTG. De las tres muestras, se eligió aquella que presentara la curva con mejor ajuste o curva promedio.

Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR): Para el análisis FT-IR, se tomó una muestra de aproximadamente 0.1 mg. La medición de los FT-IR sobre la superficie del CMD se realizó con un FT-IR Spectrometer (espectrómetro de infrarrojos) marca Thermo Scientific. La información del espectro fue recolectada dentro del rango de 4000–600 cm^{-1} . Se acumularon 64 escaneos con una resolución de 1 cm^{-1} . El IR Spectra obtenido se procesó con el software Spotlight 1.5.1, Hyperview 3.2 and Spectrum 6.2.

Análisis de estadísticos

Se realizó estadística descriptiva para todas las variables (promedio, desviación estándar y coeficiente de variación) del compuesto de micelio densificado. Además, por medio programa de análisis estadístico “SAS”, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para analizar estadísticamente si hay presencia de diferencias significativas entre los tratamientos y la prueba de Tukey fue realizada con el objetivo de comparar las medias de los tratamientos.

RESULTADOS

Crecimiento del micelio

La figura 5 muestra las etapas de crecimiento, desarrollo y colonización del micelio en el sustrato dentro de la bolsa.



Figura 5. Etapas de crecimiento y colonización de los hongos en la formación del compuesto de micelio.

En la figura 5a, se visualizan las primeras indicaciones de que hay un crecimiento del micelio más allá del inóculo de PDA. Seguidamente, se muestra la etapa donde se visualiza al menos el 30% (5b) del crecimiento del micelio dentro de la bolsa. Esta etapa se verifica que no exista alguna contaminación por parte de algún otro hongo biocontrolador (Anexo 1). La presencia de alguno de estos agentes indica la ralentización del crecimiento o el impedimento total del mismo. Las figuras 5c y 5d determina la visualización del 50% y 70% del recubrimiento de la bolsa por parte del micelio respectivamente. Finalmente, en la figura 5e, se puede apreciar la unificación completa del micelio y el sustrato dentro de la bolsa. Por otra parte, en la figura 6 se puede apreciar a una vista en estereoscopio y microscopio la consolidación del micelio en el sustrato de fibra de pinya y aserrín..

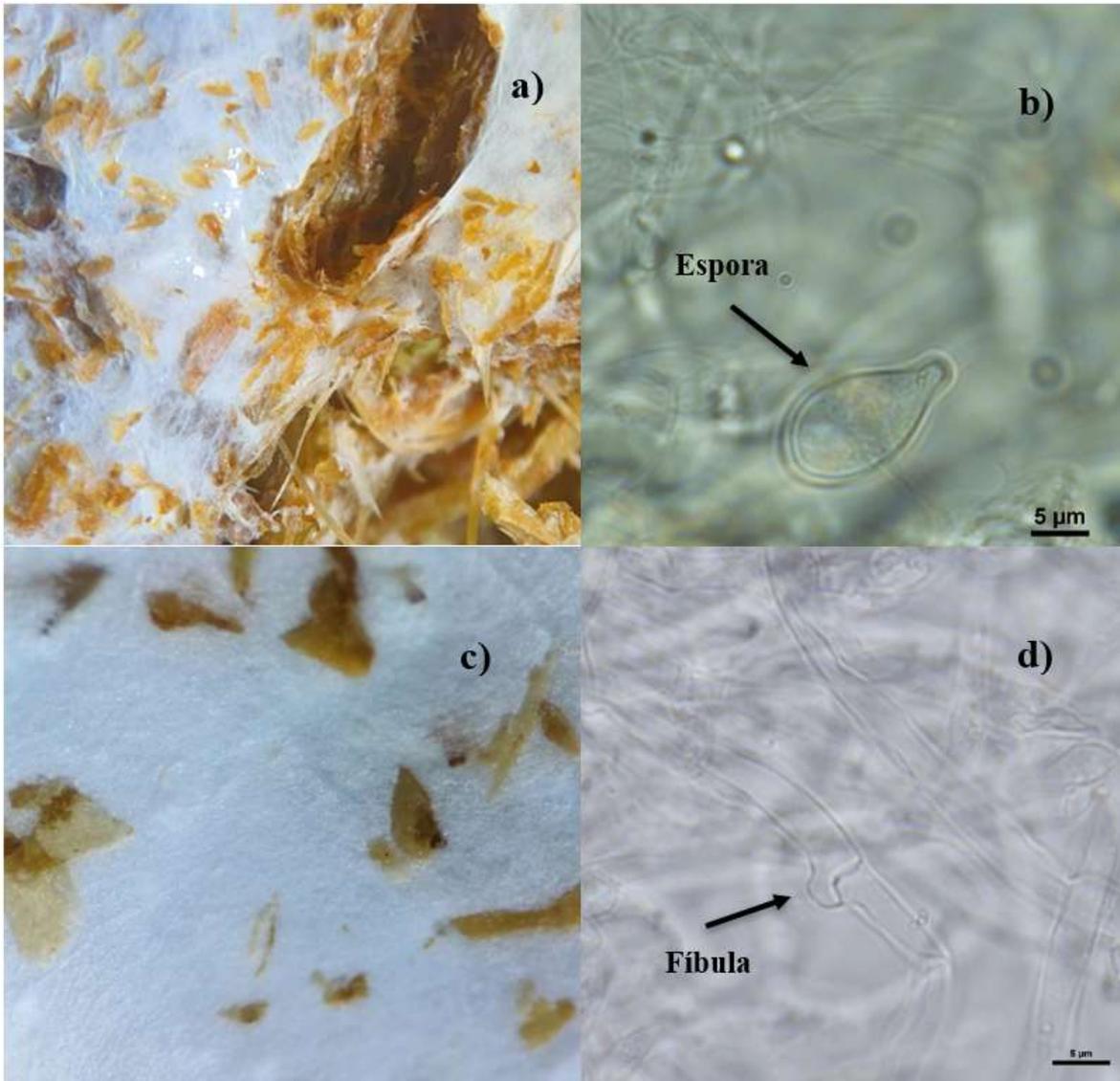


Figura 6. Vista macro y microscópica del compuesto de fibra de piña y micelio.

En la figura 6a se puede apreciar a una vista en estereoscopio del compuesto de fibra y micelio de *G. lucidum* una vez concluido el proceso de colonización. En 6b, se muestra el micelio de *G. lucidum* en microscopio, así como una espora de esta especie. Por otra parte, en la figura 6c, se observa de forma macroscópica el compuesto de fibra y micelio *P. ostreatus*. Además, se en 6d, se pueden observar el micelio de *P. ostreatus* y las fíbulas, características que indican que efectivamente se está ante la presencia de este organismo. Por su parte, la figura 7 se observa la diferenciación de las muestras antes y después del prensado. Desde una

vista vertical (a) y una vista horizontal (b), a la izquierda se denota la muestra antes de ser prensada y a la derecha una vez ya concluida la etapa de prensado.

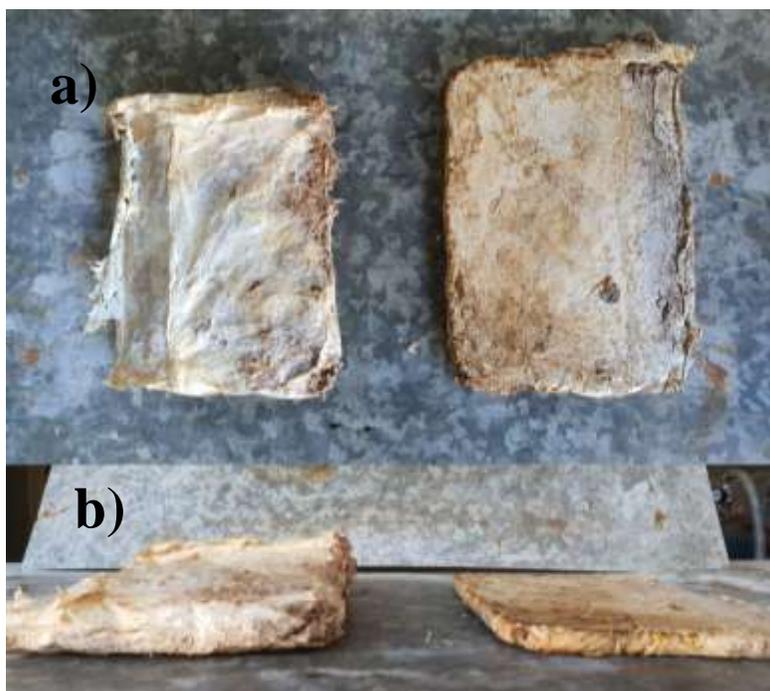


Figura 7. Comparación visual de las muestras del CMD antes y después del prensado.

Tiempo de crecimiento

En la figura 8, se muestra el tiempo transcurrido en días según porcentaje de recubrimiento del micelio en la bolsa.

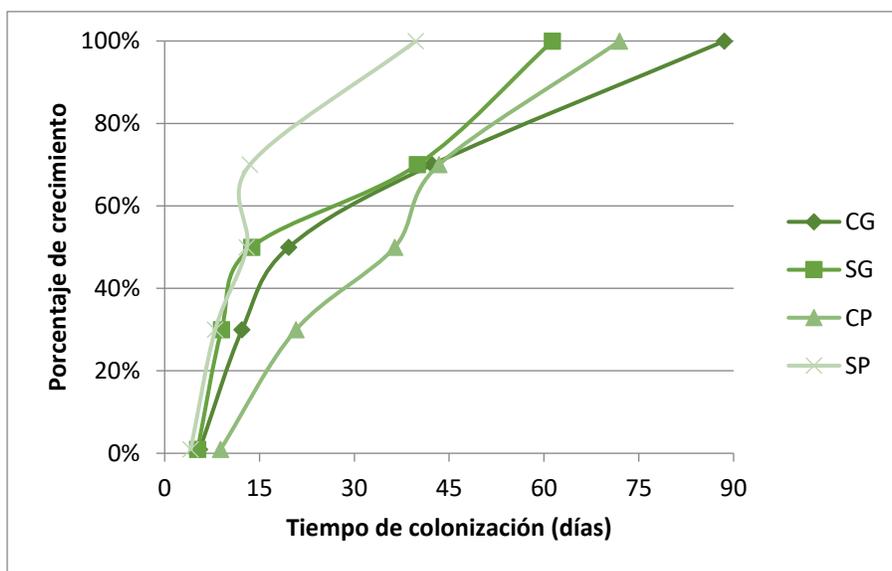


Figura 8. Tiempo de colonización según el tratamiento (en días).

Como se puede visualizar, el sustrato que obtuvo mayor rendimiento corresponde a la fibra lavada con el micelio de *P. ostreatus* (SP), que requirió 4 días para mostrar los primeros indicios de desarrollo en el sustrato, e igualmente, fue el primero en completar la colonización del sustrato transcurridos los 40 días. El tratamiento SP fue seguido por SG (fibra lavada y micelio de *G. lucidum*), quien al igual que SP, mostró las primeras esporulaciones en el sustrato a los 4 días y finalizando la colonización en el día 61. Los tratamientos CP (fibra sin lavar y *P. ostreatus*) y CG (fibra sin lavar y *G. lucidum*) fueron los que requirieron más tiempo para completar el proceso. El primero mostró signos iniciales de crecimiento al día nueve y finalizó el día 72. Por último, en CG, se visualizaron los primeros crecimientos de hongo transcurridos 5 días y se determinó la finalización del mismo al día 88.

Producción

En la figura 9, se observa la producción según el estadio de densificación del compuesto de micelio por tratamientos.

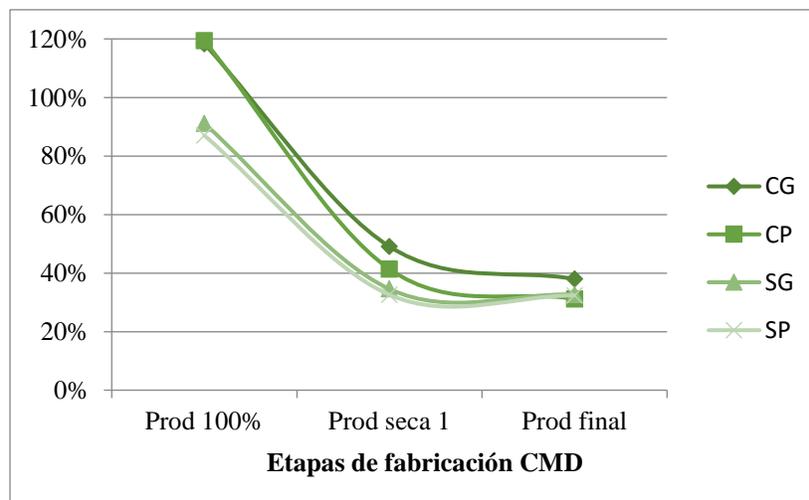


Figura 9. Producción de CMD en las diferentes etapas según el tratamiento.

En primera instancia, se observa la producción al 100% que corresponde al momento donde el hongo completa la colonización del sustrato. Seguidamente, la producción después del prensado del compuesto (Prod seca 1). Finalmente, a la derecha se observa la producción final. En la primera etapa, se visualiza una diferencia marcada entre los tratamientos con fibra

fresca y aquellos con la fibra lavada, donde CP y CG muestran una producción de 119% y 118%, respectivamente. Por otra parte, SP y SG se encuentran al 87 y 91% de producción. Durante la producción seca, SP y SG, se encuentran muy similares, obteniendo un 33 y 35%. Igualmente, CP y CG, tienen un mayor porcentaje de producción de 41 y 49%. Por último, CP, SG y SP se equiparan en cuando al porcentaje de producción después del secado llegando a un 32% del mismo, mientras que, CG se mantiene con una producción mayor de 38%.

Análisis físicos y mecánicos

En el cuadro 2 se presentan los resultados obtenidos en la determinación de las propiedades físicas y mecánicas promedio del CMD. Se observa que el tratamiento de fibra de piña sin lavar y con *G. lucidum* (CG) presentó propiedades físicas (densidad y estabilidad dimensional) superiores que el resto de los tratamientos. En cuanto al CH%, quien presentó el dato ligeramente sobresaliente corresponde al tratamiento de fibra sin lavar y *P. ostreatus* (CP). Con respecto a las propiedades mecánicas, para MOR y dureza, CG vuelve a destacar con los resultados más altos, seguidos por SG (fibra lavada y *G. lucidum*).

Cuadro 2. Propiedades físicas y mecánicas del compuesto de fibra y micelio densificado.

Propiedades	Parámetros	<i>Ganoderma lucidum</i> (G)		<i>Pleurotus ostreatus</i> (P)	
		Lavado (S)	Sin Lavar (C)	Lavado (S)	Sin Lavar (C)
Físicas	Densidad (g/cm ³)	0,29 (11,9) ^A	0,32 (13,2) ^A	0,30 (10,6) ^A	0,30 (13,1) ^A
	CH (%)	4,35 (37,7) ^A	5,30 (42,6) ^A	5,04 (35,8) ^A	5,90 (36,4) ^A
	Estabilidad dimensional (%)	12,73 (28,8) ^A	15,21 (19,8) ^A	11,95 (38,9) ^A	10,16 (24,4) ^A
Mecánicas	MOR (MPa)	177,94 (54,3) ^A	342,26 (116) ^A	117,18 (46,6) ^A	119,27 (52,2) ^A
	Cohesión interna (kg/cm ²)	0,027 (198,5) ^A	0,016 (73,4) ^A	0,014 (72) ^A	0,027 (96,4) ^A
	Dureza (kg)	9,25 (169,5) ^A	14,33 (94,2) ^A	8,16 (39,2) ^A	10,68 (96,1) ^A

MOR: Módulo de ruptura, CH: Contenido de humedad. Los números entre paréntesis corresponden al coeficiente de variación de los datos obtenidos. Letra diferente refleja si hay diferencias significativas entre los tratamientos a $p=0,05$.

También se observa que el tratamiento de fibra lavada y en presencia de *P. ostreatus* (SP) obtuvo los valores más bajos en la mayoría de las pruebas (a excepción de estabilidad dimensional, quien obtuvo el menor valor corresponde a CP). Las pruebas estadísticas no muestran diferencias significativas entre tratamientos.

Resistencia a fuego

En la figura 10, se presenta el proceso de deterioro por acción del fuego, expresado mediante la pérdida de peso (10a) durante la prueba. El mayor dato fue SP (lavada y *P.ostreatus*) y CG (sin lavar y *G. lucidum*) quienes perdieron el 50% de su masa inicial durante la prueba. Por su parte, CP obtuvo el valor de pérdida más bajo con tan solo 34% de pérdida. El análisis estadístico mostro que no hay diferencias significativas entre los tratamientos propuestos.

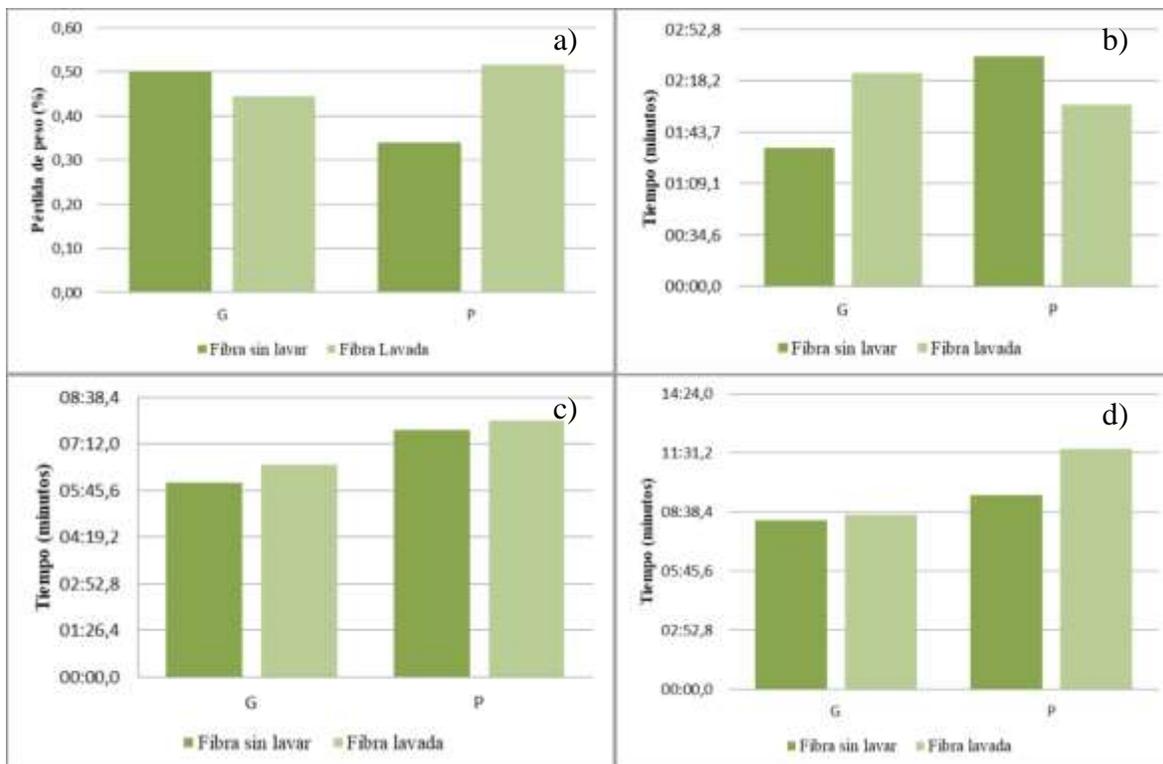


Figura 10. Pérdida de peso del CMD durante la exposición al fuego (a), (b) tiempo en la etapa de inicio, (c) tiempo en la etapa 2 y (d) tiempo de coloración negra en la etapa final.

En cuanto al tiempo de coloración en la parte inferior de la pieza (10b), se observa que CP alcanzó este punto al minuto con 33 segundos. Mientras que, los demás tratamientos terminaron la etapa pasados los 2 minutos después del inicio a la exposición. En 10c, se contabiliza el tiempo al completar una coloración a la mitad de la cara superior, en este caso, el primero en cumplir esta etapa fue nuevamente CP, durando un poco menos de 6 minutos. A diferencia del último en cumplir la etapa intermedia que corresponde a SP finalizando a los 7 minutos con 54 segundos. Por último, 10d muestra el punto donde la cara superior se torna completamente negra. En este caso, quien tuvo el mayor tiempo de degradación

corresponde a SP con 11 minutos y 44 segundos, y los menores tiempos fueron de CG y SG, respectivamente.

Análisis químicos

Análisis Termogravimétrico (TGA):

La figura 11a muestra el porcentaje de la pérdida de masa según avanza la temperatura. En esta se puede visualizar que en las temperaturas iniciales las curvas son muy similares unas con otras, siendo la curva de CG levemente más baja que las otras tres. Sin embargo, a partir de los 350°C aproximadamente, la curva de CG comienza a ser más alta que las demás. Mientras que, en este mismo punto, la curva de SG cae por debajo de las curvas de los otros tratamientos.

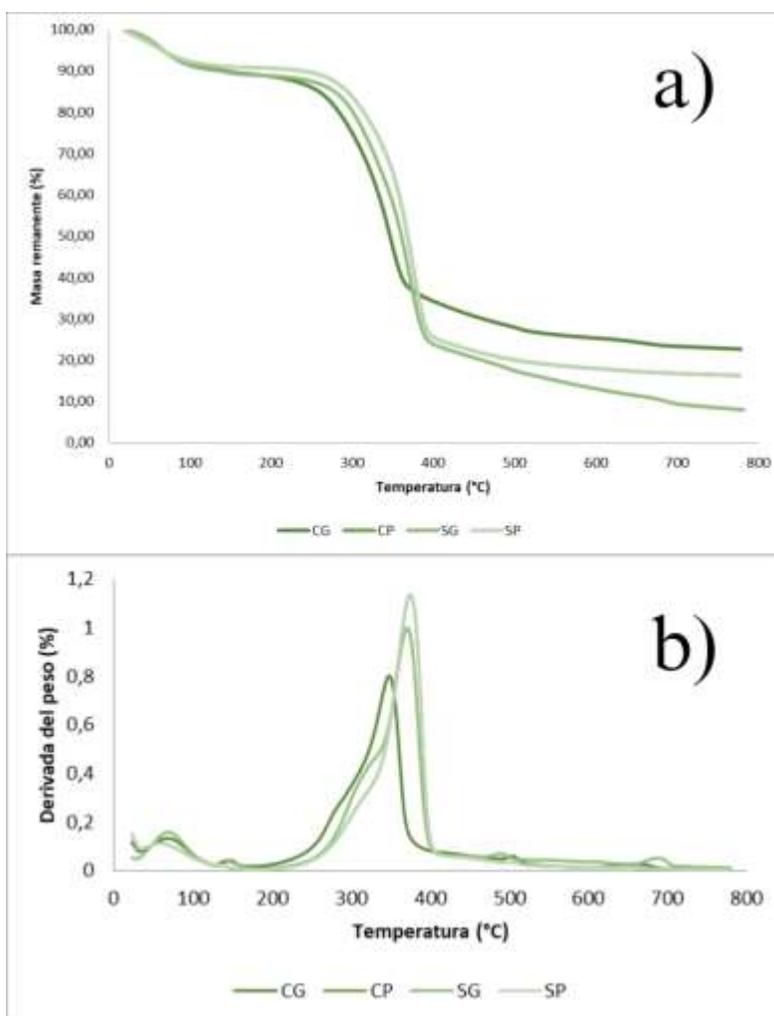


Figura 11. Variación de masa remanente al final de la producción (a) y derivada del peso (DTG) del CMD (b).

En las curvas de la derivada del peso (figura 11b), se observa que el tratamiento de fibras sin lavar con el micelio de *G. lucidum* presenta una curva más alta entre los 200 y 350°C, llegado este punto se vuelve la curva más baja de todos los tratamientos. Por otra parte, los tratamientos de *P. ostreatus* tiene una curva más baja en el rango mencionado anteriormente, sin embargo, destacan con la curva más alta en el rango de 350 a 400°C. Es importante mencionar que, ambos tratamientos de *P. ostreatus* presentan la misma masa inicial, por lo que, en el gráfico de la degradación de la masa con respecto a la temperatura (TGA) y la derivada del peso (DTG) se muestran ambas curvas traslapadas entre ellas.

El comportamiento de las curvas de DTG se pueden verificar si se comparan con respecto a la masa en las diferentes temperaturas como se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 3. Datos termogravimétricos para la degradación térmica del compuesto de fibra y micelio densificado.

Parámetros	<i>Ganoderma lucidum</i> (G)		<i>Pleurotus ostreatus</i> (P)	
	Lavada (S)	Sin Lavar (C)	Lavada (S)	Sin Lavar (C)
Ti	194	173	205	205
Wi	88,87	89,26	90,62	90,62
Tsh	320	281	316	316
Wsh	72,51	80,49	79,19	79,19
Tinf	366	343	369	369
Winf	44,08	52,57	48,50	48,50
Tmax	403	372	400	400
Wmax	37,01	23,48	25,37	25,37

Ti: Temperatura inicial de descomposición, *Wi:* Peso en temperatura inicial, *Tsh:* temperatura antes de llegar a la temperatura de inflexión, *Wsh:* peso en *Tsh*, *Tinf:* Temperatura en el punto de inflexión, *Winf:* peso en el punto de inflexión. *Tmax:* temperatura máxima de descomposición y *Wmax:* peso en la temperatura máxima de descomposición.

La *Ti* de descomposición de moléculas lignocelulósicas es de alrededor de 200 °C a excepción de CG, quien define una temperatura de 173°C. En este punto, los tratamientos presentan cerca del 90% de la masa. En la temperatura del primer pico (*Tsh*), SG, CP y SP rondan los 300°C y CG vuelve a presentar una temperatura menos de 281°C. En este punto, el porcentaje de masa remanente (*Wsh*) de CG, CP y SP es de 80% aproximadamente, mientras que para SG es de 72,5%.

En el punto de inflexión, los tratamientos SG, CP y SP tuvieron una temperatura (T_{inf}) entre el rango de 365-370°C, y CG tuvo 343°C. En este punto el porcentaje de masa (W_{inf}) alcanzó el 52,6% para SG, 48,5% para CP y SP, y 44,1% para CG. Para la temperatura máxima (T_{max}) de descomposición, esta ronda los 400°C para SG, CP y SP, y 370°C para CG. La masa (W_{max}) en este punto fue de 23,5% para SG, 25% en los tratamientos de *P. ostreatus* y para CG fue de 37%.

Espectroscopia infrarroja transformada de Fourier (FT-IR):

En la figura 12, se observan las vibraciones relacionado a la presencia de diferentes moléculas y el comportamiento de ciertos enlaces químicos.

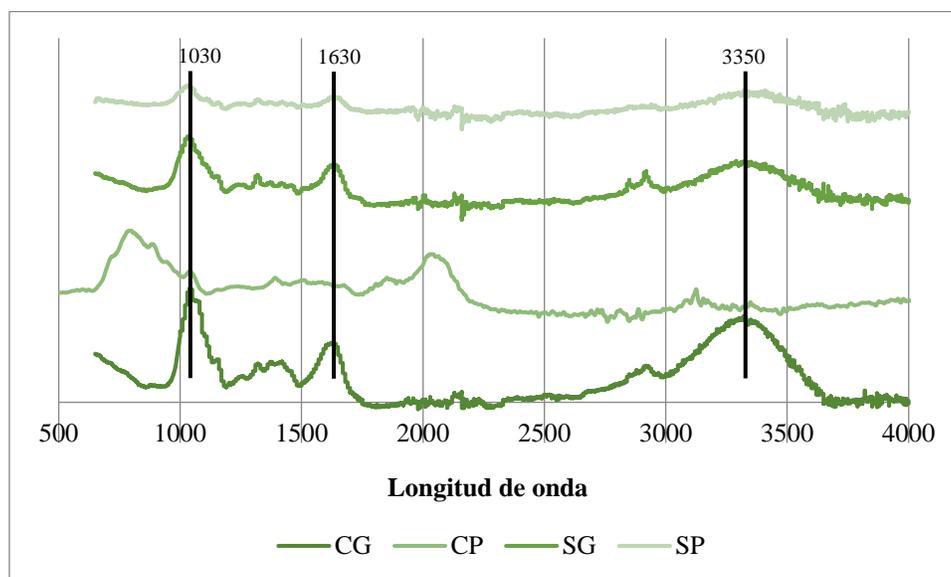


Figura 12. FT-IR y análisis de espectros infrarrojos de los tratamientos propuestos para la fabricación de CMD.

En el FT-IR y análisis infrarrojos (figura 12), se observa que la curva de CP no coincide con el comportamiento de las curvas de los demás tratamientos. Además, se visualizan vibraciones destacadas en tres puntos del espectro. El primer pico se observa cerca de los 1030, donde los tratamientos de *Ganoderma lucidum* presentan picos más elevados que los tratamientos de *P. ostreatus*. Por otra parte, el segundo pico se presenta en 1630, en este, los tratamientos CG y SG nuevamente destacan sobre los tratamientos CP y SP. Finalmente, entre los 3100 a los 3600, se observa otro pico importante, en el cual los tratamientos de *G. lucidum* nuevamente presentan los picos más marcados.

DISCUSIÓN

Al tratarse de hongos de pudrición blanca, estos contienen enzimas como la lacasa que les permite la degradación de moléculas complejas como la holocelulosa y la lignina (Kuhar, 2012). Aunque en esta investigación no se analizaron los porcentajes de holocelulosa y lignina, los sustratos preparados para los tratamientos al ser a base de PALF presentan gran cantidad de estas moléculas. Moya *et al.* (2016) mencionan que, PALF tiene alrededor de 85% de holocelulosa y 16% lignina. Por otra parte, Neto *et al.* (2015) obtuvieron resultados de ~70% para holocelulosa y 30% en lignina, así como un 7% para los extractivos en fibra lavada.

De los tratamientos propuestos para este estudio, dos correspondían al lavado o no de la fibra. Esto para demostrar dos situaciones: la fibra lavada se ve afectada por la fricción durante el lavado, lo que permite que el hongo ingrese más fácilmente y colonice más rápido. Como se observó en la figura 8, donde los tratamientos de fibra lavada completaron la colonización del sustrato en máximo 60 días.

Por otra parte, la segunda situación corresponde a la fibra sin lavar, la cual no presentaba tantos puntos de ingreso causados por el lavado como en su contraparte. Sin embargo, esta contaba con la presencia de azúcares y otras sustancias como la clorofila. Una característica de los hongos de pudrición blanca es la eficiencia en el aprovechamiento de nitrógeno (Deacon, 2006). Este elemento está presente en la estructura molecular de la clorofila. Es así como, la ausencia de lavado, brindó una nutrición adicional, lo que permitió un desarrollo más completo de la red de micelio. Esto se ve reflejado claramente en la producción (figura 9) donde los valores más altos son obtenidos por los tratamientos de las fibras sin lavar.

Según Sinailín & Titusunta (2022), al analizar las características físico-mecánicas de CMD en rastrojo de trigo y rastrojo de cebada, mencionan que el mejor hongo corresponde a *G. lucidum*. Sin embargo, los resultados obtenidos en esta investigación no son congruentes con los resultados de Sinailín & Titusunta (2022), ya que *P. ostreatus* obtuvo valores mayores en CH%, la mejor estabilidad dimensional, la mayor cohesión interna y la mayor dureza en relación con *G. lucidum* (cuadro 2). Además, este hongo presentó los mejores valores en cuanto a la prueba de fuego, consistentes en mayor tiempo de retardancia al fuego y la menor

pérdida de peso ante la acción del fuego (figura 10). Por estas razones, se confirma a *P. ostreatus* como el hongo con mejor adaptación. Por su lado, Escobar *et al.* (2017), en su estudio efecto de la aireación, la agitación y el pH sobre la producción de biomasa micelial y exopolisacáridos del hongo filamentoso *Ganoderma lucidum*, concluyeron que *G. lucidum* tiene problemas de adaptación cuando se ve en situaciones de estrés. Mientras que, Martínez *et al.* (2008) mencionan que *P. ostreatus* se caracteriza por tener una capacidad de adaptabilidad alta ante diferentes tipos de sustrato. Por lo que, estos dos estudios confirman el poco desempeño de *G. lucidum* en el sustrato probado en el presente estudio a base de fibra de piña.

Todo esto también, se puede comprobar mediante el análisis de FT-IR (figura 12). Los FT-IR del compuesto de micelio densificado presentan un comportamiento similar al expuesto por Moya *et al.* (2016). Mafla & Calvache (2022) mencionan que, las bandas entre los 1000 y 1100 señala la presencia de polisacáridos, específicamente en 1080 cm^{-1} , donde se da el estiramiento de CO en β -glucanos y carbohidratos. En el presente, se observa tal pico en una banda a 1030, similar a la encontrada por Ma *et al.* (2018) y, Mafla & Calvache (2022). Además, en la banda de 1600, hay un pico en CG, SG y CP, que corresponden a la absorción de compuestos aromáticos (Mafla & Calvache, 2022). Kozarski *et al.* (2012) encontraron un pico en la banda de 1635 cm^{-1} en compuestos de *G. lucidum* que indicaba la existencia de compuestos fenólicos. Aunque Mafla & Calvache (2022), señalan que esa zona es característica de la presencia de proteínas.

El CMD; al ser a partir de materiales lignocelulósicos, tiene como principales moléculas la celulosa, la hemicelulosa y la lignina. Según Nayan *et al.* (2014) y Moya *et al.* (2016), cuando se asocia a una mayor colonización de la celulosa y a la degradación de lignina por parte del hongo, la lignina se representa principalmente entre las bandas de 1420 y los 1600, que corresponden a las vibraciones de los enlaces CH en los anillos aromáticos de estas moléculas (Chen *et al.*, 2012; Neto *et al.*, 2013; Singhal *et al.*, 2015; Moya *et al.*, 2016) y se observan (figura 12) picos que no resaltan extremadamente debido a la degradación de esta molécula por parte de la colonización de los diferentes micelios. Neto *et al.* (2013) mencionan que, la presencia de la holocelulosa y la lignina también se hace visible entre el rango de los 2850 cm^{-1} y los 2900 cm^{-1} , debido a los estiramientos de los enlaces asimétricos de CH y CH₂.

Es los tratamientos de fibra sin lavar con *G. lucidum* (CG), fibra lavada con *G. lucidum* (SG) y fibra lavada con *P. ostreatus* (SP), se observa un pico de absorbancia cerca de los 3350 correspondientes a las vibraciones del OH con los enlaces de hidrógeno, específicamente al enlace intermolecular-intramolecular de H y OH libre en la celulosa (Razak et al., 2015). En ambos hongos, entre las bandas de 2900 y 2950, se observan picos que se atribuyen a la presencia de –OH en la hemicelulosa y la presencia de grupos OH del agua (Moya et al., 2016). Por otra parte, entre las bandas 3100 y 3600, se observa un incremento en la absorbancia, lo que sugiere un aumento en la señal de los grupos hidroxilos Moya *et al.* (2016).

Con todo esto, se puede deducir que la curva de CP al no coincidir con ninguna otra curva presenta una mayor degradación, aunque sí se observan pequeños picos que coinciden con los rangos de presencia de los componentes principales mencionados. En general, la curva muestra una mejor asimilación del sustrato, y, por tanto, un mejor desarrollo micelial.

Por otra parte, en el TGA (figura 11), se observa que no hay diferencias marcadas entre los tratamientos de *P. ostreatus*. La curva (figura 11a) sigue la obtenida por Neto et al. (2015) donde en la primera parte (0-200°C), se da la pérdida de volátiles, continua con la parte que nombran como en “forma de hombro” o temperatura de oxidación de inicio (OOT por sus siglas en inglés), esta corresponde a la temperatura máxima de trabajo de la fibra antes de alcanza la descomposición. En la figura 11a, se observa que la curva más alta en esta zona OOT corresponde a CP y SP. Mientras que la curva de CG es la más baja en esta zona. Sin embargo, permanece como la más alta después de los 400°C.

En las curvas de la derivada del peso (figura 11b), se observa una curva similar presentada por Neto *et al.* (2015), Moya *et al.* (2016) y Mora (2018). Siguiendo lo expuesto por Cutiño *et al.* (2011), que menciona las zonas de descomposición por temperatura. Donde, los valores menores a 100°C corresponden a la evolución de la humedad, entre 100°C - 250°C se refiere a extraíbles y compuesto volátiles, entre 250°C – 350°C es la degradación de hemicelulosa, el rango entre 350°C – 500°C describe la presencia de celulosa y en los valores mayores a 500°C se identifica la lignina. Con lo anterior, se observa que (figura 11b), CG tiene la curva más alta entre 250°C - 300°C.

En cuanto al rango que corresponde a la celulosa (350°C-500°C), se observa que CG (quien fue más alto en la zona anterior) ahora presenta los valores más bajos. Mientras que, CP y SP presentan los valores más altos. También, cabe recordar que ambos hongos son considerados de pudrición blanca, por lo que, se basan en degradar la lignina. Por esto, en el rango de 400°C, se observa que, la curva es sumamente baja, dando a entender que el hongo cumplió su función de descomponer esta molécula compleja.

Estas curvas de TGA y DTG (figura 11) muestran la presencia de las moléculas en CMD. Al tratarse de hongos de pudrición blanca, las moléculas de lignina y hemicelulosa van a verse reducidas. Ante esto, el porcentaje de celulosa con respecto a la masa va a aumentar en la curva (Moya *et al.*, 2016). En este caso, se observa que para el porcentaje de la derivada del peso en *P. ostreatus* aprovechó mejor los recursos de hemicelulosa y principalmente lignina. Su contraparte, *G. lucidum* presenta curvas más bajas, por tanto, tenía más recursos que pudo haber aprovechado.

Entre los resultados descritos por Sinailín & Titusunta (2022), encontraron valores de densidad en el rango de 0,14 a 0,2 g/cm³, estos no concuerdan con los obtenidos en este estudio, ya que, para esta prueba, los valores fueron entre 0,29 y 0,32 g/cm³, este último dato corresponde a CG (cuadro 2). En cuanto a la absorción del agua (estabilidad dimensional), los estudios de Sinailín & Titusunta (2022) encontraron valores hasta 5,6%, en comparación a los obtenidos en este ensayo, que fueron 15,2% (cuadro 2) para el tratamiento de CG. De igual manera, al mencionar las pruebas mecánicas del estudio de Chan *et al.* (2021), los datos no son congruentes con los mostrados en esta investigación, debido a que los datos que reportan son menores a los encontrados en este estudio. En la prueba de flexión, el rango descrito fue entre 1,0 a 3,5 MPa (Chan *et al.* 2021) y en esta investigación tales datos se mantuvieron entre los 117,18 a 342,26 MPa. (cuadro 2)

Respecto a las otras pruebas realizadas, no se encontraron referencias de investigaciones científicas con las cuales comparar los resultados obtenidos. La prueba de fuego (figura 10), SP es quien demuestra el mayor tiempo en retardancia al fuego llegando a terminar casi a los 12 minutos, seguido por CP, con casi 9,5 minutos, y en último lugar, CG con un poco más de los 8 minutos y 10 segundos. Sin embargo, en este punto la pérdida de masa también juega un papel importante, dado que SP y CG pierden 50% de su masa original, por otra parte, CP

pierde un poco más del 30%, por lo que resiste más ante la acción del fuego. En las otras pruebas, SG destaca con el CH% más bajo (4,35%), en comparación a CP quien obtuvo el valor de 5,90%. Si se hace referencia a los aspectos de dureza, CG se diferenció con el resultado más alto de 14,33. Por otra parte, CP destaca en la prueba de cohesión interna junto con SG con valores de 0,027 kg/cm² (cuadro 2).

CONCLUSIONES

El mejor tratamiento de fibras corresponde a las fibras sin lavar, debido a que presentan mejores valores en las diferentes pruebas realizadas (densidad, estabilidad dimensional, flexión, cohesión interna, y dureza). Además de significar una ventaja de simplicidad al momento de preparar la materia prima. Sin embargo, se debe considerar que la fibra debe ser extraída y de una vez procesada para el sustrato, ya que, si almacena en condiciones no óptimas (considerando óptimas como congelación del material) podría influir en los resultados obtenidos, debido a la fermentación y acidificación que presenta el material.

Mientras que, en cuanto a hongos, en los aspectos de crecimiento existe mucha similitud en los tiempos de colonización. Si se toma en cuenta las pruebas físicas, los mejores resultados se retribuyen a *P. ostreatus*, el cual destacó en las propiedades físicas (contenido de humedad, estabilidad dimensional), cohesión interna, tiempo de crecimiento y en la resistencia al fuego. Por consiguiente, el mejor tratamiento para producir CMD se atribuye a las fibras sin lavar con el hongo *P. ostreatus* (trat. CP). Debido a que, obtiene los valores más deseados en la mayoría de los ensayos y presenta mayor simplicidad en la cadena de producción.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda considerar otras formas de inoculación el material, ya sea, por medio de cultivo líquido o esporas en polvo u otro, esto para verificar si existe alguna diferencia en crecimiento según el tipo de cultivo del micelio.
- Se recomienda probar otros tratamientos de las fibras (pretratamientos) para reducir el tiempo de crecimiento del micelio.
- Experimentar con otros hongos de pudrición blanca como *Trametes vesicolor*, *Agaricus bisporus*, *Pleurotus eryngii*, entre otros.

- También se propone realizar pruebas con otras especies maderables.
- Se recomienda la realización de otras pruebas de tensión y flexión, dirigidas mayoritariamente a papel o cartón para verificar si hay diferencias entre el compuesto de micelio fibra densificado con estos otros materiales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez, G.; Ortiz, S. (2016) Aprovechamiento de los residuos agrícolas de la piña (*Ananas comosus*) para la obtención de una bebida fermentada y papel artesanal. Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador.
- Araya, K. (2021) Nanofibrilación de celulosa extraída a partir del rastrojo de la piña (*Ananas comosus*). Universidad Nacional de Costa Rica. Heredia, Costa Rica. <https://repositorio.una.ac.cr/bitstream/handle/11056/21584/05.%20Nanofibrilaci%C3%B3n%20de%20celulosa%20extra%C3%ADda%20a%20partir%20del%20rastroj o%20de%20la%20pi%C3%B1a.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Araya, R. (1998) Utilización Del Rastrojo de Piña (*Ananas comosus*) Para La Obtención de Pulpa Para La Producción de Papel. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.
- Aguilar, D. A. (2023) Experiencias del TEC en la generación de conocimiento sobre el cultivo de abacá en acompañamiento a las personas productoras de la Zona Norte y Atlántica de Costa Rica. Investiga.TEC. Cartago, Costa Rica. Vol. 16, No. 46. https://revistas.tec.ac.cr/index.php/investiga_tec/article/view/6633/6405
- Arguedas, C.; Vargas, C. & Miller, C. (2021). Informe: Monitoreo del estado de la piña en Costa Rica para el año 2019, asociado con la pérdida y ganancia entre la cobertura forestal. CONARE- CENAT. San José, Costa Rica.
- Ávila, A.; Yáñez, P. (2020). Evaluación de la eficiencia del crecimiento del micelio de *Ganoderma lucidum* (Ganodermataceae), un hongo con alto potencial de uso textil en Ecuador, en tres sustratos orgánicos. *Ciencia Digital*, 4(3), 210-228. <https://doi.org/10.33262/cienciadigital.v4i3.1324>
- Banik, S; Nag, D. & Debnath, S. (2011). Utilization of pineapple leaf agro-waste for extraction of fiber and the residual biomass for vermicomposting. *Indian Journal of fiber & Textile Research* 36:172-177.
- Batra, P., Sharma, A., & Khajuria, R. (2013). Probing Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom *Ganoderma lucidum* (Higher Basidiomycetes): A Bitter Mushroom with Amazing Health Benefits. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 15(2), 127–143.
- Casa, K. (2021) ANÁLISIS DE LOS CAMBIOS SIGNIFICATIVOS EN LAS INDUSTRIAS EN TIEMPOS DE COVID. IDENTIFICACIÓN DE ACCIONES Y

RECOMEDACIONES. CASO DE APLICACIÓN: INDUSTRIA TEXTIL EN EL ECUADOR. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito, Ecuador.

- Chan, X., Saeidi, N., Javadian, A., Hebel, D. & Gupta, M. (2021). Mechanical properties of dense mycelium-bound composites under accelerated tropical weathering conditions, Nature portfolio, <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01598-4>
- Chen, W. H., Ye, S. C., and Sheen, H. K. (2012). Hydrolysis characteristics of sugarcane bagasse pretreated by dilute acid solution in a microwave irradiation environment. Appl. Energy 93(1), 237-244. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.12.014>
- Chorváthová, V.; Bobek, P.; Ginter, E. & Klavanová, J. (1993). Effect of the oyster fungus on glycemia and cholesterolemia in rats with insulin-dependent diabetes. Physiol Res. 42:175-9.
- Cör, D.; Knez, Ž.; Hrnčič, M.K. (2018). Antitumour, antimicrobial, antioxidant and antiacetylcholinesterase effect of *Ganoderma lucidum* terpenoids and polysaccharides: A review. Molecules, v. 23, n. 3, p. 1–21. <https://doi.org/10.3390/molecules23030649>
- CSIC (2021). La escasez de materiales es una estaca en el corazón de la transición energética. CSIC. España. https://digital.csic.es/bitstream/10261/255314/3/Turiel_2021.pdf
- Cutiño, E. M.; Medina, M. P. & Giralt-Ortega, G. (2011) ANÁLISIS TERMOGRAVIMETRICO Y TÉRMICO DIFERENCIAL DE DIFERENTES BIOMASAS VEGETALES. Universidad de Oriente. Curamaná, Venezuela
- Deacon, J. W. (2006). Fungal Biology. John Wiley & Sons.
- Dehariya, P; Vyas, D & Kashaw, S.K. (2013) Mushroom nutraceuticals on different substrates. Int J Pharm Pharm Sci ;5:88-90.
- Díaz, K.; Casanova, M.; León, C.; Bardales, C. & Cabos, J. (2019). Producción de *Pleurotus ostreatus* (Pleurotaceae) ICFC 153/99 cultivado sobre diferentes residuos lignocelulósicos. Arnaldoa 26 (3): 1177-1184 2019. <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.263.26322>
- Escobar, L. M. A.; López, Y. G. & Restrepo, S. U. (2017). Effects of aeration, agitation and pH on the production of mycelial biomass and exopolysaccharide from the filamentous fungus *Ganoderma lucidum*. DYNA. Medellín, Colombia. Vol. 84 (200), pp. 72-79 <http://dx.doi.org/10.15446/dyna.v84n200.57126>

- Estrada, A. C.; Bautista, L. R. (2016) Valor económico, nutricional y medicinal de hongos comestibles silvestres. *Rev Chil Nutr. Hidalgo, México*. Vol. 43, Nº1.
- Estrada, E. J. (2022). Evaluación de cultivo de *Pleurotus ostreatus* (hongo oreja de cazahuate) en dos condiciones de cultivo. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Morelos, México. <http://riaa.uaem.mx/handle/20.500.12055/3436>
- Falcón, J. M.; De la Rosa, A. (2013) Hacia un reciclaje de materiales de la construcción. *Revista Ingeniería civil sostenible y urbanismo*. Paraná, Brasil. Vol.2-No.3 65-80.
- Fernández, N. G., Gaggino, R., Kreiker, J., & Positieri, M. J. (2019). Desarrollo Tecnológico de Paneles Multicapa a partir de Residuos Lignocelulósicos Bioligados con Micelio de Hongos. *AJEA*, 4. <https://doi.org/10.33414/ajea.4.370.2019>
- Garzón, J.; Cuervo, J. (2008) Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. *Nova- Ciencias Biomédicas*, 6(10), 101-236
- Hoa, H.; Wang, C. (2015) The Effects of Temperature and Nutritional Conditions on Mycelium Growth of Two Oyster Mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*), *Mycobiology*, 43:1, 14-23, <https://doi.org/10.5941/MYCO.2015.43.1.14>
- Huallpa, E.; Alcántara, A. (2019) Utilización de las Hojas de Piña para Elaborar Telares. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. Vol. 22, No.43, 127-132
- INEC (2017) Reporte de prensa. Datos preliminares Comercio Exterior, I Trimestre 2017. INEC. San José, Costa Rica.
- Kozarski, M.; Klaus, A.; Nikšić, M.; Vrvic, M.M.; Todorović, N.; Jakovljević, D.; Van Griensven, L.D. (2012) Antioxidative activities and chemical characterization of polysaccharide extracts from the widely used mushrooms *Ganoderma applanatum*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* and *Trametes versicolor*. *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 26, p. 144–153.
- Kuhar, J. F. (2012) Cultivo de *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. y evaluación de su aplicación a la biorremediación. (Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.). http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n5332_Kuhar

- Liu, S.R; Zhang, W.R. (2018) Hyperproduction of exopolysaccharides by submerged mycelial culture of *Ganoderma lucidum* using a solid seed grown in fine-powder of wheat bran and in vitro evaluation of the antioxidant activity of the exopolysaccharides produced. Food Science and Biotechnology, Vol. 27, No. 4., 1129–1136. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0343-z>
- López, A.; Alcalde, A. (2020) Materiales. Una historia sobre la evolución humana y los avances tecnológicos. Ed. Universidad de Burgos. Burgos, España. https://riubu.ubu.es/bitstream/10259/6488/1/Materiales_una_historia_de_la_evolucion_humana.pdf
- Ma, Y.; He, H.; We, J.; Wang, C.; Chao, K. & Huang, Q. (2018) Assessment of Polysaccharides from Mycelia of genus *Ganoderma* by Mid-Infrared and Near-Infrared Spectroscopy. Scientific Reports, Vol. 8, No. 10, 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18422-7>
- Mafla, R.B.M.; Calvache, O.L.B. (2022) Polifenoles totales de *Ganoderma lucidum* cultivado en residuos de *Pandala talaumanariñensis* y Avena sativa. Revista Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, Vol. 20, No.1, 18-26. Doi: <https://doi.org/10.18684/rbsaa.v20.n1.2022.1491>
- Martínez, P. N.; Garzón, J. E.; Henao, W. & Guarnizo, A. (2008) Evaluación de la producción del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado sobre los residuos derivados de la producción comercial del culmo de la guadua *angustifolia* Kunth. Ciencias Biológicas. Universidad del Quindío. Armenia, Colombia.
- Mata, G., Salmones, D & Savoie, M. (2017). La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas *Pleurotus* spp. Royse, J. y Sánchez, E. (Eds.), las enzimas lignocelulolíticas de *Pleurotus* spp. Chiapas, México: El Colegio de la Frontera Sur.
- Mora, P.A. (2018) Mejoramiento de la producción de inóculo para biotratamiento de pulpa de café, con fines de aprovechamiento energético. Universidad de Costa Rica (UCR). San José, Costa Rica.
- Moya, R.; Muñoz, F.; Mata, J. & Soto, R. (2013) an anatomical comparison between bunch and fruit of oil palm with Pineapple leaf and three woods from plantations in Costa Rica. Journal of Oil Palm Research. Vol. 25. 138-148.

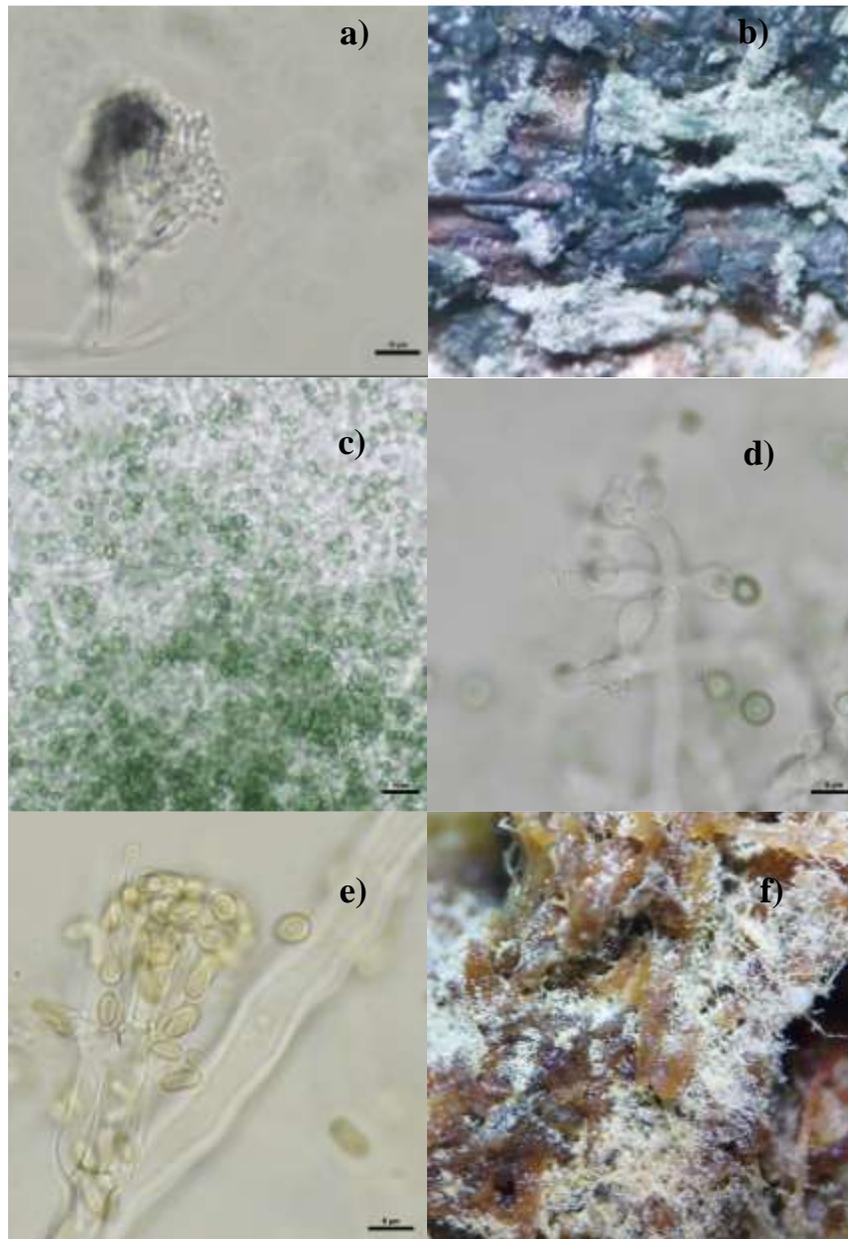
- Moya, R.; Camacho, D. (2014). Production of natural fiber obtained from the leaves of pineapple plants (*Ananas comosus*) cultivated in Costa Rica. In: Rehman, K., Mohammad, J., Umer, R. (Eds.) Biomass and Bioenergy-Processing and Properties. pp. 111-124. Springer International Publishing Switzerland-
https://doi.org/10.1007/978-3-319-07641-6_7
- Moya, R.; Berrocal, A.; Rodríguez-Zúñiga, A.; Rodríguez-Solís, M.; Villobos-Barquero, V.; Starbid, R. & Vega-Baudrit, J. (2016). “Biopulp from pineapple leaf,” BioResources 11(4), 8756-8776.
- Moya, R., Tenorio, C., Puente-Urbina, A., Rosales-López, C., & Vega-baudrit, J. (2023). Production of Paper Using Biopulping of Pineapple Leaves Fibers (PALF) Followed by Chemical and Xylanase-Enzymatic Processing. Journal of Natural Fibers, 20(1), 2163025..
- Nayan, M., Hasraf, N., Razak, A., Izwan, S., Rahman, W. A., and Aizan, W. (2014). Biopulping by *Ceriporiopsis subvermispora* towards pineapple leaf fiber (PALF) paper properties. Adv. Mat. Res. 1043, 180-183. <https://doi.org/10.1007/s10924-011-0380-7>
- Neto, A. R. S.; Araujo, M. A.; Souza, F. V.; Mattoso, L. H., & Marconcini, J. M. (2013). Characterization and comparative evaluation of thermal, structural, chemical, mechanical and morphological properties of six pineapple leaf fiber varieties for use in composites. *Industrial Crops and Products*, 43, 529-537. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.08.001>
- Neto, A. R. S; Araujo, M.; Barboza, R.; Fonseca, A.; Tonoli, G.; Souza, F.; Mattoso, L. & Marconcini, J. (2015) Comparative study of 12 pineapple leaf fiber varieties for use as mechanical reinforcement in polymer composites. *Industrial Crops and Products*. Sao Pablo, Brasil. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.10.042>
- Razak, S. I. A., Sharif, N. F. A., Nayan, N. H. M., Muhamad, I. I., & Yahya, M. Y. (2015). Impregnation of poly (lactic acid) on biologically pulped pineapple leaf fiber for packaging materials. BioResources, 10(3), 4350-4359.
- Reza, H. (2012) Fire-retarding properties of nano-silver in solid woods. *Revista Wood Science and Tecnology*. 46:939–952 <http://dx.doi.org/10.1007/s00226-011-0455-6>

- Rosato, V.; Traversa, L. (2017) "Bioalteración, Protección y Conservación de Maderas", Laboratorio de Entrenamiento Multidisciplinario para la Investigación Tecnológica-LEMIT.
https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/121256/CONICET_Digital_Nro.607c5163-b142-47a3-bfdd-afd997501719_B.pdf?sequence=8
- Royse, D.J.; Sánchez, J.E. (2017) Producción mundial de setas *Pleurotus* spp. con énfasis en países iberoamericanos. In: Sánchez, J.E., Royse, D.J. (eds.). La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas *Pleurotus* spp. El Colegio de la Frontera Sur. Tapachula, México. 17-25.
- Sinailín, K.; Titusunta, D. (2022) Determinación de las características físicas y mecánicas del material biodegradable obtenido con micelios de *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum* utilizando rastrojo de cebada y rastrojo de trigo como sustrato. Universidad Politécnica Salesiana. Quito, Ecuador.
- Singhal, A., Jaiswal, P. K., and Thakur, I. S. (2015). "Biopulping of bagasse by *Cryptococcus albidus* under partially sterilized conditions" *Int. Biodeter. Biodegr.* 97(2), 143-150.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.12.013>
- Szabová, E.; Rohal'ová, L. & Hedvigy, M. (2013) Semi-solid fermentation of *Pleurotus ostreatus*. *Revista Microbiology, Biotechnology and Food Science.* 2:1950-8.
- Tizapantzi, A. A.; Mata, G.; Hernández-Cuevas, L.V. & Montiel-González, A.M. (2019) Estructuras tipo toxocistos en *Pleurotus ostreatus* y *P. pulmonarius*. *Revista Scienta Fungo Rum.* https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2594-13212019000100302&script=sci_arttext
- Villegas, C.; González, B. (2013). FIBRAS TEXTILES NATURALES SUSTENTABLES Y NUEVOS HÁBITOS DE CONSUMO. *Revista Legado de Arquitectura y Diseño.* Universidad Autónoma del Estado de México. Estado de México, México. No. 13. 31-45
- Vivas, K.F.; Bermúdez-Puga, S.A.; Rebolledo, H.; Figueroa, J.M.; Zamora, P. & Naranjo-Briceño, L. (2021) Bioproductos desarrollados a partir de micelio de hongos: Una nueva cultura material y su impacto en la transición hacia una economía sostenible. *Revista Bionatura* <http://doi.org/10.21931/RB/2021.06.01.29>

- Wu, D.T.; Deng, Y.; Chen, L.X.; Zhao, J.; Bzhelyansky, A.; Li, S.P. (2017) Evaluation on quality consistency of *Ganoderma lucidum* dietary supplements collected in the United States. *Scientific Reports*, Vol. 7, No. 1,1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06336-3>
- Zambrano, L., Moreno, P., Muñoz, F., Durán, J. a. C., Garay, D., & Valero, S. W. (2013). Tableros de partículas fabricados con residuos industriales de madera de *Pinus patula*. *Madera Y Bosques*, 19(3). <https://doi.org/10.21829/myb.2013.193328>

ANEXOS

A continuación, se presentan anotaciones importantes a considerar durante el estudio. El anexo 1 corresponde a hongos contaminantes que ralentizan o detienen el crecimiento de los hongos utilizados en el estudio.



Anexo 1. Presencia de agentes biocontroladores de *P. ostreatus* y *G. lucidum* en las bolsas de ensayo.

Donde, a) micelio de *Penicilium sp.* visto en microscopio, b) vista de *Trichoderma sp.* en estereoscopio, c) esporas de *Trichoderma sp.*, d) micelio de *Trichoderma sp.*, e) micelio de *Clonostachys sp.*, f) crecimiento de micelio de *Clonostachys sp.* visto en estereoscopio.