



**Facultad de Ingeniería  
Escuela de Ingeniería en Medioambiente  
Ingeniería Ambiental**

**PROPUESTA PARA IMPLEMENTAR UN MATERIAL ELABORADO  
A BASE DE MICELIO DE *BASIDIOMYCETES* DE PODREDUBRE  
BLANCA COMO ALTERNATIVA DE REEMPLAZO AL  
POLIESTIRENO EXPANDIDO EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
INGENIERO AMBIENTAL**

**AUTORES: DANITZA FAÚNDEZ VALENZUELA – JAVIERA ROJAS SOTO  
PROFESOR GUÍA: Dr. HUGO DÍAZ MURILLO  
PROFESOR CO-DIRECTOR: Dr. RODRIGO ORTIZ**

**VALPARAÍSO, 2022**

***Agradecimientos***

En primera instancia, queremos agradecer a nuestras familias, por sobre todo a nuestras madres y padres, ya que sin su apoyo incondicional este camino no hubiese sido posible. También agradecer a nuestras compañeras y compañeros de escuela por la compañía y aliento durante este largo proceso, contribuyendo a una grata estadía en la Universidad. Por sobre todo, queremos destacar y agradecer a nuestro profesor guía, Dr. Hugo Díaz, por su paciencia y dedicación durante todo el proceso de título y recalcar su excelente disposición en pos de la ciencia y la buena enseñanza.

Al profesor Rodrigo Ortíz por abrirnos las puertas del Laboratorio de Biodeterioro y Biodegradación de Materiales de la Universidad de Valparaíso para nuestra prematura investigación.

Al profesor Manuel Ortíz, quien nos brindó todo el conocimiento y las herramientas a su alcance para realizar el experimento a cabalidad en el laboratorio, aconsejándonos y acompañándonos en todo el proceso.

Y, por último, a todas y todos quienes estuvieron acompañándonos en el transcurso del año y la enseñanza superior.

## Resumen

Tras la crisis ambiental desarrollada por la sobreproducción de plásticos desechables, Chile publica en agosto del 2021 la Ley 21368 la cual tiene como objetivo la disminución de residuos mediante la limitación en entregas de plásticos de un solo uso en establecimientos de expendio de alimentos, no obstante, estará permitida la entrega de productos desechables a base de materiales valorizables distintos del plástico. En este marco, se ha evaluado el desarrollo de envases biodegradables para el almacenaje de alimentos en reemplazo del poliestireno expandido utilizando un material elaborado a base del micelio del hongo de la especie *Phanerochaete chrysosporium*. La elaboración del material comenzó con la inoculación del hongo en el sustrato y, posteriormente, su moldeado y secado. Finalmente, se realizaron ensayos físicos y mecánicos con el material los cuales fueron comparados con las propiedades del poliestireno expandido, obteniendo resultados favorables al momento de medir su resistencia, sin embargo, la máxima tensión de ruptura estuvo muy por debajo de la del poliestireno expandido. Los resultados de las pruebas de absorción descartaron la utilización del material como envase para almacenar contenidos líquidos, ya que, al momento de sumergir en agua el material triplicó su peso. Por lo que se podría concluir, que este biomaterial no es apto para reemplazar el poliestireno expandido en la industria alimentaria. Sin embargo, no se descarta su implementación como envasado de alimentos, ya que aún no existe un reglamento asociado a la Ley 21368 que defina las propiedades que deben tener estos nuevos envases para ser aceptados bajo la normativa.

# Índice

<b>1</b>	<b>Introducción .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Marco teórico.....</b>	<b>3</b>
	<b>2.1. Polímeros .....</b>	<b>3</b>
	2.1.1. Polímeros sintéticos .....	3
	<b>2.2. Poliestireno expandido .....</b>	<b>6</b>
	2.2.1. Propiedades físicas del poliestireno expandido .....	6
	2.2.2. Aplicaciones del poliestireno expandido .....	8
	a) Sector de la construcción .....	8
	b) Industria alimentaria .....	9
	2.2.3 Poliestireno expandido y el medio ambiente .....	10
	<b>2.3 Polímeros biobasados.....</b>	<b>10</b>
	<b>2.4 Reino fungi .....</b>	<b>12</b>
	2.4.1 Estructura vegetativa de los hongos.....	14
	2.4.2 Reproducción de los hongos.....	16
	2.4.3 Clasificación de los hongos .....	16
	<b>2.5 División <i>Basidiomycetes</i>.....</b>	<b>17</b>
	2.5.1. Clasificación de los hongos <i>basidiomycetes</i> según podredumbre .....	18
	a) Hongos de pudrición blanca .....	18
	2.5.2 Métodos de cultivo.....	19
	2.5.3 Aplicaciones de los <i>Basidiomycetes</i> .....	19
	<b>2.6 Materiales biobasados a base de micelio .....</b>	<b>20</b>
	<b>2.7 Sustrato .....</b>	<b>23</b>
	2.7.1 Residuos agroindustriales.....	23
	2.7.2 Residuos lignocelulósicos .....	24
	2.7.3 Degradación de residuos lignocelulósicos .....	25

2.8 Ley 21.368 .....	26
<b>3 Planteamiento del problema .....</b>	<b>28</b>
<b>4 Objetivos.....</b>	<b>29</b>
4.1 Objetivo General .....	29
4.2 Objetivos específicos .....	29
<b>5 Metodología .....</b>	<b>30</b>
5.1 Seleccionar qué es pecie de hongo de pudrición blanca es la más adecuada para la elaboración de envases biodegradables.....	30
5.2 Producir la materia prima en base al hongo seleccionado para la fabricación de envases biodegradables.....	35
5.3 Obtener de manera práctica la resistencia a la flexión, tracción y porcentaje de absorción de agua del material biodegradable elaborado para compararlas con las del poliestireno expandido. ....	43
<b>6 Resultados.....</b>	<b>48</b>
6.1 Seleccionar qué es pecie de hongo de pudrición blanca es la más adecuada para la elaboración de envases biodegradables .....	48
6.2 Producir la materia prima en base al hongo seleccionado para la fabricación de envases biodegradables.....	53
6.2.1 Pruebas realizadas en papel mantequilla para forma plana .....	53
6.2.2 Pruebas realizadas con molde cóncavo.....	56
6.3 Obtener de manera práctica la resistencia a la flexión, tracción y porcentaje de absorción de agua del material biodegradable elaborado para compararlas con las del poliestireno expandido. ....	57
<b>7 Discusión .....</b>	<b>67</b>
<b>8 Conclusión .....</b>	<b>72</b>
<b>9 Bibliografía .....</b>	<b>74</b>

## Índice de Tablas

<b>Tabla 2.1: Tipos de resinas y sus aplicaciones.....</b>	<b>4</b>
<b>Tabla 2.2: Condiciones esenciales para el desarrollo de los hongos. ....</b>	<b>13</b>
<b>Tabla 5.1: Hongos de podredumbre blanca seleccionados.....</b>	<b>30</b>
<b>Tabla 5.2: Materiales utilizados en el medio de cultivo .....</b>	<b>32</b>
<b>Tabla 5.3: Moldeado y desmolde final de las pruebas realizadas en papel mantequilla. ....</b>	<b>38</b>
<b>Tabla 6.1: Clasificación del micelio de acuerdo a su porcentaje de colonización en el sustrato. ...</b>	<b>50</b>
<b>Tabla 6.2: Clasificación del micelio de la cepa <i>P. ostreatus</i> de acuerdo a su porcentaje de colonización en el sustrato a base de Maíz en la segunda muestra.....</b>	<b>50</b>
<b>Tabla 6.3.: Fuerza-Alargamiento del ensayo de tracción del material. ....</b>	<b>57</b>
<b>Tabla 6.5.: Tensión-Deformación del ensayo de tracción del material. ....</b>	<b>58</b>
<b>Tabla 6.7.: Ensayo de flexión del biomaterial Prueba 1. ....</b>	<b>60</b>
<b>Tabla 6.8.: Ensayo de flexión del biomaterial Prueba 2. ....</b>	<b>61</b>
<b>Tabla 6.9: Ensayo de flexión del biomaterial Prueba 3. ....</b>	<b>62</b>
<b>Figura 6.23: Gráfica Tensión- Deformación del ensayo de flexión de la Prueba 3.....</b>	<b>63</b>
<b>Tabla 6.10.: Ensayo de flexión del biomaterial Prueba 4. ....</b>	<b>64</b>
<b>Tabla 6.11.: Fuerza-Alargamiento del ensayo de flexión del biomaterial en forma de cuenco. ...</b>	<b>65</b>

## Índice de Figuras

<i>Figura 2.1: Clasificación de polímeros según su origen.</i> .....	3
<i>Figura 2.2: Propiedades de la resistencia mecánica en función de la densidad aparente</i> .....	7
<i>Figura 2.3: Propiedades de la resistencia mecánica en función de la densidad aparente</i> .....	7
<i>Figura 2.4: Ejemplos de envasado en la industria alimenticia a base de poliestireno expandido.</i>	10
<i>Figura 2.5: Clasificación de polímeros de base biológica.</i> .....	11
<i>Figura 2.6: Morfología del hongo</i> .....	13
<i>Figura 2.7: Tipos de filamentos formado por la unión de células en los hongos</i> .....	14
<i>Figura 2.8: Micelio fúngico</i> .....	15
<i>Figura 2.9: Seta perteneciente a la especie Amanita muscaria)</i> .....	17
<i>Figura 2.10: Vista inferior del píleo de una especie del género Suillus</i> .....	17
<i>Figura 2.11: Estructura típica de un basidio con sus esterigmas y basidiosporas</i> .....	17
<i>Figura 2.12: Lámparas decorativas elaboradas con micelios de hongos</i> .....	21
<i>Figura 2.13: Torre de bio-ladrillos elaborados en base de micelio y maíz</i> .....	21
<i>Figura 2.14: Productos de embalajes o packaging a base de micelio de un hongo y subproductos de agricultura desarrollados por la empresa Ecovative</i> .....	22
<i>Figura 2.15: Contenido comparativo de celulosa, hemicelulosa, lignina y cenizas en residuos agroindustriales</i> .....	24
<i>Figura 5.1: Sustrato tamizado en sus respectivos frascos.</i> .....	31
<i>Figura 5.2: Frascos con sus respectivos sustratos rotulados</i> .....	31
<i>Figura 5.3: Proceso de saturación del sustrato.</i> .....	32
<i>Figura 5.4: Crecimiento de la cepa en la placa Petri.</i> .....	33
<i>Figura 5.5: Mezcla de sustrato y medio de cultivo sólido</i> .....	33
<i>Figura 5.6: Frascos inoculados en la incubadora.</i> .....	34

<i>Figura 5.7: Disposición final de frascos inoculados con su respectivo sustrato.</i>	34
<i>Figura 5.8 : Mesón de trabajo previo a la esterilización</i>	36
<i>Figura 5.9: Frasco con sustrato colonizado utilizado en la prueba</i>	37
<i>Figura 5.10 : Prueba del moldeado aplicando presión</i>	37
<i>Figura 5.11: Primera prueba previamente al secado en el horno.</i>	38
<i>Figura 5.12: Prueba 3 antes de ser introducida al horno.</i>	39
<i>Figura 5.13: Desmolde de la prueba 4.</i>	39
<i>Figura 5.14: Mesón de trabajo con todos los implementos a utilizar.</i>	40
<i>Figura 5.15: Frasco inoculado utilizado en la prueba.</i>	41
<i>Figura 5.16: Molde cóncavo</i>	41
<i>Figura 5.17: Frasco inoculado con micelio por dentro.</i>	41
<i>Figura 5.18: Primer paso para moldeado del material</i>	41
<i>Figura 5.19: Moldeado del material.</i>	42
<i>Figura 5.20: Tapado de material con film.</i>	42
<i>Figura 5.21: Resultado final del moldeado del material</i>	42
<i>Figura 5.22: Desmolde previo del material.</i>	43
<i>Figura 5.23: Moldeado por parte interna antes del horno</i>	43
<i>Figura 5.24: Ensayo de tracción del biomaterial fabricado.</i>	44
<i>Figura 5.26: Pruebas del biomaterial rotuladas para llevarlas la estufa.</i>	47
<i>Figura 6.1: Micelio en medio de cultivo sólido.</i>	48
<i>Figura 6.2: Sustrato con cepas contaminadas.</i>	49
<i>Figura 6.3: Micelio de P. chrysosporium en sustrato a base de rastrojo de trigo</i>	51
<i>Figura 6.4: Micelio de B. adusta en sustrato a base de rastrojo de trigo.</i>	52
<i>Figura 6.5: Micelio de P. ostreatus en sustrato a base de rastrojo de maíz</i>	52
<i>Figura 6.6: Primera prueba después del secado en el horno</i>	53

<i>Figura 6.7: Cara inferior del material despues del horneado (prueba 1) .....</i>	<i>53</i>
<i>Figura 6.8: Desmolde de prueba 2 antes del horno.....</i>	<i>54</i>
<i>Figura 6.9 : Cara superior del material obtenido en la prueba 2 despues del secado .....</i>	<i>54</i>
<i>Figura 6.10: Cara inferior del material obtenido en la prueba 2 despues del secado.....</i>	<i>54</i>
<i>Figura 6.11: Prueba 3 despues del proceso de secado. ....</i>	<i>55</i>
<i>Figura 6.12 : Grosor de la prueba 3. ....</i>	<i>55</i>
<i>Figura 6.13: Aspecto prueba 4 después del secado.....</i>	<i>56</i>
<i>Figura 6.14: Prueba 5 en el monde de acero inoxidable en forma de cuenco .....</i>	<i>57</i>
<i>Figura 6.15: Prueba 5 desmoldada.....</i>	<i>57</i>
<i>Figura 6.16: Gráfica Fuerza-Alargamiento del ensayo de tracción del material. ....</i>	<i>58</i>
<i>Figura 6.17: Gráfica Tensión-Deformación del ensayo de tracción del material. ....</i>	<i>59</i>
<i>Figura 6.18: Gráfica Fuerza-Alargamiento del ensayo de flexión de la Prueba 1.....</i>	<i>60</i>
<i>Figura 6.19: Gráfica Tensión -Alargamiento del ensayo de flexión de la Prueba 1 .....</i>	<i>61</i>
<i>Figura 6.20 Gráfica Fuerza-Alargamiento del ensayo de flexión de la Prueba 2.....</i>	<i>62</i>
<i>Figura 6.21 Gráfica Tensión -Alargamiento del ensayo de flexión de la Prueba 2 .....</i>	<i>62</i>
<i>Figura 6.23: Gráfica Tensión- Deformación del ensayo de flexión de la Prueba 3.....</i>	<i>63</i>
<i>Figura 6.24 Gráfica Fuerza-Alargamiento del ensayo de flexión de la Prueba 4.....</i>	<i>64</i>
<i>Figura 6.26: Gráfica Fuerza-Alargamiento del ensayo de flexión del biomaterial en forma de cuenco.....</i>	<i>65</i>

# 1 INTRODUCCIÓN

El uso exorbitante de plásticos convencionales ha traído consigo una gran problemática medioambiental. Para remediar esto se han propuesto diversas soluciones desde todas las áreas del conocimiento. En la actualidad, existe el compromiso mundial para reducir el consumo de plástico de un solo uso el cual quedó establecido en la cuarta Asamblea de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente en el año 2019. Bajo este contexto, diferentes países han comenzado a actuar a través de nuevas normativas y Chile no es la excepción. El Ministerio del Medio Ambiente (MMA), ha creado la Ley 21368, que regula la entrega de plásticos de un solo uso y botellas plásticas y modifica los cuerpos legales que indica. La cual tiene como objeto cuidar el medio ambiente mediante la limitación de entregas de plásticos de un solo uso en establecimientos de expendio de alimentos. Sin embargo, estará permitida la entrega de productos desechables en base a materiales valorizables diferentes al plástico o plásticos certificados. Por lo que se hace necesario implementar soluciones desde el ecodiseño, educación, recolección, logística, infraestructura y valorización. Impulsando cada vez más el desarrollo de nuevos materiales, entre ellos los de base biológica, los que, a su vez, están adquiriendo cada vez más importancia en la investigación y la industria productiva (Macleod et al., 2021).

Desde mediados del siglo XX, la industria de los polímeros dependía completamente del uso del petróleo. Sin embargo, en la década de 1980 se comenzaron a desarrollar materiales sostenibles (Nakajima et al., 2017) como el ácido láctico (PLA), los poli hidroxialcanoatos (PHA) y otros polímeros, con el fin de resolver problemáticas de residuos en la agricultura y en la industria de la construcción (Domb et al., 1997). En las últimas décadas, la industria del plástico y la comunidad científica han buscado conjuntamente nuevas materias primas para sustituir a los polímeros petroquímicos, que se producen a partir de recursos no renovables (Avella *et al.*, 2009). Bajo este marco, y según lo establecido en la Ley, surge la necesidad de utilizar nuevos materiales en la producción de empaquetado de alimentos.

En los últimos años los materiales fabricados a base de hongos de podredumbre blanca han ido tomando fuerza, principalmente porque ofrece un nuevo enfoque de producción con alternativas sostenibles, mitigando el impacto negativo generado por la fabricación de los

materiales convencionales. Dado lo anterior, se establece un nuevo paradigma de fabricación en el cual los materiales son cultivados en vez de extraídos. Las áreas de aplicación de productos de micelio se mantienen en constante crecimiento y desarrollo obteniendo resultados eficientes, rentables y competitivos frente a materiales de origen petroquímico, fomentando así la economía circular. En la actualidad, los productos a base de micelio están revolucionando las industrias del embalaje, textil y de materiales de construcción para viviendas. Además, existe un especial interés en emplearlos para el aislamiento térmico, acústico y la protección contra incendios. Cabe destacar que, la información disponible en la literatura aún es sesgada e incompleta, además de que las empresas dedicadas a la nueva cultura micelial mantienen encriptadas las metodologías desarrolladas para la obtención de materiales de origen fúngico (Feijóo *et al.*, 2021)

Estos materiales se obtienen utilizando como sustrato restos vegetales de las actividades agroindustriales. Los organismos son sembrados con esporas que desarrollan filamentos (hifas) a manera de red y unifican todas las partículas en un elemento compacto (ver **Figura 2.6**). Pueden tomar cualquier forma dependiendo el molde en donde se incuben y tienen la gran ventaja de ser totalmente biodegradables. Es aquí donde la producción de envases alimentarios hechos completa o parcialmente de materiales biodegradables toma fuerza, ya que al tener una base biológica pueden ser posteriormente compostados y de esta forma certificados para su uso, cumpliendo con las normativas establecidas. Actualmente, se están realizando investigaciones para mejorar sus características y así poder utilizarlos y comercializarlos de forma segura y económica (Berríos, 2020). Es por esto que en el presente proyecto se evaluó el reemplazo de envasados de alimentos a base de poliestireno expandido por productos elaborados a partir de un material biobasado obtenido a través del uso del micelio producido en el cultivo de hongos de podredumbre blanca.

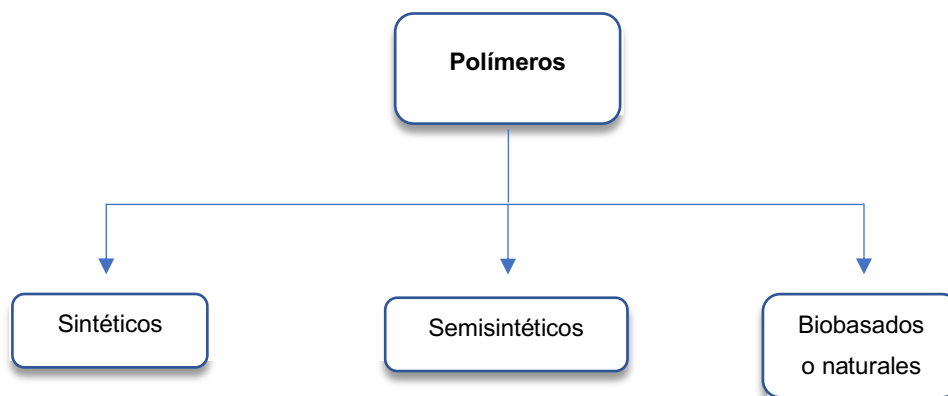
Para obtener el material, y cumplir con el objetivo general, se llevaron a cabo diferentes procesos, comenzado por la inoculación del hongo en un sustrato óptimo, a través del cual obtuvo todos los nutrientes necesarios para su desarrollo. Posterior a esto, y luego del crecimiento del hongo seleccionado, se muestra el proceso de moldeado y obtención final del material biobasado. Por último, se presentan las pruebas de resistencia a la flexión, tracción y porcentaje de absorción de agua realizadas con el material elaborado y una comparación con las del poliestireno expandido. Destacando que todos los procesos fueron realizados entre los meses de agosto y noviembre del presente año en el Laboratorio de

Biodeterioro y Biodegradación de Materiales de la Universidad de Valparaíso lo cual presentó una limitante para seguir perfeccionando el método de cultivo del material debido al poco tiempo en el cual se realizó la experimentación.

## 2 MARCO TEÓRICO

### 2.1. POLÍMEROS

Los polímeros son macromoléculas constituidas por la unión repetida de unidades moleculares pequeñas (monómeros), generalmente orgánicas, las cuales están unidas entre sí por enlaces covalentes. Existen diferentes formas de clasificar los polímeros ya sea por su composición, por su origen, su estructura, por su comportamiento frente al calor, entre otras. Sin embargo, para los fines explicativos de este informe se clasificarán según su origen (**Figura 2.1**) (Billmeyer, 2004).



**Figura 2.1:** Clasificación de polímeros según su origen.

#### 2.1.1. Polímeros sintéticos



Estos polímeros pueden estar constituidos por una variedad de compuestos orgánicos, sintéticos o semisintéticos, por lo que logran tener diferentes estructuras, gracias a la combinación de sus propiedades como la elasticidad y flexibilidad, las cuales dependen de la temperatura a la que sean expuestos. Tienen la capacidad de ser maleables y por ende, pueden ser moldeados en objetos sólidos de distintas formas (Guía de comunicaciones: Manual de Conceptos y Buenas Prácticas Asociadas a la Economía Circular de los Plásticos, 2020). Hoy es prácticamente imposible no tener contacto con algún objeto plástico en la cotidianidad.






Según Plastics Europe, en los últimos 50 años la producción de plásticos ha aumentado 20 veces, alcanzando 407 millones de toneladas en 2015, y de continuar la actual tendencia, se estima que para el año 2050 aumentaría en cuatro veces el volumen de su producción, según lo indicado por el Foro Económico Mundial en 2016. De este total de toneladas producidas, 146 de ellas corresponde a envases y embalajes (industriales, comerciales y domésticos), 65 a materiales de construcción, 59 al consumo textil, 47 los relacionados con la asistencia sanitaria y la agricultura, 42 vinculados a productos de consumo, 27 al transporte, 18 a material eléctrico y 3 a maquinaria industrial (Tortell, 2020).

Según lo establecido en el Pacto chileno de los plásticos, el sector de embalajes es una industria básica para el desarrollo de otros sectores de la economía del país, directa e indirectamente. Ya que, este sector es una industria con ventas anuales de más de dos mil millones de dólares al año, en donde los plásticos son el material de mayor valor productivo (Fundación Chile, 2020).

Los plásticos se diferencian según un Código de Identificación de Plásticos, el cual es un sistema utilizado internacionalmente en el sector industrial para distinguir la composición de los productos. A cada tipo de plástico se les asigna un número del 1 al 7, los cuales también sirven para saber cómo diferenciar el reciclaje de cada uno de ellos. En el caso de Chile, la simbología de identificación de materiales de envases y embalajes está especificada desde el 2016 en la Codificación de Productos Fabricados de Material Plástico para la Identificación de Resinas, NCH3397, en la cual se especifican los tipos, nombres y tamaños de los códigos incluidos en el envase plástico (**Tabla 2.1**), todo esto en torno a las resinas que se utilizaron para su fabricación (Guía de comunicaciones: Manual de Coconceptos y Buenas Prácticas Asociadas a la Economía Circular de los Plásticos, 2020).

**Tabla 2.1:** Tipos de resinas y sus aplicaciones

TIPO DE RESINA	APLICACIONES	CÓDIGO DE IDENTIFICACIÓN
Polipropileno tereftalano	Corresponde a botellas desechables de bebidas, bandejas de torta, clamshell transparente, entre otros. Al reciclarlo se puede transformar en fibras para relleno de sacos de dormir, alfombras, cuerdas y almohadas.	 PET
Polietileno de alta densidad	Se utiliza en bolsas típicas, envases de detergente o shampoo, bidones, envases de leche etc. Al reciclarlo se convierte en maceteros, contenedores de basura y botellas de detergente.	 HDPE

TIPO DE RESINA	APLICACIONES	CÓDIGO DE IDENTIFICACIÓN
Policloruro de vinilo	Se utiliza para fabricar tuberías, revestimientos de alambres y cables, productos para empacar, etc. El proceso de reciclaje lo convierte en los conocidos tubos de drenaje e irrigación.	 PVC
Polietileno de baja densidad	Se fabrica principalmente bolsas de supermercado, de pan y plástico para envolver. Luego de ser recicladas se convierten en bolsas de supermercado nuevamente.	 LDPE
Polipropileno	Se utiliza en la fabricación de tapas de botellas, recipientes para yogurt, bombillas, etc. Luego de su reciclaje se pueden convertir en cajas de baterías para autos, Viguetas de plástico, peldaños para registros de drenaje.	 PP
Polietireno	Son envases de postre, cereal y embalaje. Dentro de esta categoría se encuentra el Plumavit, plástico utilizado en tazas desechables de bebidas calientes o diferentes bandejas para alimentos.	 PS
Otros	Este material es una mezcla de varios plásticos. Pueden ser platos para hornos de microondas, algunos juguetes, algunas botellas, etc. Estos plásticos no se reciclan porque no se sabe con certeza qué tipos de materiales los componen.	 OTROS

(Fuente: Modificado de Manual de conceptos y buenas prácticas asociadas a la Economía circular de los plásticos).

Los polímeros sintéticos o los plásticos de base petroquímica, como las poliamidas (PA), el nylon, el poliestireno (PS), el teflón, el tereftalato de polietileno (PET), el polietileno (PE), etc., se han utilizado ampliamente para aplicaciones de envasado de alimentos debido a sus excelentes propiedades térmicas, su ligereza, su facilidad de manipulación y su instalación en una amplia gama de aplicaciones, sus propiedades de barrera contra el gas y el agua, sus cualidades estéticas y su coste (Sharma *et al*, 2017). Según los datos del Estudio de Línea Base realizado por DICTUC para el Pacto Chileno de los Plásticos el 2019, los envases y embalajes de polietileno de alta densidad (HDPE) y polietileno de baja densidad (LDPE) son los más producidos, exportados y también los más importados en Chile, representando, porcentualmente, el mayor peso del total de envases y embalajes. El tercer tipo de envase y embalaje que más se produce en el país es el de tereftalato de polietileno (PET), que constituye un 16.9%, seguido por los envases de polipropileno (PP) con un 14.8% de la producción y finalizando con los de poliestireno (PS) que alcanzan el 7.1%.

## 2.2. POLIESTIRENO EXPANDIDO

El Poliestireno Expandido o EPS es un material plástico espumado utilizado en el sector de la Construcción, principalmente como aislamiento térmico y acústico, en el campo del Envase y Embalaje para diferentes sectores de actividad y en una serie de aplicaciones diversas.

Se define técnicamente como "Material plástico celular y rígido fabricado a partir del moldeo de perlas preexpandidas de poliestireno expandible o uno de sus copolímeros, que presenta una estructura celular cerrada y rellena de aire" (**Figura 2.2**) (ANAPE, 2017). Esta composición particular le otorga diversas cualidades; ligereza, resistencia a la humedad, amortiguador de impactos, entre otras.

El EPS se obtiene a partir de la transformación del poliestireno expandible. Esta materia prima es un polímero del estireno que contiene un agente expansor, el pentano. Como todos los materiales plásticos el poliestireno expandible deriva en último término del petróleo. A partir del procesado del gas natural y del petróleo se obtienen, mayoritariamente como subproductos, el etileno y diversos compuestos aromáticos. A partir de ellos se obtiene el estireno. Este estireno monómero junto con el agente expansor sufre un proceso de polimerización en un reactor con agua dando lugar al poliestireno expandible, la materia prima de partida para la fabricación del poliestireno expandido.

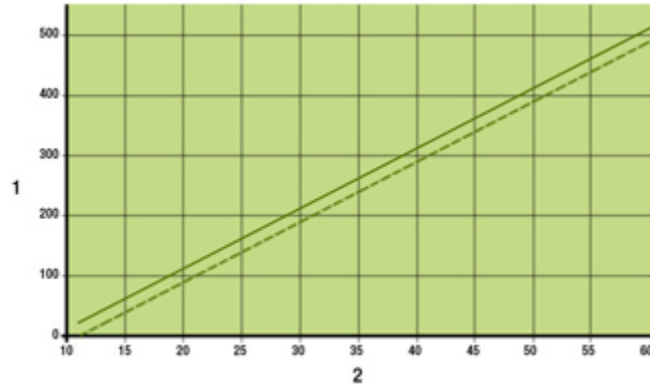
### 2.2.1. Propiedades físicas del poliestireno expandido

#### 1. Resistencia mecánica:

La resistencia a los esfuerzos mecánicos de los productos de EPS se evalúa generalmente a través de las siguientes propiedades:

1. Resistencia a la compresión para una deformación del 10%
2. Resistencia a la flexión
3. Resistencia a la tracción
4. Resistencia a la cizalladura o esfuerzo cortante

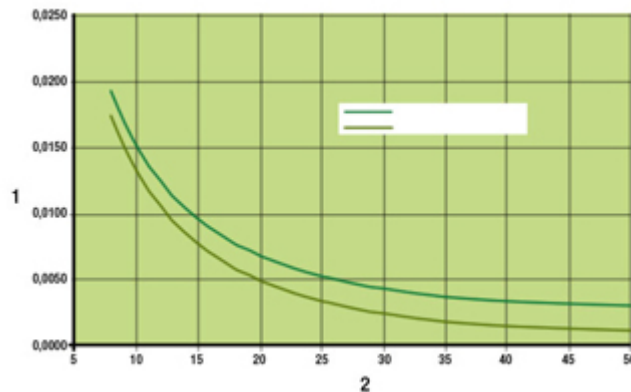
La densidad del material guarda una estrecha correlación con las propiedades de resistencia mecánica. La **Figura 2.2** reflejada a continuación muestra los valores alcanzados sobre estas propiedades en función de la densidad aparente de los materiales de EPS.



**Figura 2.2:** Propiedades de la resistencia mecánica en función de la densidad aparente. Donde 1 es la Tensión de compresión  $\sigma_{10}$  [kPa] y 2 es la Densidad aparente  $\rho_a$  [kg/m<sup>3</sup>]  
(Fuente: ANAPE, 2017)

## 2. Aislamiento térmico

La capacidad de aislamiento térmico de un material está definida por su coeficiente de conductividad térmica  $\lambda$  que en el caso de los productos de EPS varía, al igual que las propiedades mecánicas, con la densidad aparente. La **Figura 2.3** muestra esta influencia.



**Figura 2.3:** Propiedades de la resistencia mecánica en función de la densidad aparente. Donde 1 es la Conductividad Térmica  $\lambda$  [W/m·K] y 2 la Densidad aparente  $\rho_a$  [kg/m<sup>3</sup>]  
(Fuente: ANAPE, 2017).

Conductividad térmica  $\lambda$  (W/mK), es la principal propiedad para caracterizar el comportamiento térmico del material dado, cuando menor, mejor aislante es. Las conductividades térmicas de materiales aislantes se sitúan entre valores  $\lambda$  de 0,025 y 0,065 W/mK (García,2016).

### 3. Comportamiento en el agua

El poliestireno expandido no es higroscópico, a diferencia de lo que sucede con otros materiales del sector del aislamiento y embalaje. Incluso sumergiendo el material completamente en agua los niveles de absorción son mínimos con valores oscilando entre el 1% y el 3% en volumen (ensayo por inmersión después de 28 días). Al contrario de lo que sucede con el agua en estado líquido el vapor de agua sí puede difundirse en el interior de la estructura celular del EPS cuando entre ambos lados del material se establece un gradiente de presiones y temperaturas (ANAPE, 2017).

### 4. Estabilidad frente a la temperatura

Además de los fenómenos de cambios dimensionales por efecto de la variación de temperatura descritos anteriormente el poliestireno expandido puede sufrir variaciones o alteraciones por efecto de la acción térmica. El rango de temperaturas en el que este material puede utilizarse con total seguridad sin que sus propiedades se vean afectadas no tiene limitación alguna por el extremo inferior (excepto las variaciones dimensionales por contracción). Con respecto al extremo superior el límite de temperaturas de uso se sitúa alrededor de los 100°C para acciones de corta duración, y alrededor de los 80°C para acciones continuadas y con el material sometido a una carga de 20 kPa (ANAPE, 2017).

### 5. Comportamiento frente a factores atmosféricos

La radiación ultravioleta (UV) es prácticamente la única que reviste importancia. Bajo la acción prolongada de la radiación UV, la superficie del EPS amarillea y se vuelve frágil, de manera que la lluvia y el viento logran erosionarla. Dichos efectos pueden evitarse con medidas sencillas, en las aplicaciones de construcción con pinturas, revestimientos y recubrimientos. Debido a que estos efectos sólo se muestran tras la exposición prolongada a esta radiación UV, no es objeto de consideración en envases y embalajes (ANAPE, 2017).

## **2.2.2. Aplicaciones del poliestireno expandido**

### *a) Sector de la construcción*

Las cualidades que presenta el EPS le confieren un alto valor para el sector de la construcción, ya que es un material versátil que posee una diversidad de aplicaciones, dentro de las cuales se pueden destacar:

1. Aislamiento térmico de elementos constructivos (exterior e interior de la envolvente en la edificación).
2. Aislación para losas radiantes de entrespisos de edificios.
3. Hormigones y rellenos livianos para sobrelosas.
4. Aislación acústica de ruidos de impacto en estructuras de entrespisos (pisos flotantes sobre EPS elastificado).
5. Absorción de vibraciones producidas por el transporte, ferrocarril, urbano y afines. Paneles prefabricados diversos para uso en viviendas y en la industria frigorífica.
6. Piezas y moldes para materializar forma y complementar la función de moldajes o encofrados.
7. Complemento de materiales para aliviar estructuras, como, por ejemplo: bovedillas, encofrados perdidos y otros.
8. Para conformar elementos decorativos.
9. Excelente aislante térmico, capaz de mejorar la eficiencia energética.

También se utiliza como elemento decorativo u ornamental, sustituyendo a otros materiales menos resistentes y más caros. Otra de sus grandes virtudes, la ligereza, permite reducir el peso de los edificios y las infraestructuras donde, gracias a su resistencia, se utiliza como sustituto de materiales mucho más pesados, como el hierro y el cemento (Tanabe, 2022).

#### *b) Industria alimentaria*

Las características que hace del poliestireno expandido una elección idónea para envasar alimentos es que no absorbe agua ni humedad, manteniendo inalterables las cualidades de sabor, color y textura. Otra característica es que no se pudre, no se descompone, ni se enmohece, debido a que no contiene sustratos que puedan nutrir a microorganismos. El poliestireno expandido es un material que se utiliza ampliamente en el campo del envasado y embalaje de una gran variedad de productos alimenticios (Tanabe, 2022), tanto sólidos como líquidos, teniendo un variado catálogo de productos (**Figura 2.4**).



**Figura 2.4:** Ejemplos de envasado en la industria alimenticia a base de poliestireno expandido (*Fuente: Kiesel, 2005*)

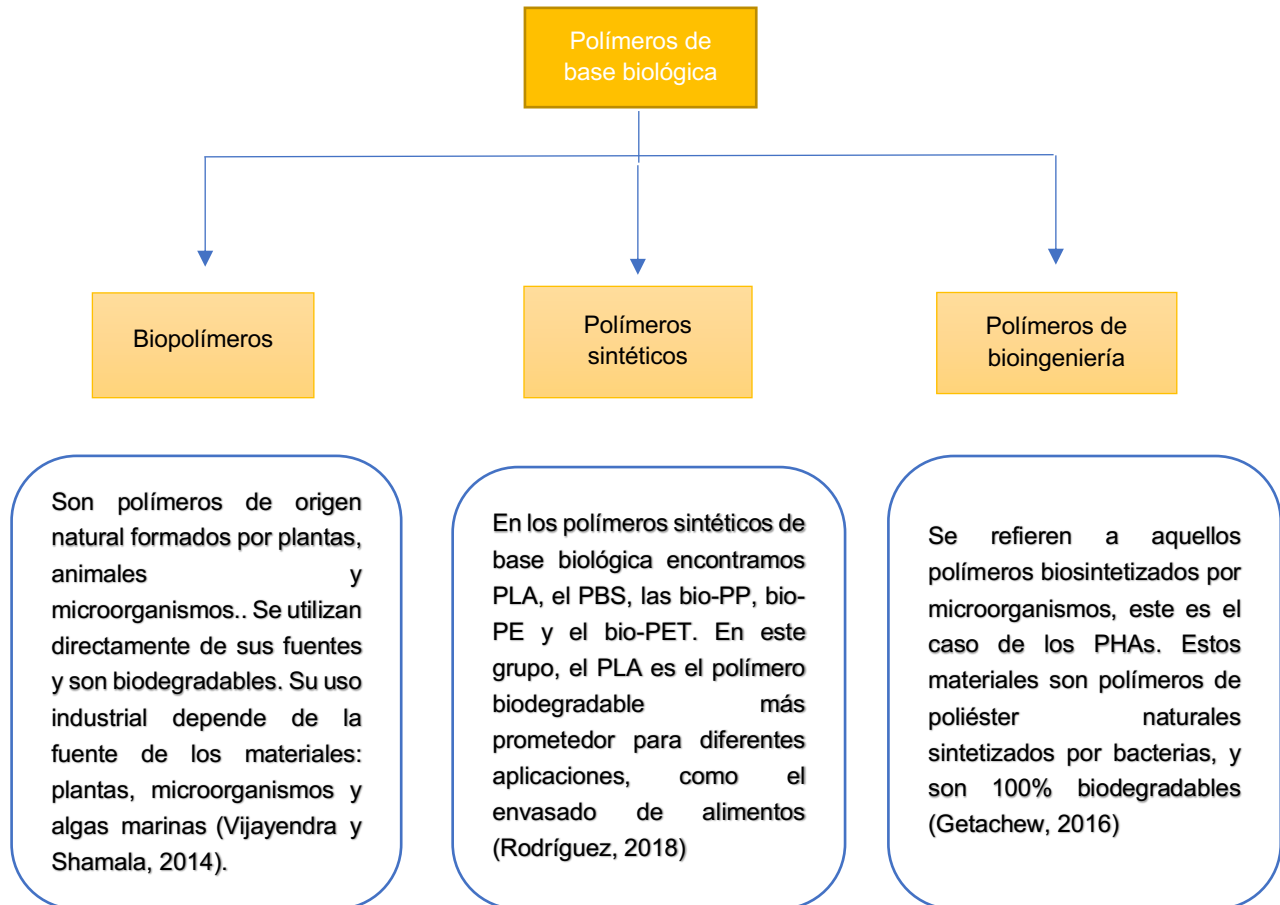
### 2.2.3 Poliestireno expandido y el medio ambiente

Es sabido que la producción y posterior uso de productos derivados del poliestireno expandido provoca una serie de problemas ambientales, esto producido por el prolongado tiempo de biodegradación de algunos de éstos, que oscila entre los 100 y 1000 años (González y Mancini, 2003), sin mencionar, el daño a gran escala que genera en los ecosistemas. En Chile se desechan cerca de 360 millones de toneladas al año, donde se estima que 60 millones son producto de labores industriales y los otros 300 de uso personal y doméstico, según un estudio realizado por La Agenda Sostenible en 2017. Y si bien la cultura del reciclaje compromete cada día a más personas y organizaciones, el caso específico del poliestireno expandido es complicado, debido a que es un material muy liviano, difícil de compactar y trasladar. Su reciclaje también es complejo, ya que, se necesita maquinaria de gran escala y que no existe hoy en Chile, como garantía de que se va a reciclar en este país. Es por esto, que en la actualidad se busca darle solución a esta problemática desde el proceso productivo de los polímeros, sabiendo que estos son obtenidos desde una fuente no renovable, el petróleo. Dado lo anterior, hace algunas décadas se ha comenzado a incursionar en el diseño sostenible de materiales.

## 2.3 POLÍMEROS BIOBASADOS

El término polímero biobasado o polímero de base biológica se refiere a los polímeros (o materiales) sostenibles elaborados a partir de recursos renovables, como, por ejemplo, la biomasa, donde en lugar de utilizar recursos fósiles, son producidos a partir de procesos biológicos y bioquímicos (Leceta *et al.*, 2013). Un material de base biológica se define como un material del que al menos uno de los componentes puede ser cultivado biológicamente

y es totalmente renovable (Lelivelt, 2015). Los polímeros de base biológica se pueden agrupar en tres clases de polímeros: biopolímeros, polímeros sintéticos y polímeros de bioingeniería, tal como se muestra en la **Figura 2.5**



**Figura 2.5:** Clasificación de polímeros de base biológica.

A menudo, los materiales ecológicos se agrupan bajo el ambiguo y vago término de "materiales verdes". Un estudio realizado por la Universidad de Wolverhampton y la Universidad del Oeste de Inglaterra llegó a la conclusión de que los criterios para estos materiales ecológicos son complicados y extensos, y que no se ha logrado un consenso general sobre el tema (Leceta *et al.*, 2003). Por estas razones, este informe se centrará en un subgrupo de materiales ecológicos más fácil de definir: los materiales de origen biológico o biobasados.

Tal como se mencionó anteriormente, estos materiales se comenzaron a desarrollar con el fin de evitar el creciente deterioro del medio ambiente y el malgasto de los recursos no

renovables. Por lo que, estos compuestos orgánicos representan una nueva generación de materiales que, a través de la innovación, ayudan a reducir significativamente el impacto ambiental, ya que permiten ahorrar energía en su proceso de fabricación y al momento de quedar obsoletos pueden ser descompuestos por diferentes agentes biológicos (dependiendo el material) y así, ayudar a reducir la generación excesiva de residuos, sobre todo de plásticos y sus derivados (Gadhavé, 2018). Es así, que la biomasa de algunos hongos filamentosos que se utiliza principalmente para el consumo humano, podría ser empleada como materiales de envasado como vajillas y contenedores de comida rápida, cartones de huevos y juguetes, y herramientas agrícolas, macetas, etc (Erkske *et al.*, 2006).

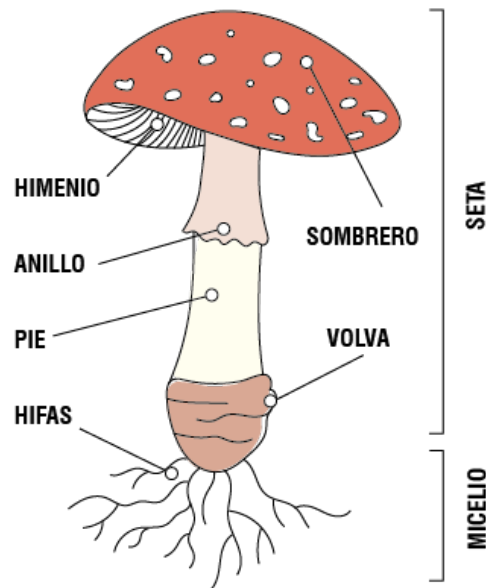
## 2.4 REINO FUNGI

El Reino Fungi es el tercer gran Reino de Vida, junto a los Reinos Animalia y Plantae. Se estima que existen alrededor de 50 mil especies pertenecientes a esta clasificación, sin embargo, se estima que solo se han descubierto el 5% de las presentes en el planeta (Furci, 2007).

Los hongos tienen funciones esenciales en los ecosistemas, dado que sin ellos la vida que conocemos no podría existir. Son llamados los grandes recicladores de la naturaleza porque descomponen la materia orgánica para obtener energía, ya que son organismos heterótrofos o aclorófitos (no poseen clorofila) por lo tanto no pueden producir alimentos a partir del anhídrido carbónico y el agua que los rodea, como lo hacen las plantas verdes (Furci 2007).

Logran desarrollarse en variados tipos de residuos orgánicos o sustratos como: aluminio, pinturas, huesos, piel, pelo, papel, entre otros. Luego de descomponer la materia dejan como resultado nutrientes al servicio de otros seres vivos, como plantas, animales e incluso permiten el desarrollo de la vida humana.(Gamboa, 1996)

Están compuestos por filamentos celulares llamados hifas, que en conjunto forman una red que recibe el nombre de micelio, siendo las setas o cuerpos fructíferos solamente la estructura vegetativa del hongo (**Figura 2.6**). (Furci, 2007)



**Figura 2.6:** Morfología del hongo

Como no pueden realizar fotosíntesis, son independientes de la luz, es por esto que una gran parte de ellos viven bajo gran oscuridad, dependiendo de materias orgánicas ya existentes para su nutrición, la cual obtienen a través de sus hifas. (Mora R. & Encinas B., 2006). Sin embargo, muchas especies no pueden fructificar normalmente en total oscuridad (Findlay, 1967). Así como es esencial para la esporulación de muchas especies, la luz también desempeña un papel en la dispersión de las esporas, ya que, en muchos hongos, los órganos portadores son positivamente fototrópicos y descargan sus esporas hacia la luz (Alexopoulos, 1966).

Existen condiciones que son esenciales para el desarrollo de los hongos, por ejemplo, la existencia de sustrato, gran humedad, oxígeno y temperatura adecuados, como se presentan en la **Tabla 2.2**. Teniendo en consideración que la ausencia o incumplimiento de cualquiera de estos requerimientos evitaría o inhibiría en gran medida el crecimiento del hongo.

**Tabla 2.2:** Condiciones esenciales para el desarrollo de los hongos.

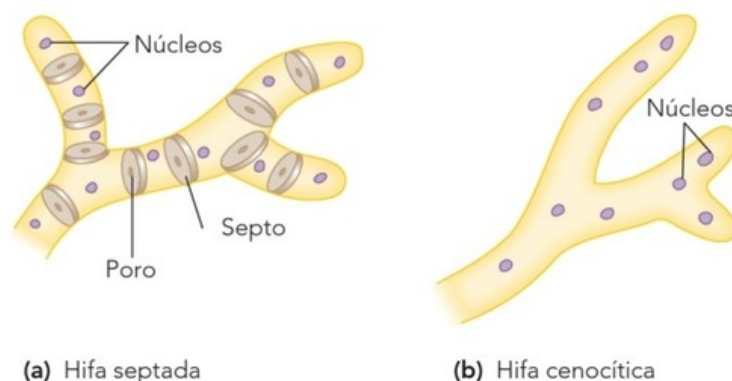
PARÁMETROS	CONDICIÓN ESENCIAL
<b>Oxígeno</b>	Al igual que los animales, los hongos necesitan oxígeno para su respiración, es decir, para la oxidación de los azúcares que utilizan para crecer y para su suministro de energía. Como resultado de su respiración los hongos producen dióxido de carbono y si no existiese un intercambio de aire alrededor de las hifas, el CO <sub>2</sub> se acumularía y finalmente el hongo moriría producto de sofocación (Findlay, 1967).

PARÁMETROS	CONDICIÓN ESENCIAL
<b>Temperatura:</b>	Los hongos, al igual que las plantas, crecen más rápido en climas cálidos que en climas fríos. La tasa de crecimiento de los hongos aumenta gradualmente desde temperaturas cercanas a la de congelación hasta un rango óptimo entre 24° y 32°C. Este crecimiento disminuye rápidamente para la mayoría de los hongos de pudrición, a medida que la temperatura aumenta sobre los 32°C (Ramírez, 2001). Según Eslin y Clark (1979), temperaturas mayores a 38°C son letales para la mayoría de los hongos; en cambio temperaturas bajo el punto de congelación provocan la latencia del hongo, no así su muerte.
<b>Sustrato</b>	El hongo requiere de una fuente de carbono para la síntesis de los constituyentes protoplasmáticos, además de otros elementos como hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre. El alimento requerido para la nutrición del hongo es suministrado principalmente por la misma materia que constituye las paredes de las células del hospedante, pero también pueden facilitar el alimento las sustancias almacenadas en las cavidades celulares, tales como almidones, azúcares y otros (Hunt y Garrat, 1962).
<b>Humedad</b>	La humedad es un factor muy necesario para la actividad fisiológica de los hongos, como la germinación de esporas, la actividad enzimática, la absorción y transporte de sustancias. De un modo general, la humedad ideal para el desarrollo de estos organismos varía entre 30% y 50% (Tuset y Durán, 1986).
<b>Alcalinidad del sustrato</b>	En general, los hongos prosperan en materiales que son ligeramente ácidos, con pH entre 4,5 y 5,5, como el normal de las maderas. Los hongos de pudrición producen generalmente cantidades apreciables de ácidos orgánicos como resultado de su crecimiento, lo que tiende a aumentar la acidez del sustrato en el que se desarrollan (Findlay, 1967).

(Fuente: Romero, 2020).

#### 2.4.1 Estructura vegetativa de los hongos

Tras la germinación de una espора se forma el cuerpo vegetativo del hongo, los más típicos son filamentosos y cada filamento individual del micelio es una hifa. Las hifas pueden estar divididas por tabiques (septadas) o carecer de ellos (cenocíticas) (**Figura 2.7**). Los tipos de septos varían en los distintos grupos fúngicos.



**Figura 2.7:** Tipos de filamentos formado por la unión de células en los hongos  
 (a) Hifas septadas: Poseen paredes internas llamadas septos los cuales tienen un poro central.  
 (b) Hifas cenocítica: No poseen septos y tienen múltiples núcleos en el citoplasma.

(Fuente: Ramírez, 2001)

Los septos son paredes celulares transversales especiales con una abertura que puede cerrarse. Cuando se rompe una hifa normal, el citoplasma sobrepresionado drenará a través de la ruptura causando un daño sustancial y una gran pérdida de nutrientes para la colonia fúngica (Ramírez, 2001). Sin embargo, si hay un tabique, la hifa rota puede cerrarse y sólo se drenará el citoplasma entre los dos tabiques. Esto disminuye significativamente el daño causado a la colonia por una ruptura. Los septos son una característica importante para los materiales a base de micelio, ya que aumentan en gran medida la robustez del micelio. La protección añadida de los septos sólo es aplicable durante la fase de crecimiento del micelio, ya que éste sólo está vivo en esa fase. Sin embargo, como esta fase de crecimiento puede estar sometida a una acción mecánica o a una presión constante, la protección añadida de los septos puede conducir a una colonización más rápida del sustrato.

El crecimiento de las hifas suele ser apical, es decir, se desarrollan por los extremos. El micelio de las distintas especies de hongos es bastante similar, sin embargo, los hongos de distintas especies pueden generar estructuras vegetativas muy características (Mora R. & Encinas B., 2006) como se muestra en la **Figura 2.8**. El micelio es un polímero producido por microorganismos, por lo tanto es biobasado y biodegradable. Se encuentra en la naturaleza y también puede ser obtenido mediante el proceso de degradación o digestión de lignocelulosa inoculada con hongos macromicetos.



**Figura 2.8:** Micelio fúngico (*Fuente: Dreamstime, 2017*)

#### 2.4.2 Reproducción de los hongos

Los hongos se pueden reproducir de forma sexual y asexual. La reproducción asexual puede ocurrir por propagación vegetativa a partir de fragmentos del micelio, o por formación de esporas  $n$  (mitosis). La reproducción sexual se caracteriza por la unión de dos núcleos (meiosis) que dan lugar a esporas  $2n$ . Las esporas se definen como propagadores especializados, generalmente dispersados cuando los cuerpos fructíferos están maduros y por medio del cual se reproducen los hongos (Piché, 2003). Las hifas proceden de la germinación de las esporas, las cuales a su vez, a ser arrastradas por el viento, el agua y distintos animales propagan la micosis. Las esporas son producidas por los hongos en grandes cantidades. Al presentarse ciertas condiciones del medio, el micelio de los hongos sufre variaciones originando los cuerpos de fructificación, en los que se forman las esporas, cerrándose así el ciclo biológico de vida (Mora y Encinas, 2006).

La considerable diversidad de formas exhibidas por los hongos puede verse en la gran variedad de estructuras reproductoras que presentan y que son la base para su clasificación taxonómica.

#### 2.4.3 Clasificación de los hongos

La Micología es la ciencia que se encarga del estudio de los hongos, la cual es aplicada dentro del campo forestal para estudiar los hongos patógenos que causan enfermedades de los árboles en pie y plantas en vivero; sin embargo, esta ciencia es también empleada en la microbiología de las maderas donde se estudian los hongos que afectan los productos forestales como la madera y otros productos lignocelulósicos (Mora y Encinas, 2006).

Los hongos comprenden tres grupos principales: un grupo inferior, los *Phycomycetes*, y dos grupos superiores, los *Ascomycetes* y los *Basidiomycetes*. Esto según su desarrollo sexual. Se ha establecido un cuarto grupo llamado *Fungi imperfecti*, en el cual se incluyen todas aquellas especies cuyo estado sexual no se conoce todavía (Furci, 2007). El conjunto de hongos Dikarya u "hongos superiores" son capaces de crear estructuras orgánicas mucho más grandes y complejas que otros hongos. La formación de un asca es característica de los hongos de la clase *Ascomycetes* y la formación de un basidio características de los hongos *Basidiomycetes*. Para propósitos del informe, la información está centrada en el grupo de *Basidiomycetes*, ya que serán especies pertenecientes a esta clasificación las que se utilizarán para cumplir con los objetivos propuestos.

## 2.5 DIVISIÓN *BASIDIOMYCETES*

Como se mencionó anteriormente, esta división comprende los hongos que presentan mayor complejidad morfológica, entre los que figuran los conocidos hongos de pudrición, setas (**Figura 2.9**), hongos de sombrero (**Figura 2.10**), hongos gelatinosos, royas, carbonos y otros. Su papel en la naturaleza es esencial como agentes descomponedores de materia orgánica. Muchos de estos hongos son cultivados para obtener setas comestibles como *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus*, entre otros (Carlile y Watkinson, 1994).



**Figura 2.9:** Seta perteneciente a la especie *Amanita muscaria* (Fuente: Dreamstime, 2017)



**Figura 2.10:** Vista inferior del píleo de una especie del género *Suillus* (Fuente: Dreamstime, 2017)

En esta división se encuentran tanto hongos unicelulares como pluricelulares, de reproducción sexual y asexual, tanto terrestres como acuáticos. Las características de esta división son tan variables que resulta casi imposible identificarlos morfológicamente. La característica común de los basidiomicetos es la presencia de basidios que son células especializadas que tras la cariogamia y meiosis producen 4 (a veces más o menos) basidiosporas en su parte exterior, como se muestra en la **Figura 2.11**.



**Figura 2.11:** Estructura típica de un basidio con sus esterigmas y basidiosporas. (Fuente: Mora y Encinas, 2006)

Las hifas de los *Basidiomycetes* tienen un diámetro de 5-15  $\mu\text{m}$ . Cuando dos micelios se encuentran, las células pueden fusionarse mediante anastomosis, creando un organismo más grande y fuerte. Cuando el organismo se ha fortalecido lo suficiente, comenzará a crear cuerpos fructíferos. Esto lo hace desarrollando redes más densas de células especiales inflables en un punto en el que ha alcanzado una superficie libre. La seta suele tener forma de pilar alto con un sombrero en la parte superior. El sombrero transporta nuevas esporas que serán liberadas periódicamente para ser dispersadas por el flujo de aire a nuevos lugares. La altura de la seta garantiza que las esporas se dispersen por una zona más amplia. Las esporas que aterricen en hábitats adecuados comenzarán a producir micelios propios, completando el ciclo vital del basidiomiceto (Geitma y emons, 2000).

### 2.5.1. Clasificación de los hongos *basidiomycetes* según podredumbre

Los hongos *basidiomycetes* se pueden clasificar de acuerdo a su podredumbre en 3 grupos:

- 1) Hongos de podredumbre parda o café: Se alimentan de celulosa y hemicelulosa, dejando la lignina casi intacta. Son los causantes del color pardo de la madera, de ahí su nombre, asociándose preferentemente a maderas coníferas (Martínez *et al.*, 2005).
- 2) Hongos de podredumbre blanda: Capaces de modificar la lignina y provocar un ablandamiento de la madera (Martínez *et al.*, 2005).
- 3) Hongos de podredumbre blanca: Es la pudrición donde se degradan todos los componentes estructurales de la madera, especialmente la lignina. Macroscópicamente en la madera afectada por hongos de pudrición blanca, se observan zonas de madera firme y otras zonas fibrosas (Mora y Encinas, 2006). Es por esto que se seleccionaron hongos pertenecientes a esta clasificación para desarrollar las pruebas experimentales.

#### a) *Hongos de pudrición blanca*

Los hongos de pudrición blanca son los únicos que pueden atacar todos los componentes de la pared celular de las plantas. Comprenden un grupo heterogéneo de hongos micro y macroscópicos, en donde los más conocidos son los *Basidiomycetes* y algunos *Ascomycetes* del género *Xylaraceae* (Furci, 2007). Sin embargo, los primeros son los más estudiados. Algunos hongos de pudrición blanca, como el *Pleurotus ostreatus*, cultivado generalmente como hongo comestible, crece en un amplio rango de temperaturas y son capaces de colonizar un amplio espectro de desechos ligninocelulósicos. Además, este

grupo de organismos puede adaptarse a diversas restricciones ambientales (Brizuela, et al., 1998).

### **2.5.2 Métodos de cultivo**

El primer paso para el cultivo de micelio consiste en la creación de un hábitat para el hongo: el sustrato. En este caso, el sustrato puede ser cualquier material rico en celulosa, como paja, madera y cáñamo. Una vez seleccionado y mezclado el sustrato, hay que esterilizarlo para evitar que otros organismos compitan con el hongo durante su crecimiento. Después de la esterilización, el sustrato puede inocularse con las semillas del hongo deseado. Tras la inoculación, comienza la producción de micelio. Es en este punto donde el hongo debe colonizar el sustrato creciendo a través de él. Este paso es importante proporcionar las condiciones de cultivo correctas, que una vez más difieren por especie y dependen de los objetivos del cultivo (Montalti, 2014).

Para hacer un material de micelio a partir del sustrato colonizado, es necesario detener el cultivo. Esto es importante ya que, de lo contrario, el hongo seguiría vivo y acabaría consumiendo todo el sustrato o empezaría a producir cuerpos fructíferos. La finalización de la fase de crecimiento del micelio puede realizarse a través de un golpe de calor, excediendo las condiciones óptimas para el desarrollo de un hongo (40°C) .

Un material a base de micelio está formado por dos componentes: el hongo y el sustrato. El sustrato suele contener suficiente humedad procedente del pretratamiento para alcanzar la condición óptima. La ventilación de CO<sub>2</sub> suele obtenerse utilizando bolsas con filtros que permiten el paso de los gases. Sin embargo, cuando se cultiva el hongo por su micelio estos filtros pueden no ser necesarios. El oxígeno ya presente en el sustrato puede ser suficiente para que el hongo colonice completamente la bolsa y no es necesario ventilar el CO<sub>2</sub>. Para utilizar hongos de pudrición blanca se necesitan sustratos compuestos de lignina y/o celulosa dependiendo del hongo, en el caso de los hongos con los que se va a trabajar, necesitan ambos componentes para su desarrollo, puesto en términos simples, necesita de cualquier resto de vegetales secos, como por ejemplo la cáscara de nuez, el aserrín, el bagazo de la cerveza, la paja de trigo, etc.

### **2.5.3 Aplicaciones de los *Basidiomycetes***

Los basidiomicetos son un grupo de importancia entre los hongos, pues tienen esencial participación en la naturaleza por la versatilidad de las especies que lo constituyen; unas

forman ectomicorrizas, otras son causantes de enfermedades como las royas y los carbones, y se encuentran también las especies comestibles que se cultivan con fines nutritivos. También, especies de este grupo, tienen gran importancia en la medicina por presentar metabolitos con actividad biológica contra una amplia gama de patologías clínicas, incluso influyen positivamente en la profilaxis y el tratamiento del sida (Bayer, 2014). Dentro de este grupo se encuentran, además, los hongos de la podredumbre blanca, únicos microorganismos que son capaces de degradar eficientemente compuestos aromáticos y heterogéneos porque presentan un complejo enzimático inespecífico con actividad oxidativa contra una amplia variedad de sustancias tóxicas y recalcitrantes que les permite aplicaciones como biorremediadores de suelos y aguas contaminadas en las industrias textil y papelera, y también tienen marcada importancia en la agricultura, pues además pueden presentar actividad antifúngica, fitotóxica y nematocida, capacidades útiles para el manejo de plagas. Por tales motivos, en las últimas décadas han aumentado las investigaciones con el objetivo de potenciar o incrementar la actividad enzimática de estos hongos desdesignados. Además, en las últimas décadas se ha comenzado a investigar respecto a su utilización para fabricar biomateriales, ya que los *Basidiomycetes* tienen dos características importantes que los hacen preferentes para crear materiales a base de micelio; los septos y las anastomosis (Carlile y Watkinson, 1994).

## 2.6 MATERIALES BIOBASADOS A BASE DE MICELIO

Los materiales a base de micelio son totalmente biobasados y biodegradables, por lo que pueden desecharse al final de su ciclo de vida con poco o ningún coste o daño medioambiental. Por estas razones, ya se han aplicado como envases en Estados Unidos y cada vez son más descubiertos por artistas, diseñadores y arquitectos (Clark y Saporta, 2014). Las primeras exploraciones en la utilización de hongos como materiales biológicos comenzaron durante la década de 1990 por el científico Shigeru Yamanaka, quien investigó el micelio para la producción de papel y la construcción (Yamanaka y Kikuchi, 1991). A lo largo de sus años de utilización, este material se ha mantenido relacionado mayormente con el mundo del diseño, quedando enmarcado en un contexto donde sus capacidades físico-mecánicas pueden ser dejadas más bien de lado, enfocándose en cumplir objetivos puntuales o estéticos, encontrando gran variedad de productos asociados al diseño de prototipos (**Figura 2.12**) y a la arquitectura efímera (**Figura 2.13**). Sin embargo, estas

primeras experimentaciones han generado conocimientos y entregado el espacio para que, en los últimos años, diversas entidades se embarcaran en la misión de refinar sus procesos de producción, creando productos con el potencial de generar un gran impacto en términos de sustentabilidad.



**Figura 2.12:** Lámparas decorativas elaboradas con micelios de hongos (Dezeen, 2017)



**Figura 2.13:** Torre de bio-ladrillos elaborados en base de micelio y maíz (Graves, 2014).

A partir de las investigaciones y experimentaciones realizadas en la actualidad, se destacan componentes con propiedades físicas y mecánicas similares a la espuma. Es por esto, que se están empleando en áreas de aislación, tanto acústica como térmica. Sumado a esto, se pueden encontrar productos de embalaje o decorativo a base de micelio que protegen a botellas de vidrio o elementos delicados durante su transporte (Ecovative Design, 2019). Actualmente, existen diversas empresas que se encargan de producir distintos tipos de productos a base de miceli. Una de dichas empresas es Ecovative Design, una compañía estadounidense que comercializa componentes a base de hongos, la cual, a partir de un diseño ecológico, presenta productos para diversas aplicaciones, desde embalaje (**Figura 2.14**), cuero, moda y productos alimenticios generando una alternativa a los empaques plásticos (Ecovative Design, 2019). Además, Ecovative Bajo el nombre de Mycoflex, se presentan espumas para el cuidado de la piel y algunas piezas de ropa, como guantes, correas de mochila y espumas de soporte para calzado (Ecovative Design, 2019).



**Figura 2.14:** Productos de embalajes o packaging a base de micelio de un hongo y subproductos de agricultura desarrollados por la empresa Ecovative. (Fuente: Ecovative)

En Grown-bio, otra afiliación de Ecovative, se comercializan urnas compostables. Sin embargo, la biodegradabilidad de los compuestos a base de micelio se presenta como una dificultad al momento de comercializar objetos de larga duración, como paneles de aislación. Para ello, se ha comenzado a aplicar barnices, óleos u otros aceites o capas de resinas, los cuales les brindan protección a los componentes, obteniendo una mayor durabilidad y resistencia a condiciones externas (Orellana, 2021).

En Chile se han registrado más de 3.000 especies de hongos, de las cuales sólo se ha descrito un 10%. La geografía local y su clima favorecen el desarrollo de los hongos, siendo la zona central y sur las que poseen las condiciones óptimas para la mayoría de estos organismos (Mujica y Vergara, 1980). Esto ha llevado a un gran interés para desarrollar los hongos en variadas aplicaciones, como, por ejemplo, el laboratorio BioFabUC ha realizado diferentes investigaciones en donde aplican organismos vivos para desarrollar procesos de biofabricación, produciendo materiales biobasados. Uno de sus proyectos es “micotextil” el cual fue desarrollado durante el año 2019, basándose en el desarrollo de un textil elaborado a partir de micelios de hongos nativos del sur de Chile (Laboratorio de biofabricación FADEU, 2019). Entre el año 2018 y el 2019 se han llevado adelante tres proyectos de investigación complementarios, orientados para brindarle al Laboratorio de Biofabricación UC las condiciones necesarias para producir materiales elaborados de micelio de hongos y residuos agroindustriales. En la actualidad se busca testear sus posibilidades en el ámbito de la arquitectura y el diseño para posteriormente prototipar una

línea de producción de escala industrial orientada a la producción de bloques estructurales de micelio.

Paralelamente, a partir del año 2019, mediante un FONDART de Investigación en Diseño, se ha desarrollado una investigación alternativa cuyo objetivo fue desarrollar un textil a partir de micelio y fibras naturales (Chateau *et al.*, 2019).

## **2.7 SUSTRATO**

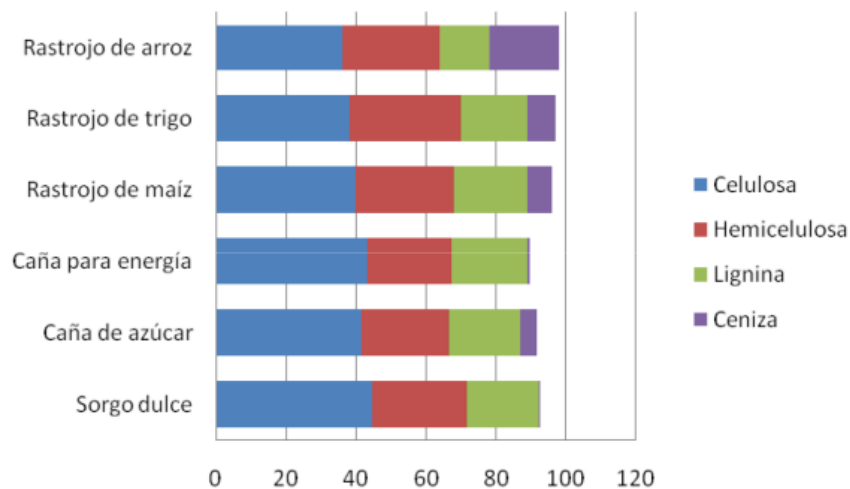
### **2.7.1 Residuos agroindustriales**

En Chile una de las mayores actividades agrícolas, corresponde a la producción de cereales como el maíz, trigo, avena y cebada. La superficie cultivada con cereales en la temporada de 2018/2019 fue de aproximadamente 576 mil hectáreas, de las cuales un 48% corresponde a trigo, un 17% a maíz y un 16% a avena (ODEPA, 2018).

En las últimas décadas, ha existido un constante y significativo aumento en los rendimientos de cereales en el mundo, y Chile no ha sido la excepción. El mejoramiento genético, el manejo agronómico, nuevas y mejores tecnologías, sumado al uso eficiente de fertilizantes y agroquímicos, han generado grandes avances en la producción de estos cultivos, en general (ODEPA, 2018). No obstante, la mejora de rendimientos en los cultivos, también ha incrementado la cantidad de rastrojos, el cual ha sido provocado principalmente por el aumento en la productividad, según el centro de información de recursos naturales, CIREN.

Para manejar estos volúmenes de rastrojo, las quemadas son la práctica tradicionalmente utilizada para eliminar los residuos de cosecha de manera económica, fácil y rápida, ya que permite una eliminación o reducción de grandes volúmenes de residuos del cultivo, dejando el terreno libre para las labores posteriores de labranza y siembra, además de permitir la disminución de enfermedades y plagas (Ventrella *et al.*, 2016). Este manejo tradicional, genera problemas de contaminación atmosférica y gases efecto invernadero que afectan la salud de las personas. Esto también produce el deterioro de los recursos naturales, generando la pérdida de nutrientes, y la eliminación de poblaciones microbianas que actúan en beneficio de la formación de suelo. Las externalidades negativas asociadas a esta práctica, dejan planteado el desafío de buscar nuevas alternativas de manejo de los residuos agrícolas, con el fin de realizar prácticas sustentables desde el punto de vista

agronómico y ambiental, considerando la composición fisicoquímica de algunos desechos agroindustriales, como lo son la paja de trigo, el rastrojo de maíz y la cáscara de arroz. En la **Figura 2.15** se muestra el contenido comparativo de celulosa, hemicelulosa, lignina y cenizas como el porcentaje de fibras presentes en el material lignocelulósico de los desechos agrícolas.



**Figura 2.15:** Contenido comparativo de celulosa, hemicelulosa, lignina y cenizas en residuos agroindustriales.  
(Modificado de Serna-Saldívar, 2019)

### 2.7.2 Residuos lignocelulósicos

Los residuos lignocelulósicos contienen una gran cantidad de materia vegetal compuesta por celulosa, hemicelulosa y lignina, teniendo gran importancia en la industria, considerándose valiosa ya que ha logrado tener diferentes aplicaciones en industrias como la papelera, textil, alimentaria, agrícola, energética incluso médica.

Se habla de materiales lignocelulósicos o biomasa para referirse a la materia orgánica de origen animal (zoomasa), vegetal (fitomasa) como también los residuos y desechos orgánicos. La fitomasa también conocida como biomasa lignocelulósica hace referencia a la materia vegetal seca, que es abundante y generalmente no aprovechada o sub utilizada (Dhyani y Bhaskar, 2018). Esta biomasa se compone principalmente de lignocelulosa y comprende aproximadamente el 50% de toda la materia vegetal generada a partir de la fotosíntesis. La lignocelulosa es el resultado de tres polímeros que se encuentran fuertemente unidos por enlaces covalentes y fuerzas no covalentes, estos son la celulosa, la hemicelulosa y la lignina (Sánchez, 2009).

La celulosa es el componente estructural más importante de las paredes celulares de las plantas. Se presenta en forma de fibras largas y filamentos. En las células vegetales maduras, las microfibras de celulosa están rodeadas por una matriz compuesta principalmente por hemicelulosa y lignina. Esta matriz proporciona la rigidez necesaria para la planta (Casey, 1990).

La hemicelulosa es un polisacárido no celulósico flexible. Es insoluble en agua caliente, pero soluble en soluciones alcalinas. Es un biopolímero homólogo a la celulosa porque tienen una estructura central formada por los mismos carbohidratos unidos por los mismos enlaces (Obembe *et al.*, 2006). El componente principal de la hemicelulosa de la madera y las plantas agrícolas es el xilano. La hemicelulosa actúa como enlace entre la lignina y las fibras de celulosa e imparte rigidez al conjunto celulosa-hemicelulosa-lignina (Lucenius *et al.*, 2019).

En el caso de la lignina, a diferencia de otras macromoléculas que forman las paredes celulares, se trata de un polímero aromático tridimensional con algunos enlaces covalentes a la hemicelulosa. Es poco reactiva al agua, de ahí que su misión dentro de la planta sea la de reducir la permeabilidad del agua a través de las paredes celulares (Segura *et al.*, 2007).

### **2.7.3 Degradación de residuos lignocelulósicos**

La lignina es un biopolímero aromático complejo que puede ser biodegradado por un pequeño número de microorganismos, de los cuales los hongos de podredumbre blanca son el grupo más importante, gracias a enzimas ligninolíticas extracelulares, lignina peroxidasas (LiP) y manganeso peroxidasa (MnP) (Quintero *et al.*, 2006, p. 62). Durante la hidrólisis enzimática de la lignina, una serie de reacciones no específicas forman radicales libres en los biopolímeros y conducen a la desestabilización de los enlaces, lo que lleva a la disolución de macromoléculas en dióxido de carbono y agua (Quintero *et al.*, 2006, p. 62). La mayoría de los hongos ligninolíticos pertenecen al grupo de Basidiomycetes y son los microorganismos más eficientes para degradar completamente la lignina. Producen distintas enzimas extracelulares que son básicas para la transformación inicial de la lignina y que en conjunto logran su mineralización (Dávila *et al.*, 2006, p. 32).

## **2.8 LEY 21.368**

La Ley 21.368 regula la entrega de plásticos de un solo uso y botellas, sin embargo, estará permitida la entrega de productos desechables en base a materiales valorizables diferentes al plástico, o plásticos certificados. Fue promulgada el 06 de agosto de 2021 y publicada en el diario oficial el 13 de agosto del 2021.

Esta ley tiene por objeto proteger el medio ambiente y disminuir la generación de residuos, mediante la limitación en la entrega de productos de un solo uso en establecimientos de expendio de alimentos (restaurantes, casinos, clubes sociales, cocinerías, fuentes de soda, cafeterías, salón de té, panaderías, bares, u otros establecimientos que sirvan comida preparada o bebestibles), el fomento a la reutilización y la certificación de los plásticos de un solo uso, además de la regulación de las botellas plásticas desechables.

Según lo establecido en el artículo 3 de la Ley, quedará prohibida la entrega de productos plásticos para consumo dentro del establecimiento. En cuanto a la entrega para consumo fuera del establecimiento, el artículo 4 decreta que estará permitida la entrega de productos desechables de materiales valorizables diferentes al plástico, o plásticos certificados. Para que esto entre en vigencia completamente, existe un plazo de 3 años desde la publicación de la Ley. Sin embargo, el poliestireno expandido, quedará prohibido 6 meses después de publicada la ley, es decir, a partir de febrero de 2022.

Un plástico certificado es aquel que está compuesto total o parcialmente por materias producidas a partir de recursos renovables, diseñado para ser compostado a nivel domiciliario o industrial. El reglamento de la ley será el que establecerá los requisitos que debe cumplir el material para recibir su certificación, la cual será otorgada a través del MMA, sin embargo, los requisitos mínimos para la certificación de los plásticos que sigan circulando en el mercado son, principalmente, que el material debe estar compuesto total o parcialmente por materias producidas a partir de recursos renovables y diseñado para ser compostado a nivel domiciliario o industrial, de todas formas, el reglamento será publicado en un plazo máximo de 18 meses después de promulgada la Ley. Tomando en cuenta que el fabricante o importador de los productos deberá contar con un certificado que acredite que un elemento cumple con los requisitos exigidos por la ley. Los establecimientos deberán exhibir el certificado de forma visible al público, en su sitio electrónico y en el producto. Además, los plásticos certificados deberán ser fácilmente distinguibles para los consumidores, de conformidad con las normas que se especifiquen en el reglamento. Otros

productos de plástico distintos a los regulados en la ley también podrán acceder a esta certificación, en los términos que señale el reglamento.

De forma progresiva la normativa busca regular los productos plásticos desechables y la reutilización de los productos que se regularán. Dentro de estos se encuentran vasos, tazas, tazones, cubiertos, mezcladores, bombillas, platos, envases o bandejas de comida preparada y sus envases accesorios, tapas, botellas iguales o menores de 500 cc, u otros que cumplan con el propósito de los productos individualizados. Es por esto que el 13 de febrero del presente año entró en vigencia la primera etapa de la regulación, la cual afecta a establecimientos de expendio de alimentos, los cuales tendrán prohibido entregar bombillas, revolvedores, palillos y cubiertos de plástico, como parte de la primera etapa de implementación de la ley que regula los plásticos de un solo uso. Desde la misma fecha, estará prohibido el uso de productos de un solo uso de poliestireno expandido, como, por ejemplo, envases de alimentos.

### 3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Según el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), los polímeros sintéticos son los principales contaminantes en el mundo, esto debido a su gran uso a nivel global y a su larga vida, puesto que sus procesos de mineralización natural son considerablemente lentos (Macleod *et al.*, 2021). Además, se utilizan como un material desechable. Por lo que se ha observado un gran deterioro ambiental trayendo consigo una creciente preocupación (Berríos, 2020). Como alternativa a esta problemática, se han propuesto diversas soluciones a nivel mundial desde todas las áreas del conocimiento. Un ejemplo de estas alternativas es la creación de leyes y políticas que buscan reducir la producción de materiales convencionales. En el caso de Chile, el Ministerio del Medio Ambiente (MMA), ha creado la **Ley 21.368: “REGULA LA ENTREGA DE PLÁSTICOS DE UN SOLO USO Y LAS BOTELLAS PLÁSTICAS, Y MODIFICA LOS CUERPOS LEGALES QUE INDICA”** publicada el 13 de agosto del 2021, la cual está dirigida a los establecimientos de expendio de alimentos con consumo. En la Ley, el uso de envases plásticos tradicionales, por parte de la industria de alimentos para el consumo, ha quedado prohibido según lo establecido en los artículos 3 y 4. Para que esto entre en vigencia completamente, existe un plazo de 3 años desde la publicación de esta Ley, en tanto el reglamento será publicado en un plazo máximo de 18 meses. Sin embargo, para el caso del poliestireno expandido, quedará prohibido 6 meses después de publicada la ley, es decir se encuentra prohibido desde febrero de 2022. Entre las principales exigencias para certificar los nuevos plásticos, destacan que debe estar compuesto total o parcialmente por materias producidas a partir de recursos renovables y diseñado para ser compostado a nivel domiciliario o industrial.

Debido a esto, surge la necesidad de utilizar nuevos materiales en la producción de empaquetado de alimentos. Es aquí donde la producción de empaques de comida hechos completamente o parcialmente de materiales biodegradables toma fuerza, ya que éstos al tener una base biológica pueden ser compostados y por lo tanto certificados para su uso.

Es en este contexto que se plantea la elaboración de envases biodegradables a base de hongos *Basydiomicetes* de podredumbre blanca, los cuales servirían como reemplazo a los plásticos convencionales que actualmente están quedando fuera de circulación en el mercado, favoreciendo así al medio ambiente.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la fabricación de envases biodegradables de uso alimentario empleando el micelio fúngico de hongos de la división *Basidiomycetes* y residuos agroindustriales, para su aplicación en la industria alimentaria.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Seleccionar qué especie de hongo de pudrición blanca es la más adecuada para la elaboración de los envases biodegradables.
2. Producir la materia prima en base al hongo seleccionado para la fabricación de envases biodegradables.
3. Obtener de manera práctica la resistencia a la flexión, tracción y porcentaje de absorción de agua del material biodegradable elaborado para compararlas con las del poliestireno expandido.

## 5 METODOLOGÍA

### 5.1 SELECCIONAR QUÉ ESPECIE DE HONGO DE PUDRICIÓN BLANCA ES LA MÁS ADECUADA PARA LA ELABORACIÓN DE LOS ENVASES BIODEGRADABLES

Para cumplir con el primer objetivo específico propuesto se utilizaron tres cepas de hongos de podredumbre blanca (**Tabla 5.1**), los cuales fueron proporcionados por el Laboratorio de Biodeterioro y Biodegradación de Materiales de la Universidad de Valparaíso.

**Tabla 5.1:** Hongos de podredumbre blanca seleccionados.

Nombre científico
<i>Bjerkandera adusta</i>
<i>Pleurotus ostreatus</i>
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>

Para evaluar el crecimiento del micelio fúngico de cada hongo seleccionado, se utilizó un medio de cultivo sólido y dos sustratos (maíz y trigo).

#### **Materiales a emplear**

- Cepas puras de tres hongos
- Agua destilada
- Malta
- Agar
- Placas Petri
- 30 frascos de vidrio con tapa
- Placa madre con micelio de hongo
- Rastrojo de trigo
- Rastrojo de maíz
- Cáscara de arroz
- Bisturí estéril
- Alcohol (etanol) al 70%
- Toalla de papel.
- Máquina autoclave

- Cabina de flujo laminar
- Máquina filtro UV
- Incubadora
- Papel absorbente

### **Procedimiento**

#### 1. Preparación de los sustratos: Rastrojo de trigo y Rastrojo de maíz

Este proceso se llevó a cabo en el Laboratorio Biodeterioro y Biodegradación de Materiales con la ayuda del encargado. Para ello se cortó y tamizó un saco de rastrojo de trigo y un saco de rastrojo de maíz para depositarlo en 30 frascos de vidrio (15 de cada sustrato) como se muestra en la **Figura 5.1** y **Figura 5.2**.



**Figura 5.1:** Sustrato tamizado en sus respectivos frascos.



**Figura 5.2:** Frascos con sus respectivos sustratos rotulados.

Luego se lavó y saturó por 24 horas el sustrato en sus respectivos frascos de vidrio (**Figura 5.3**). Los que posteriormente fueron filtrados y esterilizados por 15 min, para eliminar cualquier microorganismo que pudiera contaminar o inferir en la mezcla. La esterilización se realizó en una maquina autoclave, que funciona con presión a vapor a 121 °C.



**Figura 5.3:** Proceso de saturación del sustrato.

- Medio de cultivo

Los materiales utilizados para el medio de cultivo sólido, se muestran en la **Tabla 5.2**.

**Tabla 5.2:** Materiales utilizados en el medio de cultivo

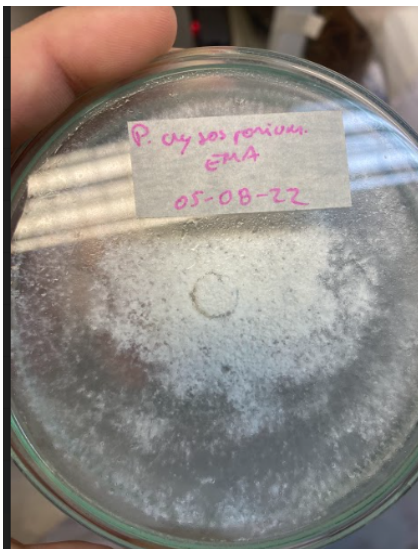
Materiales	Cantidad
Agua destilada	1 litro
Malta	10 gramos
Agar	150 gramos

Con los materiales mencionados, se debió realizar una mezcla, la cual fue vertida en placas Petri. Transcurridos dos días el medio de cultivo se solidificó, debido a la acción de agar, que es un elemento solidificante que aporta nutrientes como: carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y sales inorgánicas, pudiendo ya ser aislado el hongo.

La inoculación de los hongos se realizó mediante la extracción de una cepa pura del hongo a trabajar, ésta se introdujo en el medio de cultivo sólido de la placa Petri. Este procedimiento se realizó en 10 placas Petri por cada cepa de hongo. Cabe mencionar que todo este proceso se llevó a cabo bajo una cámara de flujo laminar para evitar que las muestras se contaminaran. Cabe destacar que el cultivo de las muestras se debe realizar

en condiciones de esterilidad, siendo esta condición la más importante para lograr de forma exitosa el cultivo.

Las muestras de hongo en sus respectivas placas Petri se dejaron crecer por una semana para las cepas *Bjerkandera adusta* y *Phanerochaete chrysosporium*, y dos semanas para la cepa *Pleurotus ostreatus* en una incubadora a 25°C y con un 60% de humedad. Para finalmente ser trasladadas al frasco con el sustrato correspondiente, como se muestra en la **Figura 5.4** y **Figura 5.5**, con el objetivo que el hongo siguiese creciendo.



**Figura 5.4:** Crecimiento de la cepa en la placa Petri.



**Figura 5.5:** Mezcla de sustrato y medio de cultivo sólido.

Posterior a eso, los frascos fueron depositados en una incubadora a la misma temperatura y humedad (25°C y 60% respectivamente), con la finalidad de cumplir con todas las condiciones propicias para que el hongo creciese en el frasco con sustrato. Se revisó cada 7 días el crecimiento del hongo mediante observación directa (**Figura 5.6**).



**Figura 5.6:** Frascos inoculados en la incubadora.

Este proceso se realizó 10 veces en distintos frascos con cada una de las cepas de hongos seleccionadas, 5 frascos con sustrato de trigo y 5 con sustrato de maíz, como se aprecia en la **Figura 5.7**.



**Figura 5.7:** Disposición final de frascos inoculados con su respectivo sustrato.

La evaluación del crecimiento del micelio se realizó de manera cualitativa, mediante observación directa, determinando el porcentaje aproximado en que fueron colonizando el frasco o si bien, se contaminaron las muestras, como se indica a continuación:

- Sin micelio: 0% del sustrato cubierto por micelio
- Micelio poco denso: 0-30% del sustrato cubierto por micelio
- Micelio medianamente denso :30- 80% del sustrato cubierto por micelio
- Micelio denso: 80-100% del sustrato cubierto por micelio
- Contaminados: formación de colonias y pigmentos diferentes al micelio del hongo sembrado.

## **5.2 PRODUCIR LA MATERIA PRIMA EN BASE AL HONGO SELECCIONADO PARA LA FABRICACIÓN DE ENVASES BIODEGRADABLES**

En este trabajo de investigación se elaboró el material biodegradable a partir del hongo más indicado, según los resultados del objetivo específico 1. El hongo utilizado para elaborar la materia prima se obtuvo del Laboratorio de Biodeterioro y Biodegradación de Materiales de la Universidad de Valparaíso, el cual se cultivaría utilizando rastrojo de trigo y rastrojo de maíz como sustrato, siguiendo el procedimiento establecido por el Laboratorio de biofabricación FADEU en su “Manual de biofabricación con hongos” del año 2019. Todas las actividades de laboratorio se realizarán en el Laboratorio de Biodeterioro y Biodegradación de Materiales de la Universidad de Valparaíso.

Dado que se está frente a un trabajo experimental, para realizar el objetivo número dos se utilizaron diferentes procedimientos en distintos moldes para lograr elaborar de la forma más óptima el diseño final del biomaterial.

Se comenzó realizando cuatro pruebas utilizando como molde papel mantequilla para darle forma al micelio con subproductos y, por último, una prueba en un molde circular cóncavo de acero inoxidable como se describe a continuación.

### **5.2.1. Pruebas realizadas en papel mantequilla**

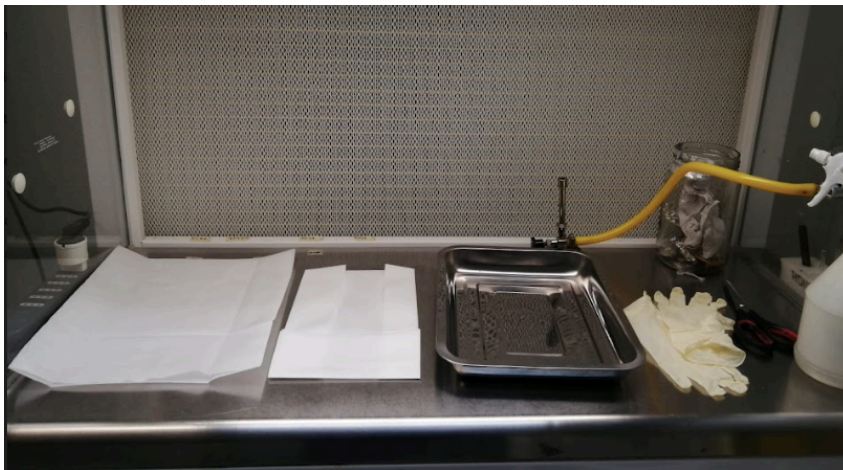
#### **Materiales a emplear**

1. Micelio en crecimiento del hongo seleccionado en el objetivo específico 1
2. Alcohol (etanol) al 70%
3. Cuchara esterilizada
4. Film plástico

5. Cámara de flujo laminar
6. Papel mantequilla
7. Horno
8. Guantes
9. Papel absorbente
10. Tijeras
11. Bandeja de acero inoxidable

### ***Procedimiento***

Para comenzar con el procedimiento, se reunieron todos los materiales a utilizar y se realizó una esterilización del mesón de trabajo con luz UV durante 10 minutos (**Figura 5.8**).



**Figura 5.8** : Mesón de trabajo previo a la esterilización

Se depositó el contenido del frasco inoculado con micelio (**Figura 5.9**) en la bandeja de acero inoxidable, y posteriormente en el papel mantequilla para darle forma con las manos. Se dobló el papel mantequilla (**Figura 5.10**) y se dejó en la incubadora a 25°C y 60% de humedad.



Figura 5.9: Frasco con sustrato colonizado utilizado en la prueba



Figura 5.10 : Prueba del moldeado aplicando presión

Se realizaron cuatro muestras con este procedimiento, sin embargo, a dos de ellas una vez moldeadas con el papel mantequilla se les aplicó presión y a otras dos se les mantuvo el espacio sin aplicarles presión. Para este procedimiento se ocuparon dos frascos de micelio.

Con el contenido en un frasco inoculado se realizaron dos muestras distintas, utilizando la misma metodología descrita, sin embargo, al momento de desmoldar la muestra y secarla se utilizaron intervalos diferentes de tiempo, ya que el desmolde de la prueba 1 se realizó 3 días después de su deposición en la incubadora y el desmolde de la prueba 2 se realizó transcurridos 8 días (**Tabla 5.3**). Además, el secado de la prueba 1 (**Figura 5.11**) se llevó a cabo durante 30 minutos por lado a 90°C, es decir, se introdujo el papel mantequilla con el micelio al horno, se dejó a 90°C durante 30 minutos y al finalizar el tiempo la cara superior del papel mantequilla se dio vuelta, quedando como cara inferior. En el caso de la prueba 2, al momento de desmoldar, se observó que ya estaba seca y por ende, aglomerada, es por esto que solo se introdujo al horno a 90°C durante cinco minutos por lado para detener el crecimiento del hongo.



**Figura 5.11:** Primera prueba previamente al secado en el horno.

**Tabla 5.3:** Moldeado y desmolde final de las pruebas realizadas en papel mantequilla.

Frasco	Prueba	Fecha de moldeado	Fecha de secado	Moldeado final
1	1	11/10	14/10	Con presión aplicada
1	2	11/10	19/10	Con presión aplicada
2	3	19/10	27/10	Sin presión aplicada
2	4	19/10	27/10	Sin presión aplicada

La prueba 3 se dejó secar al aire libre con presión aplicada sobre ella durante 4 días (**Figura 5.12**). Transcurridos estos días se le dio un golpe de calor para eliminar los organismos dentro del material.

Por otro lado, el desmolde de la prueba 4 (**Figura 5.13**) se comenzó ingresando el papel mantequilla con el sustrato inoculado al horno durante dos periodos de 10 minutos, en el cual se secó el material durante 5 minutos por lado.



**Figura 5.12:** Prueba 3 antes de ser introducida al horno.



**Figura 5.13:** Desmolde la la prueba 4

### 5.2.2 Pruebas realizadas para la fabricación de la pieza del biomaterial en molde circular cóncavo.

#### **Materiales a emplear**

1. Micelio en crecimiento del hongo seleccionado en el objetivo específico 1
2. Molde circular cóncavo de acero inoxidable
3. Alcohol (etanol) al 70%
4. Cuchara esterilizada
5. Film plástico
6. Cámara de flujo laminar
7. Sustrato (rastroy de trigo y cáscara de arroz)
8. Horno
9. Guantes
10. Papel absorbente
11. Tijeras
12. Horno eléctrico

#### **Procedimiento**

Para comenzar con el procedimiento, se reunieron todos los materiales a utilizar y se realizó una esterilización del mesón de trabajo con luz UV durante 10 minutos, como se muestra en la **Figura 5.14**, la cual por temas de seguridad fue sacada sin encender el filtro UV.



**Figura 5.14:** Mesón de trabajo con todos los implementos a utilizar.

Para ejecutar la prueba se utilizó el micelio propagado en sustrato a base de rastrojo de trigo (**Figura 5.15**) y un molde cóncavo de acero inoxidable (**Figura 5.16**)



**Figura 5.15:** Frasco inoculado utilizado en la prueba



**Figura 5.16:** Molde cóncavo



**Figura 5.17:** Frasco inoculado con micelio por dentro



**Figura 5.18:** Primer paso para moldeado del material

Para la elaboración del material, el primer paso fue depositar el contenido del frasco inoculado con micelio (**Figura 5.17**) en la bandeja (**Figura 5.18**). Luego, se utilizó papel film para cubrir el molde y se dispuso la materia prima (sustrato y micelio) sobre el film y por ende, sobre el molde seleccionado. El sustrato inoculado se compactó lo más posible para

lograr cubrir todos los espacios (**Figura 5.19**). Y, posteriormente se tapó el molde con film plástico (**Figura 5.20**) dejándolo completamente cubierto y sellado (**Figura 5.21**) y se incubó a 25°C para seguir fomentando el crecimiento del micelio.



**Figura 5.19:** Moldeado del material



**Figura 5.20:** Tapado de material con film



**Figura 5.21:** Resultado final del moldeado del material

Se observó el crecimiento del micelio cada 4 – 5 días y al pasar 30 días se dio inicio al proceso de desmolde. Para esto, la materia prima generada se llevó a secar en un horno eléctrico a 90°C en tres periodos de 10 minutos. Cabe destacar que el moldeado inicial se realizó por la parte externa del molde cóncavo, sin embargo, al momento de llevarlo al horno, hubo un desmolde previo (**Figura 5.22**) en el cual la materia prima se introdujo por la parte interna del molde como muestra la **Figura 5.23**. Este procedimiento permitió

retirar el papel film utilizado anteriormente, ya que este no aguanta temperaturas elevadas.



**Figura 5.22:** Desmolde previo del material



**Figura 5.23:** Moldeado por parte interna antes del horno

### **5.3 OBTENER DE MANERA PRÁCTICA LA RESISTENCIA A LA FLEXIÓN, TRACCIÓN Y PORCENTAJE DE ABSORCIÓN DE AGUA DEL MATERIAL BIODEGRADABLE ELABORADO PARA COMPARARLAS CON LAS DEL POLIESTIRENO EXPANDIDO.**

Una vez obtenidas las distintas muestras del biomaterial se desarrollaron métodos de ensayo para la caracterización, los cuales estaban centrados en la determinación de ciertas propiedades mecánicas y físicas.

#### **5.3.1 Ensayo de tracción**

En el ensayo de tracción, 4 muestras del biomaterial fabricado fueron sometidas a una tensión uniaxial hasta provocar su fractura. Con este ensayo se lograron medir propiedades mecánicas como el módulo elástico o la tensión a fractura.

Para realizar el ensayo con el biomaterial fabricado se utilizó unas pinzas, una cuerda y una bolsa como se muestra en la **Figura 5.24**. En la longitud calibrada de la probeta se realizaron dos pares de marcas, midiendo la longitud entre ellas ( $L_0$ ), como una medida de longitud inicial. Con la ayuda de una bolsa se introdujeron periódicamente piedras las cuales fueron previamente pesadas, pudiendo medir la longitud entre las marcas al ir agregado peso.

Para el cálculo de la fuerza que ejerce las piedras sobre el biomaterial se utilizó la segunda ley del movimiento de Newton (**Ecuación 5.1**).

$$F = m \times a$$

**Ecuación 5.1:** Segunda ley del movimiento de Newton.

Donde:

$F$  = Fuerza (N)

$m$  = masa (kg)

$a$  = aceleración ( $m/s^2$ )



**Figura 5.24:** Ensayo de tracción del biomaterial fabricado.

### 5.3.2 Ensayo de flexión en tres puntos

En el ensayo de flexión en tres puntos cada prueba del biomaterial fabricado fue apoyada en los extremos, sometiéndola a una fuerza en su eje perpendicular. Para el ensayo de flexión en tres puntos se consideró como referencia al mecanismo diseñado por Cárdenas *et al.*, en su tesis de pregrado sobre envases desechables biodegradables en el año 2021, para obtener los datos más precisos de forma casera. De esta manera se puede evaluar el comportamiento tensión-deformación y la resistencia a flexión de materiales frágiles, mediante el cálculo de las siguientes formulas:

$$Tensión (Pa) = \frac{Fuerza (N)}{Sección\ inicial\ de\ la\ probeta (m^2)}$$

**Ecuación 5.2:** Formula para el cálculo de la tensión en Pascal.

$$Deformación (mm) = \frac{Incremente\ de\ la\ longitud (mm)}{Longitud\ inicial\ calibrada (mm)}$$

**Ecuación 5.3:** Formula para el cálculo de la deformación en milímetros.

Para ello se utilizaron dos bloques que hicieran de soporte para cada muestra del biomaterial y otros dos que hicieran de apoyo en los extremos de esta, con la finalidad de colocar la carga en su eje perpendicular. Registrando la deformación que iba sufriendo el material a medida que se le añadía peso. De esta manera, con una cámara fija en un trípode, se realizaron fotografías a las probetas cada vez que se aumentaba la carga (**Figura 2.25**).



**Figura 5.25:** Ensayo de flexión en tres puntos del biomaterial fabricado.

### 5.3.3 Ensayo de absorción de líquido

El objetivo principal de este ensayo era observar cómo se comportaría el biomaterial al estar en contacto con líquidos y, de esta manera, determinar si las pruebas fabricadas son adecuadas para emplearlas en la fabricación de vasos u otros recipientes desechables que contengan líquidos.

Para ello, se rotularon las 4 pruebas del biomaterial fabricado con molde a base de papel mantequilla (**Figura 2.26**), para dejarlas por 2 horas en la estufa a 108 °C con la finalidad de obtener el peso seco (peso inicial) de cada muestra.



**Figura 5.26:** Pruebas del biomaterial rotuladas para llevarlas la estufa.

Posterior a eso, se introdujeron en vasos precipitados con agua por 1 hora, dejándolas reposar en un colador para posteriormente pesarlas en una balanza analítica, obteniendo el peso húmedo de las pruebas.

Para el cálculo se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de absorción en base húmeda} = \frac{\Delta \text{ peso (gr)}}{\text{peso inicial (gr)}}$$

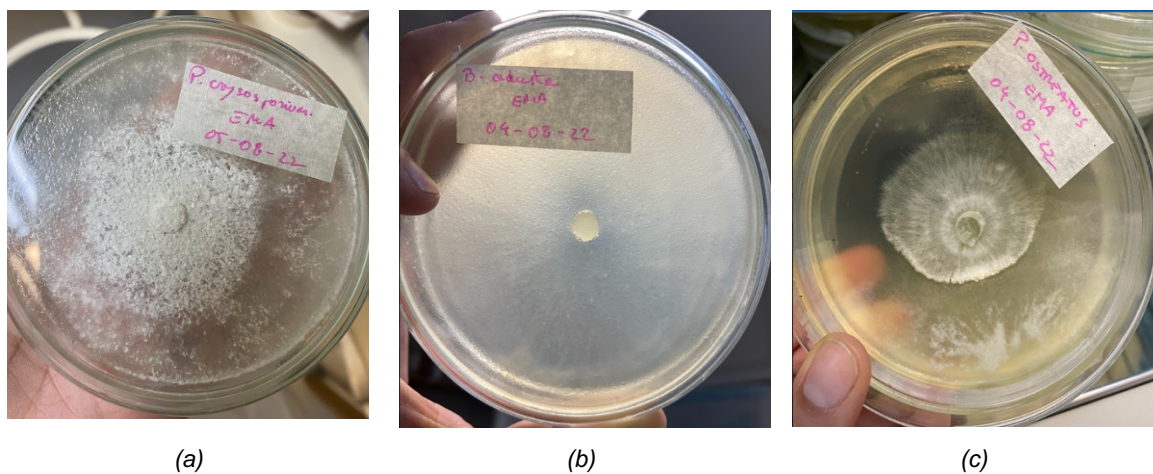
**Ecuación 5.4:** Formula para el cálculo del % de absorción de agua en base húmeda.

## 6 RESULTADOS

### 6.1 SELECCIONAR QUÉ ESPECIE DE HONGO DE PUDRICIÓN BLANCA ES EL MÁS ADECUADO PARA LA ELABORACIÓN DE LOS ENVASES BIODEGRADABLES

#### Crecimiento del micelio en el medio de cultivo

El micelio de los hongos *Phanerochaete chrysosporium*, *Bjerkandera adusta*, *Pleurotus ostreatus* crecieron en todas las placas Petri. El micelio de *P. chrysosporium* que se desarrolló en el medio de cultivo sólido mostró características algodonosas de color blanco. Para el caso de *B. adusta* el micelio que se desarrolló en la placa Petri mostró una textura menos blanca y más transparente. Mientras que *P. ostreatus* mostró un crecimiento en formas de anillos con una textura afelpada ((**Figura 6.1**)).



**Figura 6.1:** Micelio en medio de cultivo sólido (a) *Phanerochaete chrysosporium*; (b) *Bjerkandera adusta*; (c) *Pleurotus ostreatus*

En cuanto al tiempo transcurrido en colonizar toda la placa Petri las cepas *B. adusta* y *P. chrysosporium* crecieron en el tiempo determinado, entre 7 y 8 días. Mientras que la cepa *P. ostreatus* se demoró una semana más en colonizar toda la placa Petri, alcanzando un tiempo de 12 a 15 días.

#### Producción del inóculo

Luego de confirmar el crecimiento del micelio en todas las placas Petri, se introdujeron en frascos con sus respectivos sustratos; 5 en rastrojo de maíz y 5 en rastrojo de trigo, esto por cada cepa fúngica para permitir la colonización. Se pudo observar que estos organismos crecieron en todos los frascos. Sin embargo, al momento de realizar la observación semanal, se identificaron a simple vista frascos contaminados, formándose colonias y pigmentos diferentes a los hongos sembrados (**Figura 6.2**).



**Figura 6.2:** Sustrato con cepas contaminadas.

En los cuales se destaca la cepa *P. ostreatus*, la cual tuvo un 80% de los frascos contaminados. Es por esto que, se realizó nuevamente la inoculación en placa Petri y posteriores siembras en sustrato, pero esta vez en 5 frasco con sustrato a base de maíz.

A pesar de lo anterior, se pudo observar que la calidad y vigorosidad del crecimiento del micelio con sus respectivos sustratos fue muy diferente en cada uno de ellos. En la **Tabla 6.1 y Tabla 6.2** se muestran los resultados considerando lo siguiente:

- Sin micelio: 0% del sustrato cubierto por micelio
- Micelio poco denso: 0-30% del sustrato cubierto por micelio
- Micelio medianamente denso :30- 80% del sustrato cubierto por micelio

- Micelio denso: 80-100% del sustrato cubierto por micelio

**Tabla 6.1:** Clasificación del micelio de acuerdo a su porcentaje de colonización en el sustrato.

Nº de pruebas con hongos de pudrición blanca	Micelio en sustrato de Maíz	Micelio en sustrato Trigo
<i>P. chrysosporium</i>	Contaminado	Micelio denso
<i>P. chrysosporium</i>	Micelio denso	Micelio denso
<i>P. chrysosporium</i>	Micelio poco denso	Micelio denso
<i>P. chrysosporium</i>	Sin micelio	Micelio denso
<i>P. chrysosporium</i>	Sin micelio	Sin micelio
<i>B. adusta</i>	Sin micelio	Contaminado
<i>B. adusta</i>	Sin micelio	Micelio poco denso
<i>B. adusta</i>	Sin micelio	Micelio poco denso
<i>B. adusta</i>	Sin micelio	Sin micelio
<i>B. adusta</i>	Sin micelio	Sin micelio
<i>P. ostreatus</i> (1)	Contaminado	Contaminado
<i>P. ostreatus</i> (1)	Contaminado	Contaminado
<i>P. ostreatus</i> (1)	Contaminado	Contaminado
<i>P. ostreatus</i> (1)	Contaminado	Contaminado
<i>P. ostreatus</i> (1)	Micelio poco denso	Micelio poco denso

**Tabla 6.2:** Clasificación del micelio de la cepa *P. ostreatus* de acuerdo a su porcentaje de colonización en el sustrato a base de Maíz en la segunda muestra.

Nº de pruebas con hongos de pudrición blanca	Micelio en sustrato Maíz
<i>P. ostreatus</i> (2)	Contaminado
<i>P. ostreatus</i> (2)	Contaminado
<i>P. ostreatus</i> (2)	Contaminado
<i>P. ostreatus</i> (2)	Micelio poco denso
<i>P. ostreatus</i> (2)	Micelio poco denso

Según los resultados expresados en la **Tabla 6.1** y **Tabla 6.2** se observa que, al cabo de dos meses de realizarse el proceso de cultivo, la cepa que alcanzó un mayor porcentaje de crecimiento fue *P. chrysosporium* con un 60 % de los frascos colonizados con un micelio considerado denso (**Figura 6.3**). En cuanto a las otras cepas seleccionadas, tanto *B. adusta*

y *P. ostreatus*, no alcanzaron a desarrollar un micelio denso, sino más bien, un micelio poco denso, pudiendo destacar a la cepa *P. ostreatus* que alcanzó en todos los frascos colonizados un micelio poco denso (**Figura 6.4**), mientras que la cepa *B. adusta* solo alcanzó un 20% de los frascos un micelio poco denso (**Figura 6.5**), sin considerar los frascos contaminados.

Por otro lado, se aprecia que los sustratos son aptos para la colonización del micelio de los 3 hongos seleccionados, sin embargo, se destaca un mayor crecimiento del micelio en el sustrato de rastrojo de trigo.



**Figura 6.3:** Micelio de *P. chrysosporium* en sustrato a base de rastrojo de trigo



**Figura 6.4:** Micelio de *B. adusta* en sustrato a base de rastrojo de trigo



Primera muestra



Segunda muestra

**Figura 6.5:** Micelio de *P. ostreatus* en sustrato a base de rastrojo de maíz

Para las siguientes experimentaciones se decide utilizar la cepa de hongo *P. chrysosporium*, por sobre las otras dos cepas, esto debido a su rápido crecimiento del micelio.

## 6.2 PRODUCIR LA METRIA PRIMA EN BASE AL HONGO SELECCIONADO PARA LA FABRICACIÓN DE ENVASES BIODEGRADABLES

Para realizar estas pruebas se utilizó el hongo *P. chrysosporium*, el cual fue escogido por los resultados favorables de la experimentación anterior. Teniendo como objetivo desarrollar un material biobasado, se plantea primero moldear de forma plana y luego con una forma cóncava para su posible utilización como envasado de alimentos.

### 6.2.1 Pruebas realizadas en papel mantequilla para forma plana

Los resultados de la prueba 1 se obtuvieron transcurridos 3 días desde su proceso de moldeado. Al momento de retirar la materia del horno se pudo observar un cambio en la tonalidad del material. Antes de ser ingresado al horno, la lámina presentaba una estructura con micelio visible y, por ende, de un color blanquecino. Al ser sacado del horno, se observó una pérdida de materia y un bronceado del material, obteniendo una lámina tiesa y quebradiza (**Figura 6.6 y Figura 6.7**).



**Figura 6.6:** Primera prueba después del secado en el horno



**Figura 6.7:** Cara inferior del material después del horneado (prueba 1)

La prueba número 2, a diferencia de la prueba 1, se dejó crecer durante más días en la incubadora, por lo que sus resultados fueron obtenidos 8 días después de su moldeado. Al

momento de desmoldarla se observó que ya estaba seca y rígida, como se muestra en la **Figura 6.8**, es por esto que solo se introdujo al horno para detener el crecimiento del organismo.

Cuando el material fue sacado del horno se observó que el color blanquecino brindado por el micelio se mantuvo casi intacto como se muestra en las **Figura 6.9** y **Figura 6.10**. Obteniendo un material altamente aglomerado y de estructura firme.



**Figura 6.8:** Desmolde de prueba 2 antes del horno



**Figura 6.9 :** Cara superior del material obtenido en la prueba 2 despues del secado



**Figura 6.10:** Cara inferior del material obtenido en la prueba 2 despues del secado

Los resultados de la prueba 3 y 4 se obtuvieron 8 días después de moldearlos. Por un lado, la prueba 3 mantuvo el color blanquecino del micelio después de su secado como se muestra en la **Figura 6.12**. El resultado final de esa prueba fue una materia altamente compactada y, por ende, con una gran dureza. Alcanzando un grosor considerable (de 2,5 cm aproximadamente, como se muestra en la **Figura 6.13**).



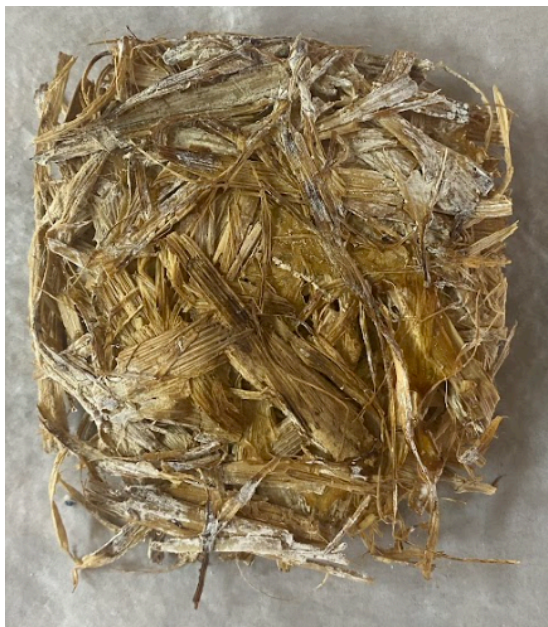
**Figura 6.11:** Prueba 3 después del proceso de secado.



**Figura 6.12 :** Grosor de la prueba 3.

Por otro lado, en el resultado de la prueba 4 se obtuvo un material con un tono algo cobrizo después del secado en el horno, perdiendo notoriamente el color blanquecino original. Esta

prueba, al igual que las anteriores, presentó un material aglomerado y resistente a simple vista.



**Figura 6.13:** Aspecto prueba 4 después del secado.

### **6.2.2 Pruebas realizadas con molde cóncavo**

Los resultados de esta prueba experimental se obtuvieron cinco semanas después de iniciar el proceso de moldeado. Al momento de desmoldar el material, se observó una degradación irregular en el sustrato. Y luego del secado se perdió el rastro de micelio. Sin embargo, en esta prueba se logró obtener un material aglomerado a base de rastrojo de trigo y micelio con forma cóncava. En el resultado final se puede apreciar que el sustrato utilizado no fue bien degradado por los organismos, como se muestra en la **Figura 6.14** y la **Figura 6.15**. Cabe destacar que el material fue retirado completamente del molde 5 días después de ser expuesto al calor del horno, ya que al retirarlo aún se sentía la materia húmeda por lo que se decidió dejarlo al aire libre para terminar el proceso de desmolde y obtención del cuenco.



**Figura 6.14:** Prueba 5 en el molde de acero inoxidable en forma de cuenco.



**Figura 6.15:** Prueba 5 desmoldada.

### 6.3 OBTENER DE MANERA PRÁCTICA LA RESISTENCIA A LA FLEXIÓN, TRACCIÓN Y PORCENTAJE DE ABSORCIÓN DE AGUA DEL MATERIAL BIODEGRADABLE ELABORADO PARA COMPARARLAS CON LAS DEL POLIESTIRENO EXPANDIDO.

Tras llevar a cabo los distintos ensayos citados anteriormente se agruparon los datos obtenidos para realizar un análisis cuantitativo de las propiedades mecánicas y físicas.

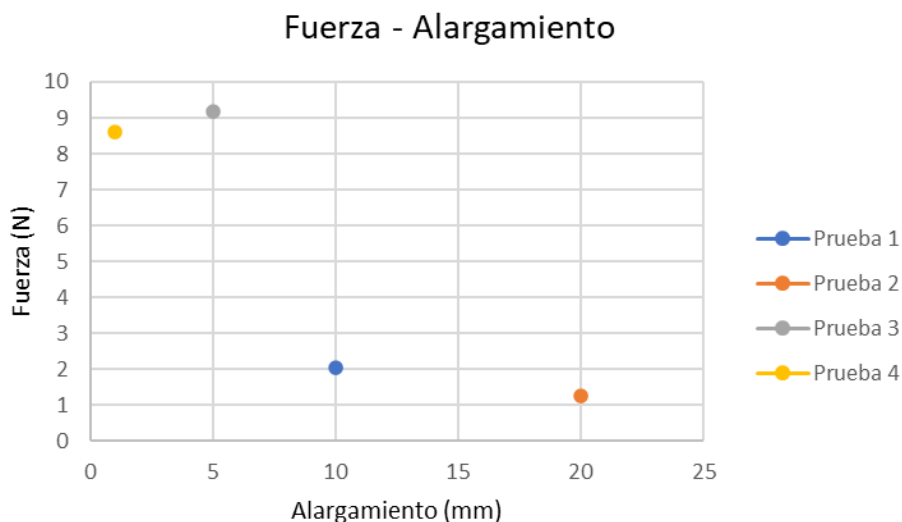
#### 6.3.1 Ensayo de tracción

En el ensayo realizado no se pudo apreciar deformación por cada tanda que se introducía peso. Únicamente se pudo determinar la carga máxima y la deformación total que experimentó cada prueba de biomaterial fabricado hasta romperse.

En la **Tabla 6.3** se muestran los resultados de Fuerza – Alargamiento de cada prueba realizada.

**Tabla 6.3.:** Fuerza-Alargamiento del ensayo de tracción del material.

Pruebas	Peso (kg)	Fuerza (N)	Alargamiento (m)	Alargamiento (mm)
Prueba 1	0,2084	2,04232	0,01	10
Prueba 2	0,1268	1,24264	0,02	20
Prueba 3	0,9364	9,17672	0,007	7
Prueba 4	0,8764	8,58872	0,001	1



**Figura 6.16:** Gráfica Fuerza-Alargamiento del ensayo de tracción del material.

A la vista de los resultados plasmados en la gráfica se obtienen resultados favorables para las pruebas 3 y 4, necesitando más peso (fuerza) para su fractura en comparación a las pruebas 1 y 2.

Por otro lado, para los resultados de tensión - deformación es necesario realizar mediciones iniciales (**Tabla 6.4**) para el posterior cálculo de la tensión y deformación de las pruebas del biomaterial fabricado.

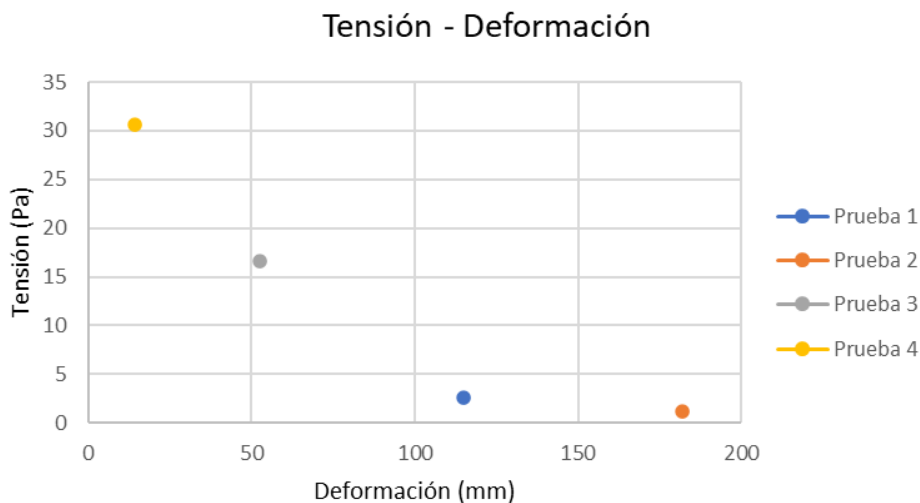
**Tabla 6.4.:** Longitud y área inicial de cada prueba.

	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Prueba 4
<b>Long inicial (m)</b>	0,087	0,11	0,095	0,07
<b>Área inicial (m2)</b>	0,783	1,1	0,551	0,28

**Tabla 6.5.:** Tensión-Deformación del ensayo de tracción del material.

Pruebas	Peso (kg)	Aceleración (kg/m <sup>2</sup> )	Fuerza (N)	Alargamiento (m)	Tensión (Pa)	Deformación (m)	Deformación (mm)
Prueba 1	0,208	9,8	2,042	0,01	2,608	0,114	114,942
Prueba 2	0,127	9,8	1,243	0,02	1,130	0,182	181,818
Prueba 3	0,9364	9,8	9,177	0,007	16,655	0,0526	52,631

Pruebas	Peso (kg)	Aceleración (kg/m <sup>2</sup> )	Fuerza (N)	Alargamiento (m)	Tensión (Pa)	Deformación (m)	Deformación (mm)
Prueba 4	0,8764	9,8	8,589	0,001	30,674	0,0143	14,285



**Figura 6.17:** Gráfica Tensión-Deformación del ensayo de tracción del material.

A la vista de los resultados de las gráficas tensión - deformación las pruebas 3 y 4 muestran un biomaterial mucho más rígido en comparación con las pruebas 1 y 2, llegando a soportar tensiones de hasta cinco veces más. En cuanto a la deformación que alcanzaron a experimentar las pruebas del biomaterial, las pruebas 3 y 4 no mostraron gran deformación al momento de la ruptura, no así para las pruebas 1 y 2 que mostraron grandes deformaciones.

De igual forma, debido a que no se pudo apreciar una deformación exacta y cuantificable a medida que se aumentaba el peso, es que, se decidió hacer un ensayo de flexión en tres puntos para poder llevar a cabo el análisis cuantitativo de las propiedades mecánicas con mayor precisión.

### 6.3.2 Ensayo de flexión en tres puntos

En cuanto a los ensayos de flexión, algunas pruebas del biomaterial fabricado no presentaron rotura debido al espesor de la probeta sometida al ensayo y por la restricción de poder añadir más peso progresivamente al material. Al igual que en el ensayo anterior, a la hora de analizar los datos obtenidos en este ensayo tomaremos la máxima tensión

como tensión de rotura. Para el cálculo de flexión es necesario realizar mediciones iniciales, las cuales se muestran en la **Tabla 6.6**.

**Tabla 6.6.:** Longitud y área inicial de cada prueba.

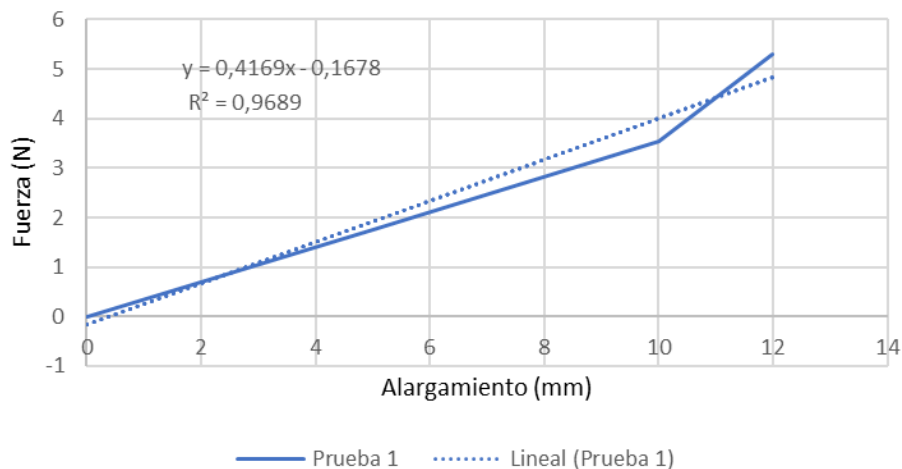
	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Prueba 4
Long inicial (m)	0,125	0,13	0,1	0,07
Área inicial (m2)	1,125	1,235	0,55	0,28

Los resultados para cada prueba se muestran a continuación:

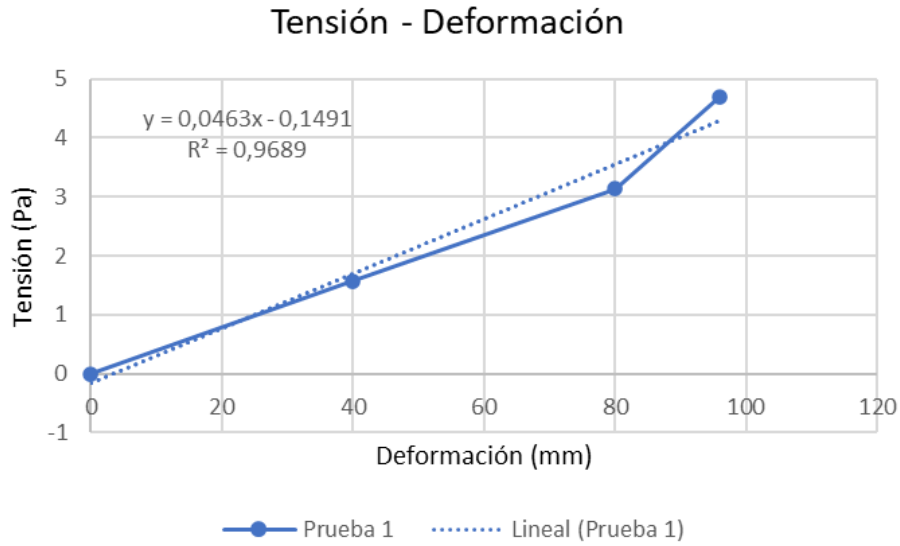
**Tabla 6.7.:** Ensayo de flexión del biomaterial Prueba 1.

Peso (Kg)	Fuerza (N)	Tensión (Pa)	Alargamiento (m)	Deformación (m)
0	0	0	0	0
0,18	1,764	1,568	0,005	0,04
0,36	3,528	3,136	0,01	0,08
0,54	5,292	4,704	0,012	0,096
0,79	7,742	6,8817	0	0

### Fuerza - Alargamiento



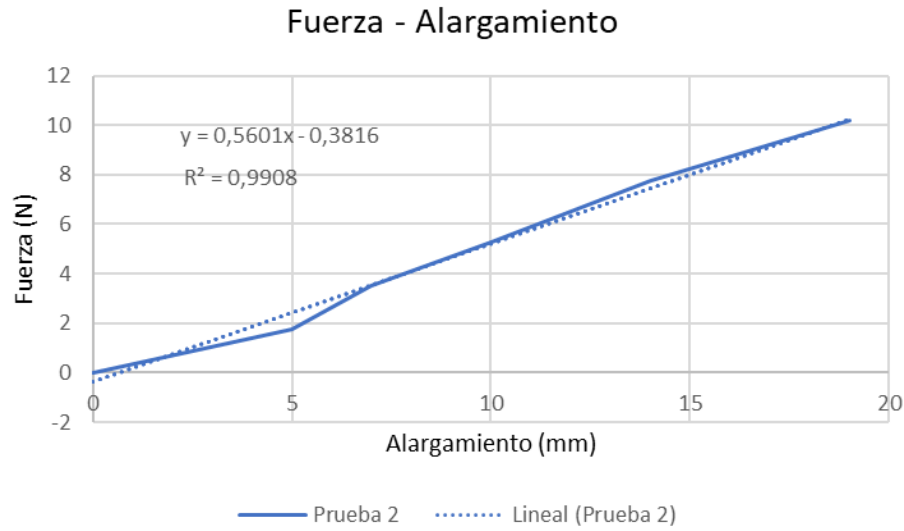
**Figura 6.18:** Gráfica Fuerza-Alargamiento del ensayo de flexión de la Prueba 1.



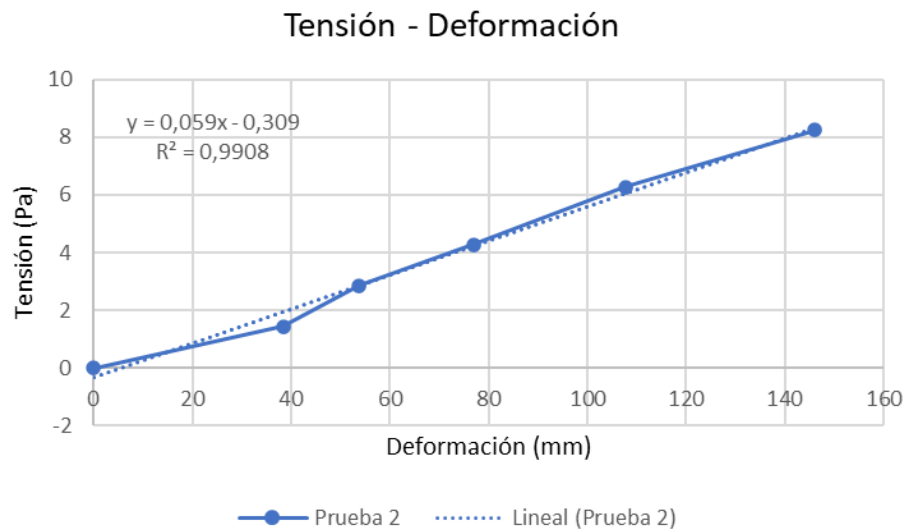
**Figura 6.19:** Gráfica Tensión -Alargamiento del ensayo de flexión de la Prueba 1.

**Tabla 6.8.:** Ensayo de flexión del biomaterial Prueba 2.

Peso (Kg)	Fuerza (N)	Tensión (Pa)	Alargamiento (m)	Deformación (m)
0	0	0	0	0
0,18	1,764	1,42834008	0,005	0,038461538
0,36	3,528	2,85668016	0,007	0,053846154
0,54	5,292	4,28502024	0,01	0,076923077
0,79	7,742	6,26882591	0,014	0,107692308
1,04	10,192	8,25263158	0,019	0,146153846
1,29	12,642	10,2364372	0	0



**Figura 6.20** Gráfica Fuerza-Alargamiento del ensayo de flexión de la Prueba 2.



**Figura 6.21** Gráfica Tensión -Alargamiento del ensayo de flexión de la Prueba 2.

**Tabla 6.9:** Ensayo de flexión del biomaterial Prueba 3.

Peso (Kg)	Fuerza (N)	Tensión (Pa)	Alargamiento (m)	Deformación (m)
0	0	0	0	0
0,18	1,764	3,20727273	0,005	0,05
0,36	3,528	6,41454545	0,007	0,07
0,54	5,292	9,62181818	0,009	0,09
0,79	7,742	14,0763636	0,013	0,13

Peso (Kg)	Fuerza (N)	Tensión (Pa)	Alargamiento (m)	Deformación (m)
1,04	10,192	18,5309091	0,02	0,2
1,29	12,642	22,9854545	0,03	0,3
1,54	15,092	27,44	0	0

Fuerza - Alargamiento

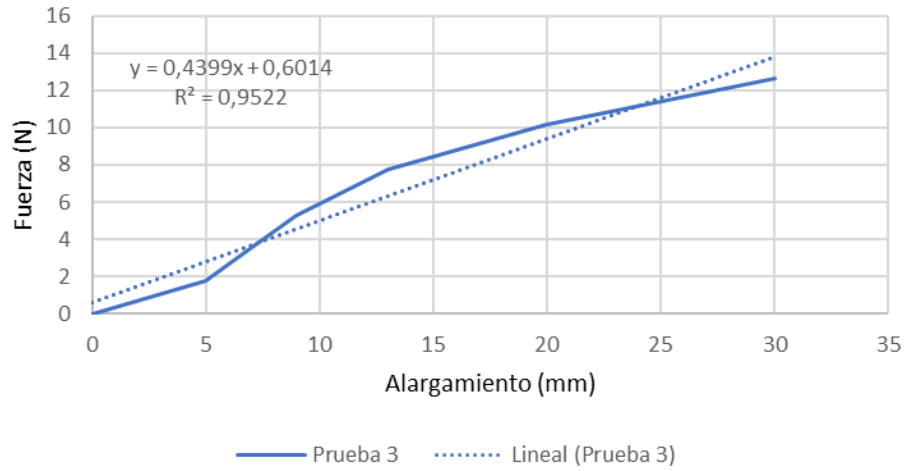


Figura 6.22: Gráfica Fuerza-Alargamiento del ensayo de flexión de la Prueba 3.

Tensión - Deformación

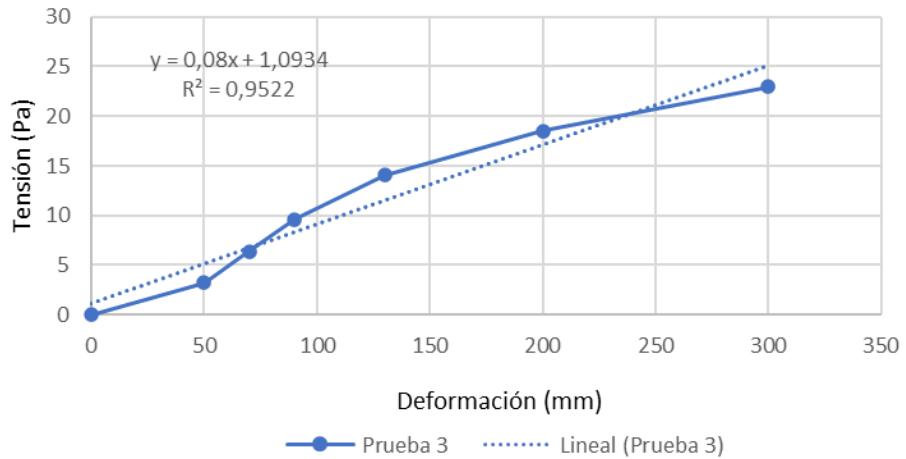
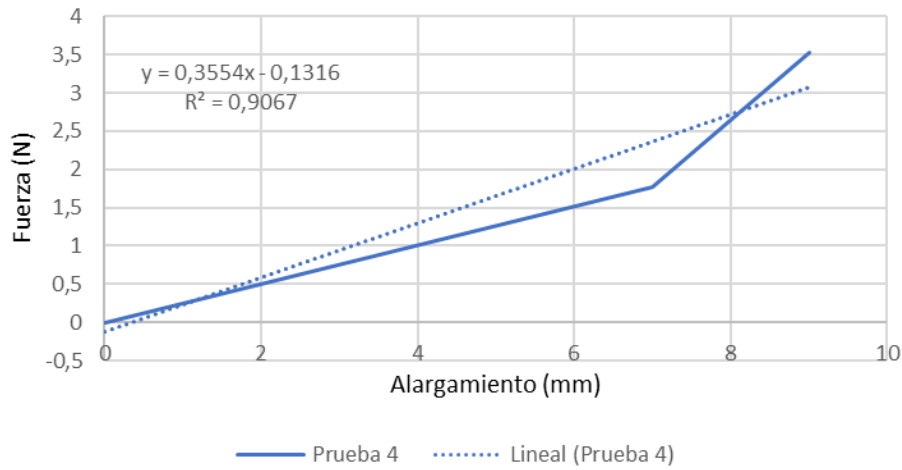


Figura 6.23: Gráfica Tensión- Deformación del ensayo de flexión de la Prueba 3.

**Tabla 6.10.:** Ensayo de flexión del biomaterial Prueba 4.

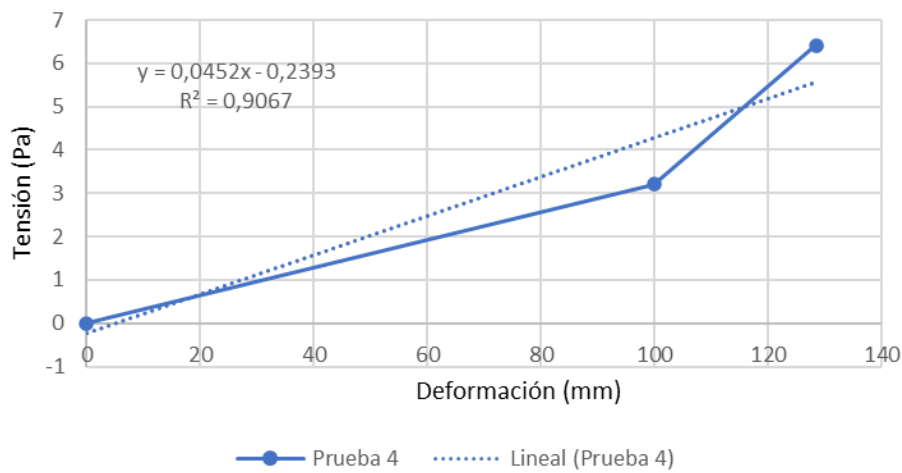
Peso (Kg)	Fuerza (N)	Tensión (Pa)	Alargamiento (m)	Deformación (m)
0	0	0	0	0
0,18	1,764	6,3	0,007	0,1
0,36	3,528	12,6	0,009	0,128571429
0,54	5,292	18,9	0	0

**Fuerza - Alargamiento**



**Figura 6.24** Gráfica Fuerza-Alargamiento del ensayo de flexión de la Prueba 4.

**Tensión - Deformación**



**Figura 6.25** Gráfica Tensión - Deformación del ensayo de flexión de la Prueba 4

Los resultados obtenidos en los ensayos de flexión nos muestran que el biomaterial de la prueba 1 (**Tabla 6.7**), prueba 2 (**Tabla 6.8**) y de la prueba 3 (**Tabla 6.9**) en general tiene una correlación lineal entre la fuerza aplicada y el alargamiento ( $R^2 \approx 1$ ), lo que significa que la deformación que está sufriendo cada prueba es elástica. Esto es, en otras palabras, que existe una clara tendencia o evolución de las propiedades mecánicas de los materiales que podemos predecir aplicando la ecuación que nos proporciona la línea de tendencia.

En cuanto a la prueba 4 (**Tabla 6.10**) tuvo una correlación lineal del orden  $R^2 = 0,9067$  (lejana a  $R^2 \approx 1$ ), demostrando que tal deformación no es tan elástica como las pruebas anteriores.

Además de las 4 pruebas realizadas con papel mantequilla, se realizó una prueba de flexión al biomaterial fabricado con forma de cuenco. Y los resultados fueron los siguientes:

**Tabla 6.11.:** Fuerza-Alargamiento del ensayo de flexión del biomaterial en forma de cuenco.

Peso (Kg)	Fuerza (N)	Alargamiento (m)	Alargamiento (mm)
0	0	0	0
0,18	1,764	0,02	20
0,36	3,528	0,024	24
0,54	5,292	0	30



**Figura 6.26:** Gráfica Fuerza-Alargamiento del ensayo de flexión del biomaterial en forma de cuenco.

Los resultados de la prueba 5 en forma de cuenco (**Tabla 6.11**) dan cuenta de la poca elasticidad del biomaterial fabricado, mostrando una correlación lineal  $R^2 = 0,871$ . Obteniendo la menor correlación lineal de todas las pruebas realizadas.

### 6.3.3 Ensayo de absorción de líquido

El objetivo principal de este ensayo era observar cómo se comporta el biomaterial al estar en contacto con líquidos y, de esta manera, determinar si son adecuados para emplearlos en la fabricación de vasos u otros recipientes desechables que contengan líquidos. Los resultados se muestran en la **Tabla 6.12**.

**Tabla 6.12.:** Porcentaje de humedad de las muestras del biomaterial fabricado.

	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Prueba 4
<b>Peso de muestra seca (g)</b>	3,2405	3,9882	5,5038	2,206
<b>Peso muestra húmeda (g)</b>	11,9537	17,6903	23,3013	10,5984
<b>peso (g)</b>	8,7132	13,7021	17,7975	8,3924
<b>% de absorción</b>	268,9 %	343,6%	323,4 %	380,4 %

De los resultados obtenidos, se aprecia que todas las pruebas duplicaron y hasta triplicaron sus pesos al sumergirlo en agua. Además, en todas las pruebas se detectó cómo el agua, al entrar en contacto con cada prueba, iba rompiendo la estructura que los mantenía rígidos. Debido a esto descartamos la idea de emplear estos biomateriales en la fabricación de productos que estén en contacto con líquidos.

## 7 DISCUSIÓN

En la presente investigación tuvo como objetivo realizar una propuesta de envases biodegradables a base de micelio fúngico de hongos de podredumbre blanca de la división Basidiomicetes, para su posible implementación en la industria alimentaria, tomando como referencia al poliestireno expandido, material utilizado a lo largo de los años para el almacenaje de alimentos y que hoy en día está prohibido en Chile. Para ello, se seleccionaron tres cepas de hongos y dos sustratos.

Respecto al crecimiento del micelio en medio sólido compuesto por agar y malta, se pudo observar que *B. chrysosporium* y *B. adusta* colonizan completamente las 10 placas en 7-8 días, mientras que *P. ostreatus* tardó el doble, entre 14-15 días. Al respecto, Suárez en el año 2010 mencionó que, en medio sólido, el micelio del hongo *P. ostreatus* crece más rápido en medio de papa dextrosa agar (PDA), completando la placa en hasta 10 días. Resultados similares obtuvieron Angulo y Mamani en su investigación en el año 2022, quienes confirmaron que los micelios de *P. ostreatus* presentaban un crecimiento radial favorable alcanzando un crecimiento de  $0.33 \text{ mm día}^{-1}$  en el medio PDA.

Sin embargo, en el crecimiento de la cepa *B. chrysosporium* se produjo un desarrollo de micelio aéreo y tuvo una alta tasa de crecimiento en agar y malta, facilitando el proceso de respiración al aumentar la difusión de oxígeno, generando así la energía necesaria para mantener el metabolismo celular, concordando con lo planteado por Rahardjo, *et al.*, en el trabajo realizado el año 2002.

Para la producción del inóculo se utilizó rastrojo de trigo y rastrojo de maíz debido a su disponibilidad en el laboratorio y por su gran cantidad de materia vegetal lignocelulósica compuesta por celulosa, hemicelulosa y lignina, teniendo en consideración que los hongos como organismos quimio heterótrofos necesitan compuestos orgánicos para transformarlos en energía y tomar el carbono necesario para su desarrollo, según lo planteado por Tórtora, *et al.*, en su investigación del año 2007. Al momento de producir el inóculo se observó que, al cabo de 2 meses de realizarse el proceso de cultivo, la cepa que alcanzó un mayor porcentaje de crecimiento fue *P. chrysosporium* con micelio considerado denso. En cuanto a las otras cepas seleccionadas, tanto *B. adusta* y *P. ostreatus*, desarrollaron un micelio

poco denso. Esto podría deberse que, por protocolos de seguridad, el laboratorio desconecta la incubadora cuando el personal se ausenta varios días (fin de semana, feriados, semanas de receso) perdiendo así las condiciones óptimas de crecimiento, que según literatura propone un rango óptimo de 25 °C a 30 °C para el desarrollo de ciertos hongos, lo que pudo ocasionar que el micelio se tardara más en cubrir el sustrato. Asimismo, para un óptimo desarrollo fúngico, autores como Castañeda de León, López y Barba en artículos publicados en el 2012, recomiendan un valor de humedad cercano al 85 %, pero para efectos de este experimento se utilizó la incubadora al 65 %, por lo que no es seguro que los frascos estuvieran en las condiciones propicias para el crecimiento del micelio en el sustrato como se indica en la literatura. Esto se debió a problemas técnicos en el laboratorio, considerando que en el laboratorio solo había una incubadora, y como se trabajó con 30 frascos de 2 litros en un inicio, no todos tenían el espacio suficiente, por ende, se tuvo que dejar cerca de 10 frascos en cajas de plumavit en busca de conservar la temperatura y humedad, de los cuales la mayoría fueron de la cepa *P. ostreatus*, ya que fueron los últimos en ser inoculados.

Cabe señalar que, al momento de saturar el sustrato no se tomó en cuenta la humedad, y que, según Carvajal en su trabajo realizado en el año 2010, plantea que las humedades muy altas ocasionan la compactación del medio, dificultando la transferencia de oxígeno u ocasionan la formación de cuerpos fructíferos mucilaginosos, cualidades que presenta la cepa *B. adusta*.

En las 3 cepas seleccionadas, el trigo fue más eficiente en la producción de inóculo. Este tipo de grano favorece al micelio por tener más vigor, por lo que se considera como un suplemento nutricional. Por otro lado, se atribuye que el mejor desarrollo del hongo en el trigo sin pelar se debería a la presencia de cáscara que es una alta fuente de lignina, nutriente esencial para los hongos de pudrición blanca y factor limitante para otros microorganismos que no son de metabolismo lignocelulósico, según lo expuesto en la publicación de Dávila y Vásquez-Duhalt en el año 2006.

Por otra parte, la tasa de contaminación del total de las muestras fue del orden del 37%, lo que puede deberse a una técnica de bioseguridad deficiente.

Las potencialidades del biomaterial de micelio son amplias, esto se debe a su capacidad de crecer adoptando la forma del molde que lo contiene. El tamaño del molde dependerá de dos factores: la cantidad de biomaterial de micelio que se dispone para llenarlo y el tamaño de la incubadora para continuar el crecimiento de la biomasa fúngica. El molde contenedor debe ser rígido, fácil de limpiar, de material inoxidable, fácil de llenar con sustrato y fácil de desmoldar. Lo recomendado es realizar, como primeras experimentaciones, moldes u objetos simples, sin geometrías complejas, para desarrollar mejor la técnica y el proceso, según lo propuesto por el Laboratorio de biofabricación (FADEU) en el año 2019. Dado lo anterior, las alternativas para los moldes fueron seleccionadas en base a las propiedades de los materiales. Buscando una forma fácil de desmoldar se optó por ocupar papel sulfurizado o papel mantequilla, ya que este presenta propiedades antiadherentes, además de soportar altas temperaturas. Otro material que presentaba condiciones para poder implementarlo en el moldeado y tratado final del material fue el acero inoxidable, teniendo una excelente resistencia a la corrosión, excelente factor de higiene y se pueden utilizar tanto elevadas temperaturas como a través de la criogenia, conclusiones obtenidas por Gamboa en su investigación del año 2000.

Con el molde a base de papel mantequilla se realizaron cuatro pruebas bajo condiciones controladas de crecimiento, el sustrato comenzó a degradarse y la biomasa fúngica se fue desarrollando, creando una capa esponjosa o compacta la cual aglomeró al sustrato. Obteniendo un material compuesto por red entrelazada de fibras naturales presentes en la materia prima y células miceliales filamentosas que otorgan resistencia mecánica y flexibilidad estructural al biomaterial obtenido, concordando con Feijóo et al., en su investigación en el año 2021. Para la obtención del material en la prueba 1 se estableció que el tiempo en el horno había sido excesivo porque el sustrato presentó quemaduras en puntos específicos. Este exceso de tiempo en el horno debió cambiar las propiedades del material, ya que se obtuvo un compuesto altamente quebradizo. La prueba 2 tuvo un mayor periodo de crecimiento en la incubadora, logrando un incremento en la biomasa fúngica de material, además, no se introdujo en el horno antes del desmoldado, por lo que la biomasa micelial desarrollada se mantuvo hasta el producto final. Cabe destacar que el material biobasado obtenido no presentó una sequedad extrema como la prueba anterior, obteniendo un material más elástico y resistente. En las pruebas 3 y 4, el micelio se desarrolló durante más tiempo, considerando que en estas pruebas no se les aplicó presión al momento del moldeado, pero a la prueba 3 si se le aplicó presión al momento de

desmoldarlo, obteniendo un material compacto y blanquecino, ya que durante el periodo de secado el hongo seguía desarrollándose, es decir tuvo un crecimiento total de 13 días antes del desmoldado final. Además, se debe tener en cuenta que a esta prueba no se le aplicó un golpe de calor en ninguna de las etapas del proceso de desmoldado. En la prueba 4 no se obtuvieron resultados nuevos para la experimentación, ya que, a pesar de disminuir el tiempo de secado en el horno, la pieza presentó zonas con leves quemaduras, al igual que pruebas anteriores secadas con esta metodología. Como es recomendado en el manual del Laboratorios de biofabricación del FADEU, las primeras pruebas de moldeado fueron realizadas con el fin de obtener un compuesto con forma simple, en este caso, una lámina. En la prueba final se realizó un moldeado más complejo para obtener un material en forma de cuenco, utilizando como sustrato rastrojo de trigo el cual al tener un tamiz más grande (inadecuado para lo que se buscaba) fue más difícil que tomara la forma del molde. Islam et al., en su investigación del año 2018, considera que el tamaño de partículas de residuos agrícolas utilizadas como sustrato para la producción del compuesto biobasado está muy relacionado con el crecimiento micelial. Existen algunas variables en el desarrollo de la fase experimental para explicar el rendimiento del crecimiento y desarrollo micelial. Uno de ellas es la composición química de los sustratos. Según Geitma & Emons el rastrojo de trigo y de maíz es uno de los sustratos más aconsejados para el crecimiento y desarrollo de los hongos *basidiomycetes*, sin embargo, no obtuvo el crecimiento deseado. Esto pudo ocurrir dado que no se le brindaron las condiciones óptimas al cultivo. Los hongos que realizan la descomposición de materia lignocelulósica requieren de una mayor fuente de carbono que nitrógeno para obtener un ambiente óptimo en sus diferentes etapas de crecimiento y desarrollo, expresado en la investigación de Attias et al., en el año 2017. Algunas acciones que se pueden tomar para obtener mejores resultados son: disminuir el tamaño del sustrato para así aumentar el área en el cual se puede desarrollar el hongo y mantener condiciones aeróbicas en el sustrato, conforme lo propuesto por Danay et al., en el año 2012.

Por último, es importante mencionar que los ensayos físicos y mecánicos de las pruebas del biomaterial fabricado fueron adaptados a los escasos medios de los que disponíamos, tomando como referencia al trabajo de Cárdenas et al., en el año 2022, donde realizaron estos ensayos para medir las propiedades mecánicas de envases desechables biodegradables fabricado con agua, alginato de sodio, cáscaras de huevo ( $\text{CaCO}_3$ ) y conchas de mejillón ( $\text{CaCO}_3$ ), las cuales tuvieron resultados favorables pudiendo calcular la tensión de rotura, el módulo tangente o la resistencia a flexión, caracterizando dicho

material fabricado. Sin embargo, es importante mencionar que los materiales a base de micelio fúngico no cuentan con normas propias para poder ser comparadas con otros materiales. Y si bien, para poder comparar las pruebas realizadas del biomaterial a base de micelio con las propiedades que posee el poliestireno expandido, es útil realizar ensayos de densidad, para efecto de este experimento no fueron tomados en consideración. Sin embargo, se puede apreciar que las gráficas de tensión-deformación tienen zona elástica la cual tiene relación lineal entre la tensión aplicada y la deformación hasta un punto donde pasa a una deformación plástica del material, existiendo una deformación constante independiente si se le aplica tensión. Para el caso del poliestireno expandido, según María Segura Guillén en su estudio del año 2018, los materiales frágiles como el poliestireno expandido prácticamente solo existe zona elástica. De igual forma, si se comparan la máxima tensión de ruptura del biomaterial fabricado (27,44 (Pa)) con la tensión de ruptura del poliestireno expandido de menor densidad, se apreciaría que todas las pruebas realizadas están por muy debajo de la tensión de ruptura del poliestireno expandido, que es 0,8247 (Mpa) para una densidad de 60 ( $\text{kg/m}^3$ ).

## 8 CONCLUSIÓN

Al momento de comparar el crecimiento del micelio en el sustrato, se evidenció un porcentaje de crecimiento fúngico en las tres cepas, las cuales se analizaron de manera cualitativa, concluyendo que la cepa del hongo *P. chrysosporium* fue la que mejor crecimiento tuvo, presentando un desarrollo parejo y blanquecino, colonizando en algunos frascos hasta un 60% del sustrato en 2 semanas, siendo el seleccionado para continuar con el desarrollo del proyecto. Además, cabe destacar, que el micelio producido por esta especie era el más adecuado para los fines del trabajo, ya que, en comparación a las otras cepas, presentaba un micelio frondoso y denso.

En cuanto al crecimiento del micelio en los diferentes moldes, se estableció que el tiempo en la incubadora no fue suficiente para colonizar todo el sustrato y aprovechar al máximo el potencial del hongo. Teniendo en cuenta que la máquina es desconectada los fines de semana por protocolos de seguridad del laboratorio de Biodeterioro y Biodegradación de Materiales de la Universidad de Valparaíso. Se estima que, por esta misma razón, el hongo no se pudo desarrollar al máximo, debido a que estos organismos son altamente exigentes con las condiciones para su desarrollo.

Durante este proceso experimental, se realizaron perfeccionamientos en la metodología de cultivo, pudiendo concluir que la forma adecuada para fabricar este tipo de piezas, bajo las condiciones brindadas en el laboratorio, es con un secado natural aplicando presión, utilizando el horno solo para detener el crecimiento del organismo. Además, se observó que el sustrato no fue mayormente degradado por el hongo, es por esto que se recomienda tamizar el sustrato hasta obtener un menor tamaño.

Para responder el objetivo 3, se llevaron a cabo diferentes ensayos para medir tracción, flexión y % absorción de agua para luego ser comparadas con las características del poliestireno expandido, realizando un análisis cuantitativo y cualitativo del comportamiento del biomaterial. Se comprobó que el biomaterial fabricado no es apto para la retención de líquidos. En cuanto a las pruebas de tracción y flexión, se obtuvo como máxima tensión de

ruptura 27,44 (Pa), la cual está por muy debajo de la tensión de ruptura del poliestireno expandido de menor densidad (0,8247 (Mpa))

El material biobasado confeccionado cumple con algunas características similares al poliestireno expandido, sin embargo, los resultados del objetivo 3, establecieron que estos materiales tienen una gran diferencia en cuanto a su resistencia, obteniendo como respuesta que el material biobasado elaborado bajo estas técnicas, no se puede emplear como una opción de envasado de alimentos. Sin embargo, esto no necesariamente quiere decir que el material no puede ser empleado en la industria, ya que para fines de este informe se realizó la comparación con los estándares del poliestireno expandido pero la Ley 21368 aun no contiene un reglamento que establezca las cualidades de los envases biodegradables aptos para el envasado de alimentos, lo único que está establecido es que debe ser biodegradable. De igual forma, sigue siendo una opción, ya que, cuenta con algunos requisitos para el transporte de alimentos, comprobando que soporta contenidos sólidos, sin embargo, no es apto para almacenar contenidos líquidos, de todas formas, la estructura se puede perfeccionar, utilizando algún impermeabilizante de origen natural, como podría ser la baba de chumbera (nopal) y/o logrando que el micelio fúngico alcance una mayor colonización en el sustrato.

## 9 BIBLIOGRAFÍA

Angulo, F., Mamani, B., & Nova, M. (2022). Crecimiento in vitro de hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*) en diferentes medios de cultivo. Revista de investigación e innovación agropecuaria y de recursos naturales. Vol 9. n° 1.

Archila Diana , Figueroa Gloria. Analisis de la resistencia al corte, tracción, flexión y compresión en probetas de plastico reciclado. Trabajo de grado para optar al titulo de ingeniero civil. Bogota, Colombia. Universidad de la gran Colombia. 2017. 125p.

Berrios, José Enrique. Estudio de prefactibilidad para la creación de una empresa de reciclaje de poliestireno expandido. Proyecto de Título para optar al Título de Ingeniería en Ejecución en Gestión Industrial. Valparaíso, Chile. Universidad Técnica Federico Santa María. 2020.5p.

Billmeyer. Ciencia de los polímeros. 2ª ed. EEUU, Reverté, 2004. 141-144p.

Ceremi, K., Akkaya, K.C., Pohl, C., Schmidt, B., & Neubauer, P. Fungi as source for new bio-based materials: A patent review. Fungal Biology Biotechnology, 6(17), 2019.

Circula el plástico. Guía de comunicaciones: Manual de Coconceptos y Buenas Prácticas Asociadas a la Economía Circular de los Plásticos [en línea] Valparaíso, Chile. <<https://circulaelplastico.cl/publicaciones/guia-de-comunicaciones-manual-de-conceptos-y-buenas-practicas-asociadas-a-la-economia-circular-de-los-plasticos>> [Consulta: 8 de Mayo 2022].

Cuervo, J., & Garzón, J. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. ResearchGate, 6(179):102-162, 2018

Desilva, N., & Phadte, K. Successful outdoor cultivation of a photosensitive wild strain of edible *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummel (Oyster mushroom) from the Western Ghats region of Goa. Nature, 2(5): 61-74, 2010.

Domb, Kost, & Wiseman. Handbook of Biodegradable Polymers. 1ª ed. Estados Unidos, Nueva York, 1997. 331-346p

Ecovative Design. Packaging: Compostable custom molded mycelium [en línea] Nueva York, EEUU. < <https://www.ecovative.com/pages/packaging> > [consulta: 15 abril 2022]

Espinoza, Jose. Extracción y caracterización de lignina de paja de trigo (*triticum durum*) y uso para mejorar las propiedades funcionales de películas de almidón. Tesis para optar al grado de doctor en ciencias de los alimentos. Sonora, Mexico. Universidad de Sonora. 2015. 140p.

Ferret, Juan. Material biobasado, compuesto del micelio del hongo *Trametes Versicolor* y cáscaras de nuez *Juglans Regia*. Informe de proyecto para optar al título de Diseñador Industrial de la Universidad de Chile, Santiago, Chile. Universidad de Chile Facultad de Arquitectura y Urbanismo Carrera de Diseño. 2020. 125p.

Fuentes Ignacio, Cantillana Monereo. Bio Fabricación. Micelio como material de construcción: biocomposite en sustratos lignocelulósicos. Trabajo Fin de Grado. Madrid, España. Escuela Técnica Superior de Arquitectura de Madrid. 2020. 116 p.

Funabashi, M., Ninomiya, F., & Kunioka, M. Biodegradability Evaluation of Polymers by ISO 14855-2. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(8): 3635-3654, 2009.

Fundación Chile. Guía de comunicaciones: Manual de Coconceptos y Buenas Prácticas Asociadas a la Economía Circular de los Plásticos. 1ª ed. Chile Circula el plástico. 2020.

Fundación Chile. Pacto Chile de los Plásticos. 1ª ed. Chile, 2020. 21-27p

Gadhve, Das, Mahanwar, Gadekar. Starch Based Bio-Plastics: The Future of Sustainable Packaging. 2ª ed. India, Scientific Research Publishing, 2018. 52p

- Getachew, A., & Woldesenbet, F. Production of biodegradable plastic by polyhydroxybutyrate (PHB) accumulating bacteria using low cost agricultural waste material. *BMC Res Notes*, 9(509): 1-3, 2016.
- Hernandez, C., Perez, E. & Heredia, E. (2011). Sorgo como un cultivo multifacetico para la producción de bioetanol en mexico: Tecnologías, avances y áreas de oportunidad. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* . Vol 10. N° 3. 529- 549.
- Kiesel, Pablo. Industrias petroquímicas “Poliestireno Expandido”. Tesis para optar al grado de Ingeniero Químico .Buenos Aires, Argentina. Universidad de Buenos Aires. 2005.
- Laboratorio de biofabricación FADEU. Manual de biofabricación con hongos. 1ª edición. Chile, RedFungi, 2019. 19-39p
- Laboratorio de biofabricación FADEU. Textiles de hongos y equipo científico de libre acceso.1ª edición. Chile, RedFungi, 2020. 34-40p
- Leceta, I., Etxabide, A., Cabezudo, S., de la Caba, K. , & Guerrero, P. Bio-based films prepared with by-products and wastes: environmental assessment. *Journal of Cleaner Production*, 6(367):5-8, 2019.
- Lelivelt, R. The mechanical possibilities of mycelium materials. Master en diseño de estructuras. Eindhoven, Países Bajos. Eindhoven University of Technology, 2015. 45-60p
- Luna, Jerson & Muñoz, Ana. Elaboración de un material compuesto biodegradable mediante colonización fúnica de *Ganoderma lucidum* en fibras naturales. Trabajo de grado en la modalidad de Investigación para optar al título de Ingeniero Agroindustrial. Popayan, Colombia. Universidad del cauca. 2019. 142p.
- Macleod, M., Peter, H., Tekman, M.B., & Jahnke, A. The global thrat grom plastic pollution. *Science*, 373(6550):61-65, 1996.
- Medina, José Enrique Berríos. Estudio de factibilidad para la creación de una empresa de reciclaje de poliestireno expandido. Trabajo de Titulación para optar al Título Profesional

de Ingeniero de Ejecución en gestión industrial. Valparaíso. Chile. Universidad técnica Federico Santa María. 2020. 64p.

Montecino, Cristobal. Techumbre en base de micelio de hongo. Tesis para optar al título de Arquitecto y grado de magíster en Arquitectura Sustentable y Energía. Santiago, Chile. Pontifice universidad catolica de chile. 2022. 23p.

Mujica, F., & Vergara, C. Flora fungosa chilena. 2ª ed. Chile, Universidad de Chile, 1980. 365-376p.

Nakajima, H., Dijkstra, P., & Loos, K. (2017). The recent developments in biobased polymers toward general and engineering applications: Polymers that are upgraded from biodegradable polymers, analogous to petroleum-derived polymers, and newly developed. Polymers (Basel).

Orellana, Sofía. Componente de micelio para cubierta. Proyecto de título para opta al título de Magíster en Arquitectura Sustentable y Energía MASE, Valparaíso, Chile. Pontificia Universidad Católica de Chile Facultad de Arquitectura, Diseño y Estudios Urbanos. 2021. 42p.

Peelman, N., Ragaert, P., De Meulenaer, B., & Adons, D. Application of bioplastics for food packaging. Trends in Food Science and Technology, 28(6): 34-123, 2013.

Pérez, Natalia; Garnica, Paul; Pérez S, Alfonso; Juárez, Raquel; Castro, Federico. Evaluación de las propiedades mecánicas del poliestireno expandido. Tesis para optar al grado de ingeniero en construcción. Sanfandila. México. Publicación Técnica N°. 476. 2016.56p

Piché. *Mycologie générale BIO-16595. Guide de l' étudiant* Faculté de Foresterei et de Geomatique. 1ª ed. Quebec, Canada.: Université Laval, 2003.

Piña, A, Nieto, D & Robles, F. (2016). Utilización de residuos agrícolas y agroindustriales en el cultivo y producción del hongo comestible seta ( *Pleurotus spp*). RICA. 141-151.

Quintero, J., Feijoo, G. & Lema, J. (2006). Producción de enzimas ligninolíticas con hongos basidiomicetos cultivados sobre materiales lignocelulósicos. *Revista de la facultad de química farmacéutica de la universidad de Antioquia*. 61-67.

Reddy, M.M., Vivekandhan, S., Misra, M., Bhatia, S.K., & Mohanty, A.K. Biobased plastics and bionanocomposites: Current status and future opportunities *Science*, 5(7): 97-120, 2013.

Ríoz, W., Valdez, R & Jiménez, J. (2017). Aislamiento, propagación y crecimiento de hongos comestibles nativos en residuos agroindustriales. *Scientia Agropecuaria*. Vol 8. 327 – 335p.

Rodríguez, S., & De Pablo, C. *Textiles de Hongos y Equipo Científico de Libre Acceso*. Guía Micotextil. Retrieved.2019. 16-38-77p.

Rodríguez Jara, S. (2017) Material biobasado compuesto por el micelio de hongos descomponedores de madera y residuos agroindustriales. *RChD: creación y pensamiento*, 3(5), 1-15.

Rojas Ramírez, L. (2013). Los basidiomicetos: una herramienta biotecnológica promisoría con impacto en la agricultura *Fitosanidad*, vol. 17, núm. 1, 49-55.

Romero, María Paz. Desarrollo de un biomaterial compuesto por micelio de hongo de podredumbre blanca y desecho lignocelulósicos. Tesis para optar al Grado de Licenciado en Ciencias de la Construcción y al Título de Ingeniero Constructor. Valparaíso. Chile. Universidad de Valparaíso.2020. 52-70p.

Saltos, MS; Mendieta, R; Roberty, I; Intriago, ME; De La Cruz, A; López, MR. 2017. Evaluación del crecimiento micelial y productivo de *Pleurotus sapidus* a nivel in vitro y sobre residuo de maíz (*Zea mays*) [en línea]. *Revista Agricultura y Silvicultura*. <<https://revistas.utm.edu.ec/index.php/latecnica/article/view/954/904>> [Consulta: 11 ago. 2022]

Segura, María. Estudio del comportamiento mecánico de espumas de poliestireno. Trabajo fin de grado para optar al título de arquitecto. Zaragoza, España. Escuela de Ingeniería y Arquitectura, Universidad de Zaragoza. 2018. 56p.

Sharma, C., Manepalli, P.H., & Thatte, A. Biodegradable starch/PVOH/laponite RD-based bionanocomposite films coated with graphene oxide: Preparation and performance characterization for food packaging applications. *ResearchGate*, 28(5): 16-17, 2017

Tipán, Carina. Evaluación del crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* con el uso de un sustrato de rastrojo de maíz con composición variable de papel. Proyecto previo a la obtención del título de ingeniería química. Quito, Ecuador. Escuela Politécnica Nacional. 2016. 107p.

Tortell, P. *Earth 2020: An Insider's Guide to a Rapidly Changing Planet*. 1ª ed. Cambridge, UK: Open Book Publishers, 2020. 361p.

Villegas, V., Pérez, A. & Arredondo, C. (2017). Evaluación del crecimiento de *Lentinula edodes* en medios de cultivo sólidos para la producción de micelio como inóculo. *Revista Colombiana Biotecnología* Vol. IX No. 2. 8p.

Vijayendra, S., & Shamala, T. Film forming microbial biopolymers for commercial applications--a review. *Critical Reviews in Biotechnology*. National Center for Biotechnology Information, 2(127):5-7, 2014.