

Universidad Nacional de Costa Rica

Facultad de Ciencias de Tierra y Mar

Escuela de Ciencias Ambientales

Licenciatura en Gestión Ambiental con énfasis en Ingeniería Sanitaria

**Evaluación *in vitro* del uso del hongo *Pleurotus ostreatus* como  
tratamiento alternativo de los residuos orgánicos generados por la  
agroindustria de aceite de la palma.**

Proyecto de graduación para optar por el grado de Licenciatura en Gestión Ambiental con énfasis en Ingeniería Sanitaria

Presentado por:

Fabiola Villalobos Quirós

Heredia, Costa Rica

Noviembre, 2022

Trabajo de graduación aprobado por el Tribunal Examinador de la Escuela de Ciencias Ambientales de la Universidad Nacional, para optar al grado de Licenciatura en Gestión Ambiental con énfasis en Ingeniería Sanitaria.

## **MIEMBROS DEL TRIBUNAL EXAMINADOR**

---

M.Sc. Lilliam Quirós Arias

Representante del Decanato de la Facultad de Ciencias de Tierra y Mar

---

M.Sc. José Félix Rojas Marín

Representante de la Dirección de la Escuela de  
Ciencias Ambientales

---

M.Sc. Ligia Dina Solís Torres

Tutora del proyecto

---

M.Sc. Marianelly Esquivel Alfaro

Lectora del proyecto

---

Dr. Gilberto Piedra Marín

Lector del proyecto

---

Fabiola Villalobos Quirós

Postulante

## RESUMEN

Se realizó un estudio con el objetivo de evaluar la degradación de los residuos del proceso productivo de aceite de palma africana mediante el uso del hongo *Pleurotus ostreatus* en un análisis preliminar *in vitro*. Para ello se tomó una muestra de fibra de pinzote proveniente de la planta extractora de la empresa Palma Tica ubicada en Quepos, Puntarenas. Dicho residuo es el único que actualmente no recibe un aprovechamiento y este genera problemas debido a su lento proceso de degradación y la proliferación de plagas.

Inicialmente, se realizaron análisis físico-químicos con el fin de establecer las propiedades del residuo. Se obtuvo que, este presenta un 96,2% de materia orgánica, 52% de humedad, 55.79% de carbono y 3% de aceites. En cuanto a materiales lignocelulíticos tiene un 43.89% de celulosa, 25.34% de hemicelulosa y 6.21% de lignina. Contiene porcentajes de fibra relativamente altos (76,1% FND y 50,76% FAD). Adicionalmente, los análisis de nutrientes minerales reflejan que el macronutriente que se encuentra en mayor cantidad es el potasio (1.01%), seguido por el nitrógeno (0.65%), calcio (0.13%), magnesio (0.07%), fósforo (0.06%), y azufre (0.05%). En cuanto a los microelementos, se encontró un muy alto contenido de hierro (829 ppm) y muy bajo contenido de boro (7 ppm).

Seguidamente, se realizó un bioensayo donde se sometió la fibra de pinzote a la acción del hongo *Pleurotus ostreatus* y se evaluó su degradación mediante observación cualitativa y determinación de la relación carbono nitrógeno (C/N). En esta fase, se demostró que el hongo *P. ostreatus* es capaz de utilizar la fibra de pinzote como sustrato y degradarla eficientemente en condiciones controladas y estériles, obteniendo un tiempo de corrida de micelio de 21 días y una relación C/N de 11.76. Por otro lado, al haber presencia de otros microorganismos, el hongo *P. ostreatus* presenta un bajo crecimiento y disminuye la eficiencia de degradación de la fibra, obteniendo una relación C/N final de 29.45.

Por último, se determinó la viabilidad del producto degradado en condiciones de laboratorio para su uso como abono orgánico mediante el análisis de nutrientes y la obtención de relaciones entre los elementos de la fertilidad. De manera que, en el ensayo con condiciones controladas y estériles se obtiene un producto viable para su uso como abono orgánico, dado que cuenta con una adecuada relación C/N y un aporte de nutrientes más balanceado que los controles del ensayo.

## AGRADECIMIENTOS

A mi tutora M.Sc. Ligia Dina Solís Torres por brindarme su apoyo, enseñanzas, motivación, paciencia y retroalimentación durante todo este proceso.

A mis lectores M.Sc. Marianelly Esquivel Alfaro y Dr. Gilberto Piedra Marín por todo el apoyo, aportes y retroalimentación brindados.

Al Laboratorio de Microbiología de la Escuela de Biología por la donación de la cepa del hongo *P. ostreatus*.

A la empresa Palma Tica por la donación de la muestra de fibra de pinzote.

Al Laboratorio de Hidrogeología y Manejo de Recursos Hídricos, al Laboratorio de Ecología Aplicada de la Escuela de Ciencias Ambientales; al Laboratorio de Control Biológico de la Escuela de Ciencias Agrarias y al Laboratorio de Investigación y Tecnología de Polímeros de la Escuela de Química por su apoyo con asesoría, uso de instalaciones y de equipo de laboratorio.

Al Laboratorio de Análisis de Productos Animales y Vegetales de la Escuela de Ciencias Agrarias por su colaboración con análisis de muestras.

Al Centro de Investigaciones Agronómicas por su capacitación sobre hongos comestibles y colaboración con el análisis de muestras.

A la Lcda. Jeanina Rubí Morera por su apoyo, colaboración, y motivación a lo largo de esta etapa académica.

A todos mis seres queridos, quienes me han apoyado e impulsado durante el proceso. Este proyecto no habría sido posible sin su ayuda.

A Dios y a la vida por esta experiencia y por todo el aprendizaje obtenido.

# TABLA DE CONTENIDO

---

|  |     |
|--|-----|
| RESUMEN.....   | iii |
| AGRADECIMIENTOS.....   | iv  |
| I. INTRODUCCIÓN.....   | 1   |
| Antecedentes.....  | 2   |
| Justificación.....   | 4   |
| Descripción del problema.....  | 5   |
| Problemas específicos o secundarios.....                                     | 5   |
| Objetivos.....   | 6   |
| Objetivo general.....  | 6   |
| Objetivos específicos.....   | 6   |
| II. MARCO TEÓRICO.....   | 7   |
| Generalidades de la Palma Aceitera.....                                      | 7   |
| Características del fruto y su importancia económica.....                    | 7   |
| Cadena productiva de la palma africana en Costa Rica.....                    | 8   |
| Preproducción.....   | 8   |
| Cultivo.....   | 9   |
| Procesamiento de la fruta.....   | 10  |
| Biomasa generada en el proceso de extracción de aceite.....                  | 11  |
| Racimos vacíos (RV).....   | 13  |
| Casarilla.....   | 13  |
| Fibra de mesocarpio.....   | 14  |
| Efluentes.....   | 14  |
| Gestión de la biomasa generada.....  | 15  |
| Marco jurídico aplicable.....  | 15  |
| Datos de generación y manejo.....  | 16  |
| Uso de microorganismos como alternativa de manejo de residuos vegetales..... | 17  |
| <i>Pleurotus ostreatus</i> .....   | 18  |
| Cultivo del hongo en residuos lignocelulósicos.....                          | 18  |
| Efectos del hongo en la descomposición de materia orgánica.....              | 19  |
| III. METODOLOGÍA.....  | 20  |
| Tipo de investigación y enfoque:.....  | 20  |
| Objeto de estudio.....   | 20  |
| Fase I: Análisis composicional del residuo.....                              | 21  |
| Preparación de la muestra.....   | 21  |

|   |    |
|---|----|
| Análisis químicos .....   | 21 |
| Fase II. Inoculación de muestra de residuos con <i>P. ostreatus</i> ..... | 22 |
| Cultivo del hongo .....   | 22 |
| Preparación de ensayos .....  | 23 |
| Análisis de la degradación de los residuos .....                          | 24 |
| Fase III. Caracterización del producto degradado .....                    | 25 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....  | 27 |
| Fase I: Análisis composicional del residuo .....                          | 27 |
| Fase II. Inoculación de muestra de residuos con <i>P. ostreatus</i> ..... | 30 |
| Cultivo del hongo .....   | 30 |
| Montaje de ensayos y análisis de la degradación de los residuos .....     | 31 |
| Fase III. Caracterización del producto degradado .....                    | 39 |
| V. CONCLUSIONES .....   | 42 |
| VI. RECOMENDACIONES .....   | 43 |
| VII. REFERENCIAS .....  | 44 |
| VIII. APÉNDICES .....   | 53 |
| IX. ANEXOS .....  | 55 |

## Índice de Cuadros

|   |    |
|---|----|
| Cuadro 1. Plantas extractoras de aceite de palma en Costa Rica. ....  | 10 |
| Cuadro 2. Porcentaje de residuos generados por un racimo de fruta fresca (RFF) en el proceso de extracción de aceite. ....  | 11 |
| Cuadro 3. Composición de la biomasa residual sólida de la industria de la palma aceitera. ....  | 12 |
| Cuadro 4. Características físico-químicas del efluente previo al tratamiento en las lagunas de oxidación, Planta Procesadora Palo Seco, división Quepos, Costa Rica. ....           | 15 |
| Cuadro 5. Manejo de los residuos de la extracción de aceite de palma durante el año 2006. ....  | 16 |
| Cuadro 6. Métodos de determinación de los análisis químicos realizados en las muestras de fibra de pinzote. ....  | 22 |
| Cuadro 7. Preparación de los ensayos para la evaluación del efecto de <i>P. ostreatus</i> en los residuos agroindustriales de la palma aceitera. ....                               | 23 |
| Cuadro 8. Valoración cualitativa del crecimiento del hongo <i>P. ostreatus</i> en las muestras. ....  | 25 |
| Cuadro 9. Composición general de la muestra de fibra de pinzote obtenidos en el presente estudio en comparación con valores reportados por otros autores. ....                      | 27 |
| Cuadro 10. Porcentajes de materiales lignocelulíticos. FND y FAD en fibra de pinzote obtenidos en el presente estudio en comparación con valores reportados por otros autores. .... | 28 |
| Cuadro 11. Análisis de nutrientes presentes en fibra de pinzote obtenidos en el presente estudio. ....  | 29 |

|  |    |
|--|----|
| Cuadro 12. Evaluación cualitativa del crecimiento del hongo <i>P. ostreatus</i> durante el periodo del ensayo de degradación. .... | 32 |
| Cuadro 13. Valores de la relación C/N en las muestras al inicio y al final del ensayo. ....  | 37 |
| Cuadro 14. Análisis de los elementos de fertilidad del suelo en los ensayos al finalizar los 70 días.....                          | 39 |
| Cuadro 15. Análisis de las relaciones de los elementos de fertilidad del suelo en los ensayos al finalizar los 70 días. ....       | 41 |

## Índice de Figuras

|  |    |
|--|----|
| Figura 1. Partes del fruto de la palma africana. ....  | 8  |
| Figura 2. a) Racimos de fruta fresca o RFF, b) racimos vacíos y c) fibra de pinzote. ....  | 13 |
| Figura 3. a) Fibra de mesocarpio y b) cascarilla de la fruta de aceite de palma. ....  | 14 |
| Figura 4. Cepas iniciales de <i>P. ostreatus</i> obtenidas del Laboratorio de Microbiología de la Escuela de Biología. Se observan las dos placas inoculadas con el hongo en el día 0 (a.), crecimiento del hongo a una semana de incubación (b.) y colonización total de la placa a las dos semanas de incubación (c.)..... | 30 |
| Figura 5. En la imagen de la izquierda (a.) se observan los medios líquidos inoculados con el micelio proveniente de las placas totalmente colonizadas y en la imagen de la derecha (b.) se observa el medio a los 15 días, donde se aprecia el crecimiento del micelio. ....  | 31 |
| Figura 6. Fotos de los controles del ensayo durante distintas semanas. ....  | 33 |
| Figura 7. Muestras de placas Petri con el cultivo de los microorganismos que contaminaron los controles (a y b) e identificación mediante microscopia de <i>Penicillium sp.</i> y <i>Trichoderma sp.</i> (c y d, respectivamente).....   | 34 |
| Figura 8. Fotos de las muestras del ensayo 5-E durante distintas semanas. ....   | 36 |
| Figura 9. Gráfico de relación C/N en las muestras de la semana 0 a la 10. ....   | 38 |

## Índice de Apéndices

|  |    |
|--|----|
| Apéndice 1. Determinación de carbono, nitrógeno, relación C/N y prueba de valores atípicos según método de Grubbs, realizado a las muestras al inicio del ensayo (semana cero). .... | 53 |
| Apéndice 2. Determinación de carbono, nitrógeno, relación C/N y prueba de valores atípicos según método de Grubbs, realizado a las muestras al final del ensayo (semana 10).....     | 54 |

## Índice de Anexos

|   |    |
|---|----|
| Anexo 1. Composición química de la fibra de pinzote de Palma Tica, Planta Naranja, año 2006. .... | 55 |
| Anexo 2. Composición química de la fibra de pinzote de Coopeagropal, año 2008.....                | 55 |

# I. INTRODUCCIÓN

---

El aceite de palma es uno de los principales productos oleaginosos a nivel mundial, lo cual se atribuye a su alta productividad en relación con otras plantas oleaginosas (International Union of Food (IUF), 2015). El producto obtenido tiene gran diversidad de usos, como la elaboración de aceites de cocina, margarinas, concentrado para animales, elaboración de jabones, producción de biocombustibles, entre otras aplicaciones.

En Costa Rica, la industria de la palma inició durante la década de 1940 en la Región Pacífico Sur y posteriormente en la Región Huetar Caribe por parte de la Compañía Bananera de Costa Rica (Solórzano, 2019). A partir de esa época, la actividad ha venido en crecimiento en el país, tomando un gran peso dentro del sector de exportación y con esto generando un aporte significativo al producto interno bruto (PIB), además de ser una fuente de empleo para muchas personas tanto en los cultivos como en las plantas extractoras de aceite de palma y de palmiste de diferentes localidades.

Sin embargo, esta industria también provoca un impacto ambiental, el cual diversos autores atribuyen al uso de plaguicidas, a la expansión de monocultivos, erosión de suelos y fragmentación de bosques (Ramírez, Piedra, Morales y Orozco, 2017; Mack, 2019). Los impactos ambientales descritos anteriormente se encuentran asociados al cultivo de la palma y generalmente no se contemplan los impactos asociados a la extracción del aceite. No obstante, de acuerdo con Clare (2011) el procesamiento de la fruta es la etapa de la producción en la que se genera la mayor cantidad de residuos sólidos y líquidos.

En el proceso de desfrutado de la palma se generan cuatro tipos principales de residuos: los racimos vacíos (conocidos como tuza, raquis o pinzote), la fibra del mesocarpio, la cascarilla de la nuez y las aguas residuales. De acuerdo con Ramírez *et al.* (2015), la biomasa residual representa aproximadamente un 40% de los racimos de fruta fresca (RFF), mientras que el aceite de palma corresponde únicamente a un 18-26 % (Borasino, 2016).

Como se puede observar, este proceso genera gran cantidad de residuos; por lo tanto, la presente investigación se centró en la búsqueda de una alternativa para el aprovechamiento de estos subproductos con el fin de disminuir las dificultades actuales de su manejo y posible impacto ambiental.



## **ANTECEDENTES**

De los residuos generados en la producción de aceite de palma, los residuos que más han generado problemas para su manejo han sido el raquis y los efluentes. De acuerdo con Clare (2011), el primero inicialmente se lanzaba al mar, luego se reemplazó esta medida por la incineración, la disposición en botaderos y/o patios de acopio. Por su parte, hasta 1984 los efluentes grasosos eran depositados en ríos sin ningún tipo de tratamiento; sin embargo, posteriormente se implementó el uso de lagunas de oxidación (Clare, 2011). Por otro lado, la fibra y la cáscara han sido aprovechadas históricamente para la alimentación de calderas debido a su alto poder calórico (Coto, 2013 y Clare, 2011).

Desde los inicios de la producción de aceite de palma en el país, los residuos generados han sido estudiados con el fin de incrementar su aprovechamiento. Estos estudios se han dividido en dos grandes líneas de investigación a lo largo de los años; la primera se ha enfocado en la fabricación de productos no relacionados con la cadena productiva de la palma y la segunda se ha centrado en la reincorporación de los residuos al proceso productivo.

Con respecto a la primera línea de investigación, Clare (2011), reporta que durante la década de 1980 la cascarilla de coquito fue uno de los elementos más estudiados en el país para desarrollar productos de valor agregado; se logró determinar que era viable elaborar carbón activado a partir de este material, pero esto no se llegó a implementar. Durante este mismo periodo, también se comenzó a investigar la posibilidad de crear tableros de construcción con los racimos vacíos, pero el volumen de producción en ese momento no hacía rentable esta alternativa (Clare, 2011).

Hernández (2010), retomó la investigación de la elaboración de tableros de fibra de madera de densidad media (MSD), pero usando tanto la cascarilla como el raquis, obteniendo productos de buena calidad; sin embargo, no incorporó aspectos de viabilidad económica de acuerdo con el nivel de producción actual. Asimismo, una investigación similar realizada en Ecuador por Mejía (2012), se centró en la preparación de tableros de raquis; los resultados mostraron que los aglomerados obtenidos presentaron pobre estabilidad con respecto a la humedad.

En los últimos años también se han evaluado otros usos para el raquis o pinzote, entre los cuales destacan: la fabricación de papel y sus derivados (Rojas, 2011; Sánchez, 2011), el tratamiento de aguas residuales de la industria textil (Pineda, 2012) y la obtención de bioetanol (Quesada, 2015 y Charpentier, 2019). Para este último uso, se reportaron estudios en Colombia que han utilizado tanto

pinzote como cascarilla y fibra (González, Jiménez, Rodríguez, Restrepo y Gómez, 2008). Sin embargo, no se han encontrado registros de la aplicación de estas alternativas a nivel industrial, lo cual se puede atribuir a que la mayor parte de estas investigaciones son de carácter experimental y/o exploratorio, por lo que aún es necesario que se realicen más estudios para poder verificar si su ejecución en campo es viable en términos económicos y técnicos.

Por su parte, la segunda línea de investigación, también se ha centrado mayormente en estudiar los posibles usos del raquis; en este caso para reincorporarlo al proceso productivo. En Costa Rica esta comenzó en la década de 1980, se estudió su uso para el abastecimiento de calderas con resultados poco prometedores y con la indagación de su uso como fertilizante de los cultivos de palma con base en resultados de autores malayos y de otras regiones (Clare, 2011).

Entre los resultados más importantes en esta área, inicialmente se determinó que al elaborar compost con fibra de pinzote y efluentes del proceso se obtiene un producto rentable y de buena calidad (Torres, Chinchilla y Ramírez, 1999; Torres, Acosta y Chinchilla, 2004). Por otro lado, también se ha investigado el uso de microorganismos, como *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju* y *Thricoderma spp.*, para acelerar la descomposición de los raquis de palma por medio de la degradación de la lignina; ya sea para utilizar el producto obtenido como abono o para darle otros usos (Syafwina, Honda, Watanabe, y Kawahara, 2002; Siddiquee, Shafawati y Naher, 2017; Yahaya, Hossain, y Edyvean, 2017, entre otros). Adicionalmente, Arguedas (2012) propuso el uso de microorganismos eficientes para la elaboración de un compost que incorpore los cuatro residuos más importantes de esta industria (raquis, efluentes, cascarilla y fibra).

De las alternativas anteriores, la única que se ha implementado en Costa Rica es la elaboración de compost a partir de pinzote y efluentes (Clare 2011). En cuanto al uso de esta práctica, Ramírez *et al.*, (2007) reportó que un 67,5% del raquis producido en el país se usaba como abono y el resto se desechaba.

Esta alternativa también se ha popularizado en otros países productores de palma, como es el caso de Colombia, donde el 15% de la tuza es usada para elaborar compost, un 83% se utiliza como acondicionador de suelos y los otros usos incluyen la disposición en centros de acopio y alimentación de calderas (Ramírez *et al.*, 2015 y Galindo y Romero, 2012).

## JUSTIFICACIÓN

Como se mencionó anteriormente, el compostaje es la alternativa de manejo que se ha aplicado a mayor escala, tanto en Costa Rica como en otros países. Sin embargo, de acuerdo a Siddiquee *et al.* (2017), aun utilizando esta tecnología, el proceso puede tardar meses e incluso años; esto se debe a que la biomasa generada contiene una alta proporción de carbono/nitrógeno (C:N) y de macromoléculas como celulosa y lignina, los cuales actúan como barreras contra la degradación natural.

En cuanto al uso de esta y otras tecnologías de aprovechamiento de los residuos, se encontró que COOPEAGROPAL ha intentado utilizar el raquis para hacer compostaje y para alimentar calderas; pero no han tenido éxito en ambos casos debido a la generación de lixiviados y a que su alto contenido de silicio provoca incrustaciones en las calderas, respectivamente (Sánchez, 2011). Adicionalmente, Gutiérrez, encargado del sistema integrado de gestión de dicha empresa, menciona que, el residuo biomásico de la extracción del aceite se envía a un patio de residuos; esto genera problemas debido al volumen generado, el tiempo de degradación (puede llegar hasta tres años), la atracción de plagas, y por ende el uso de plaguicidas (comunicación personal, 22 de setiembre, 2017).

En el caso de Palma Tica, esta empresa tampoco tuvo éxito al elaborar compost con estos residuos debido a los costos económicos y operativos que se generaban; por lo tanto, actualmente los almacenan y disponen en campo, para su descomposición (Gabriel Oporta, comunicación personal, 25 de abril, 2018). Sin embargo, de acuerdo con el entrevistado, esta técnica provoca la proliferación de moscas y requiere un tiempo de degradación de aproximadamente dos años.

Aunado a esto, se debe tomar en cuenta que el cultivo de la palma ha venido en aumento desde sus inicios y actualmente ocupa el segundo lugar en hectáreas sembradas a nivel nacional, con una extensión de 76 610 ha (Vargas *et al.*, 2020 y Mora *et al.*, 2021). En consecuencia, es de esperar que el volumen de los residuos haya incrementado. Si esta tendencia continúa, el manejo de la biomasa generada presentará aún mayor dificultad, debido a la cantidad de espacio físico que se requerirá para tratarlos, tomando en cuenta su lento proceso de degradación.

Debido a la problemática presentada, se plantea el uso del hongo *Pleurotus ostreatus* como alternativa para acelerar el proceso de descomposición de los subproductos de la elaboración de aceite de palma. Se eligió este organismo por su capacidad de degradar materiales lignocelulíticos

(Mihai, Melo, Florescu y Catana, 2022). Otro factor importante fue la existencia de estudios previos del hongo en palma africana (Marlina, Sukotjo y Marsudi, 2016 y Yahaya *et al.*, 2017) e investigaciones de la Universidad Nacional en sustratos como la piña y el café (Rojas, 2015; Fajardo, 2016; Quesada, 2017, Rubí, 2020). Esta propuesta tiene la ventaja de que, además de descomponer los residuos, se les puede dar un valor agregado como sustrato para la producción del hongo, para la elaboración de compost e incluso para otras aplicaciones.

## **DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA**

Debido a que las tecnologías aplicadas en la actualidad no han logrado atacar las dificultades en el tratamiento de los residuos generados por la agroindustria de la palma, se definió el siguiente problema de investigación:

¿Puede el hongo *Pleurotus ostreatus* ser utilizado como una alternativa efectiva para acelerar la degradación de los subproductos orgánicos provenientes de la agroindustria de la palma africana?

### Problemas específicos o secundarios

1. ¿Cuáles son las propiedades químicas de los residuos generados en el proceso productivo de la palma africana?
2. ¿Cuáles serían los efectos del hongo sobre una muestra de dichos residuos inoculada en condiciones de laboratorio?
3. ¿Tiene el producto degradado, las características fisicoquímicas necesarias y suficientes para constituir un abono orgánico?

## **OBJETIVOS**

### Objetivo general

Evaluar la degradación de los residuos generados en el proceso productivo de aceite de palma africana utilizando el hongo *Pleurotus ostreatus* mediante un análisis preliminar *in vitro* para el desarrollo de una nueva tecnología de gestión.

### Objetivos específicos

1. Realizar una caracterización de los residuos generados en el proceso productivo de aceite de palma africana mediante análisis fisicoquímicos para el establecimiento de las propiedades de la biomasa.
2. Determinar el efecto *in vitro* de la aplicación del hongo *Pleurotus ostreatus* sobre los residuos a través del análisis de la relación carbono / nitrógeno para la determinación de la degradación producida.
3. Determinar la viabilidad del producto degradado mediante un análisis nutricional para su uso alternativo como abono orgánico.

## II. MARCO TEÓRICO

---

### GENERALIDADES DE LA PALMA ACEITERA

La especie *Elaeis guineensis* Jacq, también conocida como palma aceitera o palma africana, es una planta monocotiledónea de la familia Palmaceae originaria de África Occidental. Esta planta se caracteriza porque puede llegar a alcanzar los 40 m de alto con un diámetro de 30 a 60 cm, posee un tallo recubierto por cicatrices de hojas viejas; las cuales son pinnadas y pueden llegar a alcanzar longitudes de 4 a 5 m (Mejía, 2012).

La palma africana es una especie monoica que produce inflorescencias masculinas y femeninas por separado (Vargas *et al.* 2020). Esta última se convierte en un racimo con frutos maduros por medio de la fecundación con el polen de plantas vecinas, lo cual ocurre cinco meses después de la apertura de las flores (Quesada, 2002).

Existen tres variedades principales a nivel mundial llamadas Dura, Tenera y Pasífera o Pisífera; cada una presenta porcentaje de aceite, porcentaje de pulpa, dureza y tamaño de la nuez diferente (Mack, 2019).

### Características del fruto y su importancia económica

El fruto de la palma tiene una apariencia similar a la de un pejibaye y está compuesto por: “un exocarpio o piel lisa brillante, un mesocarpio o pulpa amarillo-anaranjada muy aceitosa, un endocarpio o cáscara dura de color negro y el endospermo que envuelve de una a cuatro almendras (coquito)” (Clare, 2011). De acuerdo con Sierra-Márquez *et al.* (2017), cientos de estos frutos se encuentran unidos por medio del racimo y estos presentan un color rojizo al alcanzar el estado de madurez.

Este producto es de suma importancia porque a partir de la pulpa y la almendra, se extrae el aceite de palma crudo y el aceite de palmiste, respectivamente.

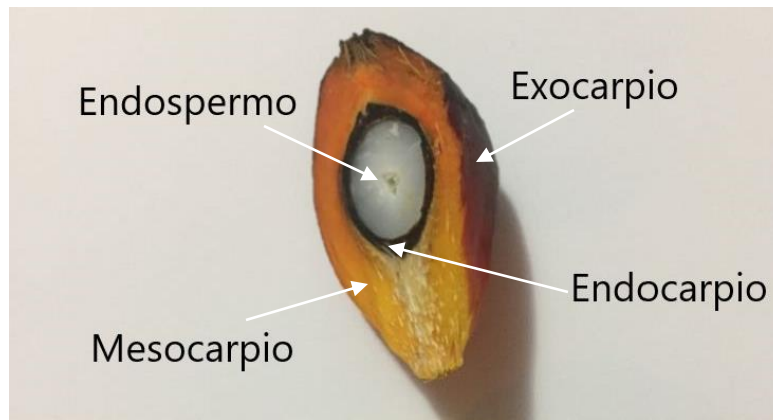


Figura 1. Partes del fruto de la palma africana.

Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con Ramírez *et al.* (2017), la producción de aceite que genera es hasta diez veces mayor a la de otros cultivos. Adicionalmente, Borasino (2016), indica que este aceite tiene otras ventajas como: que no necesita hidrogenarse y puede ser usado para producir alimentos con una menor composición de ácidos grasos trans.

El aceite de palma es uno de los principales productos oleaginosos a nivel mundial debido a su alto rendimiento de producción, la mayor parte de este producto tiene su origen en Indonesia y Malasia, le siguen Tailandia, Nigeria y Colombia y posteriormente otros países; entre los cuales se encuentra Costa Rica (Borasino, 2016). En el país esta actividad es de suma importancia, ya que beneficia de forma directa a cerca de 5800 familias, que equivalen a una población de aproximadamente 20 000 personas, esto tanto por la explotación del cultivo como industrialización del aceite (Carlos Playa, comunicación personal, 19 de abril, 2018).

## **CADENA PRODUCTIVA DE LA PALMA AFRICANA EN COSTA RICA**

La agro-cadena de la palma está conformada por cuatro grandes etapas: preproducción, cultivo, procesamiento e industrialización (Clare, 2011). Seguidamente se describe cada una de estas:

### Preproducción

Esta etapa inicial incluye la adquisición de material genético, maquinaria agrícola, insumos agrícolas e investigación. Actualmente las semillas germinadas, clones y materiales compactos los distribuye la empresa Agricultural Services Development Costa Rica (ASD), la maquinaria es

otorgada a los productores por las compañías Coopeagropal y Palma Tica, y la investigación en este tema la han realizado las tres empresas mencionadas (MAG, s.f.). En el caso de ASD, esta posee un Programa de Investigación en Palma Aceitera, conocido como PIPA. Además, en los últimos años, diversas universidades estatales y privadas han realizado estudios de esta industria.

### Cultivo

En Costa Rica el cultivo de la palma africana comenzó en 1944 en el Pacífico Sur (Parrita, Golfito y Corredores) y posteriormente se extendió a la Región Huetar Caribe (Solórzano, 2019 y Rodríguez, 2010). A partir de ese momento su expansión ha incrementado y las investigaciones más recientes reflejan que actualmente es el segundo cultivo en importancia por hectárea sembrada a nivel nacional, contando con más de 76 000 ha de palma sembradas (Mora *et al.*, 2021); las cuales se extienden mayormente Región Pacífico Central, Región Huetar Caribe y Región Brunca (Vargas *et al.*, 2020). De acuerdo con Soto (2018), el 70% de las fincas pertenecen a productores particulares y el otro 30% a la empresa privada.

Entre los aspectos más relevantes de este cultivo, cabe destacar que es perene y posee una clara estacionalidad, teniendo mayor producción en los meses de invierno (mayo a noviembre) y una menor producción en los meses de verano, (diciembre a abril) (Rodríguez, 2010). El sistema de producción generalmente inicia en viveros, luego se trasplanta y a partir del primer año de producción se pasa a un sistema de monocultivo; la planta comienza a producir entre 3 y 4 años después de plantada, su producción máxima dura entre 8 y 10 años con una vida económica promedio de 30 años (Mack, 2019 y MAG, s.f.).

En cuanto a los requerimientos de la planta, esta necesita temperaturas entre 26 y 29 °C, abundante radiación solar, precipitación constante de 2000 y 2500 mm al año, baja altitud y épocas secas que no duren más de 90 días (Borasino, 2016).

Con respecto a la fertilización de la planta, de acuerdo con el MAG (s.f.), se utilizan abonos de triple superfosfato, urea y nitrato de amonio, con un ciclo de fertilización de tres a cuatro aplicaciones nitrogenadas por año y una de fósforo. Por otro lado, Quesada (2002) indica que la palma necesita un sistema integrado de nutrición que utilice los subproductos de la extracción del aceite como abono orgánico, cultivos de leguminosas como coberturas intercaladas con el cultivo de palma y la aplicación de insumos químicos de fórmulas bien equilibradas de acuerdo con los requerimientos de los suelos.



## Procesamiento de la fruta

Posterior a la cosecha, los racimos de fruta fresca (RFF) son enviados a la planta extractora de aceite. De acuerdo con la Cámara Nacional de Productores de Palma (CANAPALMA), hay cinco plantas extractoras de aceite de palma en el país, las cuales pertenecen a las empresas Palma Tica, Coopeagropal y Palmatec (Cuadro 1).

Cuadro 1. Plantas extractoras de aceite de palma en Costa Rica.

| <b>Empresa</b>    | <b>Ubicación</b>                 |
|-------------------|----------------------------------|
| Palma Tica S.A.   | Coto 54, Golfito, Puntarenas     |
| Palma Tica S.A.   | Quepos, Puntarenas               |
| Palma Tica S.A.   | Parrita, Puntarenas              |
| Coopeagropal R.L. | El Roble, Corredores, Puntarenas |
| Palmatec S.A.     | Naranjo, Corredores, Puntarenas  |

Fuente: CANAPALMA (comunicación personal, 27 de octubre, 2017).

Una vez en la planta, los racimos son transportados por medio de tolvas hidráulicas para iniciar el proceso de esterilización (COOPEAGROPAL, 2017). La esterilización es un proceso térmico en el que se utiliza vapor a presión para facilitar su separación de los frutos del racimo, inactivar lipasas y microorganismos endógenos (Charpentier, 2019).

Posteriormente, se separan los frutos de los racimos por medio de un tambor rotatorio conocido como desfrutador. De acuerdo con COOPEAGROPAL (2017), los pinzotes vacíos son prensados y desmenuzados para extraer el aceite que puedan contener. Luego, se continúa con la digestión, que consiste en someter la fruta a altas temperaturas con el objetivo de facilitar la extracción del aceite del mesocarpio (Charpentier, 2019).

A continuación, el fruto es prensado y durante esta etapa se adiciona agua al proceso con el fin de lavar la fibra y aumentar la eficiencia de extracción del aceite; de lo cual se generan dos productos, uno líquido y uno sólido (Hernández, 2010). El líquido se compone de aceite, agua, y sólidos finos; la mezcla pasa por un proceso de centrifugación y decantación para clarificar el aceite y separarlo de las aguas y los lodos (COOPEAGROPAL, 2017). Al final de lo cual se obtiene el aceite crudo de palma y aguas residuales.

El sólido se compone de la fibra del mesocarpio y la semilla de la palma (conocida como almendra, nuez o coquito). Estos pasan por procesos de separación de las fibras, quebrado del endocarpio y

secado de las almendras con el fin de obtener aceite de coquito y la torta de palmiste (Hernández, 2010). Posterior a esta etapa se generan las fibras y cascarillas como residuos del proceso.

Al final del proceso de extracción el aceite crudo, el de coquito y la torta de palmiste continúan con la etapa de industrialización, en la que los aceites son refinados y utilizados para varios fines como elaboración de mantecas, margarinas, aceites de cocina, jabones, concentrados minerales, concentrados para animales, etc. (Pineda, 2012). Por su parte, la torta de palmiste se utiliza para alimentación animal.

### **BIOMASA GENERADA EN EL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ACEITE**

La industria de aceite de palma produce más biomasa residual que aceite, generando entre un 50 y un 67% de residuos por cada racimo de fruta fresca (Cuadro 2). Es importante mencionar que las proporciones de cada residuo dependen de la variedad de la palma (Clare, 2011). Sin embargo, el residuo que se genera en mayores cantidades es el raquis, seguido por la cascarilla, la fibra de mesocarpio y los efluentes.

Cuadro 2. Porcentaje de residuos generados por un racimo de fruta fresca (RFF) en el proceso de extracción de aceite.

| <b>Residuo</b>      | <b>Porcentaje de RFF</b> |
|---------------------|--------------------------|
| Racimos vacíos      | 20-26%                   |
| Cascarilla          | 16-18%                   |
| Fibra de mesocarpio | 5-14%                    |
| Efluentes           | 9%                       |
| <b>Total</b>        | <b>50-67%</b>            |

Fuente: Adaptado de Ramírez *et al.* (2015), Clare (2011), García *et al.* (2010) y Vargas y Zumbado (2003).

En cuanto a la composición de estos residuos, los primeros tres están conformados principalmente por materiales lignocelulósicos (celulosa, hemicelulosa y lignina), en cantidades que varían de acuerdo con la edad, condiciones de crecimiento y parte de la planta que se utilice (Mack, 2019).

De acuerdo con Mejía (2012), la fracción de materiales lignocelulíticos en la biomasa juega un papel muy importante en el comportamiento que esta tendrá al momento de ser procesada. Por ejemplo, las altas concentraciones de lignina y celulosa pueden provocar una lenta descomposición natural de

los residuos vegetales. Sin embargo, de acuerdo con García *et al.* (2010), un alto contenido de lignina se relaciona a un alto poder calorífico.

En el caso de los residuos de la extracción de aceite de palma, existe mucha variación en las cantidades de celulosa, lignina y hemicelulosa que estos contienen. Dichas diferencias pueden estar asociadas a las variedades de palma, factores edafoclimáticos, desarrollo de las plantas o tratamientos silviculturales (Lucana, citado por Gamarra, 2016). No obstante, se cree que la cascarilla posee las mayores concentraciones de lignina y los racimos vacíos tienen la mayor proporción de celulosa; mientras que la fibra de mesocarpio posee valores intermedios (Cuadro 3).

Cuadro 3. Composición de la biomasa residual sólida de la industria de la palma aceitera.

| <b>Componente</b>        | <b>Racimos vacíos</b> | <b>Fibra de mesocarpio</b> | <b>Cascarilla</b> | <b>Referencias</b>                            |
|--------------------------|-----------------------|----------------------------|-------------------|---|
| Lignina (%)              | 4 – 28                | 26 – 33                    | 51 – 54           | González <i>et al.</i> (2008)                 |
| Celulosa (%)             | 36 – 47               | 19 – 35                    | 15 – 21           | Van Dam (2016)<br>Hamzah <i>et al.</i> (2019) |
| Hemicelulosa (%)         | 16 – 35               | 15 - 32                    | 16 – 23           | Suksong <i>et al.</i> (2020)                  |
| Carbono (%)              | 45 – 49               | 46 - 47                    | 52 – 58           | Nafissa <i>et al.</i> (2008)                  |
| Oxígeno (%)              | 37 – 48               | 37 - 50                    | 37 – 50           |   |
| Hidrógeno (%)            | 6 – 8                 | 6 - 9                      | 6.3 - 12.6        | Van Dam (2016)                                |
| Nitrógeno (%)            | 0.2 - 0.7             | 0.4 - 1.4                  | 0.04 - 0.6        | Hamzah <i>et al.</i> (2019)                   |
| Azufre (%)               | 0.2                   | 0.3                        | 0.2               | Suksong <i>et al.</i> (2020)                  |
| Cenizas (%)              | 1.5 - 7.3             | 3.5 - 9.3                  | 1 - 3.2           |   |
| PCS <sup>1</sup> (kJ/kg) | 17500 – 19000         | 19 060 - 19 700            | 20 500 - 21 500   | Van Dam (2016)<br>Hamzah <i>et al.</i> (2019) |

Fuente: Elaboración propia.

Nota: <sup>1</sup>Poder calorífico superior.

## Racimos vacíos (RV)

Estos también son conocidos como pinzote, raquis o tuza. Los RV son residuos lignocelulíticos no maderables con una composición química compleja, ricos en elementos como silicio y otros metales, los cuales presentan gran afinidad por la lignina y celulosa presente en sus filamentos (Law, citado por Pineda, 2012). En cuanto a su morfología, los RV se componen de un tallo principal y numerosas espigas con espinas afiladas en las puntas (Mejía, 2012). Durante el procesamiento de la fruta, los RV son cortados y prensados para extraer el aceite que absorben durante la esterilización, obteniendo un material fibroso y desmenuzado conocido como “fibra de pinzote”, con lo cual se disminuye su peso y su volumen (12-15% del peso de un RFF) (Torres *et al.*, 1999).

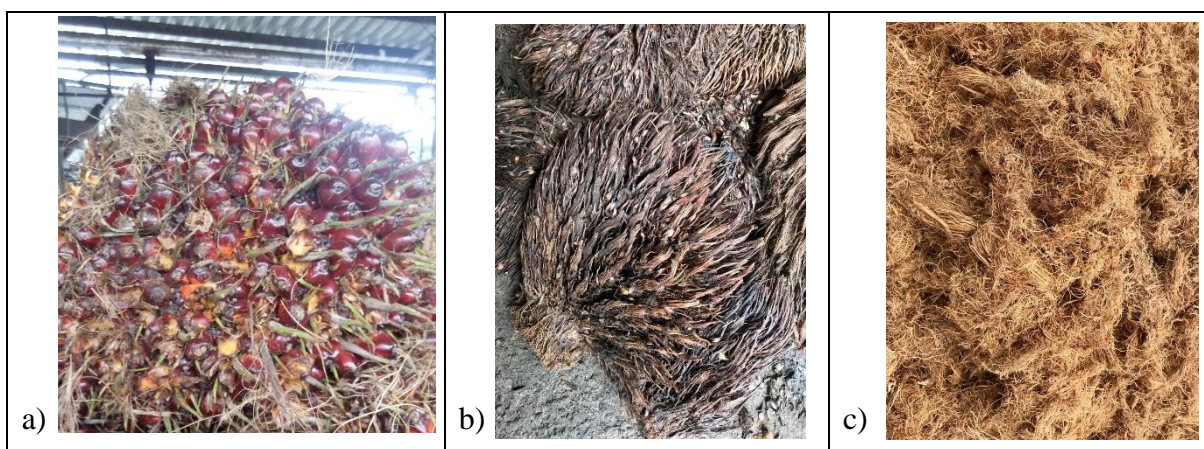


Figura 2. a) Racimos de fruta fresca o RFF, b) racimos vacíos y c) fibra de pinzote.

Fuente: Elaboración propia.

## Cascarilla

La cascarilla o cuesco se compone de partículas lignocelulósicas duras y compactas, que rodean las almendras, las cuales se separan en el proceso de producción de aceite de palmiste (Van Dam, 2016). La cascarilla se ha utilizado ampliamente como fuente energética sin pretratamiento debido a que cuenta con un alto poder calorífico (alrededor de 20 000 kJ/kg) y un bajo contenido de humedad (12 %) (Hamzah *et al.*, 2019). Por otra parte, de acuerdo con estudios de la ADS y de la Universidad de Costa Rica, la cascarilla tiene mejores propiedades nutritivas que el raquis, y recomiendan usarlos como abono en lugares con déficit hídrico (Clare, 2011).

### Fibra de mesocarpio

La fibra de mesocarpio se refiere a los restos de la pulpa de la fruta, una vez que se ha extraído el aceite. Al igual que la cascarilla, su aplicación como fuente energética se debe a que cuenta con un alto poder calorífico (aproximadamente 19 000 kJ/kg) y un bajo contenido de humedad (37.09 %) (Hamzah *et al.*, 2019). Otro aspecto por destacar es que posee un porcentaje importante de nitrógeno en comparación con los residuos anteriores (Nafissa *et al.*, 2008).

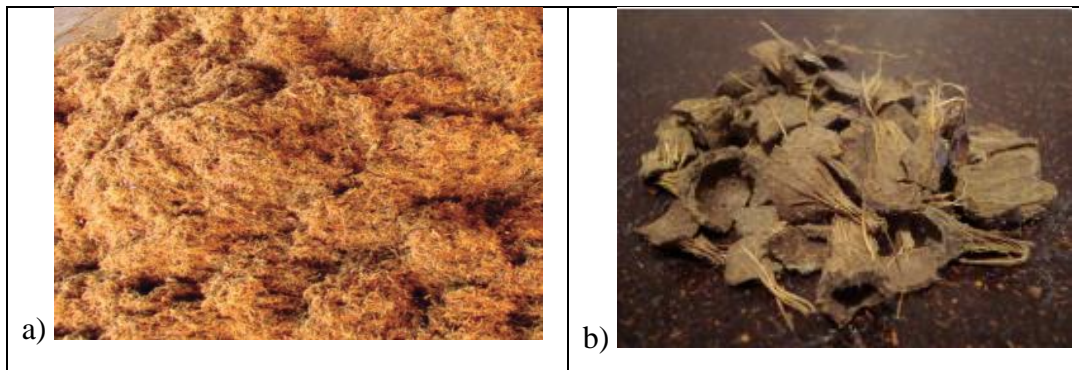


Figura 3. a) Fibra de mesocarpio y b) cascarilla de la fruta de aceite de palma.

Fuente: Gamarra (2016) y Hernández (2010), respectivamente.

### Efluentes

En esta categoría se incluyen el agua, los lodos y el aceite residual. Como se observa en el Cuadro 2, cada racimo de fruta fresca genera solo un 9% de biomasa líquida. Sin embargo, como en el proceso se añade gran cantidad de agua (3,8 L /kg de aceite), las aguas residuales obtenidas al final del proceso pueden llegar a representar entre 85-90 % de los racimos de fruta fresca (Clare, 2011 y García *et al.*, 2010).

El efluente se caracteriza por presentar un pH bajo, un gran aporte de nutrientes (nitrógeno, fosfato, potasio, etc.), de grasas y aceites, sólidos, así como altos valores de DQO y DBO (Cuadro 4); dichas características lo posicionan como el residuo con mayor potencial de contaminación (Galindo y Romero, 2012). Por lo que generalmente, durante el tratamiento, se recupera parte del aceite para su uso en concentrados de animales o fabricación de jabones (Sánchez, 2011) y el resto de las aguas son tratadas por medio de lagunas de oxidación consecutivas, de las cuales las primeras son anaerobias y las segundas aerobias (Galindo y Romero, 2012). Al final del proceso se obtienen aguas residuales tratadas, lodos y biogás.

Cuadro 4. Características físico-químicas del efluente previo al tratamiento en las lagunas de oxidación, Planta Procesadora Palo Seco, división Quepos, Costa Rica.

| <b>Parámetro</b>                    | <b>Cantidad</b> | <b>Unidades</b> |
|-------------------------------------|-----------------|-----------------|
| Demanda química de oxígeno (DQO)    | 39 650          | mg/L            |
| Demanda bioquímica de oxígeno (DBO) | 20 040          | mg/L            |
| Grasas y aceites (G y A)            | 4 196           | mg/L            |
| Sólidos totales                     | 31 306          | mg/L            |
| Sólidos suspendidos                 | 10 500          | mg/L            |
| Sólidos sedimentales                | 950             | mg/L            |
| Potencial de Hidrógeno (pH)         | 4,5             | unidades de pH  |
| Potasio                             | 1 350           | mg/L            |
| Nitrógeno total                     | 494             | mg/L            |
| Fosfato                             | 368             | mg/L            |
| Magnesio                            | 244             | mg/L            |
| Calcio                              | 149,6           | mg/L            |
| Hierro                              | 76              | mg/L            |
| Zinc                                | 4,2             | mg/L            |
| Manganeso                           | 2,9             | mg/L            |
| Cobre                               | 2,7             | mg/L            |

Fuente: Adaptado de Torres *et al.* (2004).

## **GESTIÓN DE LA BIOMASA GENERADA**

### Marco jurídico aplicable

Se debe tomar en cuenta que existe un marco jurídico ambiental muy amplio que regula el manejo adecuado de la biomasa generada por esta industria. A continuación, se mencionarán los más relevantes.

En primer lugar, se destaca la Ley de Gestión Integral de Residuos (N° 8839) y su Reglamento (N° 37567); los cuales velan por un manejo integrado de acuerdo con el siguiente orden jerárquico: evitar la generación de residuos, reducirlos, reutilizarlos, valorizarlos, tratarlos y disponerlos adecuadamente. Esto es de suma importancia, ya que ayuda a disminuir el desperdicio y aprovechar la biomasa al máximo, logrando un uso eficiente de los residuos y la reducción de su impacto ambiental.

Por otra parte, el Reglamento de Vertido y Reuso de Aguas Residuales (N° 33601), el Reglamento de Aprobación de Sistemas de Tratamiento de Aguas Residuales (N° 39887) y el Reglamento para el Manejo y Disposición Final de Lodos y Biosólidos (N° 39316), regulan el tratamiento adecuado de los efluentes y lodos generados. Lo anterior se logra mediante la definición de parámetros físicos, químicos y microbiológicos que se deben cumplir de acuerdo con el uso o disposición final que se le va a dar a las aguas y lodos tratados.

Debido a que parte de la biomasa generada es utilizada como combustible de calderas, también se debe tomar en cuenta el Reglamento sobre Emisión de Contaminantes Atmosféricos Provenientes de Calderas y Hornos de Tipo Indirecto (N° 36551), el cual define valores máximos de emisión de gases y partículas con el fin de controlar la contaminación generada por estas fuentes.

### Datos de generación y manejo

Según Coto (2013), la industria de la palma genera 7 toneladas de biomasa residual por hectárea sembrada. Con base en lo anterior, y partiendo de que la extensión del cultivo para el año 2020 fue de 76 610 ha (Mora *et al.*, 2021), se estima una generación de 536 270 toneladas de residuos de palma africana a nivel nacional.

Además de las grandes cantidades que se producen, estos residuos tienen un lento proceso de descomposición natural. Sin embargo, estas mismas características, los hacen excelentes materias primas para distintos procesos, entre los que destaca el compostaje y el aprovechamiento energético.

En cuanto al manejo de estos materiales, la encuesta realizada por Ramírez *et al.* (2007), indicó que durante el 2006 más de la mitad del raquis producido se usaba para hacer compost y el resto se desechaba; toda la fibra de mesocarpio servía de combustible para calderas, parte de la cáscara también se utilizaba para alimentar calderas y el resto servía como abono en los viveros; además el 100% del efluente se desaprovechaba.

Cuadro 5. Manejo de los residuos de la extracción de aceite de palma durante el año 2006.

| Uso         | Residuo            |                |                         |               |
|-------------|--------------------|----------------|-------------------------|---------------|
|             | Racimos vacíos (%) | Cascarilla (%) | Fibra de mesocarpio (%) | Efluentes (%) |
| Abono       | 67,5               | 43,5           | 100                     | 0             |
| Combustible | 0                  | 56,5           | 0                       | 0             |
| Se desecha  | 32,5               | 0              | 0                       | 100           |

Fuente: Elaboración propia con base en Ramírez *et al.* (2007).

Con base en los datos presentados (Cuadro 5), cabe destacar que existe un alto desperdicio de raquis y efluentes; que son los residuos generados en mayores cantidades. Además, se debe considerar que a pesar de que se había promovido el uso de estos materiales como abono, esta medida presenta retos en su implementación, principalmente porque implica largos periodos de descomposición y la generación de lixiviados. Razón por la cual, como se mencionó anteriormente, en la actualidad no se elaboran abonos a partir de este residuo tanto en Palma Tica como en Coopeagropal.

Por otro lado, el aprovechamiento energético de la cascarilla y la fibra, a pesar de ser una forma de reincorporar los residuos al mismo proceso productivo, genera gran cantidad de gases y partículas como brea y hollín de 20-100 micrómetros y una carga de polvos de 3000-4000 mg/nm (Nafissa *et al.*, 2008); además, durante el proceso se produce una gran cantidad de cenizas, las cuales deben ser gestionadas posteriormente. Por lo tanto, el uso de esta biomasa como combustible podría reemplazarse por otra fuente de energía más eficiente; como por ejemplo el biogás generado en el tratamiento de las aguas residuales. De esta manera, dichos residuos se podrían utilizar en otras aplicaciones que aprovechen su valor nutricional, como es el caso de la producción de abonos.

Los datos expuestos reflejan que se deben buscar otras alternativas para mitigar los impactos ambientales, atacar los desafíos que implica el manejo de estos residuos y lograr el cumplimiento legal. Una de estas alternativas consiste en el uso de microorganismos para acelerar el proceso su descomposición.

### **USO DE MICROORGANISMOS COMO ALTERNATIVA DE MANEJO DE RESIDUOS VEGETALES**

Actualmente, la mayor fracción de la biomasa residual está constituida por residuos lignocelulósicos provenientes de la agroindustria, los cuales habitualmente son desperdiciados, generando gran cantidad de basura y contaminación (García y Martínez, 2014; Grijalva, 2013). Como se mencionó en la sección de antecedentes, entre las soluciones existentes para darle un valor agregado a estos productos se encuentran: la producción de celulosa para la fabricación de papel, la elaboración de abono y la producción de bioetanol a partir de azúcares presentes en la celulosa y la hemicelulosa.

Sin embargo, la lignina dificulta el acceso a la celulosa y la hemicelulosa, esto porque es el componente más recalcitrante de la pared celular y se encuentra ligada al resto de los metabolitos primarios; con lo cual crea una barrera que dificulta la degradación natural de la biomasa vegetal (Sánchez, 2009). Por lo tanto, es necesario degradar la lignina con el fin de mejorar la



susceptibilidad a la hidrólisis enzimática y poder aprovechar mejor estos residuos. Debido a esto ha surgido el uso de tratamientos químicos, físicos y biológicos (Charpentier, 2019), como es el caso de los hongos de podredumbre blanca.

De acuerdo con Grijalva (2013), los hongos tienen dos tipos de sistemas enzimáticos extracelulares encargados de degradar los metabolitos primarios: el sistema hidrolítico, responsable de romper las cadenas de polisacáridos (celulosa, hemicelulosa, etc.) y el sistema lignolítico oxidativo y extracelular, el cual degrada la lignina y abre los grupos fenilo. Específicamente, los hongos de podredumbre blanca son un grupo de microorganismos filamentosos ampliamente utilizados por su alta capacidad enzimática para degradar biomasa lignocelulósica (Suksong, 2020), entre estos se encuentra el *P. ostreatus*.

### *Pleurotus ostreatus*

El *P. ostreatus* es un basidiomiceto comestible conocido como hongo ostra, gracias a la forma y coloración grisácea de su cuerpo fructífero. Este organismo requiere una fuente de carbono, fibras y de materiales lignocelulíticos para su desarrollo adecuado (Rivera-Omen, Martínez-Mamián y Morales-Velasco, 2013), los cuales se encuentran presentes en la biomasa producida por la agroindustria de la palma africana. Para obtener dichos nutrientes, el hongo secreta enzimas al medio donde se desarrolla (estas incluyen lacasas, oxidasas, endoglucanasas y  $\beta$ -glucosidasas), las cuales ayudan a convertir la lignina, hemicelulosa y celulosa en carbohidratos más simples como glucosa (Díaz *et al.*, 2019).

### Cultivo del hongo en residuos lignocelulósicos

Este hongo crece en ambientes con temperaturas entre 20 y 32°C, requiere una humedad relativa de 70 a 80%, un pH de 4.5 a 7 (con un valor óptimo de 5.5) y un sustrato rico en carbono; comúnmente se utiliza paja de trigo, desperdicios de café, subproductos de algodón, residuos de la industria papelera y bagazo de caña para estos efectos (Díaz *et al.*, 2019 y Hernández y López, 2006). Adicionalmente, Fajardo (2016), encontró que las condiciones más adecuadas para el crecimiento del hongo y otros organismos presentes en un consorcio microbiano se daban a un 75% de humedad relativa.

## Efectos del hongo en la descomposición de materia orgánica

La descomposición de la materia orgánica puede ser evaluada por distintos parámetros, entre los cuales se encuentra la relación C:N. La disminución de esta relación es utilizada frecuentemente para indicar que la degradación de la materia orgánica se ha estabilizado; dependiendo del material degradado, al final del proceso debe estar entre 15 y 20 (Isaza, Pérez, Laines y Castañón, 2009). Fajardo (2016), utilizó este parámetro para demostrar la degradación y estabilización del rastrojo de piña luego de 60 días de inocularlo con un consorcio bacteriano que incluye *P. ostreatus*; obteniendo un producto final que puede ser utilizado como compost maduro. Asimismo, Siddiquee *et al.* (2019), emplearon la relación C:N para evaluar el proceso de compostaje de racimos vacíos de palma africana inoculadas con un hongo del género *Trichoderma*, obteniendo valores inferiores a 4 a los 30 días.

Por otra parte, Syafwina *et al.* (2002), utilizaron *P. ostreatus*, *Dichomitus squalens* y *Ceriporiopsis subvermispora* como pretratamiento del raquis para la obtención de azúcares fermentables, obteniendo porcentajes de sacarificación entre 25-15% a los 8 días de incubación. Estos autores usaron la determinación de actividad enzimática por espectrofotometría como indicador del proceso de descomposición.

Adicionalmente, Yahaya *et al.* (2017), analizaron los compuestos fenólicos en racimos vacíos de palma africana utilizados como medio de cultivo para el hongo *Pleurotus sajor-caju* y posteriormente sometidos a un proceso de vermicompostaje; obteniendo un abono adecuado para uso agrícola y la producción de hongos aptos para consumo humano.

Los datos presentados muestran la efectividad de este y otros microorganismos para la descomposición de residuos lignocelulósicos, con la ventaja de que el producto obtenido puede usarse para diversas aplicaciones posteriores.

### **III. METODOLOGÍA**

---

#### **TIPO DE INVESTIGACIÓN Y ENFOQUE:**

La presente investigación posee un enfoque mixto, ya que incorpora la recolección, análisis y vinculación de aspectos cuantitativos y cualitativos para responder a un mismo problema de investigación. (Hernández, Fernández, y Baptista, 2006).

En cuanto al diseño, este es de carácter experimental debido a que consiste en la realización de pruebas de laboratorio, con el fin de evaluar las características de los residuos y la capacidad del hongo para degradarlos sin mediar la interferencia de otros microorganismos.

#### **OBJETO DE ESTUDIO**

El objeto de estudio son los residuos orgánicos generados en el proceso de extracción de aceite de palma africana. Para efectos de la presente investigación, el 25 de abril del 2018 se hizo un muestreo por conveniencia de la fibra de pinzote proveniente de la planta extractora de aceite de la empresa Palma Tica ubicada en Quepos, Puntarenas. Para ello, se extrajo una porción del material disponible en la salida del proceso de prensado, el cual se encontraba fresco. Debido a la homogeneidad del material, se hizo una toma directa. Este fue recolectado en un saco de polietileno y transportado a temperatura ambiente con el fin de proceder inmediatamente con la etapa de preparación de la muestra (ver Fase I).

Cabe indicar que, se utilizó únicamente fibra de pinzote, debido a que es el único residuo al que se tuvo acceso. Ya que, tanto la fibra de mesocarpio como la cascarilla actualmente son aprovechados dentro de la planta productora, siendo enviados directamente a las calderas para generación energética.

A continuación, se describe el procedimiento metodológico, el cual se divide en tres etapas de acuerdo con los objetivos planteados.

## **FASE I: ANÁLISIS COMPOSICIONAL DEL RESIDUO**

### Preparación de la muestra

En primer lugar, se secó la muestra a 60°C hasta llegar a peso constante para asegurarse de haber eliminado toda la humedad. Posteriormente, se procedió a la trituración, molienda y tamizado del material hasta obtener una granulometría de 425 micrómetros para realizar los distintos análisis. Dicho procedimiento se realizó con el equipo de molienda del Laboratorio de Ecología Aplicada de la Escuela de Ciencias Ambientales, Universidad Nacional (UNA).

Cabe mencionar que, para la determinación de la humedad no se realizó la preparación previa de la muestra, ya que interferiría con el análisis.

### Análisis químicos

Para la caracterización de la muestra se realizó la determinación el porcentaje de aceites y de Carbono en el Laboratorio de Hidrogeología y Manejo de Recursos Hídricos, de la UNA. Por otro lado, se determinó la humedad en el Laboratorio de Polímeros (POLIUNA). En ambos casos esto fue realizado con apoyo en equipo, reactivos e instalaciones de los laboratorios.

Adicionalmente, se contrataron los servicios del Laboratorio de Análisis de Productos Animales y Vegetales (LAPAV-UNA) para la determinación de lignina, celulosa y hemicelulosa. En cuanto al análisis de nutrientes (Nitrógeno, Fósforo, Calcio, Magnesio, Potasio, Azufre, Hierro, Cobre, Zinc, Manganeso y Boro), estos fueron determinados por el Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA-UCR). Dichos análisis fueron financiados por la investigadora y la tutora del proyecto.

En el Cuadro 6 se describen los métodos de determinación para cada análisis y la fuente de donde se obtuvieron dichos resultados.

Cuadro 6. Métodos de determinación de los análisis químicos realizados en las muestras de fibra de pinzote.

| Análisis   | Método de determinación                       | Fuente   |
|--|---|--|
| % Humedad  | Balanza de humedad.                           | POLIUNA  |
| % Lignina, celulosa y hemicelulosa                         | Método Van Soest                              | LAPAV-UNA  |
| % Aceites  | Extracción con hexano mediante método Soxhlet | Elaboración propia.  |
| % Carbono  | Método Walkley-Black                          | Laboratorio de Hidrogeología y Manejo de Recursos Hídricos |
| Nitrógeno  | Método Kjeldahl                               | CIA-UCR  |
| Fósforo, Boro y Azufre                                     | Espectrofotometría UV-VIS                     |  |
| Calcio, Magnesio, Potasio, Hierro, Cobre, Zinc y Manganeso | ICP   |  |

Fuente: Elaboración propia.

## FASE II. INOCULACIÓN DE MUESTRA DE RESIDUOS CON *P. OSTREATUS*

Esta fase se basa en la metodología propuesta por Fajardo (2016) para la evaluación del efecto de *P. ostreatus* sobre la descomposición de los residuos. A continuación, se describe el procedimiento de cultivo del hongo, la preparación de los ensayos y de la medición de la degradación.

### Cultivo del hongo

Se obtuvo una cepa de *P. ostreatus* en dos placas Petri, el cual fue donado por el Laboratorio de Microbiología de la Escuela de Biología de la UNA el 13 de marzo 2018. Seguidamente este se cultivó en medio papa agar dextrosa (PDA) y se incubó en oscuridad a temperatura ambiente hasta que el microorganismo colonizara toda la placa. Posteriormente, este se pasó a medio líquido GMY modificado para hongos según la composición descrita por Rojas (2015) y se incubó por 15 días bajo condiciones controladas (en oscuridad, agitación a 125 rpm y temperatura entre 23-24 °C).

La inoculación del hongo en los diferentes medios se realizó en condiciones de esterilidad dentro de una cámara de flujo laminar para disminuir el riesgo de contaminación por otros microorganismos.

Dichos procedimientos fueron realizados en el Laboratorio de Control biológico de la Escuela de Ciencias Agrarias.

Cabe mencionar que, durante el proceso se requirió utilizar técnicas de preservación del hongo con el fin de contar con muestras viables del hongo al momento de la preparación de los ensayos. Para esto se probaron tres métodos de preservación: agua destilada estéril (ADE), aceite mineral y resiembra periódica en placas con medio fresco. De las técnicas anteriores, se evaluó el crecimiento a una semana de la inoculación y únicamente se observó crecimiento con la resiembra periódica en placas. Por lo tanto, se eligió este método para la preservación de las muestras.

### Preparación de ensayos

Se montaron cinco ensayos por triplicado, de los cuales cuatro se tomaron como controles del proceso (Cuadro 7). De acuerdo con la metodología descrita por Fajardo (2016) se utilizó suelo y residuo (fibra de pinzote) en una relación de 2:1; además, las muestras se llevaron a una humedad del 75% con agua destilada estéril. Estas fueron preparadas en la cámara de flujo laminar del Laboratorio de Control Biológico de la Escuela de Ciencias Agrarias, UNA, con el propósito de evitar la contaminación con otros microorganismos. Luego de esto, los ensayos fueron trasladados al Laboratorio de Hidrogeología y Manejo de Recursos Hídricos de la Escuela de Ciencias Ambientales para su almacenamiento durante el periodo del ensayo (70 días). Cabe mencionar que, todas las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente en Erlenmeyers cubiertos con algodón y aluminio.

Cuadro 7. Preparación de los ensayos para la evaluación del efecto de *P. ostreatus* en los residuos agroindustriales de la palma aceitera.

| <b>N° Ensayo</b> | <b>Descripción</b>  |
|------------------|---|
| 1-C              | 9 g Suelo estéril   |
| 2-C              | 9 g Suelo estéril + 1 ml <i>P. ostreatus</i>  |
| 3-C              | 9 g Suelo estéril + 3 g residuo estéril   |
| 4-C              | 9 g Suelo sin esterilizar + 3g residuo sin esterilizar + 1.5 ml <i>P. ostreatus</i> |
| 5-E              | 9 g Suelo estéril + 3g residuo estéril + 1.5 ml <i>P. ostreatus</i>                 |

Fuente: Elaboración propia, con base en Fajardo (2016).

Con el fin de no desviarse de las condiciones propuestas por Fajardo (2016), se utilizó el mismo suelo usado por dicha autora. Este es de orden Ultisol, un suelo ácido, con altas concentraciones de hierro y altos niveles de meteorización (INTA, 2016).

El periodo del ensayo fue aumentado en 10 días respecto al reportado por Fajardo, originalmente de 60 días. Esta limitación fue producto de un evento externo al ensayo de afectación a nivel universitario que no permitía el ingreso al laboratorio.

Es importante mencionar que, en ambas investigaciones, el ensayo se realizó a temperatura ambiente, por lo que no se puede asegurar que las temperaturas hayan sido las mismas. Sin embargo, no se considera que este sea un factor determinante porque el hongo crece en un rango de temperaturas muy amplio: De acuerdo con Díaz *et al.* (2019) y Hernández y López (2006), el rango de temperaturas se encuentra entre 20 y 32 °C. Adicionalmente, Rubí (2020) encontró que, este puede crecer incluso a temperaturas de 10°C.

### Análisis de la degradación de los residuos

Esta etapa incluye la realización de análisis cuantitativos y cualitativos de las muestras para evaluar el efecto del hongo en la degradación de los residuos.

Para los análisis cuantitativos, no se considera viable determinar los porcentajes de lignina y celulosa durante el ensayo, ya que no se encontró un método que permita su medición en la mezcla con suelo y el hongo. Además, porque otros estudios han demostrado que durante la descomposición de biomasa existen interferencias en los análisis que generan como resultado un aumento en dichos porcentajes (Rojas, 2015 y D'Acunha, 2015). Por lo tanto, se utilizó la relación carbono-nitrógeno (C:N) como indicador indirecto de la degradación de lignina y celulosa en las muestras. Se eligió este parámetro porque al darse la ruptura de la lignina, celulosa y demás componentes del residuo, el carbono se libera en forma de dióxido de carbono y el nitrógeno generalmente es fijado por los microorganismos; lo cual genera una disminución de la relación C:N (García, 2005).

Las mediciones de carbono y nitrógeno se realizaron en el Laboratorio de Hidrogeología y Manejo de Recursos Hídricos de Ciencias Ambientales durante el día 0 y el día 70 del periodo del ensayo. Para obtener la relación entre ambos elementos, se dividió el porcentaje de carbono entre el de nitrógeno. Cabe mencionar que, en esta etapa se utilizó el método de Grubbs para el descarte de valores atípicos (Apéndices 1 y 2).

No fue posible realizar análisis de carbono y nitrógeno a la mitad del periodo del ensayo debido a una limitación presupuestaria. Por lo tanto, se decidió omitir para poder tener el dato final, que se consideró más importante.

Adicionalmente, se utilizó la técnica cualitativa de observación experimental con el fin de evaluar el crecimiento del hongo. Para esto se adaptó la metodología utilizada por Fajardo (2016) y Rubí (2020) incorporando elementos comúnmente utilizados para medir la productividad de los hongos ostra (Hernández y López, 2006 y Zakil *et al.* 2022).

Lo anterior consistió en la revisión semanal del crecimiento micelial, determinación del tiempo de corrida de micelio (tiempo en que dura el hongo en colonizar todo el sustrato) y evaluación de la producción de carpóforos (cuerpos fructíferos) en todas las muestras (Cuadro 8). Los resultados obtenidos se analizaron mediante la comparación del crecimiento entre las distintas muestras.

Cuadro 8. Valoración cualitativa del crecimiento del hongo *P. ostreatus* en las muestras.

| <b>Valoración de crecimiento</b> | <b>Descripción</b>  |
|----------------------------------|---|
| Negativo                         | No se observa crecimiento micelial en el sustrato   |
| Bajo                             | Se empieza a observar micelio en una o varias secciones del sustrato  |
| Medio                            | El sustrato está totalmente colonizado por el hongo   |
| Alto                             | El sustrato está totalmente colonizado por el hongo y este presenta formación de macroestructuras, ya sean primordios o carpóforos. |

Fuente: Elaboración propia.

### **FASE III. CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO DEGRADADO**

Con el fin de determinar el valor nutricional del producto obtenido, se tomaron muestras de cada ensayo al finalizar los 70 días. Dichas muestras fueron enviadas al Centro de Investigaciones Agronómicas de la UCR para su análisis. Los parámetros analizados incluyen: calcio (Ca), magnesio (Mg), fósforo (P), cobre (Cu), hierro (Fe), zinc (Zn), manganeso (Mn) y potasio (K). Con base en los análisis realizados por el Centro de Investigaciones Agronómicas, se determinaron las siguientes relaciones: Ca/Mg, Ca/K, Mg/K y Ca+Mg/K. Cabe destacar que en esta etapa también se utilizaron los resultados de las proporciones de carbono, nitrógeno y C:N, obtenidas durante la fase anterior.



Para determinar la viabilidad de este material como abono orgánico se tomó como referencia el nivel crítico de cada elemento para la solución extractora utilizada, este dato fue brindado por CIA-UCR junto con el resultado de los análisis. Adicionalmente, se complementó el análisis con información encontrada en la literatura.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### FASE I: ANÁLISIS COMPOSICIONAL DEL RESIDUO

En el Cuadro 9 se muestran los resultados referentes a la composición general de la muestra de fibra de pinzote empleada en este estudio y su comparación con los valores referencia reportados en la literatura. Se observa que el residuo cuenta con un muy alto contenido de materia orgánica (96,2%), así como altos contenidos de humedad y carbono (52% y 55,79%, respectivamente) y la presencia de aceites en menor porcentaje (3%).

Cuadro 9. Composición general de la muestra de fibra de pinzote obtenidos en el presente estudio en comparación con valores reportados por otros autores.

| Componente       | Valor obtenido (%) | Valores de referencia (%) |                   |                           |                            |
|------------------|--------------------|---------------------------|-------------------|---------------------------|----------------------------|
|                  |                    | Palma Tica 2006           | Coopeagropal 2008 | Hamzah <i>et al.</i> 2019 | Suksong <i>et al.</i> 2020 |
| Materia Orgánica | 96.19              | 16.06                     | -                 | -                         | -                          |
| Carbono          | 55.79              | 9.32                      | -                 | 48.7                      | 45.1                       |
| Humedad          | 52                 | 48.15                     | 62.79             | 67                        | 68.6                       |
| Aceites          | 3.04               | -                         | -                 | -                         | 4.23                       |

Fuente: Elaboración propia.

Nota: La humedad fue determinada por POLIUNA y el resto de los análisis se realizaron en el Laboratorio de Hidrogeología y Manejo de Recursos Hídricos. Los análisis de Palma Tica y Coopeagropal se presentan en los Anexos 1 y 2, respectivamente.

En la literatura, únicamente se encontró un análisis de materia orgánica reportado por Palma Tica en el 2006 (ver Anexo 1), el cual arrojó un porcentaje relativamente bajo de este componente (16.06%), a diferencia del presente estudio. Por otro lado, el porcentaje de carbono obtenido en el presente trabajo concuerda con los resultados reportados por Hamzah *et al.* (2019) y Suksong *et al.* (2020); en cambio, Palma Tica reporta un valor menor. En cuanto a los porcentajes de humedad y de aceites, los valores obtenidos concuerdan con los valores de referencia.

En el Cuadro 10 se muestran los porcentajes de materiales lignocelulíticos presentes en la muestra de fibra de pinzote estudiada; el componente que se encuentra en mayor porcentaje es la celulosa (43.89%), seguida por la hemicelulosa (25.34%) y en último lugar, la lignina (6.21%). Se realizó una comparación de los resultados con los reportados por otros autores y se encontró una variación

importante, especialmente en el caso de la lignina (ver Cuadro 10). De acuerdo con Lucana (citado por Gamarra, 2016), dicha variación de los compuestos lignocelulíticos en una misma especie vegetal puede estar asociada a factores edafoclimáticos, el desarrollo de las plantas o tratamientos silviculturales.

Cuadro 10. Porcentajes de materiales lignocelulíticos en fibra de pinzote obtenidos en el presente estudio en comparación con valores reportados por otros autores.

| Componente                    | Valor obtenido (%) | Valores de referencia (%)         |                           |              |                       |                             |                              |
|-------------------------------|--------------------|-----------------------------------|---------------------------|--------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------------|
|                               |                    | Torres, Chinchilla y Ramírez 1999 | García <i>et al.</i> 2010 | Quesada 2015 | Moncada y Castro 2016 | Hamzah <i>et al.</i> (2019) | Suksong <i>et al.</i> (2020) |
| Lignina                       | 6.21               | 20                                | 10.23                     | 16           | 24.33                 | 22.1                        | 28.3                         |
| Celulosa                      | 43.89              | 28.5                              | 44.97                     | 38           | 30.42                 | 38.3                        | 40.1                         |
| Hemicelulosa                  | 25.34              | 16.2                              | 19.92                     | 28           | 12.55                 | 35.3                        | 24.3                         |
| Fibra neutro detergente (FND) | 76.1               | 70                                | -                         | -            | -                     | -                           | -                            |
| Fibra ácido detergente (FAD)  | 50.76              | 54.2                              | -                         | -            | -                     | -                           | -                            |

Fuente: Elaboración propia.

Nota: los valores de FDN, FAN, lignina, celulosa y hemicelulosa fueron determinados por el LAPAV-UNA.

Adicionalmente, durante la revisión de la literatura, se observó una variación en los métodos utilizados para realizar el análisis de lignina, lo cual puede ser otro factor que influye en las diferencias en los resultados de distintos autores. Algunas metodologías solo determinan una fracción de este componente, generalmente basado en su solubilidad en una disolución de ácido sulfúrico. Cabe mencionar que, para el presente estudio se determinó la fracción de lignina ácido detergente empleando el método de Van Soest; mientras que otros autores determinan la fracción de lignina insoluble en ácido según el método Klason, y otros reportan la lignina total (la cual incluye tanto la fracción insoluble en ácido como la soluble).

Con respecto a los porcentajes de fibras, los valores obtenidos son relativamente altos (76,1% FND y 50,76% FAD) y concuerdan con los reportados por Torres *et al* (1999). Dichos autores atribuyen la lenta degradación de la fibra de pinzote a los altos porcentajes de fibras y de lignina que contiene.

Por otra parte, se realizó un análisis de nutrientes minerales presentes en la muestra de fibra de pinzote, cuyos resultados se muestran en el Cuadro 11; los valores obtenidos se compararon con los reportados por Palma Tica (ver Anexo 1) y Coopeagropal (Ver Anexo 2). Se encontró que hay

bastante similitud entre los valores de este estudio con los reportados por Palma Tica en cuanto a las proporciones de los elementos analizados, ya que en ambos casos el macronutriente que se encuentra en mayor cantidad es el potasio, seguido por nitrógeno, calcio, magnesio, fósforo, y azufre. En contraparte, los datos de Coopeagropal, presentan mayor concentración de fósforo que los casos anteriores. Por otro lado, en lo que respecta a los microelementos, se encontró que los tres análisis cuentan con concentraciones muy distintas, pero estos concuerdan en que el hierro presenta los valores más altos y el boro los más bajos.

Cuadro 11. Análisis de nutrientes presentes en fibra de pinzote obtenidos en el presente estudio.

| Nutriente | Valor obtenido | Valores de referencia |                   |
|-----------|----------------|-----------------------|-------------------|
|           |                | Palma Tica 2006       | Coopeagropal 2008 |
| Nitrógeno | 0.65%          | 1.29%                 | 0.87%             |
| Fósforo   | 0.06%          | 0.15%                 | 1.04%             |
| Calcio    | 0.13%          | 0.45%                 | 0.24%             |
| Magnesio  | 0.07%          | 0.24%                 | 0.12%             |
| Potasio   | 1.01%          | 1.96%                 | 2.34%             |
| Azufre    | 0.05%          | 0.11 %                | no reportado      |
| Hierro    | 829 ppm        | 3855 ppm              | 359.8 ppm         |
| Cobre     | 13 ppm         | 25 ppm                | 15.2 ppm          |
| Zinc      | 16 ppm         | 38 ppm                | 72.36 ppm         |
| Manganeso | 30 ppm         | 70 ppm                | 15.11 ppm         |
| Boro      | 7 ppm          | 15.38 ppm             | 12.25 ppm         |

Fuente: Elaboración propia.

Notas: El análisis de nutrientes fue realizado por CIA - UCR. Los análisis de Palma Tica y Coopeagropal se presentan en los Anexos 1 y 2, respectivamente.

Para efectos de los requerimientos nutricionales de *P. ostreatus*, este necesita sustratos con alto contenido de carbono, fibras y materiales lignocelulíticos (Rivera-Omen, Martínez-Mamián y Morales-Velasco, 2013); sin embargo, dichos los autores no indican valores específicos. Por su parte, Chang y Miles (citado por Ruilova *et al.*, 2017), recomienda usar sustratos con relación C/N entre 32 y 150 como los más apropiados para el cultivo de *Pleurotus spp.* Para efectos del presente trabajo se obtuvo un valor de C/N de 85.83, tomando como referencia los porcentajes de carbono y nitrógeno presentados en los Cuadros 10 y 11, respectivamente. En lo referente al nitrógeno, de acuerdo con Cruz (2015), los sustratos donde se desarrolla este hongo contienen valores de nitrógeno que oscilan entre 0.1% y 1%.

No se encontraron datos del efecto del resto de nutrientes analizados en el metabolismo del hongo. Sin embargo, dado que la fibra de pinzote cuenta con las características indicadas por la literatura, se considera un sustrato adecuado para ser degradado por *P. ostreatus*.

## FASE II. INOCULACIÓN DE MUESTRA DE RESIDUOS CON *P. OSTREATUS*

### Cultivo del hongo

Las placas de *P. ostreatus* obtenidas del Laboratorio de Microbiología de la Escuela de Ciencias Biológicas de la UNA, se incubaron en oscuridad a temperatura ambiente hasta que el microorganismo colonizara la placa. En Figura 4a se observa la muestra inicial del hongo inoculado en placas con medio PDA y en las figuras 4b y 4c, las placas colonizadas por el hongo a una semana y las dos semanas, respectivamente.



Figura 4. Cepas iniciales de *P. ostreatus* obtenidas del Laboratorio de Microbiología de la Escuela de Biología. Se observan las dos placas inoculadas con el hongo en el día 0 (a.), crecimiento del hongo a una semana de incubación (b.) y colonización total de la placa a las dos semanas de incubación (c.).

Posteriormente, se utilizaron técnicas de preservación del hongo con el fin de contar con muestras viables al momento de la preparación de los ensayos. Para esto se probaron tres técnicas de preservación: agua destilada estéril (ADE), aceite mineral y resiembra periódica en placas con medio fresco. De las técnicas anteriores, se evaluó el crecimiento a una semana de la inoculación y únicamente se observó crecimiento con la resiembra periódica en placas. Por lo tanto, se eligió este método para la preservación de las muestras.

Seguidamente, se tomó una porción del micelio de las placas colonizadas por el hongo y se pasó a medio líquido GMY modificado. El hongo se incubó en este medio por 15 días bajo condiciones controladas (en oscuridad, agitación a 125 rpm y temperatura entre 23-24°C), con lo cual se obtuvo

el crecimiento del micelio de *P. ostreatus*. Finalmente, se tomaron las alícuotas del medio con micelio para realizar el montaje de los ensayos.

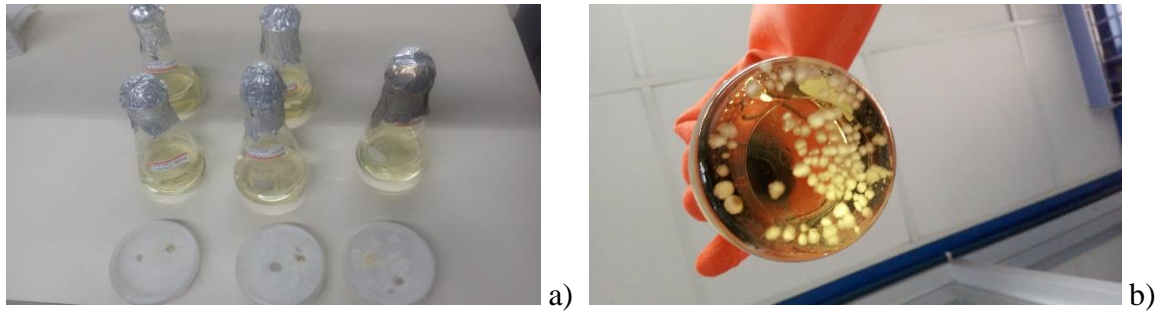


Figura 5. En la imagen de la izquierda (a.) se observan los medios líquidos inoculados con el micelio proveniente de las placas totalmente colonizadas y en la imagen de la derecha (b.) se observa el medio a los 15 días, donde se aprecia el crecimiento del micelio.

### Montaje de ensayos y análisis de la degradación de los residuos

Como se mencionó en la metodología, se montaron cinco ensayos por triplicado, de los cuales, cuatro se tomaron como controles del proceso. El primer ensayo (1-C) posee únicamente suelo estéril, el segundo (2-C), tiene suelo estéril y una alícuota de *P. ostreatus* en medio líquido, el tercero (3-C) tiene suelo estéril, y fibra de pinzote estéril, el cuarto (4-C) tiene suelo sin esterilizar, una alícuota del hongo y fibra de pinzote sin esterilizar y el quinto (5-E) tiene todos los elementos del ensayo anterior, pero en condiciones estériles. Cabe indicar que, además de los elementos mencionados, a todos los ensayos se les agregó agua destilada estéril en las semanas finales con el fin de mantener la humedad requerida (entre 70 y 80%) para la supervivencia del hongo.

Todas las muestras fueron preparadas en la cámara de flujo laminar del Laboratorio de Control Biológico de la Escuela de Ciencias Agrarias, UNA y fueron trasladadas al Laboratorio de Hidrogeología y Manejo de Recursos Hídricos de la Escuela de Ciencias Ambientales para su almacenamiento durante el periodo del ensayo (70 días) para su evaluación cualitativa y cuantitativa.

### **Evaluación cualitativa de los ensayos**

La evaluación cualitativa se realizó de forma semanal mediante la observación de las muestras, tomando como indicadores el crecimiento micelial en el sustrato y la formación de macroestructuras

del hongo. En el Cuadro 12 se presenta el nivel de crecimiento, observado por semana, del hongo *P. ostreatus* durante el periodo del ensayo de degradación.

Cuadro 12. Evaluación cualitativa del crecimiento del hongo *P. ostreatus* durante el periodo del ensayo de degradación.

| Ensayo  | Muestra | Semana |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|---|---------|--------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
|   |         | 0      | 1  | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  | 10 |    |
| Suelo estéril   | 1-C1    | N      | N  | N  | N  | N  | N  | N  | N* | N* | N* | N* | N* |
|   | 1-C2    | N      | N  | N  | N  | N  | N  | N  | N  | N  | N  | N  | N* |
|   | 1-C3    | N      | N  | N  | N  | N  | N  | N  | N  | N  | N  | N  | N  |
| Suelo estéril + <i>P. ostreatus</i>                   | 2-C1    | N      | B  | B  | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | N  |
|   | 2-C2    | N      | B  | B  | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* |
|   | 2-C3    | N      | B  | B  | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* |
| Suelo + fibra de pinzote (estéril)                    | 3-C1    | N      | N* | N* | N* | N* | N* | N* | N* | N* | N* | N* | N* |
|   | 3-C2    | N      | N* | N* | N* | N* | N* | N* | N* | N* | N* | N* | N* |
|   | 3-C3    | N      | N  | N  | N* | N* | N* | N* | N* | N* | N* | N* | N* |
| Suelo + fibra + <i>P. ostreatus</i> (sin esterilizar) | 4-C1    | N      | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* |
|   | 4-C2    | N      | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* |
|   | 4-C3    | N      | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* | B* |
| Suelo + fibra + <i>P. ostreatus</i> (estéril)         | 5-E1    | N      | B  | B  | M  | A  | A  | A  | A  | A  | A  | A  | A  |
|   | 5-E2    | N      | B  | B  | M  | A  | A  | A  | A  | A  | A  | A  | A  |
|   | 5-E3    | N      | B  | B  | M  | M  | A  | A  | A  | A  | A  | A  | A  |

Fuente: Elaboración propia.

Nota: N: negativo, B: bajo, M: medio, A: alto y \*: se observó contaminación con otros microorganismos.

Como se observa en el Cuadro 12, en los controles que no fueron inoculados con el hongo (1-C y 3-C) no se observó crecimiento micelial de *P. ostreatus*. Sin embargo, estos fueron contaminados con la presencia de otros microorganismos. Por otro lado, en los controles 2-C y 4-C se llegó a observar un crecimiento bajo del hongo durante las 10 semanas del ensayo, además de contaminación con otros microorganismos.

Control 1-C



1-C1 semana 6



1-C3 semana 10

Control 2-C



2-C1 semana 1



2-C2 semana 10

Control  
3-C



3-C1 semana 7



3-C3 semana 10

Control 4-C



4-C3 semana 7



4-C1 semana 10

Figura 6. Fotos de los controles del ensayo durante distintas semanas.

Fuente: Elaboración propia.

La presencia de microorganismos diferentes al hongo *P. ostreatus* fue detectada en casi todos los controles (a excepción de la muestra 1-C3). Este se determinó por el crecimiento de micelio con textura y coloración distinta a la del *Pleurotus* (ver Figura 6). De acuerdo con Castillo, la



contaminación en los ensayos estériles (1-C, 2-C y 3-C) puede atribuirse a que estos organismos hayan entrado en estado de latencia por cuestiones de supervivencia y al tiempo transcurrido después del autoclavado (comunicación personal, 03 de setiembre, 2018).

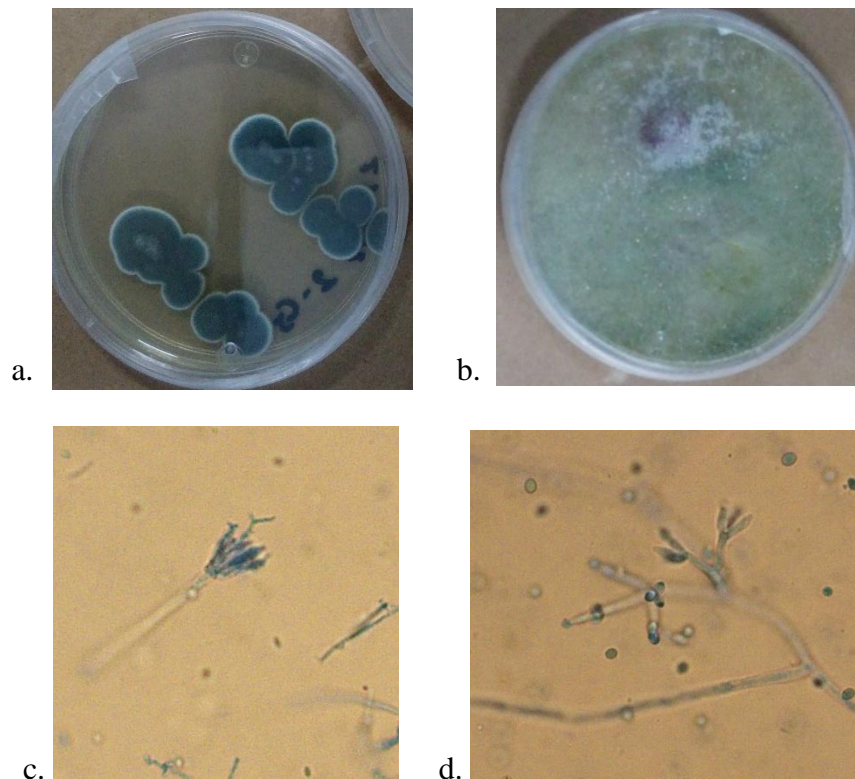


Figura 7. Muestras de placas Petri con el cultivo de los microorganismos que contaminaron los controles (a y b) e identificación mediante microscopía de *Penicillium sp.* y *Trichoderma sp.* (c y d, respectivamente).

Para identificar los microorganismos que contaminaron los controles, se tomaron muestras de estos y se cultivaron en placas con medio PDA para su posterior análisis en el microscopio. Este proceso dio lugar a la identificación de los hongos *Trichoderma sp.* y *Penicillium sp.* (Ver Figura 7) por parte del personal del Laboratorio de Control Biológico de la Escuela de Ciencias Agrarias.

Según Ardón (2007), estos microorganismos forman parte de un grupo de hongos verdes conocidos por ser contaminantes comunes en cultivos comerciales de *P. ostreatus*. Ardón (2007) también indica que los hongos del género *Trichoderma* son los más dañinos para estos cultivos porque pueden descomponer celulosa, tienen capacidad de funcionar como parásitos y ocasionan descenso del pH a valores entre 4 y 5. Esto concuerda con lo reportado por Filippi *et al.* (2019), quienes indican que, el proceso de esterilización del sustrato con autoclave es insuficiente para la producción de hongos ostra libres de contaminación; por lo que, utilizaron ácido peracético activo sumado al

tratamiento térmico inicial y obtuvieron resultados efectivos para asegurar el control de contaminantes.

De acuerdo con lo anterior, el bajo crecimiento en los controles inoculados con *P. ostreatus* (2-C y 4-C), se atribuye en gran medida a la competencia con otros microorganismos. Adicionalmente, en el caso del control 2-C, este contiene únicamente suelo como sustrato, el cual no cuenta con los requerimientos nutricionales del hongo y no favorece su crecimiento, ya que *P. ostreatus* se alimenta de sustratos lignocelulíticos ricos en carbono (Rivera-Omen *et al.*, 2013).

En los controles 1-C, 2-C y 3-C no se esperaba tener crecimiento de otros microorganismos debido a que se procuraron condiciones estériles. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, esto se atribuye a su resistencia al autoclave, por lo que se recomienda reforzar la esterilización mediante el uso de ácido peracético activo.

Por otro lado, la resistencia de estos microorganismos y su crecimiento exitoso en el medio, dan indicios de que también pueden ser evaluados como alternativa para acelerar la descomposición de la fibra de pinzote en futuras investigaciones.

En cuanto al ensayo 5-E (suelo y fibra de pinzote estériles inoculados con *P. ostreatus*), no hubo contaminación por otros microorganismos y en todas las muestras se observó un crecimiento micelial a partir de la semana 1. En la semana 3 ya se encontraba el sustrato totalmente colonizado por el hongo, obteniendo un tiempo de corrida de micelio de 21 días. Por otro lado, se comenzaron a observar primordios (primer componente visible del cuerpo fructífero del hongo), a partir de la semana 4 del ensayo, obteniendo un alto crecimiento en todas las muestras.

En comparación con el estudio realizado por Hernández y López (2006), el tiempo de corrida de micelio se considera dentro de un rango adecuado; dichos autores utilizaron distintos residuos lignocelulíticos como sustratos para *P. ostreatus*, obteniendo tiempos de corrida de micelio de 18, 20, 23 y 27 días con: aserrín (control), capacho de uchuva, cascara de arveja y tuza de mazorca, respectivamente.

Por otro lado, Fajardo (2016); reporta que, en un sustrato de rastrojo de piña y suelo estéril, los primeros componentes visibles del cuerpo fructífero de *P. ostreatus* se encontraron a partir de la semana 7. Esto indica que; la fibra de pinzote es un sustrato más eficiente que el rastrojo de piña para el crecimiento del hongo, al obtener primordios en menor tiempo.

Con lo anterior se evidencia que el hongo *P. ostreatus* es capaz de utilizar la fibra de pinzote como sustrato y degradarlo en condiciones controladas y estériles, donde no deba competir con otros microorganismos.

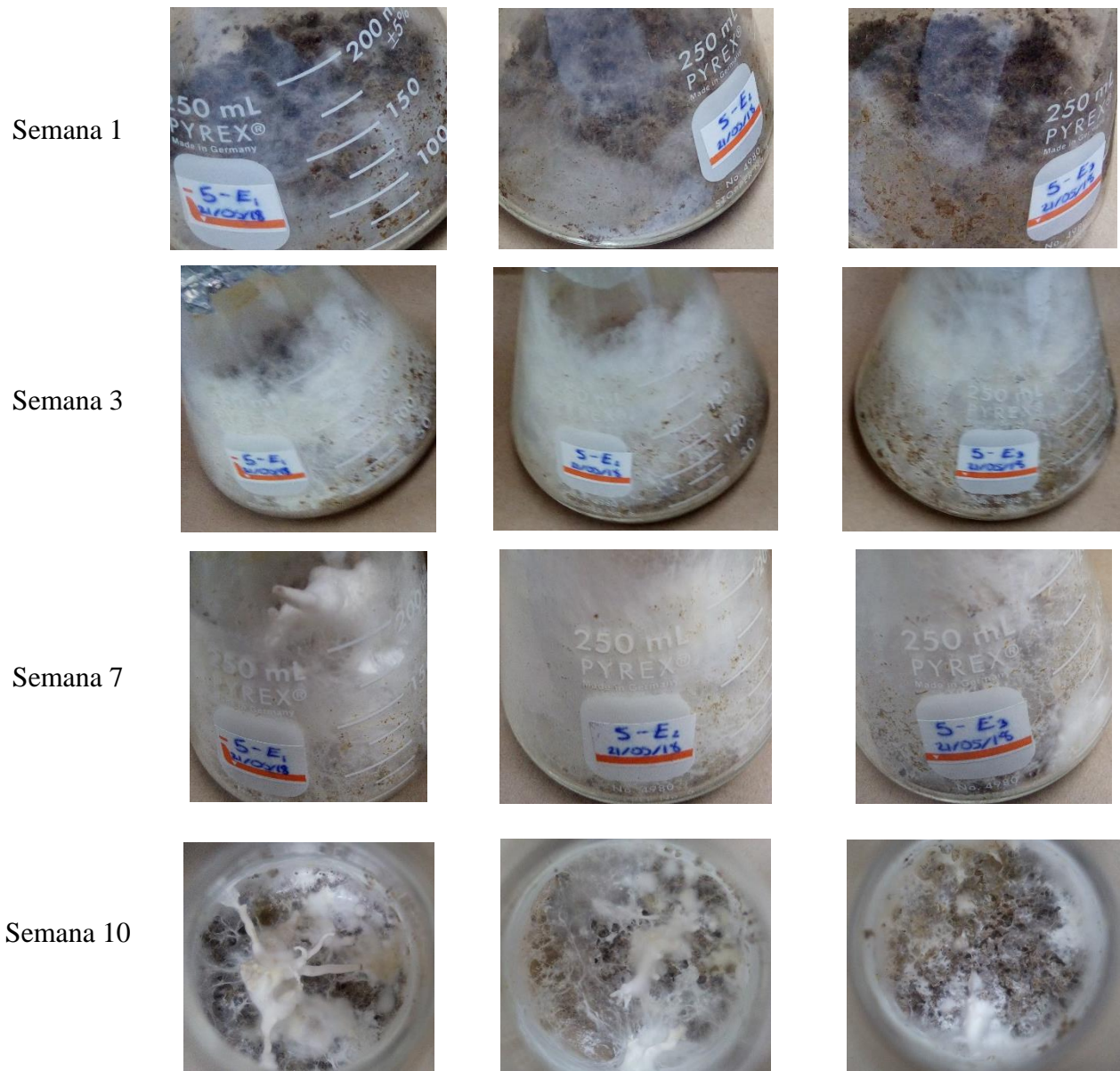


Figura 8. Fotos de las muestras del ensayo 5-E durante la semana 1, 3, 7 y 10.

Fuente: Elaboración propia.

## Evaluación cuantitativa de los ensayos

Para esta etapa se realizaron mediciones de carbono y nitrógeno en el Laboratorio de Hidrogeología y Manejo de Recursos Hídricos de Ciencias Ambientales durante el día 0 y el día 70 del periodo del ensayo. Con dichos datos se obtuvieron las relaciones carbono – nitrógeno (C/N) promedio para cada uno de los controles y el ensayo, dichos datos se presentan en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Valores de la relación C/N en las muestras al inicio y al final del ensayo.

| Ensayo |   | Semana 0 | Semana 10 |
|--------|---|----------|-----------|
|        |   | C/N      | C/N       |
| 1-C    | Suelo estéril   | 5.95     | 1.26      |
| 2-C    | Suelo estéril + <i>P. ostreatus</i>                   | 2.72     | 1.035     |
| 3-C    | Suelo + fibra de pinzote (estéril)                    | 32.19    | 4.21      |
| 4-C    | Suelo + fibra + <i>P. ostreatus</i> (sin esterilizar) | 36.25    | 29.45     |
| 5-E    | Suelo + fibra + <i>P. ostreatus</i> (estéril)         | 42.26    | 11.76     |

Fuente: Elaboración propia.

Se observa que, en todos los ensayos se generó una disminución de la relación C/N, indicando degradación del material. Lo cual, en las muestras control, se atribuye a la presencia de distintos microorganismos y en el ensayo 5-E principalmente a la acción del *P. ostreatus*.

En los controles 1-C y 2-C, la relación inicial de C/N es muy baja y ambos tienen en común que el sustrato es únicamente el suelo. De acuerdo con Soto *et al.* (2016), la relación C/N es un indicador de la mineralización de la materia orgánica, cuyos valores varían de acuerdo con las características predominantes del suelo y se considera que un índice de C/N normal, donde existe un balance de inmovilización/mineralización del nitrógeno, se encuentra entre 10 y 12.

En este caso, la relación C/N indica que el suelo tiene baja cantidad de carbono con relación al nitrógeno, lo cual concuerda con los hallazgos de la evaluación cualitativa; donde se observó que, el crecimiento de *P. ostreatus* fue muy bajo en el control 2-C, lo que se atribuye a los requerimientos nutricionales del hongo (sustratos lignocelulíticos ricos en carbono). Sin embargo, tanto en los controles 1-C y 2-C, se observa disminución de la relación C/N, lo que indica que la materia orgánica restante fue degradada por los otros microorganismos que colonizaron el sustrato.

Con respecto a los valores iniciales de C/N, los más elevados corresponden a los controles 3-C, 4-C y el ensayo 5-E. Esto concuerda con lo indicado por Galindo y Romero (2012), quienes indican que los valores iniciales del C/N en compost realizado a partir de racimos vacíos de palma africana son muy altos (entre 40 y 50) y son disminuidos en las primeras semanas, alcanzando valores inferiores a 20 alrededor de la semana 5.

En la Figura 9 se muestra la variación de la relación C/N en la semana 0 y la semana 10. Se observa una disminución más significativa en el ensayo 5-E y el control 3-C con lo cual se evidencia que el *P. ostreatus* realiza una degradación más eficiente en condiciones estériles (ensayo 5-E), donde no hay competencia con otros microorganismos. Caso contrario sucede en el control 4-C, donde las condiciones no son estériles y se determinó la presencia de otros microorganismos que compiten con el *P. ostreatus*, resultando en una mayor relación C/N en la semana 10.

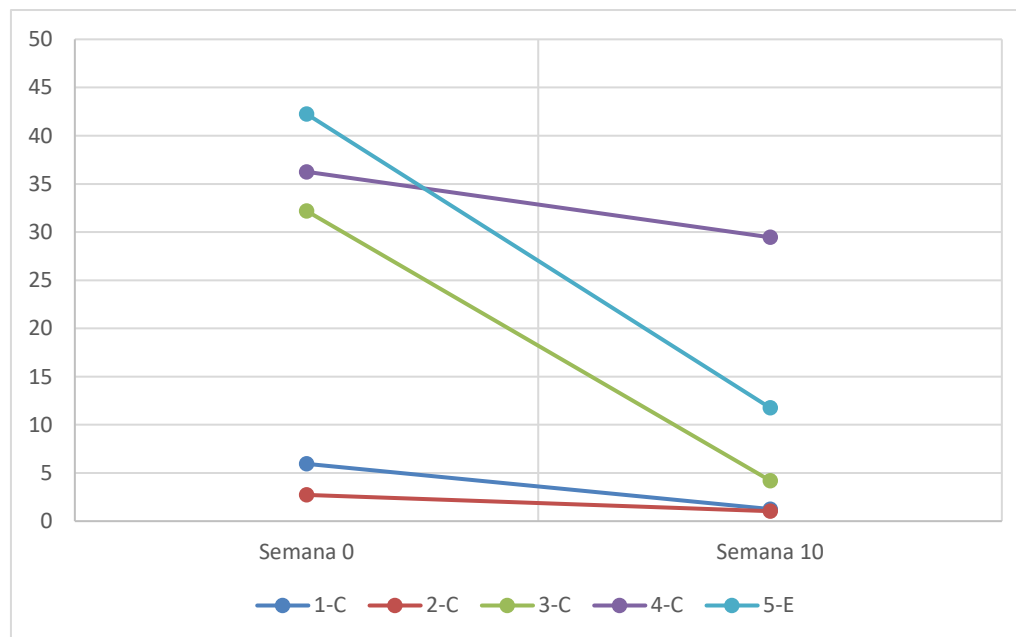


Figura 9. Gráfico de relación C/N en las muestras de la semana 0 a la 10.

Por otro lado, el control 3-C no fue inoculado con el hongo por lo que la disminución de la relación C/N se atribuye únicamente a la presencia de los microorganismos que contaminaron la muestra, identificados como *Trichoderma sp.* y *Penicillium sp.*, que sugiere que estos organismos son capaces de degradar la fibra de pinzote de manera eficiente.

Esto concuerda con los hallazgos de Siddiquee *et al.* (2016), quienes sometieron racimos vacíos de palma africana a un tratamiento con cepas de hongos del género *Thricoderma* para acelerar el proceso de compostaje a un periodo de 30 días. En dicho estudio, los valores iniciales de C/N fueron más bajos (10.42), pero los valores al finalizar el estudio fueron de 3.33 y 2.79; los cuales son similares al valor obtenido en el control 3-C (4.21).

Cabe mencionar que, en los controles 1-C, 2-C y 3-C se esperaba que no hubiera disminución significativa de C/N. Sin embargo, lo anterior no condiciona los resultados, dado que este cambio se atribuye a la presencia de otros microorganismos resistentes al autoclave, lo cual fue un factor imprevisto y se presentan las recomendaciones correspondientes para futuros estudios. Esta degradación observada permite suponer que estos microorganismos pueden también ser utilizados para el tratamiento del residuo. Adicionalmente, en el ensayo 5-E se demuestra que, el *P. ostreatus* en condiciones libres de competencia, genera una reducción de la relación C/N.

### FASE III. CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO DEGRADADO

Con el fin de determinar el valor nutricional del producto obtenido, se tomaron muestras de cada ensayo al finalizar el periodo de 70 días. Dichas muestras fueron enviadas al Centro de Investigaciones Agronómicas de la UCR para su análisis. Los parámetros analizados incluyen: calcio (Ca), magnesio (Mg), fósforo (P), cobre (Cu), hierro (Fe), zinc (Zn), manganeso (Mn) y potasio (K). En el Cuadro 14 se muestra los resultados del análisis de las concentraciones de los nutrientes del suelo en los ensayos al finalizar los 70 días.

Cuadro 14. Análisis de los elementos de fertilidad del suelo en los ensayos al finalizar los 70 días.

| Unidades                                   | cmol(+)/L |          |            | mg/L      |          |          |           |          |
|--|-----------|----------|------------|-----------|----------|----------|-----------|----------|
|  | Ca        | Mg       | K          | P         | Zn       | Cu       | Fe        | Mn       |
| 1 – C                                      | 1.96      | 0.85     | 0.36       | 3         | 1.1      | 1        | 7         | ND       |
| 2 – C                                      | 1.85      | 0.87     | 0.52       | 3         | 1.1      | 1        | 6         | ND       |
| 3 – C                                      | 1.64      | 1.33     | 1.6        | 3         | 1.1      | 1        | 174       | 55       |
| 4 – C                                      | 1.8       | 1        | 1.44       | 2         | 1.1      | 1        | 15        | 3        |
| 5 – E                                      | 2.29      | 1.66     | 1.51       | 1         | 1.2      | 3        | 18        | 2        |
| <b>Valor de referencia (nivel crítico)</b> | <b>4</b>  | <b>1</b> | <b>0.2</b> | <b>10</b> | <b>3</b> | <b>1</b> | <b>10</b> | <b>5</b> |

Fuente: CIA-UCR.

Para la interpretación de los resultados, se tomó como referencia el nivel crítico de cada elemento para la solución extractora utilizada, este dato fue brindado por CIA-UCR junto con el resultado de los análisis. De acuerdo con Méndez y Bertsch (2012), el nivel crítico es la concentración de un elemento por encima de la cual no hay un aumento significativo en la producción de biomasa de la planta, o bien, por debajo de la cual se espera respuesta positiva en la producción si el elemento es añadido.

Como se observa en el Cuadro 14, los ensayos que cuentan únicamente con suelo (1-C y 2-C), a nivel general, poseen una menor cantidad de nutrientes, presentando valores menores al nivel crítico en calcio, magnesio fósforo, hierro y manganeso.

Por otro lado, en todos los ensayos que contienen fibra de pinzote (3-C, 4-C y 5-E) se observa un aporte importante de potasio, magnesio, hierro y manganeso; lo cual concuerda con la composición de la fibra de pinzote (ver Fase I, Cuadro 11). Adicionalmente, se nota un incremento en los valores de calcio y cobre en el ensayo 5-E. Por lo tanto, se muestra el aporte nutricional que se realiza al suelo mediante el uso de fibra de pinzote sometida a un proceso de degradación microbiana.

En lo que respecta a los ensayos restantes, se observa que en el control 3-C los niveles de hierro y de manganeso son de 174 y 55 mg/L, respectivamente. De acuerdo con Méndez y Bertsch (2012), los valores mayores a 100 mg/L de hierro y a 50 mg/L de manganeso, son considerados valores altos en la interpretación de análisis de fertilidad de suelos. Sin embargo, Bertsch (2022) indica que es normal encontrar valores altos de estos elementos en abonos orgánicos (especialmente en el caso del hierro).

Por otro lado, en los ensayos 4-C y 5-E, se observa un mayor balance en cuanto a las cantidades de nutrientes, ya que aumentan macronutrientes como el calcio (en ambos casos) y magnesio (solo en 5-E); además, se regulan las cantidades de micronutrientes como hierro y manganeso. Esto se puede atribuir a la presencia del *P. ostreatus* en ambos ensayos, a diferencia del control 3-C que no fue inoculado con el hongo.

Pese a que las cantidades de macroelementos aumentan en el ensayo 5-E, algunos de los nutrientes aún se encuentran por debajo del valor de referencia (nivel crítico). Esto mayormente en el caso del calcio, fósforo y zinc. Sin embargo, es importante recordar que, en los análisis de los elementos de fertilidad de suelos, únicamente se contempla la proporción de los nutrientes que se encuentra

disponible para ser absorbida por las plantas. Y en el caso de los abonos orgánicos, la liberación de nutrientes es más lenta debido a que estos se encuentran en su forma orgánica y deben pasar por un proceso de mineralización (Hernández, 2014). En esta misma línea, Bertsch (2022) explica que, existe poca información sobre valores mínimos y porcentajes de variación aceptables en la interpretación de análisis químicos de abonos orgánicos.

En el Cuadro 15 se muestran los resultados del análisis de las relaciones de los elementos asociados con la fertilidad del suelo, en los ensayos al finalizar los 70 días. Se determinaron las siguientes relaciones entre los elementos de la fertilidad del suelo: Ca/Mg, Ca/K, Mg/K y Ca+Mg/K.

Cuadro 15. Análisis de las relaciones de los elementos de fertilidad del suelo en los ensayos al finalizar los 70 días.

| <b>Ensayo</b> | <b>Ca/Mg</b> | <b>Ca/K</b> | <b>Mg/K</b> | <b>Ca+Mg/K</b> | <b>C/N</b> |
|---------------|--------------|-------------|-------------|----------------|------------|
| <b>1 - C</b>  | 2.31         | 5.44        | 2.36        | 4.27           | 1.26       |
| <b>2 - C</b>  | 2.13         | 3.56        | 1.67        | 3.98           | 1.04       |
| <b>3 - C</b>  | 1.23         | 1.03        | 0.83        | 2.87           | 4.21       |
| <b>4 - C</b>  | 1.80         | 1.25        | 0.69        | 3.60           | 29.46      |
| <b>5 - E</b>  | 1.38         | 1.52        | 1.10        | 3.67           | 11.76      |

Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con Méndez y Bertsch (2012), la mayor parte de las muestras presenta escasez de magnesio con respecto al potasio (Mg/K menor a 2.5) y escasez de calcio (Ca/Mg<2 y Ca/K<5). Esto se debe a que los valores de potasio son mucho mayores y este presenta una relación antagónica con ambos elementos. Únicamente en los controles 1-C y 2-C se observa una relación Ca/Mg adecuada y en el caso de la relación Ca/K solo el control 1-C se encuentra dentro del rango adecuado; lo cual se ve afectado por la adición de la fibra de pinzote, con altos contenidos de potasio. En estos casos, se puede optar por enriquecer el sustrato con fertilizantes inorgánicos que aporten calcio y magnesio con el fin de aumentar el valor agronómico del abono.

En cuanto a la relación C/N, Campitelli, (2014) indica que, un abono tipo compost debe tener valores menores a 20 o lo más cercano a 15 para estar en condiciones de ser utilizado, si la relación es muy baja, se puede dar la pérdida de nitrógeno por volatilización de amoníaco o por lavado. Por otro lado, si la relación es muy alta, los microorganismos empezarán a competir con las plantas por el nitrógeno disponible (Galindo y Romero, 2012). Como se muestra en el Cuadro 15, solo el ensayo 5-E se encuentra dentro del rango indicado; ya que el control 4-C tiene un valor mayor y del 1-C al 3-C, los valores son muy bajos.



## V. CONCLUSIONES

---

La fibra de pinzote analizada presenta un 96,2% de materia orgánica, 52% de humedad, 55.79% de carbono y 3% de aceites. En cuanto a materiales lignocelulíticos tiene un 43.89% de celulosa, 25.34% de hemicelulosa y 6.21% de lignina. Contiene porcentajes de fibra relativamente altos (76,1% FND y 50,76% FAD). Adicionalmente, los análisis de nutrientes minerales reflejan que el macronutriente que se encuentra en mayor cantidad es el potasio (1.01%), seguido por el nitrógeno (0.65%), calcio (0.13%), magnesio (0.07%), fósforo (0.06%), y azufre (0.05%). En cuanto a los microelementos, el hierro es el que se encuentra en mayor concentración (829 ppm) y el boro en menor concentración (7 ppm).

Se demostró que el hongo *P. ostreatus* es capaz de utilizar la fibra de pinzote como sustrato y degradarla eficientemente en condiciones controladas y estériles. Obteniendo un tiempo de corrida de micelio de 21 días y una relación carbono nitrógeno de 11.76 a los 70 días.

Al haber presencia de otros microorganismos, el hongo *P. ostreatus* presenta un bajo crecimiento y disminuye la eficiencia de degradación de la fibra, obteniendo una relación C/N final de 29.45.

Los hongos del género *Trichoderma* y *Penicillium* también mostraron ser descomponedores eficientes de la fibra de pinzote, ya que en el ensayo 3-C se obtuvo una relación C/N de 4.21 con la presencia de estos hongos.

Se encontró que al exponer residuos de fibra de pinzote al hongo *P. ostreatus* en condiciones controladas y estériles se obtiene un producto viable para su uso como abono orgánico, dado que cuenta con una adecuada relación C/N y un aporte de nutrientes más balanceado que los controles del ensayo.

## VI. RECOMENDACIONES

---

Se recomienda implementar una fase a mayor escala en condiciones estériles, sustituyendo el método de cultivo del hongo mediante el uso de semillas comerciales.

Se recomienda utilizar un método de esterilización que combine un tratamiento térmico inicial con la adición de ácido peracético activo con el fin de asegurar el control de contaminantes en el proceso.

Evaluar el uso de fibra de pinzote como sustrato para la producción comercial de *P. ostreatus* y el aprovechamiento del subproducto final como abono orgánico. Dicho estudio se debe complementar con el análisis de residuos de agroquímicos en el hongo al final de la cosecha para determinar su viabilidad para consumo humano.

Realizar estudios de hongos de los géneros *Thricoderma* y *Penicillium* como posibles aceleradores de la descomposición de fibra de pinzote. Ya que estos demostraron ser resistentes a las condiciones de competencia en medios no esterilizados.

Para futuros estudios, se recomienda complementar los análisis del sustrato con: medición de pH, tasa de respiración de CO<sub>2</sub>, biodisponibilidad de nutrientes y pruebas de germinación. Esto con el fin de complementar la información del valor agronómico del producto degradado.

## VII. REFERENCIAS

---

- Ardón, C.E. (2007). *La Producción de los Hongos Comestibles* (tesis de posgrado). Universidad de San Carlos de Guatemala. Recuperado de: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/07/07\\_1932.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/07/07_1932.pdf)
- Arguedas, A. (2012). *Propuesta de plan para el manejo integral de residuos en la Planta Extractora de Aceite de Palma, Cala y Blanco S.A.; Matina, Limón* (práctica profesional supervisada). Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.
- Bertsch, F. (2022) *Funciones del suelo y calidad química de los abonos orgánicos*. Seminario Virtual impartido por la Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. Recuperado de: [https://youtu.be/afbOqdKe8\\_o](https://youtu.be/afbOqdKe8_o)
- Borasino, E. (2016). Capítulo 2. La cadena de la palma aceitera en contexto. En Fort, R. y Borasino, E. (Eds.), *¿Agroindustria en la Amazonía? Posibilidades para el desarrollo inclusivo y sostenible de la palma aceitera en el Perú* (pp. 23-68). Grupo de Análisis para el Desarrollo (GRADE). Lima, Perú. Disponible en: [http://biblioteca.clacso.edu.ar/Peru/grade/20161013025755/LIBROGRADE\\_palma.pdf](http://biblioteca.clacso.edu.ar/Peru/grade/20161013025755/LIBROGRADE_palma.pdf)
- Campitelli, P. (2014). *Compostaje. Obtención de abonos de calidad para las plantas*. Editorial Brujas. Recuperado de: <https://elibro.net.una.remotexs.co/es/lc/unacr/titulos/78144>
- Charpentier, C. (2019). *Aprovechamiento de residuos de palma para la producción de etanol de segunda generación por hidrólisis enzimática* (tesis de grado). Universidad de Costa Rica. Recuperado de: <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/15771/1/44728.pdf>
- Clare, P. (2011). *Los cambios en la cadena de producción de la palma aceitera en el Pacífico costarricense: Una historia económica, socioambiental y tecnocientífica, 1950-2007*. San José, Costa Rica, Sociedad Editorial Alquimia 2000, 258p.
- Coopeagropal (2017). *Planta extractora*. Recuperado del sitio web de Coopeagropal R.L.: <https://www.coopeagropal.co.cr/pagina/planta-extractora>
- Coto, O. (2013). *Evaluación de la generación de residuos agrícolas orgánicos (RAO) en Costa Rica e identificación de sector prioritario* (Informe de Consultoría No. 1). Recuperado del sitio

web del Ministerio de Agricultura y Ganadería: <http://www.mag.go.cr/proyectos/proy-residuos-agricolas-org/productos/Informe%20RAO%20CR%20Producto%201.pdf>

Cruz, Y.I. (2015). *Aislamiento e identificación de microorganismos fijadores de nitrógeno de la micofera de *Pleurotus ostreatus** (tesis de grado). Universidad Autónoma de Chiapas. Recuperado de: [http://aleph.ecosur.mx:8991/exlibris/aleph/a22\\_1/apache\\_media/CPSG2NBM5FC7HXUGJPLF52YR1B3JI3.pdf](http://aleph.ecosur.mx:8991/exlibris/aleph/a22_1/apache_media/CPSG2NBM5FC7HXUGJPLF52YR1B3JI3.pdf)

D' Acunha, B.M. (2015). *Estudio de la dinámica de la degradación de hojarasca en bosque tropical amazónico utilizando marcadores químicos de descomposición* (tesis de grado). Pontificia Universidad Católica de Perú. Recuperado de: <http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/123456789/6220>

Díaz, K., Casanova, M., León, C.A., Gil, L.A., Bardale, C.B., Y Cabos, J. (2019). Producción de *Pleurotus ostreatus* (Pleurotaceae) ICFC 153/99 cultivado sobre diferentes residuos lignocelulósicos. *Arnaldoa*, 26(3), 1177-1184. <https://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.263.26322>

Fajardo, A. (2016). *Viabilidad de la degradación del rastrojo de piña (*Ananas comosus*) inoculado en suelo mediante un consorcio de hongos y bacterias como tratamiento alternativo e impacto en la fertilidad* (tesis de grado). Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

Filippi, M.V., Cayolo, F., Maldonado, J.F., Martínez, D.A. y Buglione M.B. (2019). *Control de contaminantes durante el proceso de producción de hongos comestibles*. Recuperado de: <https://rid.unrn.edu.ar/bitstream/20.500.12049/5018/1/Trabajo%20completo%20Filippi%20et%20al.pdf>

Galindo, T. y Romero, H. M. (2012). *Compostaje de subproductos de la agroindustria de palma de aceite en Colombia: Estado del arte y perspectivas de investigación*. Boletín Técnico N° 31. Centro de Investigación en Palma de Aceite, Bogotá, Colombia.

Gamarra, L.F. (2016). *Aptitud de las fibras del mesocarpio de la palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq.) para la elaboración de tableros fibrocemento* (tesis de grado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. Recuperado de: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2643/K50-G35-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- García, A. (2005). *Lección 4. Componentes del suelo. Fase sólida. Componentes orgánicos. Humificación.* Recuperado de:  
<https://www.eweb.unex.es/eweb/edafo/ECAP/ECAL4FSCOHumificacion.htm>
- García, J.A., Cárdenas, M.M. y Yañez, E.E. (2010). Generación y uso de biomasa en plantas de beneficio de palma de aceite en Colombia. *Palmas*. Vol 31 N°2. Pp. 41-48
- García, J.L. y Martínez, M.J. (2014). Biomasa y Biotecnología. *SEM@aforo* 58, 45-47pp. Recuperado de:  
[http://digital.csic.es/bitstream/10261/137345/5/Sem%40aforo\\_2014\\_Garcia\\_Martinez.pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/137345/5/Sem%40aforo_2014_Garcia_Martinez.pdf)
- González, A.F.; Jiménez, I.C.; Rodríguez, M.; Restrepo S. y Gómez, J.M. (2008). Biocombustibles de segunda generación y Biodiesel: Una mirada a la contribución de la Universidad de los Andes. *Revista de Ingeniería*, (28), 70-82. Recuperado de:  
<https://ojsrevistaing.uniandes.edu.co/ojs/index.php/revista/article/viewFile/268/305>
- Grijalva, N. (2013). Degradación de residuos vegetales mediante inoculación con cepas microbianas. *Enfoque UTE* 4(1): 1-13pp. Recuperado de: <http://oaji.net/articles/2015/1783-1426290326.pdf>
- Hamzah, N., Tokimatsu, K. y Yoshikawa, K. (2019). Solid Fuel from Oil Palm Biomass Residues and Municipal Solid Waste by Hydrothermal Treatment for Electrical Power Generation in Malaysia: A Review. *Sustainability*, 11(1060), pp. 1-23. Recuperado de:  
[www.mdpi.com/journal/sustainability](http://www.mdpi.com/journal/sustainability)
- Hernández, R. (2014). *Abonos Orgánicos*. (2da ed.) Instituto Nacional de Aprendizaje. San José, Costa Rica.
- Hernández, R.; Fernández, C. y Baptista, P. (2006). *Metodología de la investigación*. (4 ed.) D.F., MX. McGraw-Hill Interamericana.
- Hernández, R.A. y López, C.L. (2006). *Evaluación del crecimiento y producción de Pleurotus ostreatus sobre diferentes residuos agroindustriales del Departamento de Cundinamarca* (tesis de grado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia. Recuperado de:  
<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis257.pdf>
- Hernández, R.M.; (2010). *Caracterización de los aglomerados elaborados a base de fibras de pinzote y cascarilla que son obtenidos como residuos a partir del procesamiento de*

*extracción de aceite de palma africana* (práctica profesional supervisada). Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Costa Rica.

Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria, (2016). *Suelos de Costa Rica Orden Ultisol*. Boletín Técnico 1. Recuperado de: <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/Av-1604.PDF>

International Union of Food (IUF), (2015). *Un panorama sobre el sector palma africana: Por países y por compañías*. Conferencia Mundial del sector palma africana, Bogotá, Colombia 12 y 13 de marzo de 2015. Recuperado de: <https://www.iuf.org/wp-content/uploads/attachments/Palma%20africana%20-%20Documento%20informativo.pdf>

Isaza, G.; Pérez, M.; Laines, J. y Castañón, G. (2009). Comparación de dos técnicas de aireación en la degradación de la materia orgánica. *Universidad y Ciencia*, 25(3): 233-243. Recuperado de: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S018629792009000300005&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018629792009000300005&lng=es&nrm=iso)

Mack, L.G.; (2019). *Evaluación del Sistema Agroforestal y Monocultivo de Palma Africana (Elaeis guineensis Jacq.) establecidos por el Proyecto Lapa En La Región De Osa-Golfito, Puntarenas, Costa Rica* (tesis de grado). Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Costa Rica.

Marlina, L., Sukotjo, S. y Marsudi, S. (2016). Potential of Oil Palm Empty Fruit Bunch (EFB) as Media for Oyster Mushroom, *Pleurotus ostreatus* Cultivation. *Procedia Chemistry*, 16, 427-431. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876619615002223>

Mejía, M.E. (2012). *Elaboración de tableros aglomerados auto-adheridos a partir de fibra de raquis de palma africana (Elaeis guineensis Jacq.)* (Tesis de grado). Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.

Méndez, J.C. y Bertsch, F. (2012). *Guía para la interpretación de la fertilidad de suelos de Costa Rica*. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo. 108 p.

Mihai, R.A., Melo, E.J., Florescu, L.I., Catana, R.D. (2022) The Edible Gray Oyster Fungi *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm a Potent Waste Consumer, a Biofriendly Species

with Antioxidant Activity Depending on the Growth Substrate. *Journal of Fungi*, 8 (274).  
<https://doi.org/10.3390/jof8030274>

Ministerio de Agricultura y Ganadería, (s.f). *Plan estratégico de la cadena productiva de palma aceitera, período 2008-2010*. Recuperado de:  
<http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/a00043.pdf>

Moncada, O. y Castro, S.V. (2016). *Caracterización de mezclas de residuos lignocelulósicos raquis de palma africana y bagazo de caña, para visualizar su potencial en la producción de etanol de segunda generación* (tesis de grado). Universidad Santo Tomás, Bucaramanga, Colombia. Recuperado de: <https://repository.usta.edu.co/handle/11634/9169>

Mora, S.; Quesada, R; Jaén, L. y Monge, D. (2021). *Boletín Estadístico Agropecuario No. 31. Serie Cronológica 2017 – 2020*. Recuperado de: [www.sepsa.go.cr](http://www.sepsa.go.cr)

Nafissa, A., Ahmad, F., Nur Fausan, W., Noorhalieza, A. y Hassan, O. (2008). The usage of empty fruit bunch (EFB) and palm pressed fibre (PPF) as substrates for the cultivation of *Pleurotus ostreatus*. *Jurnal Teknologi*, 49(F): 189-196. Recuperado de: <http://eprints.utm.my/8680/>

Pineda, D.M. (2012). *Uso de los residuos de raquis de palma de aceite como medio absorbente de tintes presentes en aguas residuales de la industria textil* (Tesis de Maestría). Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica

Quesada, G. (2002). *Tecnología de palma aceitera: Cultivo e industria de la palma aceitera (Elaeis guineensis)*. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Recuperado de:  
[http://www.mag.go.cr/biblioteca\\_virtual\\_ciencia/tec\\_palma.pdf](http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/tec_palma.pdf)

Quesada, J.C. (2015) *Destrucción de fibras de pinzote y bagazo de caña con alcoholes biodegradables* (tesis de grado). Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

Quesada, A. (2017). Estudiante de la UNA es seleccionado como uno de los 100 líderes jóvenes en biotecnología de Latinoamérica. *Semanario Universidad*. Recuperado de:  
<https://semanariouniversidad.com/universitarias/estudiante-la-una-seleccionado-uno-los-100-lideres-jovenes-biotecnologia-latinoamerica/>

Ramírez, F., Carazo, E., Roldan, C. y Villegas, G. (2007). *Encuesta de oferta y consumo energético nacional a partir de la biomasa en Costa Rica*. San José, Costa Rica: Ministerio de Ambiente y Energía. Dirección Sectorial de Energía. DSE. N° 200. 340p. Recuperado de:

<http://www.dse.go.cr/en/03Publicaciones/02Estadisticas/INFORME%20FINAL%20ESTUDIO%20BIOMASA%20CR%2004-02-2008.pdf>

Ramírez, M.F., Piedra C.L., Morales C.V. y Orozco A.M. (2017). *Manual de buenas prácticas para el cultivo de palma aceitera en el Refugio Nacional de Vida Silvestre Barra del Colorado, Costa Rica*. Área de Conservación Tortuguero (ACTo), Sistema Nacional de Áreas de Conservación (SINAC), Proyecto para la Promoción del Manejo Participativo en la Conservación de la Biodiversidad (MAPCOBIO) y Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA). Guápiles, Costa Rica. 32 p. Recuperado de: <http://www.sinac.go.cr/ES/partciudygober/Manual%20Sistematizacion/Manual%20de%20Buenas%20Pr%C3%A1cticas%20Agr%C3%ADcolas%20y%20Ambientales%20para%20el%20cultivo%20de%20palma%20aceitera%20en%20el%20RNVS%20BC.pdf>

Ramírez, N., Arévalo, A. y Garcia-Nunez, J. A. (2015). Inventario de la biomasa disponible en plantas de beneficio para su aprovechamiento y caracterización fisicoquímica de la tusa en Colombia. *Palmas*, 36(4), 41-54. Recuperado de: <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/11644/11636>

Rivera-Omen, R. L., Martínez-Mamián, C. A. & Morales-Velasco, S. (2013). Evaluación de residuos agrícolas como sustrato para la producción de *Pleurotus ostreatus*. *Revista Luna Azul*, 37, 89-100. Recuperado de: <http://lunazul.ucaldas.edu.co/index.php?option=content&task=view&id=847>

Rodríguez, G. (2010). *Análisis del desempeño de la cadena productiva de palma aceitera, 2004-2008*. Secretaría Ejecutiva de Planificación Sectorial Agropecuaria (SEPSA). Recuperado de: [http://www.infoagro.go.cr/Agronegocios/Documents/Cadena\\_Palma\\_publicable%2031-03-10.pdf](http://www.infoagro.go.cr/Agronegocios/Documents/Cadena_Palma_publicable%2031-03-10.pdf)

Rojas, E. (2011). Raquis de palma africana es ideal para sustituir bandejas de “estereofón”. *Presencia Universitaria*. N° 109. pp. 42-43.

Rojas, D. (2015). *Evaluación in vitro de un consorcio de hongos y bacterias sobre la degradación del rastrojo de piña* (tesis de grado). Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

Rubí, J. (2020). *Estudio del efecto de la temperatura en el crecimiento del hongo Pleurotus ostreatus como insumo para una nueva tecnología de biodegradación del rastrojo de piña* (tesis de grado). Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.



- Ruilova, M., Hernández, A. y Niño, Z. (2017). Influence of C/N ratio on productivity and the protein contents of *Pleurotus ostreatus* grown in different residue mixtures. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 49(2): 331-344. Recuperado de: [https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos\\_digitales/9699/20172-cp23-ruilova-cueva.pdf](https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/9699/20172-cp23-ruilova-cueva.pdf)
- Sánchez, C. (2009). Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology Advances* 27: 185-194. Recuperado de: [http://davidmoore.org.uk/21st\\_Century\\_Guidebook\\_to\\_Fungi\\_PLATINUM/REPRINT\\_collection/Sanchez\\_lignocellulose\\_biodegradation2009.pdf](http://davidmoore.org.uk/21st_Century_Guidebook_to_Fungi_PLATINUM/REPRINT_collection/Sanchez_lignocellulose_biodegradation2009.pdf)
- Sánchez, M. (2011). *Evaluación de la pulpa para papel obtenida a partir del raquis de palma africana (Elaeis guineensis) utilizando el método organosolvente modificado* (tesis de grado). Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Siddique, S., Shafawati, S.N. y Naher, L. (2017). Effective composting of empty fruit bunches using potential *Trichoderma* strains. *Biotechnology Reports*, 13, 1 - 7. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2215017X16300959#:~:text=In%20this%20research%2C%20experimental%20works,were%20found%20to%20be%20alkaline.>
- Sierra-Márquez, J., Sierra-Márquez, L. y Olivero-Verbel, j. (2017). Potencial económico de la palma aceitera (*Elaeis guineensis* Jacq). *Agronomía Mesoamericana*, 28(2), 523-534. Recuperado de: [http://www.mag.go.cr/rev\\_meso/v28n02\\_523.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_meso/v28n02_523.pdf)
- Solórzano, J. (2019). *Retos y oportunidades del sector palmero*. Congreso Palma Aceitera, 24/25 abril 2019, Laurel de Corredores. Recuperado de: <https://www.canapalma.cr/wp-content/uploads/2019/10/Presentacion-Tema-1-Johanna.pdf>
- Soto, M. (2018). *Crisis de la palma aceitera oprime a productores de Costa Rica*. Recuperado de <https://es.mongabay.com/2018/11/palma-de-aceite-crisis-productorescosta-rica/>
- Soto-Mora, E.S.; Hernández-Vázquez, M.; Luna-Zendejas, H.S.; Ortiz-Ortiz, E. y García-Gallegos, E. (2016). Evaluación del contenido de materia orgánica en suelos agrícolas y su relación carbono/nitrógeno. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 3(5): 98-105. Recuperado de: <http://www.reibci.org/publicados/2016/oct/1800105.pdf>

- Suksong, W. *et al.* (2020). Enhanced solid-state biomethanisation of oil palm empty fruit bunches following fungal pretreatment. *Industrial Crops and Products*, 145: 1-9. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669020300157>
- Syafwina, Honda, Y., Watanabe, T. y Kawahara, M. (2002). Pre-treatment of Oil Palm Empty Fruit Bunch by White-rot Fungi for Enzymatic Saccharification. *Wood Research: bulletin of the Wood Research Institute Kyoto University*. 89:19-20
- Torres, R., Acosta, A. y Chinchilla, C. (2004). Proyecto comercial de compostaje de los desechos agroindustriales de la palma aceitera. *Palmas*. Volumen 25, número especial, tomo II.
- Torres, R., Chinchilla, C. y Ramírez, C. (1999). Compostaje de los desechos agroindustriales de la palma aceitera. En *XI Congreso Nacional Agronómico*. Colegio de Ingenieros Agrónomos, San José Costa Rica.
- Van Dam, J. (2016). Subproductos de la palma de aceite como materias primas de biomasa. *Palmas*, 37(Especial Tomo II), pp. 149-156. Recuperado de: [https://web.fedepalma.org/sites/default/files/files/Fedepalma/Memorias%20de%20la%20XV%20III%20Conferencia%20Internacional%20sobre%20Palma%20de%20aceite/M\\_2\\_15\\_%20Subproductos%20de%20la%20palma.pdf](https://web.fedepalma.org/sites/default/files/files/Fedepalma/Memorias%20de%20la%20XV%20III%20Conferencia%20Internacional%20sobre%20Palma%20de%20aceite/M_2_15_%20Subproductos%20de%20la%20palma.pdf)
- Vargas, C., Miller, C., Hernández, K y Madrigal, G. (2020). *Informe: Monitoreo del estado de la Palma Aceitera en las principales regiones productoras de Costa Rica para el año 2018*. San José, Costa Rica. Recuperado de: <https://repositorio.conare.ac.cr/handle/20.500.12337/7893>
- Vargas, E. y Zumbado, M. (2003). Composición de los subproductos de la industrialización de la palma africana utilizados en la alimentación animal en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 27(1): 07-18. Recuperado de: [http://www.mag.go.cr/rev\\_agr/v27n01\\_007.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_agr/v27n01_007.pdf)
- Yahaya, A.N., Hossain, S. y Edyvean, R. (2017). Analysis of phenolic compounds in empty fruit bunches in oyster mushroom cultivation and in vermicomposting. *BioResources*. 12(3): 4595-4605. Recuperado de: <http://www.scielo.org.mx/pdf/remcf/v9n46/2007-1132-remcf-9-46-4.pdf>
- Zakil, F.A., Xuan, L.H., Zaman, N., Alan, N.I., Salahutheen, N.A.A, Sueb, M.S.M., Isha, R. (2022) Growth performance and mineral analysis of *Pleurotus ostreatus* from various agricultural

wastes mixed with rubber tree sawdust in Malaysia. *Bioresource Technology Reports*. 17.  
Recuperado de:  
<https://www.sciencedirect.com.una.remotexs.co/science/article/pii/S2589014X21002516#!>

## VIII. APÉNDICES

Apéndice 1. Determinación de carbono, nitrógeno, relación C/N y prueba de valores atípicos según método de Grubbs, realizado a las muestras al inicio del ensayo (semana cero).

| Ensayo | Carbono | Nitrógeno | C/N     |         | Promedio | Desviación estándar | R      | R table | C/N        | Promedio | Desviación estándar |
|--------|---------|-----------|---------|---------|----------|---------------------|--------|---------|------------|----------|---------------------|
|        |         |           |         |         |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 1-C1   | 3.0445  | 0.5125    | 5.9401  | 5.9401  | 6.0852   | 0.2390              | 0.9137 | 1.148   | 5.94013938 | 5.9473   | 0.0101              |
| 1-C2   | 3.2602  | 0.5125    | 6.3611  | 6.3611  |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 1-C3   | 3.0518  | 0.5125    | 5.9544  | 5.9544  |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 2-C1   | 3.4846  | 1.4524    | 2.3991  | 2.3991  | 2.7229   | 0.6893              | 0.3946 | 1.148   | 2.39913    | 2.7229   | 0.6893              |
| 2-C2   | 5.1046  | 1.4524    | 3.5145  | 3.5145  |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 2-C3   | 3.2755  | 1.4524    | 2.2552  | 2.2552  |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 3-C1   | ND      | 0.1617    | ND      | ND      | 32.1888  | -                   | -      | 1.148   | 32.18879   | 32.1888  | -                   |
| 3-C2   | 5.2047  | 0.1617    | 32.1888 | 32.1888 |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 3-C3   | ND      | 0.1617    | ND      | ND      |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 4-C1   | 9.2344  | 0.2703    | 34.1673 | 34.1673 | 36.2541  | 3.0657              | 0.9921 | 1.148   | 34.16730   | 36.2541  | 3.0657              |
| 4-C2   | 9.4111  | 0.2703    | 34.8212 | 34.8212 |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 4-C3   | 10.7497 | 0.2703    | 39.7739 | 39.7739 |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 5-E1   | 17.3842 | 0.4175    | 41.6393 | 41.6393 | 50.0190  | 13.4599             | 0.9900 | 1.148   | 41.6392993 | 42.2561  | 0.8723              |
| 5-E2   | 17.8992 | 0.4175    | 42.8729 | 42.8729 |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 5-E3   | 27.3646 | 0.4175    | 65.5448 | 65.5448 |          |                     |        |         |            |          |                     |

Fuente: Elaboración propia.

Nota: En los casos que se indica ND no se pudieron obtener datos porque se perdió la muestra.

Apéndice 2. Determinación de carbono, nitrógeno, relación C/N y prueba de valores atípicos según método de Grubbs, realizado a las muestras al final del ensayo (semana 10).

| Ensayo | Carbono | Nitrógeno | C/N     |         | Promedio | Desviación estándar | R      | R tabla | C/N        | Promedio | Desviación estándar |
|--------|---------|-----------|---------|---------|----------|---------------------|--------|---------|------------|----------|---------------------|
| 1-C1   | 0.34009 | 0.98      | 0.3470  | 0.3470  | 7.7516   | 11.2866             | 1.824  | 1.148   | 0.34702874 | 1.2564   | 1.2861              |
| 1-C2   | 20.327  | 0.98      | 20.7418 | 20.7418 |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 1-C3   | 2.12251 | 0.98      | 2.1658  | 2.1658  |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 2-C1   | 1.14479 | 0.56      | 2.0443  | 2.0443  | 15.5499  | 25.1605             | 0.7261 | 1.148   | 2.04427411 | 1.0351   | 1.4271              |
| 2-C2   | 24.9645 | 0.56      | 44.5794 | 44.5794 |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 2-C3   | 0.01457 | 0.56      | 0.0260  | 0.0260  |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 3-C1   | 1.98068 | 1.344     | 1.4737  | 1.4737  | 4.2140   | 2.5250              | 0.0880 | 1.148   | 1.47372183 | 4.2140   | 2.5250              |
| 3-C2   | 6.34566 | 1.344     | 4.7215  | 4.7215  |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 3-C3   | 8.66439 | 1.344     | 6.4467  | 6.4467  |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 4-C1   | ND      | 0.448     | ND      | ND      | 29.4564  | 4.4916              |        | 1.148   |            | 29.4564  | 4.4916              |
| 4-C2   | 14.6193 | 0.448     | 32.6324 | 32.6324 |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 4-C3   | 11.7736 | 0.448     | 26.2803 | 26.2803 |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 5-E1   | 2.12979 | 0.42      | 5.0709  | 5.0709  | 11.7628  | 5.9877              | 1.1176 | 1.148   | 5.07093139 | 11.7628  | 5.9877              |
| 5-E2   | 5.71328 | 0.42      | 13.6030 | 13.6030 |          |                     |        |         |            |          |                     |
| 5-E3   | 6.97804 | 0.42      | 16.6144 | 16.6144 |          |                     |        |         |            |          |                     |

Fuente: Elaboración propia.

Nota: En los casos que se indica ND no se pudieron obtener datos porque se perdió la muestra

## IX. ANEXOS

Anexo 1. Composición química de la fibra de pinzote de Palma Tica, Planta Naranjo, año 2006.

| %    |      |      |      |      |      | mg/l |    |    |    |       | %     |      |         |
|------|------|------|------|------|------|------|----|----|----|-------|-------|------|---------|
| N    | P    | Ca   | Mg   | K    | S    | Fe   | Cu | Zn | Mn | B     | MO    | C.O. | Humedad |
| 1.29 | 0.15 | 0.45 | 0.24 | 1.96 | 0.11 | 3855 | 25 | 38 | 70 | 15.38 | 16.06 | 9.32 | 48.15   |

Fuente: Miguel García (comunicación personal, 02 de abril, 2018).

Anexo 2. Composición química de la fibra de pinzote de Coopeagropal, año 2008.

| Componente              | Resultados | Óxidos   |
|-------------------------|------------|----------|
| <b>Macro Nutrientes</b> |            |          |
|                         | <b>ppm</b> | <b>%</b> |
| Nitrógeno total         | N          | 8 700    |
| Fósforo                 | P          | 10 420   |
| Potasio                 | K          | 23 430   |
| Calcio                  | Ca         | 2 425    |
| Magnesio                | Mg         | 1 237    |
| <b>Micro Nutrientes</b> |            |          |
| Hierro                  | Fe         | 359,8    |
| Manganeso               | Mn         | 15,11    |
| Boro                    | B          | 12,25    |
| Cobre                   | Cu         | 15,20    |
| Zinc                    | Zn         | 72,36    |
| Molibdeno               | Mo         | 6,04     |
| Aluminio                | Al         | 1 111    |
| pH                      |            | 6,77     |
| Contenido de Humedad    | %          | 62,79    |
| Conductividad Eléctrica |            | 0,72     |

Fuente: Heiner Gutiérrez (comunicación personal, 26 de setiembre, 2017).