

## Análisis teórico-experimental de la estequiometría del crecimiento del hongo comestible *Pleurotus djamor*

Theoretical-experimental analysis of the stoichiometry of the growth of the edible mushroom *Pleurotus djamor*

María José Enríquez Arredondo<sup>1</sup> Talina Olivia Martínez Martínez<sup>2</sup>, Elizabeth Quintana Rodríguez<sup>3</sup>, Adán Topiltzin Morales Vargas<sup>4</sup>, José Luis Zárate Castrejón<sup>5</sup>, Vicente Peña Caballero<sup>6</sup>

1, 4, 5, 6Universidad de Guanajuato, Campus Celaya-Salvatierra, Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Sección de Análisis Dinámico de Bioprocesos, Prolongación Río Lerma s/n, Col. Suiza, C.P. 38060.

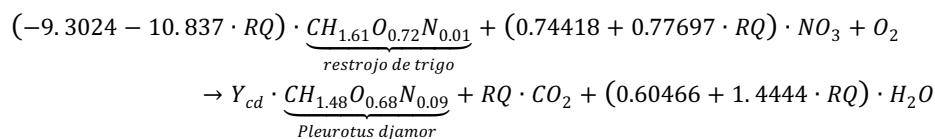
2INIFAP C.E. Bajío. Laboratorio de Transformación. Carretera Celaya San Miguel Allende Km. 6.5 Celaya, Gto, C.P. 38110. \*Autores responsables

3Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas (CIATEC), Omega, 201, Col. Industrial Delta, León C.P.37545, Guanajuato, Gto. jlzarate@ugto.mx, vicente.caballero@ugto.mx

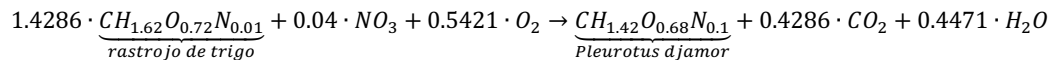
### Resumen

La determinación de las fórmulas empíricas para biomasa de rastrojo de trigo para el cultivo de *Pleurotus djamor* y la fórmula elemental de la biomasa fúngica, tienen relevancia para establecer la ecuación estequiométrica del crecimiento y su relación con su valor nutricional por su contenido elemental de C, H, O y N en la biomasa fúngica y los parámetros biológicos del cultivo. El objetivo de este trabajo fue primero evaluar los parámetros de eficiencia biológica (EB) y la tasa de producción (TP) para el crecimiento de *P. djamor* y segundo desarrollar una ecuación estequiométrica aproximada que describe el crecimiento de *P. djamor* sobre rastrojo de trigo. En los cultivos preliminares para el sistema rastrojo de trigo - *P. djamor*, la EB fue de 69.48% y la TP fue de 1.44% para cultivos en condiciones de laboratorio controladas. Para la reacción estequiométrica para el cultivo de *P. djamor*, se consideró las fórmulas empíricas para el rastrojo de trigo  $X_{substrato} = biomasa\ de\ trigo = CH_{1.61}O_{0.72}N_{0.01}$  y para una biomasa "estándar" para la cepa de *P. djamor*  $X_{hongo} = biomasa\ del\ hongo = CH_{1.48}O_{0.68}N_{0.09}$ . Los modelos teóricos desarrollados con el supuesto de que se conocían las mediciones de la velocidad de consumo de oxígeno y velocidad de producción de  $CO_2$  por el hongo, se estimó la estequiometría del crecimiento de *P. djamor* en función del rendimiento  $Y_{ce} \triangleq \left| \frac{r_c}{r_o} \right| = RQ$  y la estequiometría del crecimiento del hongo al aplicar el balance de reducción de las moléculas consideradas en la reacción, respectivamente, reacción 1 y reacción 2 con base en carbono mol (C-mol):

Reacción 1)



Reacción 2)



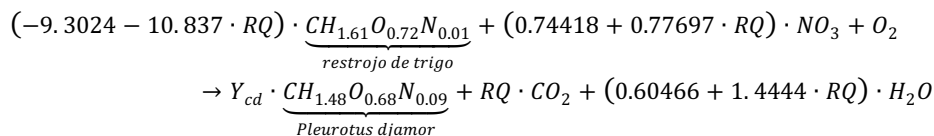
**Palabras clave:** *Pleurotus*, modelo de caja negra, ecuación de crecimiento microbiano.



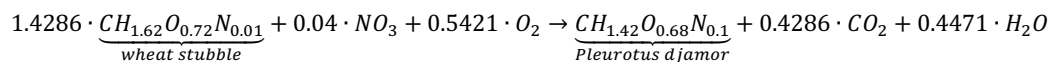
## Abstract

The determination of the empirical formulas for wheat stubble biomass for the cultivation of *Pleurotus djamor* and the elemental formula of the fungal biomass is relevant to establish the stoichiometric equation of growth and its relationship with its nutritional value for its elemental content of C, H, O and N in the fungal biomass and the biological parameters of the fermentation. The objective of this work was first to evaluate the biological efficiency (BE) and production rate (RP) parameters for the growth of *P. djamor* and second to develop an approximate stoichiometric equation describing the growth of *P. djamor* on wheat stubble. In preliminary cultures for the wheat stubble - *P. djamor* system, the BE was 69.48% and the RP was 1.44% for cultures under controlled laboratory conditions. For the stoichiometric reaction for *P. djamor* cultivation, the empirical formulas for wheat stubble  $X_{substrato} = \text{biomasa de trigo} = CH_{1.61}O_{0.72}N_{0.01}$  and for a "standard" biomass for *P. djamor* strain  $X_{hongos} = \text{biomasa del hongo} = CH_{1.48}O_{0.68}N_{0.09}$  were considered. Theoretical models developed with the assumption that measurements of the rate of oxygen consumption and rate of  $CO_2$  production by the fungus were known, the stoichiometry of the growth of *P. djamor* was estimated as a function of the yield  $Y_{ce} \triangleq \left| \frac{r_c}{r_o} \right| = RQ$  (respiratory quotient) and the stoichiometry of fungal growth by applying the reduction balance of the molecules considered in the reaction, respectively, reaction 1 and reaction 2 on a carbon mol (C-mol) basis:

Reaction 1)



Reaction 2)



**Keywords:** *Pleurotus*, black box model, stoichiometric equation.

## Introducción

La producción de hongos comestibles es una actividad que genera divisas a nivel mundial, actualmente se explotan varios géneros de hongos, de ellos el género *Pleurotus* es el más producido a nivel comercial, su producción mundial representa el 25% con respecto a los hongos comestibles. De manera general, estos son ricos en proteínas, bajo en grasas y contiene aminoácidos esenciales, por esta razón son una buena fuente alimenticia; además, producen sustancias bioactivas benéficas al consumidor (Rashwan, 2022). Además, una de las funciones ecológicas de los hongos es la degradación de material lignocelulósico en los bosques, con esta actividad biológica se reciclan los materiales almacenados en las maderas, tallos y hojarasca. Dada esta capacidad se ha propuesto la producción de *P. djamor* a partir de residuos agroindustriales. Existen estudios sobre los diversos sustratos empleados para la producción de *Pleurotus*, entre los que destacan restos de trigo, arroz, algodón, maíz, pino, malezas, papel, aserrín, hojas de plátano, hojas de palma, hojas de avellana, diferentes tipos de pulpas, yute, rastrojo de calabaza, henequén (Rashwan, 2022; Bellettini *et al.*, 2019). Además, se ha señalado que los hongos aportan proteínas, fibra dietética, carbohidratos, vitaminas, aminoácidos esenciales y minerales, también de moléculas bioactivas (Tóros *et al.*, 2022). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es evaluar la eficiencia biológica (EB) y la tasa de producción (TP) experimentalmente en la primera etapa del cultivo del hongo en laboratorio y desarrollar una ecuación estequiométrica teórica mediante análisis numérico para el crecimiento de *P. djamor* sobre residuos de rastrojo de trigo.



## Materiales y métodos

### Material biológico

Propagación y producción del hongo. Se utilizaron 300 g de grano de sorgo (*Sorghum vulgare*), que fueron colocados en bolsas de polipapel con 225 mL de agua potable y se esterilizaron en autoclave a 121 °C por 15 min (Autoclave Ecoshel® CVQ-B35L). Una vez que alcanzó la temperatura ambiente en las bolsas, se inocularon con micelio que previamente se hizo crecer en medio PDA (biomasa:  $X = CH_{x1}O_{x2}N_{x3}$ ). Se dejó en oscuridad hasta que el hongo invadió por completo los granos de sorgo.

En la etapa de producción, para regular el pH, se preparó una mezcla de cal viva (CaO) y yeso (CaSO<sub>4</sub>• 2 H<sub>2</sub>O) (3:1), que fue adicionada en la proporción de 70 g por cada kg de rastrojo, en seguida se agregaron 5 L de agua y se dejó en reposo por 15 min, luego se esterilizó por 15 min a 121 °C (Autoclave Ecoshel® CVQ-B35L). Una vez que la mezcla estuvo lista, se inoculó el rastrojo (biomasa  $X = CH_{y1}O_{y2}N_{y3}$ ) y se realizó una abertura que posteriormente se tapó con una gasa (modelo FN17100) para la oxigenación del micelio. Se incubó en oscuridad por 15 días a 25 °C. Los cálculos de la eficiencia biológica (EB) y tasa de producción (TP) se realizaron con las siguientes fórmulas:

$$EB = \frac{\text{Gramos de hongo fresco}}{100 \text{ g de sustrato seco}} \quad (1)$$

$$TP = \frac{EB}{\text{Tiempo transcurrido (tf - ti)}} \quad (2)$$

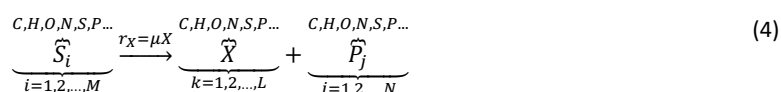
Donde *ti* es el tiempo inicial y *tf* es el tiempo final.

### Estequiometría del crecimiento de *P. djamor*

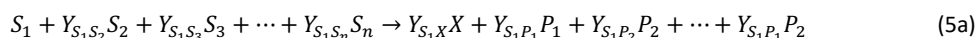
Para analizar el desarrollo de la estequiometría de crecimiento de *P. djamor*, se empleó la base de la composición elemental estándar para la biomasa del hongo, es decir, a partir de la fórmula elemental del material celular seco  $X = C_{\alpha}H_{\beta}O_{\gamma}N_{\delta}$  (Nielsen & Villadsen, 1992, Nielsen, 2001). De esta forma, se consideró al bioproceso de producción del hongo, es decir, la fermentación sólida de forma simple como una reacción química definida en la ecuación 3:



Entonces, se partió de que todo proceso biológico puede ser representado como una reacción química en donde a partir de reactivos se generan productos, y de forma general se consideró en la reacción *M* substratos, *N* productos y la biomasa fúngica *X*, es decir, con *k* = 1 en la ecuación 4 y para una composición elemental para los elementos C, H, O, N, S, P, ..., en las *M+N+1* moléculas de la reacción en la ecuación 4:



En la ecuación 4, se verificó la ley de conservación de la materia mediante la cual se obtiene la relación cuantitativa que existe entre reactivos y productos. Los reactivos fueron los nutrientes disponibles que el hongo necesitó para crecer y mantenerse. Éstos fueron una fuente de carbono (FC), fuente de energía (FE), fuente de nitrógeno (FN), además, también se puede considerar macronutrientes, micronutrientes y factores de crecimiento. Con base al modelo de caja negra en la ecuación 4, ésta fue propuesta como la ecuación 5 (Nielsen & Villadsen, 1992, Nielsen, 2001):



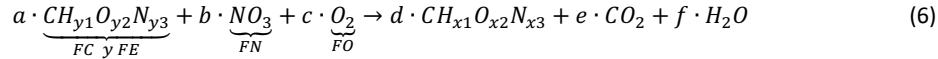
$$Y_{ji} \equiv \left| \frac{\text{velocidad de reacción } i}{\text{velocidad de reacción } j} \right| \quad (5b)$$

La característica de la ecuación 5 fue que ésta se trabajó en función de los rendimientos  $Y_{ji}$  sobre la base de la  $FC = S_1$  y el análisis elemental para el contenido total de C, H, O, N, S, P de las moléculas que se consideraron en la reacción en la ecuación 5. En este punto es importante precisar que en este estudio se consideró solamente los elementos C, H, O y N por ser los que representan el mayor porcentaje en peso en el material biológico (*P. djamor* y rastrojo de trigo) de aproximadamente >92% en peso (Zhou *et al.*, 2016, Narvaez *et al.*, 2021).



## Propuesta de modelo estequiométrico simplificado

Para este estudio se consideró la composición elemental de la biomasa del hongo para los cuatro elementos: C, H, O y N en las moléculas de la estequiometría para el crecimiento de *P. djamor* y se definió la ecuación 6 (Nielsen & Villadsen, 1992, Nielsen, 2001):



Donde las moléculas  $CH_{y_1}O_{y_2}N_{y_3}$  y  $CH_{x_1}O_{x_2}N_{x_3}$  fueron respectivamente, la composición elemental de la fuente carbono y energía (biomasa de rastrojo de trigo) para el crecimiento del hongo y la composición elemental fúngica. Las literales  $a, b, c, d, e$  y  $f$  son los coeficientes estequiométricos en la reacción de crecimiento del hongo. Finalmente,  $NO_3$  es la fuente de nitrógeno,  $O_2$  es la fuente de oxígeno, y los productos  $CO_2$  y  $H_2O$ . Para determinar los coeficientes estequiométricos en la ecuación 6, se partió del balance elemental para los elementos C, H, O y N mediante la definición de la matriz  $E$ , es decir, la matriz de composición de los elementos (C, H, O, N) para cada molécula en la reacción (con  $M + N + 1$ ) y la matriz  $\Phi$ , es decir, la matriz de coeficientes estequiométricos ( $a, b, c, d, e, f$ ). Las fórmulas para las moléculas  $CH_{y_1}O_{y_2}N_{y_3}$  y  $CH_{x_1}O_{x_2}N_{x_3}$  están con base en Carbono mol. Donde un C-mol se define como Carbono mol (C-mol) a la cantidad de un compuesto químico que contiene un átomo gramo de C. En este punto, como indicó, se definió un compuesto genérico para el substrato del residuo agroindustrial ( $CH_{y_1}O_{y_2}N_{y_3}$ ) y para la biomasa fúngica ( $CH_{x_1}O_{x_2}N_{x_3}$ ), y se obtuvo la ecuación 7 considerando estado estacionario en el proceso de producción del hongo durante el desarrollo de la fermentación (Villadsen *et al.*, 2011):

$$E = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 1 & 1 & 0 \\ y_1 & 0 & 0 & x_1 & 0 & 2 \\ y_2 & 3 & 2 & x_2 & 2 & 1 \\ y_3 & 1 & 0 & x_3 & 0 & 0 \end{bmatrix} \in \mathbb{R}^{4 \times 6}; \Phi = [a \ b \ c \ d \ e \ f]^T \in \mathbb{R}^{1 \times 6} \quad (7a)$$

$$E \cdot \Phi = [E_m \ E_c] \cdot \begin{bmatrix} \Phi_m \\ \Phi_c \end{bmatrix} = E_m \cdot \Phi_m + E_c \cdot \Phi_c = 0 \quad (7b)$$

$$E_m \in \mathbb{R}^{4 \times (m)} \quad E_c \in \mathbb{R}^{4 \times (-m)}; \Phi_m \in \mathbb{R}^{1 \times (m)} \quad \Phi_c \in \mathbb{R}^{1 \times ((N+M+1)-m)}$$

donde  $E_m$  fue la matriz de los elementos C, H, O y N para las mediciones,  $E_c$  fue la matriz de los elementos C, H, O y N para los compuestos que no se miden, es decir, se calcularon. Por analogía  $\Phi_m$  y  $\Phi_c$  son respectivamente, los vectores de coeficientes estequiométricos de los compuestos que se midieron y calcularon.

La solución de la ecuación 7b fue como sigue en la ecuación 7c para dos soluciones dependientes del tamaño del matriz  $E_c \in \mathbb{R}^{n \times m}$ :

$$E \cdot \Phi = 0 \begin{cases} \text{si } E_c \in \mathbb{R}^{n \times m}; n = m; \Rightarrow \Phi_c = - \left[ \frac{1}{\det(E_c)} \cdot \text{adj}(E_c)^T \right]^{-1} \cdot E_m \cdot \Phi_m \\ \text{si } E_c \in \mathbb{R}^{n \times m}; n \neq m; \Rightarrow \Phi_c = - \left[ \frac{1}{\det(E_c^T \cdot E_c)} \cdot \text{adj}(E_c^T \cdot E_c)^T \right]^{-1} \cdot E_c^T \cdot E_m \cdot \Phi_m \end{cases} \quad (7c)$$

Donde  $(\cdot)^{-1} = \frac{1}{\det(\cdot)} \cdot \text{adj}(\cdot)^T$  denota inversa de  $(\cdot)$  y  $(\cdot)^T$  refiere a la transpuesta de  $(\cdot)$ .

En la ecuación 7c la primera solución ( $E_c \in \mathbb{R}^{n \times m}; n = m$ ) fue para un sistema determinado y para la segunda solución ( $E_c \in \mathbb{R}^{n \times m}; n \neq m$ ) también para una solución determinada y además para un sistema sobre determinada aplicando la pseudoinversa de Moore-Penrose para el producto de matrices  $E_c^T \cdot E_c$ . Este caso se presenta para sistemas donde se tenga más ecuaciones que las requeridas por los grados del sistema GL (GL=No. de variables –No. de ecuaciones (balances)).

La otra alternativa para la obtención de la estequiometría de reacción en la ecuación 6, fue considerar el balance de reducción para las moléculas en los reactivos y los productos. Para ello se requirió el grado de reducción de las especies que participan en la reacción ( $\gamma$ ), el factor  $\gamma$  se define como el número de moles de electrones disponibles por átomo-gramo de carbono que se debe de transferir al oxígeno en la combustión completa de una molécula hasta  $CO_2$ ,  $H_2O$  y  $N_2$ . Esta disponibilidad de electrones para C, H, O y N son respectivamente 4, 1,  $-2$  y  $-3$  (Villadsen *et al.* 2011) y para  $CO_2$ ,  $H_2O$  y  $NO_3$  es nulo. Entonces, se consideró el balance en la ecuación 7c y se incorporó el balance de reducción en la matriz  $\Gamma$ :



$$\begin{aligned}
 & \text{C: } \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 1 & 1 & 0 \end{bmatrix} \\
 & \text{H: } \begin{bmatrix} y_1 & 0 & 0 & x_1 & 0 & 2 \end{bmatrix} \\
 \mathbf{E} = & \text{O: } \begin{bmatrix} y_2 & 3 & 2 & x_2 & 2 & 1 \end{bmatrix} \in \mathbb{R}^{4 \times 6}; \quad \Phi = [a \ b \ c \ d \ e \ f]^T \in \mathbb{R}^{1 \times 6} \\
 & \text{N: } \begin{bmatrix} y_3 & 1 & 0 & x_3 & 0 & 0 \end{bmatrix} \\
 & \Gamma = [\gamma_a \ \gamma_b \ \gamma_c \ \gamma_d \ \gamma_e \ \gamma_f]
 \end{aligned} \tag{7d}$$

$$\text{o } \Gamma = [\gamma_{\text{rastrajo de trigo}} \ 0 \ -4 \cdot c \ \gamma_{P.djamor} \ 0 \ 0]$$

Con

la

solución:

$$\mathbf{Z} \cdot \Phi = \left[ \left( \begin{bmatrix} \mathbf{E} \\ \Gamma \end{bmatrix} - \mathbf{B} \right) \right] \Phi = \mathbf{B} \Rightarrow \Phi = \begin{bmatrix} a \\ b \\ c \\ d \\ e \\ f \end{bmatrix} \equiv \left[ \frac{1}{\det \left( \begin{bmatrix} \mathbf{E} \\ \Gamma \end{bmatrix} - \mathbf{B} \right)} \right] \cdot \text{adj} \left[ \left( \begin{bmatrix} \mathbf{E} \\ \Gamma \end{bmatrix} - \mathbf{B} \right) \right]^T \cdot \mathbf{B}$$

donde  $\gamma_a \ \gamma_b \ \gamma_c \ \gamma_d \ \gamma_e \ \gamma_f$  son los factores del grado de reducción para las  $M + N + 1$  moléculas en la reacción en la ecuación 7d y  $\mathbf{B} \in \mathbb{R}^{6 \times 1}$  es la matriz de términos independientes de las matrices  $\mathbf{E}$  y  $\Gamma \in \mathbb{R}^{1 \times 6}$ .

### Cálculo de los coeficientes estequiométricos

Propuesta del modelo estequiométrico simplificado. La estequiometría del crecimiento para *P. djamor*, partió de considerar el crecimiento aerobio de las células en un mecanismo simplificado, expresado mediante una ecuación estequiométrica en la ecuación 6. En esta ecuación, el rastrojo de trigo junto con una fuente de nitrógeno suplementado y el oxígeno fueron los reactantes, los cuales se transformaron en productos, debido a la presencia del hongo como biocatalizador (inóculo, véase también la ecuación 3). Los productos considerados fueron la biomasa de *P. djamor*, el dióxido de carbono y el agua. Para el análisis teórico de la reacción, se contaron con los siguientes supuestos en esta investigación para propósito de solución numérica:

Del supuesto 1, se dispone de las observaciones experimentales (mediciones en laboratorio), consultadas en la literatura científica o empíricas de los elementos C, H, O y N presentes en el rastrojo de trigo para el crecimiento del cuerpo fructífero de *P. djamor*, es decir,  $\underline{CH_{y1}O_{y2}N_{y3}}$

Del supuesto 2, se dispone de las observaciones experimentales (mediciones en laboratorio), consultadas en la literatura científica o empíricas de los elementos C, H, O y N presentes en la biomasa fúngica del cuerpo fructífero del *P. djamor*, es decir,  $CH_{x1}O_{x2}N_{x3}$ :

**Supuesto 1 del rastrojo de trigo en su fórmula mínima (aquella que contiene 1 at-g de C).** Con referencia a la evidencia científica en la literatura (Singhal et al., 2021), se tuvo la siguiente información con relación al rastrojo de trigo, los porcentajes por elemento fueron C 47.5%, H 6.4%, N 0.63% y O 45.5%. Con los datos se calcularon las proporciones atómicas relativas de cada elemento, para esto se dividió su fracción másica por la masa atómica de cada uno. A partir de estas proporciones atómicas relativas se dedujeron las relaciones atómicas al dividir cada uno de los valores entre el valor del carbono, y todo se expresa por átomo-gramo de carbono (*at gC*), es decir, se calculó el C-mol de del rastrojo de trigo. De este modo la fórmula del C-mol de este sustrato de rastrojo de trigo fue igual a:  $X = CH_{x1}O_{x2}N_{x3} = CH_{1.62}O_{0.72}N_{0.01}$ . Entonces, para un C-mol de rastrojo de trigo:

$$C - \text{mol de la rastrojo de trigo} = 25.27 \frac{g \ X \ \text{rastrojo de trigo}}{C - \text{mol} \ X \ \text{rastrojo de trigo}}$$

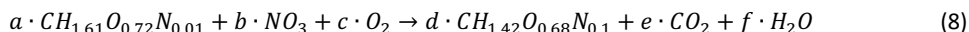
**Supuesto 2 de *P. djamor* en su fórmula mínima (aquella que contiene 1 at-g de C).** Con referencia a la evidencia científica en la literatura (García-Hernández et al., 2021), se tuvo la siguiente información con relación a la producción de *P. djamor* cultivado en mazorcas de maíz, los porcentajes por elemento fueron C 46.77%, H 5.53%, N 5.38% y O 42.32%. Por lo que la fórmula en base C-mol para el hongo en este trabajo se calculó con los porcentajes indicados y se obtuvo la fórmula  $X = CH_{x2}O_{y2}N_{z2} = CH_{1.42}O_{0.68}N_{0.1}$  para un peso de 1 C-mol de este hongo igual a:

$$C - \text{mol de la } P. \text{ djamor} = 25.65 \frac{g \ X \ P. \text{ djamor}}{C - \text{mol} \ X \ P. \text{ djamor}}$$



## Propuesta de modelo estequiométrico simplificado para *P. djamor*

Se partió de considerar el crecimiento aerobio de las células en un bioproceso simplificado, expresado mediante una ecuación estequiométrica (ecuación 6). En esta ecuación, el sustrato fresco de rastrojo de trigo más nitrógeno suplementado en forma de amoníaco, más el oxígeno funcionan como reactantes y se transformaron en productos, debido a la presencia del hongo como biocatalizador. Los productos considerados fueron la biomasa de *P. djamor*, el  $CO_2$  y el agua. La siguiente ecuación fue la propuesta del modelo estequiométrico de la ecuación 6 con los supuestos 1 y 2:



Donde:  $CH_{1.61}O_{0.72}N_{0.01}$  = fórmula empírica de la materia prima de rastrojo de trigo,  $NO_3$  = Suplemento de nitrógeno en forma de amoníaco,  $O_2$  = Oxígeno como reactante;  $CH_{1.42}O_{0.68}N_{0.1}$  = Composición elemental de la biomasa del cuerpo fructífero del hongo,  $CO_2$  = Dióxido de carbono como producto,  $H_2O$  = Agua como producto.

**Observación 1- de la Matriz E:** De la ecuación 8, para el modelo estequiométrico simplificado para *P. djamor* se generó la siguiente matriz  $E$  y el balance  $E \cdot \Phi = 0$  en la ecuación 9.

$$E = \begin{matrix} C \\ H \\ O \\ N \end{matrix} \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 1.00 & 1 & 0 \\ 1.61 & 0 & 0 & 1.42 & 0 & 2 \\ 0.72 & 3 & 2 & 0.68 & 2 & 1 \\ 0.01 & 1 & 0 & 0.1 & 0 & 0 \end{bmatrix} \in \mathbb{R}^{4 \times 6} \Rightarrow \begin{matrix} \text{Balance elemental} \\ C: a = d + e \\ H: 1.61 \cdot a = 1.42 \cdot d + 2 \cdot f \\ O: 0.72 \cdot a + 3 \cdot b + 2 \cdot c = 0.68 \cdot d + 2 \cdot e + f \\ N: 0.04 \cdot a + b = 0.1 \cdot d \end{matrix} \quad (9)$$

**Observación 2-Matriz  $\Phi$ :** De la ecuación 8, para el modelo estequiométrico simplificado para *P. djamor* se generó la siguiente matriz en la ecuación 10.

$$\Phi = [a \quad b \quad c \quad d \quad e \quad f]^T \in \mathbb{R}^{1 \times 6} \quad (10)$$

## Resultados y discusión

Los resultados de la eficiencia biológica (EB) mostraron un valor de 69.48%, datos que coinciden con los reportados por Alejo *et al.*, (2015) quienes trabajaron con *Pleurotus* sp. nativo de una comunidad de Nochixtlán, Oaxaca. En sus resultados se muestran valores máximos de EB de 130% y una mínima de 32% cultivados en diferentes sustratos como frijol, maíz y olote de maíz, se menciona que al usar un solo sustrato baja la eficiencia biológica, en este trabajo sólo se usó rastrojo de trigo. Holgado-Rojas *et al.* (2019) encontraron una EB de 27-35%, comparados con la presente investigación su EB fue baja; en el caso de la TP se reportó un valor de 0.4-0.7%, estos valores fueron menores comparados con este proyecto porque se registró un valor de 1.44%. En la Figura 1 se muestran las diferentes etapas del cultivo del hongo hasta los cuerpos fructíferos. En la Figura 2 se muestra la secuencia del crecimiento del hongo en rastrojo de trigo días después de la incubación, en este punto, se debe de mencionar que es fundamental la esterilización de éste antes de aplicar el inóculo para evitar la contaminación por hongos como *Trichoderma* y *Fusarium*, los que llegan aparecer en este tipo de cultivos. Una vez que comienzan a salir los primordios del hongo es importante mantener la humedad del sustrato para obtener una óptima producción de setas (valores no reportados en este trabajo).



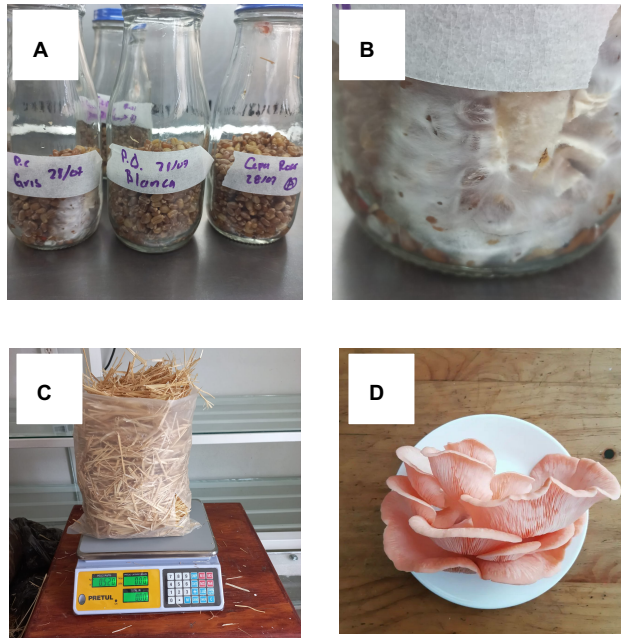


Figura 1. Producción de hongos del género *P. djamor*. A) Preparación de la semilla de trigo con micelio en condiciones de esterilidad, B) Frasco con semilla y micelio después de 10 días de haber inoculado con *Pleurotus*, C) Preparación del sustrato para la producción del hongo en bolsas de 2 kg de capacidad en volumen, D) Cuerpo fructífero en el momento de la cosecha.  
Fuente: Elaboración propia.

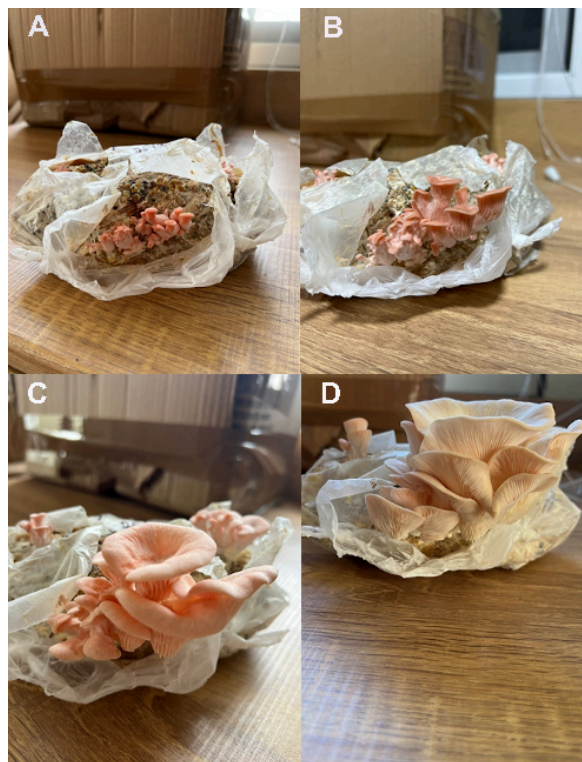


Figura 2. Desarrollo *P. djamor* días después de la incubación en el sustrato. A) Primordios del hongo después de 23 DDI B) Primordios del hongo 25 DDI de la incubación C) Formación del sombrero a los 27 DDI y D) Hongos listos para cosecha 28 DDI.  
Fuente: Elaboración propia.

### Modelo estequiométrico simplificado para *P. djamor*

Para el modelo en las ecuaciones 9 y 10, solo se dispone de cuatro ecuaciones de balance de materia, es decir, los balances de los elementos para cinco incógnitas, es decir, los coeficientes estequiométricos, entonces, los grados de libertad (GL) fueron como sigue,

$$GL = \text{No. de variables} - \text{No. de Ecuaciones} = 6 - 4 = 2 \quad (14)$$

Esto significa que dos de las variables en el vector  $\Phi$  (ver ecuación 10) se deben de medir. Para propósitos de análisis numérico, se considera que se midió la velocidad de producción de  $CO_2$  ( $r_c$ ) y la velocidad de consumo de oxígeno ( $r_o$ ). Y expresando el crecimiento de *P. djamor*, en función de las velocidades que se miden, la ecuación 8 y la ecuación 7b, después de manipulaciones algebraicas, es de la forma siguiente:

$$\frac{a}{c} CH_{1.61}O_{0.72}N_{0.01} + \frac{b}{c} \cdot NO_3 + O_2 \rightarrow \frac{d}{c} \cdot CH_{1.42}O_{0.68}N_{0.1} + \frac{e}{c} \cdot CO_2 + \frac{f}{c} \cdot H_2O \quad (15a)$$

$$\begin{bmatrix} a \\ b \\ d \\ f \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -9.3024 \cdot c & -10.837 \cdot e \\ -0.74418 \cdot c & -0.77697 \cdot e \\ 9.3024 \cdot c & +9.8373 \cdot e \\ 0.60466 \cdot c & +1.4444 \cdot e \end{bmatrix} \quad (15b)$$

$$\begin{bmatrix} Y_{ca} \\ Y_{cb} \\ Y_{cd} \\ Y_{cf} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{a}{c} \\ \frac{b}{c} \\ \frac{d}{c} \\ \frac{f}{c} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -9.3024 - 10.837 \cdot Y_{ce} \\ 0.74418 + 0.77697 \cdot Y_{ce} \\ 9.3024 + 9.8373 \cdot Y_{ce} \\ 0.60466 + 1.4444 \cdot Y_{ce} \end{bmatrix} \equiv \begin{bmatrix} -9.3024 - 10.837 \cdot QR \\ 0.74418 + 0.77697 \cdot QR \\ 9.3024 + 9.8373 \cdot QR \\ 0.60466 + 1.4444 \cdot QR \end{bmatrix} \quad (15c)$$

$$Y_{ca} CH_{1.61}O_{0.72}N_{0.01} + Y_{cb} \cdot NO_3 + O_2 \rightarrow Y_{cd} \cdot CH_{1.42}O_{0.68}N_{0.1} + Y_{ce} \cdot CO_2 + Y_{cf} \cdot H_2O \quad (15d)$$

Donde  $Y_{ce} \triangleq \left| \frac{r_c}{r_o} \right| = RQ$  y  $r_o$  y  $r_c$  son las velocidades de producción de  $CO_2$  y de consumo de  $O_2$ , respectivamente. De esta manera, la reacción en la ecuación 15c y ecuación 15d es en función de los rendimientos  $Y_{ji} = \left| \frac{r_j}{r_i} \right|$  (Villadsen et al., 2011) y en función el coeficiente de respiración celular del hongo (RQ):

$$\begin{aligned} & (-9.3024 - 10.837 \cdot RQ) \cdot CH_{1.61}O_{0.72}N_{0.01} + (0.74418 + 0.77697 \cdot RQ) \cdot NO_3 + O_2 \\ & \rightarrow Y_{cd} \cdot CH_{1.42}O_{0.68}N_{0.1} + RQ \cdot CO_2 + (0.60466 + 1.4444 \cdot RQ) \cdot H_2O \end{aligned} \quad (16)$$

Con el resultado en la ecuación 16, para la producción de *P. djamor*, el cálculo del parámetro (rendimiento estequiométrico  $Y_{ce} \triangleq \left| \frac{r_c}{r_o} \right| = RQ$ ) será suficiente para calcular el resto de los rendimientos en la reacción 15d y construir la estequiometría del crecimiento del hongo.

Finalmente, la reacción estequiométrica en la ecuación 8, se consideró el balance de reducción de las moléculas de la ecuación, además, se consideró la ecuación 8 a la forma de la ecuación 17 y su balance correspondiente en la ecuación 17b. Como se verá mas adelante, la ecuación 17a fue importante para el desarrollo de los balances aplicados a la ecuación de crecimiento microbiano, es decir, la ecuación 17a.

$$\frac{a}{d} \cdot CH_{1.61}O_{0.72}N_{0.01} + \frac{b}{d} \cdot NO_3 + \frac{c}{d} \cdot O_2 \rightarrow CH_{1.42}O_{0.68}N_{0.1} + \frac{e}{d} \cdot CO_2 + \frac{f}{d} \cdot H_2O \quad (17a)$$

mostraron ecuación 7 de su desarrollo fue como sigue:





$$\begin{aligned}
 & \text{Balance elemental} & (17b) \\
 & C: \frac{a}{d} = 1 + \frac{e}{d} \\
 & H: 1.61 \cdot \frac{a}{d} = 1.42 + 2 \cdot \frac{f}{d} \\
 & O: 0.72 \cdot \frac{a}{d} + 3 \cdot \frac{b}{d} + 2 \cdot \frac{c}{d} = 0.68 + 2 \cdot \frac{e}{d} + \frac{f}{d} \\
 & N: 0.01 \cdot \frac{a}{d} + \frac{b}{d} = 0.1
 \end{aligned}$$

$$\gamma: a \cdot Y_{\text{rastrajo de trigo}} - 4c = Y_{P.djamor} \Rightarrow Y_{ca} \cdot Y_{\text{rastrajo de trigo}} - 4 \cdot c = Y_{cd} \cdot Y_{P.djamor}$$

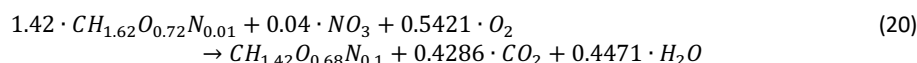
Entonces de la composición elemental para rastrojo de trigo y el hongo,  $CH_{1.61}O_{0.72}N_{0.01}$  y  $CCH_{1.42}O_{0.68}N_{0.1}$ , respectivamente, se obtuvo la igualdad 18 para el concepto de grado de reducción en la ecuación 17a:

$$\gamma: a \cdot 4.15 - 4 \frac{c}{d} = 3.76 \quad (18)$$

Y de la ecuación 7d:

$$\Phi = \begin{bmatrix} Y_{da} \\ Y_{db} \\ Y_{dc} \\ Y_{de} \\ Y_{df} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{a}{d} \\ \frac{c}{d} \\ \frac{e}{d} \\ \frac{f}{d} \end{bmatrix} = \left[ \frac{1}{\det \left( \left( \begin{bmatrix} E \\ \Gamma \end{bmatrix} - B \right) \right)} \cdot \text{adj} \left[ \left( \begin{bmatrix} E \\ \Gamma \end{bmatrix} - B \right) \right]^T \right] \cdot B = \begin{bmatrix} 1.4286 \\ 0.0429 \\ 0.5421 \\ 0.4286 \\ 0.4471 \end{bmatrix} \quad (19)$$

Finalmente, la reacción en la ecuación 17a fue de la forma siguiente:



La importancia de la ecuación 16 (o 20), primero, es la ecuación de crecimiento de *P. djamor*, es decir, representa el comportamiento del hongo a través de ecuaciones experimentales del proceso de crecimiento del hongo (para este estudio resultado numérico). Segundo, esta ecuación se puede considerar para desarrollar el balance de carbono, balance de nitrógeno, balance de grado de reducción, balance energético o para el análisis de consistencia de datos experimentales (Villadsen et al., 2011). Si para la ecuación 20 se desarrolla el balance de carbono y nitrógeno (respectivamente, ecuaciones 21 y 22),

$$\begin{aligned}
 & 1.42 \cdot CH_{1.62}O_{0.72}N_{0.01} \rightarrow CH_{1.42}O_{0.68}N_{0.1} + 0.4286 \cdot CO_2 & (21) \\
 & \quad \quad \quad 1.42 \rightarrow 1 + 0.42
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 & 1.42 \cdot CH_{1.62}O_{0.72}N_{0.01} + 0.04 \cdot NO_3 \rightarrow CH_{1.42}O_{0.68}N_{0.1} & (22) \\
 & \quad \quad \quad 0.0542 \rightarrow 0.1
 \end{aligned}$$

De los resultados de las ecuaciones 21 y 22, se concluye que el balance de carbono es consistente, sin embargo, para el balance de nitrógeno no lo es, esto puede atribuirse a los errores de medición de los porcentajes de los elementos en los biomateriales del rastrojo de trigo y la *P. djamor*. Finalmente, dado que siempre hay un error asociado a las medidas experimentales, se considera que hay consistencia de datos experimentales, en el siguiente caso (ecuación 23) (Villadsen et al., 2011).

$$0.94 \leq Y_{x/s} + Y_{p/s} + Y_{CO_2/s} \leq 1.06 \quad (23)$$

Finalmente, es importante mencionar para la ecuación 23 o 24, al plantear el balance elemental será válido únicamente si se expresan los rendimientos en C-mol.

$$1 \cdot CH_{1.61}O_{0.72}N_{0.01} + \frac{b}{a} \cdot NO_3 + \frac{c}{a} \cdot O_2 \rightarrow \frac{d}{a} \cdot CH_{1.42}O_{0.68}N_{0.1} + \frac{e}{a} \cdot CO_2 + \frac{f}{a} \cdot H_2O \quad (24)$$



## Conclusiones

En este trabajo, se analizó experimentalmente en laboratorio y numéricamente utilizando el programa Octave (o GNU Octave) el crecimiento de *P. djamor* por medio de una reacción química que define la estequiometría de la biorreacción fúngica sobre el substrato y su relación con parámetros importantes del crecimiento del hongo. La EB y TP tuvieron valores aceptables en rastrojo de trigo sin adición de una fuente de nitrógeno y bajo condiciones controladas de laboratorio. Se presentaron los dos modelos teóricos para la estequiometría del crecimiento de *P. djamor* sobre rastrojo de trigo, considerando un suplemento de nitrógeno en forma de amoníaco ( $\text{NH}_3$ ). Los modelos propuestos están simplificados en función de la estequiometría de la reacción considerada en esta investigación. Los hallazgos reportados en este trabajo en términos de estequiometría del crecimiento de *P. djamor* son importes para definir factores asociados con la producción de la biomasa, es decir, parámetros derivados de la ecuación estequiométrica, por ejemplo, la eficiencia biológica, el coeficiente de respiración, el consumo específico volumétrico de aire y el calor metabólico (éstos calculados numéricamente y no reportados en este trabajo) en los procesos de fermentación sólida de hongos. Además, desde el punto de vista numérico, mediante el conocimiento de los coeficientes estequiométricos o mediante los coeficientes de rendimiento del proceso de producción de *P. djamor*, se puede establecer el balance de conservación de materia del bioproceso de fermentación sólida. Finalmente, en la ecuación de balance todos los coeficientes están relacionados entre sí mediante la estequiometría de la reacción; por lo que solo basta determinar experimentalmente los correspondientes a los grados de libertad del sistema para calcular los demás.

## Agradecimientos

María José Enríquez Arredondo, alumna del programa de Ingeniería en Biotecnología, expresan su agradecimiento a la rectoría del Campus Celaya-Salvatierra (CCS) de la Universidad de Guanajuato (UG) y a la División de Ciencias de la Salud (DCSI) por los apoyos brindados a durante su formación universitaria. Los autores A. Topiltzin Morales Vargas, J. L. Zárate Castrejón y V. Peña Caballero expresan su agradecimiento a la DCSI y a la rectoría del CCS de la UG por el apoyo en la actual etapa de evaluación del proyecto Balance Estequiométrico de *Pleurotus djamor* (seta rosa) en Substrato de Agave (*Agave* sp.), al Centro de Innovación Aplicada en Tecnologías Competitivas (CIATEC) de León, Gto. y al Laboratorio de Transformación del INIFAP C.E. Bajío por el apoyo en el desarrollo de la primera etapa de esta investigación. Al revisor por sus observaciones y sugerencias. Finalmente, a los organizadores del Foro de Investigación del CMII 2023.

## Referencias

Alejo, C. P. García, R. M., & Avendaño, H. L. (2015). Eficiencia biológica de *Pleurotus* sp. nativo de Oaxaca (ITAO-27) sobre rastrojos de frijol, maíz y olote. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 2(2), 99-106. ISSN: 2007-9559.

Bellettini, M. B., Fiorda, F. A., Maieves, H. A., Teixeira, G. L., Ávila, S., Hornung, P. S., & Ribani, R. H. (2019). Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(4), 633-646. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.005>.

García-Hernández, P. N., Baas-López, J. M., Toledano-Thompson, T., Valdez-Ojeda, R., & Pacheco-Catalán, D. (2021). Revalorization of *Pleurotus djamor* Fungus Culture: *Fungus-Derived Carbons for Supercapacitor Application*. *Sustainability*, 13(19), 10765. <https://doi.org/10.3390/su131910765>.

Holgado-Rojas, M. E., L AranzabalCarrasco, R., Lazarte Lovaton, R., Quispe Peláez, A., A Pérez Leguía, K., B Aguilar Mainicta, F., & Aguilar Pumahuilca, F. (2019). Cultivo de *Pleurotus* sp. y *Lentinula edodes* bajo condiciones artesanales en comunidades campesinas de la Región Cusco/Perú. *Ecología aplicada*, 18(2), 125-132. <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v18i2.1331>.

Narvaez, L. C., Bolaños Rojas, A. C., Chaurra Arboleda, A. M., & Zuñiga Escobar, O. (2021). Changes in macronutrients and physical properties during the growth of *Lentinula edodes* and *Pleurotus ostreatus* in a compost



based on sugarcane bagasse agricultural waste. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 37(3), 301–312. <https://doi.org/10.29393/CHJAAS37-31CMLO40031>

Nielsen, J., & Villadsen, J. (1992). Modelling of microbial kinetics. *Chemical Engineering Science*, 47(17–18), 4225–4270. [https://doi.org/10.1016/0009-2509\(92\)85104-J](https://doi.org/10.1016/0009-2509(92)85104-J).

Nielsen, J. (2001). Metabolic engineering. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 55(3), 263–283. <https://doi.org/10.1007/s002530000511>.

Pineda-Insuasti, J. A., Soto-Arroyave, C. P., & Ramos-Sánchez, L. B. (2014). Ecuación estequiométrica para describir el crecimiento de *Pleurotus ostreatus* cepa ceba-gliie-po-010606. *Biotecnología Aplicada*, 31(1), 43-47.

Rashwan, B. R., & El-Saied, R. M. (2022). Response of Lettuce (*Lactuca sativa* L.). Plant to Bio-stimulants Under. *Environment, Biodiversity & Soil Security*, 6, 103-115. [10.21608/JENVBS.2022.139437.1176](https://doi.org/10.21608/JENVBS.2022.139437.1176)

Singhal, A., Konttinen, J., & Joronen, T. (2021). Effect of different washing parameters on the fuel properties and elemental composition of wheat straw in water-washing pre-treatment. *Part 1: Effect of washing duration and biomass size*. *Fuel*, 292, 120206. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.120206>

Törös, G. H., El-Ramady, H., & Prokisch, J. (2022). Edible mushroom of *Pleurotus* spp.: a case study of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus* L.). *Environment, Biodiversity and Soil Security*, 6, 51-59.

Villadsen, J., Nielsen, J., & Lidén, G. (2011). *Bioreaction Engineering Principles*. Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9688-6>.

Zhou, S., Ma, F., Zhang, X., & Zhang, J. (2016). Carbohydrate changes during growth and fruiting in *Pleurotus ostreatus*. *Fungal Biology*, 120(6–7), 852–861. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2016.03.007>.

