



RIDUNAJ
Repositorio Institucional
Digital UNAJ



Universidad Nacional
ARTURO JAURETCHE

Publicaciones Científicas

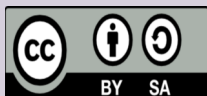
Miguel Angel Cuapio Rodríguez, Raquel García Barrientos, Luis Alberto Santiago Santiago, Ericka Santa Juárez y Lilia Sánchez Minutti

Optimización en la Producción de Antioxidantes a partir del Micelio en Distintas Cepas de Hongos Comestibles

2024

Evento: III Encuentro Latinoamericano de Experiencias Universitarias

Red internacional de Cooperación Académica



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons.

Atribución – Compartir igual 4.0

<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

Documento descargado de RID - UNAJ Repositorio Institucional Digital de la Universidad Nacional Arturo Jauretche

Cita recomendada:

Cuapio Rodríguez, M. A., García Barrientos, R., Santiago Santiago, L. A., Santa Juárez, E. y Sánchez Minutti, L. (16-17 de mayo 2024). Optimización en la Producción de Antioxidantes a partir del Micelio en Distintas Cepas de Hongos Comestibles [Ponencia]. III Encuentro Latinoamericano de Experiencias Universitarias, Red internacional de Cooperación Académica. <https://rid.unaj.edu.ar/handle/123456789/3343>

3er **Encuentro** *Latinoamericano* *de Experiencias* **Universitarias**

Academia, Investigación y Proyección Social



• RED INTERNACIONAL DE COOPERACIÓN ACADÉMICA •

Optimización en la Producción de Antioxidantes a partir del Micelio en Distintas Cepas de Hongos Comestibles

Miguel Angel Cuapio Rodríguez³⁴

miguelangel.cuapio@utplax.edu.mx

Raquel García Barrientos³⁵

raquel.garciabarrientos@uptlax.edu.mx

Luis Alberto Santiago Santiago³⁶

luisalberto.santiago@uptlax.edu.mx

Ericka Santa Juárez³⁷

ericka.santacruz@uptlax.edu.mx

Lilia Sánchez Minutti³⁸

lilia.sanchez@uptlax.edu.mx

³⁴ Profesor por asignatura, Ingeniería Industrial Universidad Politécnica de Tlaxcala, México.

³⁵ Profesora de tiempo completo Ingeniería en Biotecnología Universidad Politécnica de Tlaxcala, México.

³⁶ Profesor de Ingeniería en Biotecnología Universidad Politécnica de Tlaxcala, México.

³⁷ Profesora de tiempo completo Ingeniería en Biotecnología Universidad Politécnica de Tlaxcala, México.

³⁸ Profesora de tiempo completo Ingeniería en Biotecnología Universidad Politécnica de Tlaxcala, México.

Resumen

Los hongos comestibles principalmente basidiomicetos han sido utilizados como materia prima en el desarrollo de alimentos funcionales desde épocas prehispánicas en México y en el mundo por su alto contenido nutrimental y sus propiedades medicinales.

Sin embargo, para aprovechar dichos hongos, y garantizar una alta presencia de metabolitos de interés nutricional se recomienda la implementación de procesos biotecnológicos.

En el presente trabajo se determinó el hongo que genere una mayor cantidad de metabolitos de interés nutricional, centrándose principalmente en la producción de antioxidantes, para lo cual se probaron tres especies de hongos de la misma división "basidiomiceto", las cuales fueron: *P. ostreatus* y *Cantharellus cibarius*. Se cultivaron modificando ciertas condiciones de cultivo: de los cuales se emplearon diferentes sustratos sólidos (sorgo, trigo y paja) para su conservación; posteriormente se tomó un inóculo de cada cepa y se transfirió a una fermentación en estado líquido empleando un medio a base de papa y dextrosa, así como la implementación de tres diferentes pH (4,6 y 7) a una temperatura de 28°C y en agitación, para poder determinar el consumo de sustrato usando el método del DNS, cuantificación de biomasa por el método de peso húmedo, así como la realización de actividad antioxidante mediante 2 ensayos DPPH• y ABTS•, al igual que un análisis de los extractos para identificación de compuestos bioactivos por cromatografía de masas acoplada a gases; por último la cepa que presentó mayor producción de biomasa y actividad antioxidante se realizó una escalamiento del inóculo a nivel piloto en un biorreactor teniendo como

prioridad el pH óptimo de crecimiento y con poder realizar un modelado matemático de la producción de biomasa, consumo de sustrato y obtención de antioxidantes.

Finalmente, se buscó a la mejor especie de hongo comestible basiomiceto que produjera una mayor cantidad antioxidantes, mejorando sus condiciones de crecimiento.

Palabras clave: Basidiomicetos, biomasa, antioxidantes, actividad antioxidante y biorreactor.

Abstract

Edible mushrooms, mainly basidiomycetes, have been used as raw materials in the development of functional foods since pre-Hispanic times in Mexico and the world due to their high nutritional content and medicinal properties.

However, to take advantage of these fungi and guarantee a high presence of metabolites of nutritional interest, the implementation of biotechnological processes is recommended.

In the present work, the fungus that generates the greatest amount of metabolites of nutritional interest was determined, focusing mainly on the production of antioxidants, for which three species of fungi from the same division "basidiomycete" were tested, which were: *P. ostreatus* and *Cantharellus cibarius*. They were grown by modifying certain growing conditions: of which different solid substrates (sorghum, wheat and straw) were used for their conservation; Subsequently, an inoculum of each strain was taken and transferred to a liquid state fermentation using a medium

based on potato and dextrose, as well as the implementation of three different pH (4,6 and 7) at a temperature of 28°C and in agitation, to be able to determine the substrate consumption using the DNS method, quantification of biomass by the wet weight method, as well as the realization of antioxidant activity through 2 DPPH• and ABTS• tests, as well as an analysis of the extracts to identification of bioactive compounds by gas-coupled mass chromatography; Finally, the strain that presented the highest biomass production and antioxidant activity was carried out inoculation scaling at a pilot level in a bioreactor, with the optimal growth pH as a priority and with the ability to carry out mathematical modeling of biomass production, substrate consumption and obtaining antioxidants.

Finally, we searched for the best species of edible basidiomycete mushroom that produced a greater amount of antioxidants, improving its growth conditions.

Keywords: Basidiomycetes, biomass, antioxidants, antioxidant activity and bioreactor.

Introducción

Los hongos se definen como organismos vivos que se reproducen por esporas y que carecen de clorofila, por lo que deben vivir a costa de otros seres, haciéndolo de forma saprofítica, simbiótica o parásita (García *et al.*, 2009). Actualmente han sido descritas unas 80.000 especies de hongos, sin embargo, se estima que podrían existir aproximadamente 1.5 millones (Hawksworth., 2001). De las especies conocidas, aproximadamente el 50% podrían ser comestibles, de éstas, alrededor de 2000 lo son con toda seguridad, y alrededor de 700 especies son conocidas por sus importantes pro-

piedades farmacológicas (Chang ST., 1999; Wasser SP., 2012). Los hongos, no pertenecen al reino animal ni al reino vegetal, forman un reino propio denominado "Reino Fungi" (Whittaker., 1969).

Uno de los hongos de gran importancia nutricional y ecológica es el basidiomiceto el cual es el segundo grupo más grande de los hongos, en su mayoría macroscópico (visible a simple vista) e incluye los conocidos hongos agaricales dentro de los que se encuentran algunas de las setas comestibles más conocidas. Con más de 50,000 especies, de las cuales 684 ya se encuentran descritas y más de 533 ya cuentan con su genoma secuenciado (MycoCosm, 2020). Son conocidas por su gran calidad nutricional: alto valor proteico con alto contenido de aminoácidos esenciales, una considerable concentración de vitaminas, micro y macroelementos (potasio, fósforo, calcio, magnesio, hierro, cobre, selenio y zinc), fibra, bajos niveles de sodio y grasas insaturadas (Cardoso *et al.*, 2017). Así como la presencia de metabolitos secundarios que son aquellos compuestos orgánicos producidos por un organismo, los cuales no están directamente relacionados con el crecimiento, desarrollo o reproducción normal de dicho organismo. Éstos generalmente son bioactivos, usualmente de alto peso molecular y son producidos como familias de compuestos sintetizados en ciertas etapas del ciclo de vida del organismo.

El interés en investigar en profundidad este reino se ha intensificado con el paso del tiempo, pero aún falta conocer algunos otros metabolitos que pudiese presentar ya se intra o extracelular, así como los usos medicinales y nutricionales que se pudiera aplicar para obtención de alimentos funcionales y nuevos fármacos.

Metodología

Etapa 1. Reactivación de la cepa

Se emplearon cepas de *Pleurotus ostreatus* CL, *P. ostreatus* p83 y *Cantharellus cibarius* CC, las cuales se inocularon en un medio de cultivo de agar papa dextrosa (PDA), el cual se esterilizó a 15 lb de presión durante 15 min en una autoclave. Posteriormente se dejó enfriar y bajo condiciones de asepsia, se vertió en cajas petri (la siembra de las cepas fue realizada por triplicado, utilizando las siguientes leyendas como referencia M1, M2 & M3).

Finalmente se incubaron a 25 °C, en obscuridad durante 15 días hasta ver la presencia de micelio

Etapa 2. Conservación de la cepa

Se transfirió inóculo de las cepas de *P. ostreatus* p83, *P. ostreatus* CL y *Cantharellus cibarius* (activadas anteriormente) en diferentes sustratos (sorgo, trigo y paja) usando frascos de vidrio y bolsas de plástico las cuales fueron incubadas en oscuridad, a una temperatura de 27°C, durante 15 días (los experimentos fueron realizados por duplicado).

Tabla 1. Concentraciones de sustrato.		
Sustrato	Cantidad (g)	
	Frasco	Bolsa
Sorgo	150	350
Trigo		
Paja		

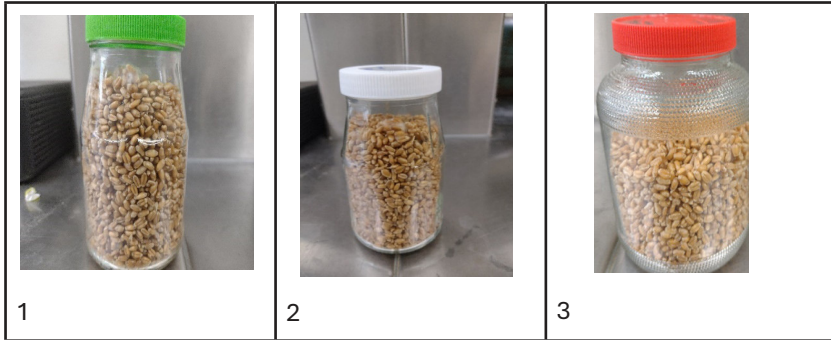


Figura 1. Cepas en sustrato solido de semillas de trigo. (1) *P. ostreatus* CL, (2) *P. ostreatus* p83 y (3) *Cantharellus cibarius*.

La finalidad de esta etapa es para conservar las diferentes cepas de hongos, evaluar la adaptabilidad a los diferentes sustratos, tiempo de crecimiento y producción de biomasa.

Transferencia de inculo en medio líquido

Se realizaron cultivos de sacrificio de las cepas de *P. ostreatus* p83, *P. ostreatus* CL y *Cantharellus cibarius* en frascos de vidrio que contenían 250 ml de medio liquido de extracto de papa y dextrosa, empleando diferentes pH (5, 6 y 7), en agitación mecánica (80 rpm) y temperatura de 28°C (los cultivos se realizaron por triplicado). Cada tres días se tomó y almaceno en refrigeración un cultivo de sacrificio de cada cepa para ser analizadas posteriormente, esto se realizó durante 15 días.



Figura 2. Preparación del medio de cultivo líquido.

Cuantificación de biomasa

Las muestras de sacrificio se filtraron con papel filtro de tipo Whatman 1, la biomasa producida fue transferida a tubos eppendorf. Posteriormente se determinó la cantidad de biomasa utilizando una balanza analítica. Finalmente, las muestras fueron almacenadas a 4°C.



Figura 3. Separación de biomasa a través de filtración y usando una bomba de vacío.

Lisis celular

Se realizó lisis celular a las biomásas obtenidas con un sonicador de la marca UP400S, Hielscher, Teltow, Germany utilizando un solvente orgánico de etanol al 60% v/v (60% etanol: 40% agua) para un total de 1000 mL. Se ajustó a una amplitud al 100% y sónico durante 10 min (24 Khz, 400 W). Considerando valores de T° 30-40 °C (el uso de un baño de agua fría o de hielo ayudó a mantener baja la T° de sonicación). Posteriormente se eliminaron los sólidos por centrifugación (1000 rpm a 4 °C por 10 min). Finalmente se almacenaron los sobrenadantes a 4°C para su respectivo análisis (24 h) (Hielscher, 2022).

Pruebas antioxidantes (DPPH• y ABTS•)

Se realizaron pruebas de obtención de antioxidantes por el método de DPPH• y ABTS•

- ❖ DPPH. Las actividades antirradicales de varios antioxidantes se determinaron utilizando el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•) (SIGMA-ALDRICH®) (Brad-Williams *et al.*, 1995) mediante la reacción de una solución stock del radical a 0.1 mM (0.39 mg), se aforo a 10 mL de metanol al 80%.

Por otro lado, se realizaron 3 curvas de calibración con soluciones estándar 0.01 mM de Ácido cafeico (0.018 mg en 10 mL de metanol al 80%), Ácido gálico (0.017 mg en 10 mL de metanol al 80%) y Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) (0.025 mg en 10 mL de metanol al 80%) a partir de la cual se obtuvieron concentraciones en un intervalo de 0-10 µM. Para el caso de los extractos se mezclaron 100 µL de extracto metanólico más 900 µL del radical.

Todas mezclas se dejaron reaccionar durante 30 min y se leyeron a 517 nm contra un blanco de metanol absoluto. Los resultados se reportan como micro moles de equivalentes de Trolox, Ácido cafeico y Ácido gálico por mililitro de extracto metanólico.

Para la determinación del porcentaje de inhibición de DPPH se utilizó la metodología descrita por Brad-Williams *et al.*, 1995.

$$\% \text{ Inhibición DPPH} = \frac{AP - A_m}{AP} \cdot 100\%$$

En donde AP= Absorbancia del Blanco y AM= Absorbancia de la muestra.

- ❖ **ABTS.** La capacidad antioxidante se evaluó con el método de ABTS• (Re *et al.*, 1999), el radical ABTS•+ se obtiene mediante la reacción de una solución stock de ABTS• ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico) (SIGMA-ALDRICH®) 7 mM (3.8 mg), se aforo en 1 mL persulfato potásico 2.45 mM (3.3. mg) misma que se encontraba aforada anteriormente en 5 mL de agua desionizada, la solución se almacenó en oscuridad a temperatura ambiente por 12 h antes de su uso. Posteriormente se tomaron 150 µL de muestra y diluyó en 14 mL buffer de fosfatos (compuesta por 8 g NaCl, 0.2 g KCl y 1.44 g KH₂PO₄ contenido en 1 L de agua destilada) hasta obtener una absorbancia de 0.700 (±0.020) a una longitud de máxima absorción de 734 nm (en caso de tener una absorbancia menor se recomienda adicionar más mL del radical, en caso contrario más cantidad de buffer).

Por otro lado, se realizaron 3 curvas de calibración con soluciones estándar de Ácido cafeico (0.18 mg en 10 mL de etanol al 95%), Ácido gálico (0.17 mg en 10 mL de etanol al 95%) y Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) 0.1 mM (0.25 mg en 10 mL de etanol al 95%) a partir de la cual se obtuvieron concentraciones en un intervalo de 0-90 µM. Para el caso de los extractos se mezclaron 100 µL de extracto etanólico más 1,000 µL de ABTS•.

Todas las mezclas se dejaron reaccionar durante 6 min, transcurrido este tiempo, fueron leída a 734 nm. Los resultados se reportan como micro moles de equivalentes de Trolox, Ácido cafeico y Ácido gálico por mililitro.

Para la determinación del porcentaje de inhibición se utilizó la metodología descrita por Re *et al.*, 1999.

$$\% \text{ Inhibición ABTS} = \frac{(\text{ABTS } (t = 0)) - (\text{ABTS } (t = 6))}{\text{ABTS } (t = 0)} \cdot 100\%$$

En donde ABTS (t=0) =absorbancia obtenida en el tiempo cero, ABTS (t=6) =absorbancia después de 6 minutos.

Determinación de azúcares reductores en medios de cultivo líquidos

Para la determinación de azúcares se empleó el método colorimétrico del ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) (Miller, 1959), de acuerdo a los siguientes pasos:

Se realizó una curva de calibración para determinar la concentración de sustrato (ver anexo 1)

Se utilizaron los medios líquidos de las cepas filtradas (*P. ostretus* p83, *P. ostretus* CL y *Cantharellus cibarius*) y se aplicó el paso 3 y 4 del anexo 1 para llevar a cabo la determinación de azúcares (se realizó por duplicado).

Etapa 3. Transferencia de inóculo en biorreactor

Se transfirió 5% de inóculo de cultivo de sacrificio de *Cantharellus cibarius* a un biorreactor en el que se empleó agitación mecánica, pH óptimo de crecimiento evaluado anteriormente y temperatura de 28°C.

- Características del biorreactor

El fermentador empleado fue tipo batch (con la finalidad de obtener mayor cantidad de biomasa).

Se empleo un recipiente de vidrio de 1.5 L, así como una agitación mecánica a través de un sistema de paletas y un motor que permitiera controlar dicha agitación.

Se utilizo un sensor de pH y temperatura los cuales permitieron controlar dichas variables a través de programación con Arduino.

Para el caso de la aireación se utilizó una bomba de vacío colocando una membrana para evitar problemas de contaminación

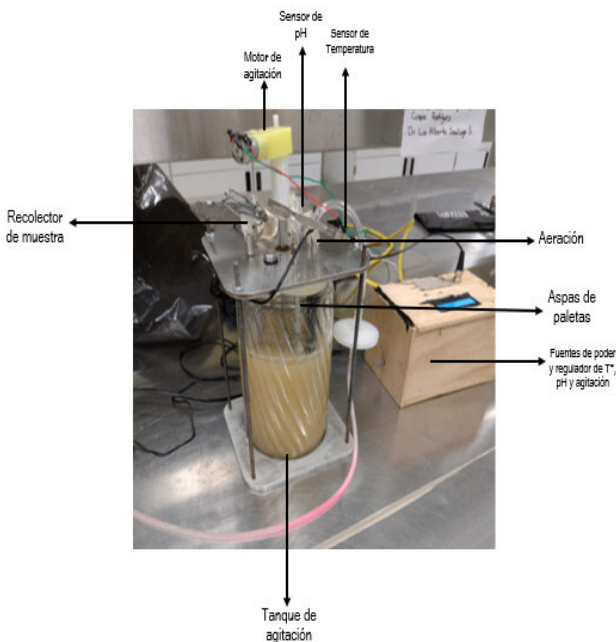


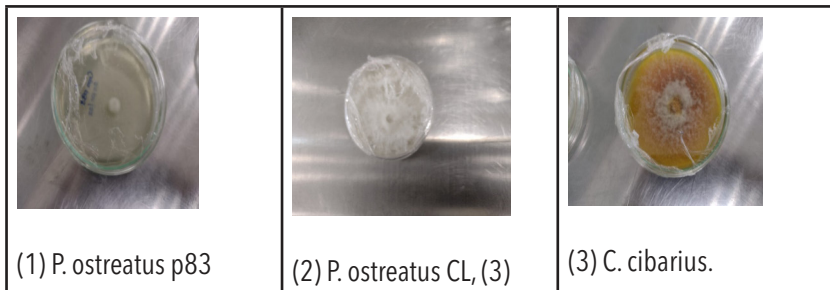
Figura 4. Biorreactor para la producción de antioxidantes a escala piloto de *Cantharellus cibarius* a temperatura, pH y agitación óptima.

Resultados

Reactivación de las cepas de *P. ostreatus* CL, *P. ostreatus* p83 y *C. cibarius*.

Las cepas fueron reactivadas en medio sólido PDA. El crecimiento micelial estuvo presente y se observaron las características macroscópicas típicas de las cepas.

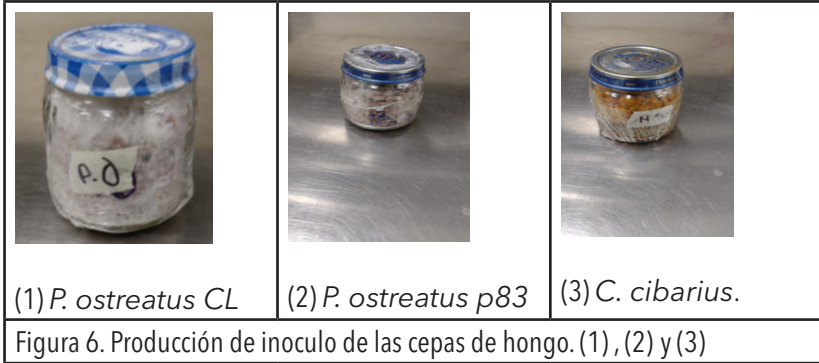
Para las dos cepas de *P. ostreatus* se observó un micelio blanquecino, algodonoso y abundante desde los primeros días de incubación. Invadiendo completamente la caja Petri a los días 15 de incubación. La cepa *P. ostreatus* p83 presentó un micelio más algodonoso en comparación con la cepa *P. ostreatus* CL. Para la cepa de *C. cibarius* se observó un crecimiento micelial blanquecino al inicio de la incubación y conforme avanzaban los días este se tornó color amarillo-naranja. El medio de cultivo se tornó color naranja. El crecimiento de esta cepa fue más precoz, invadió completamente la caja Petri a los 5 días de incubación. En la Figura 5 se observa este crecimiento.



Producción de inóculo en sustratos sólidos

La producción de inóculo en los granos de sorgo resultó favorable. Después de 15 días de incubación se observaron las características típicas del crecimiento micelial de los tres hongos utilizados en este trabajo. Las

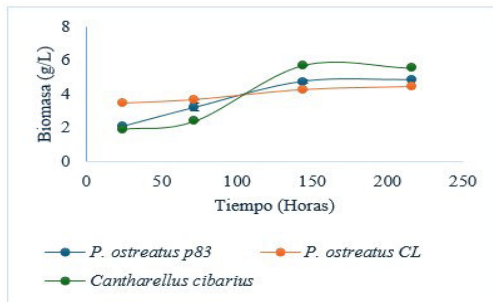
semillas de sorgo se invadieron completamente. En la figura 6 se ilustra lo mencionado.



Fermentación líquida

Producción de biomasa de la fermentación líquida en frascos. La biomasa producida por las cepas de hongos en medio líquido de extracto de papa se observa en la figura 8. Se puede notar que el medio de cultivo no favoreció el crecimiento de la cepa de *P. ostreatus* CL, la biomasa alcanzada fue mínima. Para las cepas de *P. ostreatus* p83 y *C. cibarius* la biomasa se incrementó en un 145 y 187 %, respectivamente y en comparación con el inoculo inicial.

Figura 7. Biomasa obtenida de la fermentación líquida en frascos.



Aunque se incrementó la biomasa en *P. ostreatus* p83 y *C. cibarius*, la concentración obtenida fue inferior a lo que se ha reportado en otros medios de cultivo para estas mismas cepas. Por mencionar algunos trabajos está el de Téllez-Téllez *et al.*, (2008) que en un medio con glucosa y extracto de levadura obtuvo hasta 5.6 g/L de biomasa de *P. ostreatus*. Es importante mencionar que en este trabajo el inóculo fueron granos de sorgo invadidos con el hongo y en el trabajo de Téllez-Téllez (2008) utilizaron pellets de micelio, lo cual significa que la biomasa se incrementó significativamente con respecto al inóculo inicial.

También se encontró que el crecimiento de *P. ostreatus* CL no presentó las fases típicas del crecimiento microbiano en cultivo en lote. Para *C. cibarius* se observó una curva típica. El bajo crecimiento micelial de las cepas se puede deber al exceso de carbohidratos en el medio de cultivo, aunado a esto, es necesario incrementar el número de muestreos para la determinación de la biomasa a fin de tener el panorama particular de lo que ocurre en cada fermentación.

Determinación del consumo de sustrato de la fermentación líquida en frascos

Para la determinación de consumo de sustrato en las diferentes cepas, se empleó la curva de calibración obtenida con glucosa (anexo 1).

Se observa que el sustrato consumido fue disminuyendo gradualmente a medida que pasaban los días de fermentación. Lo que puede indicar que el sustrato consumido fue utilizado en una mayor parte para la producción de biomasa y en el porcentaje que algunos autores han descrito para los organismos aerobios, sino más bien para la producción de metabolitos. Los resultados se muestran en la figura 9.

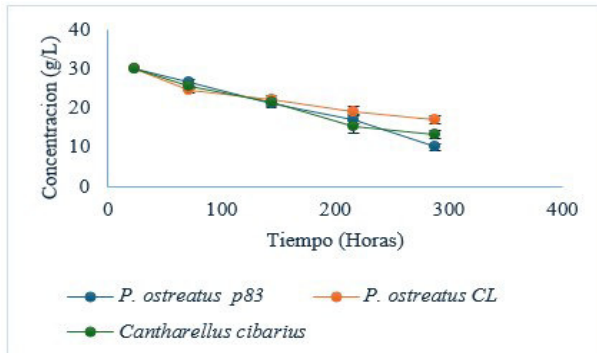


Figura 8. Consumo de sustrato de la fermentación líquida en frascos.

Es importante mencionar que el consumo de sustrato fue determinado por evaluación de azúcares reductores, por lo cual la transformación o generación de otros tipos de azúcares no fue cuantificado.

Determinación de la capacidad antioxidante

❖ Método DPPH

Todos los cultivos presentaron inhibición del radical DPPH y capacidad antioxidante. Los porcentajes de inhibición se observan en la tabla 1. No se encontraron diferencias significativas entre las tres cepas utilizadas a los 3 días de fermentación, sin embargo, en los días 6 y 12 si hubo diferencias. Los valores de inhibición fueron de 48.62 a 63.31 % y aunque la cepa de *C. cibarius* tiñó el medio de cultivo y esta coloración puede ser atribuida a moléculas antioxidantes, esto no influyó en el porcentaje de inhibición a los 12 días de incubación.

Tabla 1. Porcentaje de inhibición del radical DPPH del cultivo en frascos de *P. ostreatus* CL, *P. ostreatus p83* y *C. cibarius*.

Tiempo de fermentación	<i>C. cibarius</i>	<i>P. ostreatus CL</i>	<i>P. ostreatus p83</i>
3	55.5±4.83 ^{*a}	53.93±2.84 ^a	52.06±3.24 ^a
6	63.31±5.70 ^a	48.62±0.92 ^b	52.82±2.96 ^b
9	48.70±1.51 ^b	58.85±2.17 ^a	47.6±0.92 ^b
12	-	50.19±3.32 ^a	46.67±0.45 ^a

*Promedio±desviación estándar. Letras diferentes significan una diferencia estadísticamente significativa (p<0.05). Comparación entre filas. (-) No determinado.

Con respecto a la capacidad antioxidante, se observó el mismo comportamiento que con el porcentaje de inhibición (tabla 1). En los primeros días no se observaron diferencias significativas, pero a partir del día 6 y 12 este comportamiento no fue el mismo. La capacidad antioxidante máxima fue de 24.99 para la cepa de *C. cibarius* a los 6 días de incubación. A partir de este tiempo y para esta cepa se puede recomendar la extracción y antioxidantes para su uso biotecnológico.

Tabla 2. Capacidad antioxidante DPPH del cultivo en frascos de *P. ostreatus* CL, *P. ostreatus p83* y *C. cibarius*. (µg equivalentes a Trolox/ml).

Tiempo de fermentación	<i>C. cibarius</i>	<i>P. ostreatus CL</i>	<i>P. ostreatus p83</i>
3	21.75±2.00 ^{*a}	21.1±1.17 ^a	20.33±1.34 ^a
6	24.99±2.36 ^a	18.90±0.38 ^b	20.64±1.23 ^b
9	18.94±0.62 ^b	23.14±0.90 ^a	18.48±0.38 ^b
12	-	19.56±1.37 ^a	18.10±0.19 ^a

*Promedio±desviación estándar. Letras diferentes significan una diferencia estadísticamente significativa (p<0.05). Comparación entre filas. (-) No determinado.

Aunque los cultivos evaluados presentaron la generación de poca biomasa, estos pueden servir para la recuperación de algunas biomoléculas como los antioxidantes.

❖ Método ABTS

Los resultados del porcentaje de inhibición del radical ABTS se observan en la tabla 3. Todas las cepas presentaron inhibición del radical, sin embargo, la cepa de *C. cibarius* presentó una diferencia significativa en comparación con las cepas de *P. ostreatus CL* y *p83* en los tiempos de fermentación de 3 y 6 días. A partir de los días 9 y 12 no se encontraron diferencias significativas. Los valores de inhibición oscilaron en el rango de 32.04 a 81.09 %. Es destacable el hecho de que *C. cibarius* a los primeros 3 días de fermentación presentó el máximo porcentaje de inhibición. La reducción del % de inhibición en los tiempos posteriores se puede atribuir a la transformación de estas moléculas o al uso de las mismas para reducir el estrés celular generado por las condiciones de cultivo que impidieron la producción de biomasa suficiente.

Tiempo de fermentación	<i>C. cibarius</i>	<i>P. ostreatus CL</i>	<i>P. ostreatus p83</i>
3	81.09±0.97 ^{*a}	39.16±1.84 ^b	32.04±1.08 ^c
6	63.11±0.84 ^a	40.18±3.15 ^b	36.66±0.58 ^b
9	43.78±2.92 ^a	42.72±1.69 ^a	39.71±3.16 ^a
12	-	38.6±3.98 ^a	41.84±8.75 ^a

*Promedio±desviación estándar. Letras diferentes significan una diferencia estadísticamente significativa (p<0.05). Comparación entre filas. (-) No determinado.

Con respecto a la capacidad antioxidante de ABTS, se observó que la cepa de *C. cibarius* presentó los valores máximos (222.22 y 164.26). Es de notarse que la capacidad antioxidante de *C. cibarius* a lo largo de la fermentación fue en decremento, sin embargo, presentó valores muy significativos de actividad. Esta reducción puede atribuirse a la transformación de las moléculas con capacidad antioxidante. Los resultados hallados para *C. cibarius* presentaron una diferencia estadísticamente significativa en los tiempos 3 y 6 días en comparación con las cepas de *P. ostreatus*.

Tabla 4. Capacidad antioxidante ABTS** del cultivo en frascos de *P. ostreatus* CL, *P. ostreatus p83* y *C. cibarius*.
(μg equivalentes a Trolox/ml).

Tiempo de fermentación	<i>C. cibarius</i>	<i>P. ostreatus</i> CL	<i>P. ostreatus</i> p83
3	221.22 \pm 3.10* ^a	87.8 \pm 5.86 ^b	65.15 \pm 3.45 ^c
6	164 \pm 2.68 ^a	91.04 \pm 10.01 ^b	79.86 \pm 1.84 ^b
9	102.51 \pm 9.28 ^a	99.13 \pm 5.37 ^a	89.57 \pm 10.07 ^a
12	-	86.03 \pm 12.67 ^a	96.33 \pm 27.83 ^a

*Promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes significan una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Comparación entre filas. (-) No determinado.

En comparación con la capacidad antioxidante obtenida con los equivalentes a trolox, se puede notar que se obtuvieron mayores valores con los equivalentes a ABTS. Estas diferencias pueden atribuirse a los tipos de moléculas que cuantifica cada uno de los métodos mencionados.

De forma general se puede concluir que hubo una baja producción de biomasa y el sustrato se consumió dentro de los primeros días de fermentación. Aunque no se generó biomasa en una gran concentración, esto no afectó la producción de antioxidantes. Por lo cual el medio de cultivo puede tener el propósito de generar estos compuestos, pero no biomasa.

Determinación de biomoléculas por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/MS)

Se lisaron las células obtenidas de las fermentaciones en frascos para las cepas de *P. ostreatus CL*, *P. ostreatus p83* y *C. cibarius* y se identificaron por CG/MS los compuestos bioactivos. En la tabla 5 podemos apreciar que se encontraron ácidos, aminoácidos, carbohidratos, ácidos grasos y otras moléculas.

Tabla 5. Compuestos bioactivos encontrados en la fermentación en frascos.		
<i>P. ostreatus p83</i>	<i>P. ostreatus CL</i>	<i>C. cibarius</i>
Ácidos		
Ácido láctico	Ácido láctico	Ácido láctico
Ácido tartárico	-	-
-	-	Ácido málico
-	-	Ácido fosfórico
-	-	Ácido cítrico
Aminoácidos		
Alanina	Alanina	Alanina
Valina	-	-
Leucina	-	-
-	-	Prolina
-	-	Serina
-	-	Ácido glutámico
Carbohidratos		
Fructosa	Fructosa	Fructosa
Manosa	-	-
Sucrosa	-	-
-	Manitol	Manitol
-	Glucosa	Glucosa
-	Sorbosa	-
-	-	Arabitol
-	-	Galactosa
-	-	Trehalosa
Ácidos grasos		
Ácido palmítico	-	Ácido palmítico
Ácido esteárico	-	Ácido esteárico
-	-	Ácido linoleico
-	-	Ácido oleico
Otras moléculas		
Glicerol	Glicerol	Glicerol
-	-	Ácido glicólico
-	-	Monoetanolamina
-	-	Ácido piroglutámico
-	-	Trolamina

Bajo las condiciones de análisis en el CG/MS se encontraron 11 compuestos para *P. ostreatus* p83, 7 para *P. ostreatus* CL y 24 para *C. cibarius*. La extracción y recuperación de estas moléculas de la biomasa resultó favorable con el método de extracción con ultrasonido y estas moléculas pueden tener algunas aplicaciones en las áreas alimentaria, farmacéutica, médica, agrícola, entre otras.

Dados los resultados obtenidos para el crecimiento de las cepas, se eligió a *C. cibarius* por su capacidad de producir altas concentraciones de antioxidantes y contener la mayor cantidad de compuestos bioactivos en la biomasa. Esta cepa fue utilizada para para realizar una fermentación líquida en frascos a diferentes pH.

Fermentación a diferentes pH

*Crecimiento de biomasa y consumo de sustrato de *Cantharellus cibarius* a diferentes pH*

La cepa de *C. cibarius* fue cultivada en medio líquido en frascos a diferentes pHs (4, 6 y 7). Los resultados de producción de biomasa se observan en la figura 9.

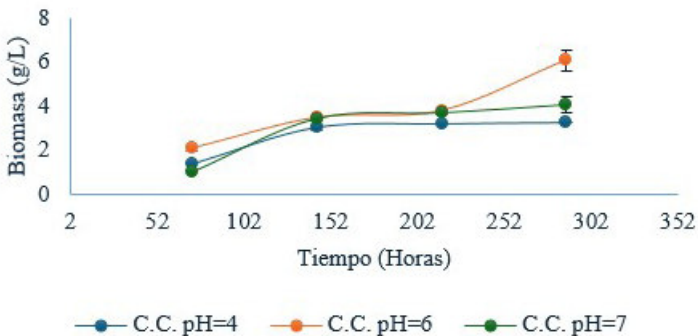


Figura 9. Producción de biomasa por *C. cibarius* a diferentes pH.

Se puede observar que prácticamente el crecimiento celular fue el mismo en todas los pHs evaluados, excepto a los 12 días de fermentación para el pH 6. Es importante destacar que el pH de la fermentación en frascos para *C. cibarius* y las cepas de *P. ostreatus* CL y p83 (analizada en el apartado anterior) fue de 5.3 y en esta fermentación fue de 4, 6 y 7, sin embargo, el pH no afectó significativamente la producción de biomasa. Se observó el mismo comportamiento: una producción baja de biomasa en comparación con otros reportes.

El consumo de sustrato de *C. cibarius* se observa en la figura 10. El perfil de consumo de sustrato fue prácticamente el mismo para los tres pHs evaluados, siendo comparables con lo observado en la fermentación líquida para las cepas de *C. cibarius* y *P. ostreatus* donde el pH no fue ajustado.

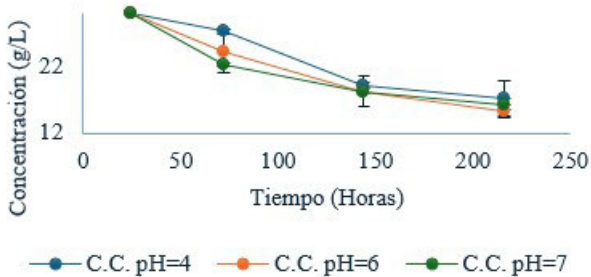


Figura 10. Consumo de sustrato de *Cantharellus cibarius* a diferente pH.

Determinación de la capacidad antioxidante

❖ Método DPPH

Los resultados de porcentaje de inhibición del radical DPPH se observan en la tabla 6. Es notorio que todas las muestras inhibieron al radical y que el pH de 6 fue el mejor, esto se corrobora con el análisis estadístico realizado. Después el pH 6, el mayor porcentaje de inhibición se observó para el pH 7 y finalmente el 4. Podemos concluir que el pH ácido no favorece la inhibición del radical DPPH en esta fermentación.

Tabla 6. Porcentaje de inhibición del radical DPPH• del cultivo de *C. cibarius* a diferentes pH.

Tiempo de fermentación	pH=4	pH=6	pH=7
6	35.8±0.08* ^c	43.46±0.28 ^a	41.38±0.34 ^b
9	35.6±0.07 ^c	47.18±1.46 ^a	42.07±0.36 ^b
12	37.03±0.12 ^c	44.53±0.39 ^a	39.42±0.31 ^b

*Promedio±desviación estándar. Letras diferentes significan una diferencia estadísticamente significativa (p<0.05). Comparación entre filas.

Con respecto a la capacidad antioxidante de DPPH, se observó el mismo perfil. El pH en el cual se observó mayor capacidad fue el pH 6, seguido del 7 y 4. El rango de valores fue de 13.6 a 18.3 µg equivalentes a Trolox/ml.

Tabla 7. Capacidad antioxidante DPPH• del cultivo de *C. cibarius* a diferentes pH (µg equivalentes a Trolox/ml)

Tiempo de fermentación	pH=4	pH=6	pH=7
6	13.6±0.03* ^c	16.77±0.11 ^a	15.91±0.14 ^b
9	13.51±0.03 ^c	18.31±0.61 ^a	16.19±0.15 ^b
12	14.11±0.05 ^c	17.21±0.16 ^a	15.09±0.13 ^b

*Promedio±desviación estándar. Letras diferentes significan una diferencia estadísticamente significativa (p<0.05). Comparación entre filas.

No se observó un comportamiento creciente en la capacidad antioxidante, los valores fueron aumentando o reduciéndose en algunos casos. Este comportamiento puede atribuirse a la transformación de las moléculas.

❖ Método ABTS•+

Los resultados de porcentaje de inhibición del radical ABTS se observan en la tabla 14. El pH que favoreció la inhibición del radical fue el pH 6, seguido del 7 y de 4. Los valores obtenidos estuvieron en el rango de 18.81 a 55.4 %. En todos los pH 7 el porcentaje de inhibición se redujo conforme transcurrieran los días de fermentación.

Tabla 8. Porcentaje de inhibición del radical ABTS** del cultivo de *C. cibarius* a diferentes pH.

Tiempo de fermentación	pH=4	pH=6	pH=7
6	26.55±0.24 ^{*c}	55.4±0.05 ^a	54.46±0.15 ^b
9	18.81±0.24 ^c	53.53±0.07 ^a	42.61±0.31 ^b
12	16.51±0.38 ^c	31.71±0.42 ^a	18.86±0.06 ^b

*Promedio±desviación estándar. Letras diferentes significan una diferencia estadísticamente significativa (p<0.05). Comparación entre filas.

Con respecto a la capacidad antioxidante obtenida con el radical ABTS, la mayor capacidad se encontró a pH 6, seguido de 7 y 4.

Tabla 9. Capacidad antioxidante ABTS** del cultivo de *C. cibarius* a diferentes pH (µg equivalentes a Trolox/ml)

Tiempo de fermentación	pH=4	pH=6	pH=7
6	47.68±0.76 ^{*c}	139.46±0.16 ^a	136.47±0.4
9	23.06±0.76 ^c	133.53±0.22 ^a	98.78±0.97
12	15.73±1.22 ^c	64.09±1.33 ^a	23.21±0.20

*Promedio \pm desviación estándar. Letras diferentes significan una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Comparación entre filas.

En todos los tiempos y pHs evaluados, se observó un decremento de la capacidad antioxidante. Es notorio que a pH 7, se redujo aproximadamente un 500 % la capacidad antioxidante. Comparando la capacidad antioxidante con DPPH y ABTS, podemos concluir que el mejor método para evaluar este parámetro en este cultivo es el de ABTS, donde se han observado los valores más altos.

Fermentación líquida de *C. cibarius* en un biorreactor tipo batch

Se cultivó a *C. cibarius* en un biorreactor tipo batch ajustando el medio de cultivo a pH 6. Este pH fue seleccionado debido a que en este se encontró la mayor producción de antioxidantes (determinado por el % de inhibición y capacidad antioxidante de los radicales DPPH y ABTS) y porque esta cepa en la fermentación líquida de la etapa 1 presentó el mayor número de biomoléculas. En la figura 11 se observa el crecimiento de *C. cibarius*, se puede notar que el crecimiento micelial fue escaso durante todo el tiempo de fermentación. Se alcanzó un crecimiento máximo de 8.3 g/L a los 16 días de incubación.

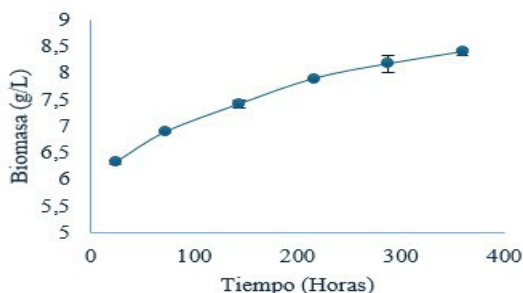


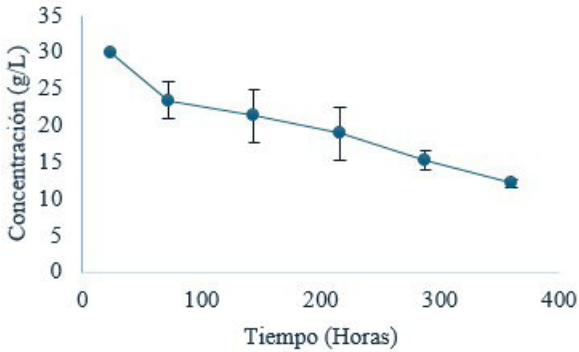
Figura 11. Biomasa producida por *C. cibarius* en un biorreactor tipo batch.

Se observó consistencia en la producción de biomasa en el cultivo en el biorreactor y la fermentación en frascos: una escasa producción de biomasa. No se observaron todas las fases de crecimiento microbiano típicas de los cultivos en lote, esto puede deberse a los pocos puntos evaluados. Es preferible hacer la determinación de la producción de biomasa al menos cada 24 hrs, sin embargo, se observó un crecimiento constante a lo largo de la fermentación.

La concentración de biomasa encontrada en este trabajo para la cepa de *P. ostreatus* es inferior a algunos reportes de bibliografía, donde se han encontrado valores de hasta $15.28 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en un medio de cultivo compuesto por glucosa, $28.41 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; extracto de levadura, $5.68 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ y peptona, $2.32 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Ferrer *et al.*, 2019). En este trabajo la máxima concentración de biomasa fue de $4.45 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ para la fermentación en frascos para *P. ostreatus*, y para la fermentación en frascos para *C. cibarius* a pH 6 fue de $4.06 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. En la fermentación con el biorreactor tipo batch se observó una máxima concentración de $8.36 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Es importante mencionar que la formulación del medio de cultivo puede ser un factor importante y que influyó en la obtención de la biomasa.

El consumo de sustrato se observa en a figura 12. es notorio que el sustrato no se agotó en los primeros días de fermentación al igual que ocurrió en los frascos. Esto tiene una lógica explicativa dado que hubo poca presencia de biomasa y el sustrato no fue consumido en su totalidad.

Figura 12. Consumo de sustrato por *C. cibarius* cultivado en un biorreactor tipo batch.



Determinación de la capacidad antioxidante

❖ Método DPPH y ABTS

En la tabla 10 se muestra el porcentaje de inhibición de los radicales DPPH y ABTS. Se observa que el mejor método para evaluar este parámetro fue con el radical ABTS, donde se encontraron los mayores valores. El porcentaje de inhibición fue disminuyendo conforme avanzaba la fermentación (para los dos métodos evaluados). Esto se puede deber a la transformación de estas moléculas o al tratamiento de la muestra.

El cambio del sistema de fermentación de frascos al biorreactor tipo batch benefició la producción de antioxidantes. En la fermentación a pH 6 para *C. cibarius* se encontraron valores desde 31.7 a 55.4 % de inhibición de ABTS y de 43.46 a 47.18 % de inhibición de DPPH. En el cultivo en el biorreactor, se encontró hasta 91.37 y 57.8 % de inhibición para ABTS y DPPH, respectivamente.

Tabla 10. Porcentaje de inhibición en el biorreactor.

Tiempo de fermentación	Radical	
	<i>DPPH</i> *	<i>ABTS</i> *
3	57.08±1.92 ^{ab}	91.37±0.16 ^a
6	50.14±2.07 ^b	73.12±2.30 ^a
9	42.01±2.80 ^b	52.52±1.60 ^a
12	36.99±1.37 ^a	31.99±0.82 ^b
15	18.17±9.05 ^b	25.47±0.99 ^a

*Promedio±desviación estándar. Letras diferentes significan una diferencia estadísticamente significativa (p<0.05). Comparación entre filas.

Con respecto a la capacidad antioxidante se encontró que esta fue disminuyendo conforme avanzaba la fermentación y que el sistema de fermentación en el biorreactor tipo batch mejoró la producción de antioxidantes en comparación con la fermentación en frascos a pH 6 para *C. cibarius*, donde los valores obtenidos fueron de 16.77 a 17.21 para ABTS y de 64.09 a 139.46 para DPPH.

Tabla 11. Capacidad antioxidante en el biorreactor.
(µg equivalentes a Trolox/ml).

Tiempo de fermentación		
	<i>DPPH</i> *	<i>ABTS</i> *
3	55.85±1.92 ^{ab}	253.93±0.50 ^{ab}
6	48.91±2.07 ^b	195.85±7.32 ^a
9	40.78±2.80 ^b	130.31±5.11 ^a
12	35.76±1.37 ^b	64.98±2.61 ^a
15	16.95±9.05 ^b	44.23±3.14 ^a

*Promedio±desviación estándar. Letras diferentes significan una diferencia estadísticamente significativa (p<0.05). Comparación entre filas.

La máxima concentración de capacidad antioxidante fue encontrada en las primeras horas de fermentación y alcanzó valores de hasta 253.93, siendo el mejor método para la determinación de este parámetro el de ABTS, donde se encontraron las mayores concentraciones.

Para el caso de *C. cibarius* la actividad antioxidante se ha reportado en el cuerpo fructífero del hongo (Aldavero, 2014). En el sombrero del hongo se han reportado hasta 109 ± 9 μg equivalente de Trolox/g de peso húmedo y para el pie de 94 ± 11 μg equivalente de Trolox/g de peso húmedo. En las harinas de este hongo se obtuvo hasta 118 ± 25 μg equivalente de Trolox/g de peso húmedo. En este trabajo se ha utilizado el micelio del hongo por lo que este es un indicio de que el hongo en todo su ciclo de vida puede producir estas biomoléculas. Hasta ahora no hay reportes que evalúen la capacidad antioxidante de *C. cibarius* en su estado micelial y en este trabajo se ha demostrado que puede producir antioxidantes en diferentes sistemas de fermentación.

Conclusiones

De acuerdo con lo analizado en el presente trabajo podemos concluir; de las tres variedades de hongos basidiomicetos, el que ofrece un crecimiento micelial en un menor tiempo es *Cantharellus cibarius*, aun y cuando se modifiquen algunas variables que interfirieran en su crecimiento.

El tipo de sustrato, pH y la temperatura en el cual se inocula cualquier hongo en especial basidiomiceto es un punto clave para la obtención de sus cuerpos fructíferos, así como la optimización en los tiempos de crecimiento.

Un punto extra para el proceso de crecimiento es importante considerar el origen de donde es extraído si de una forma silvestre o una más sintética ya que esto le facilita que el hongo se adapte fácilmente a las condiciones de cultivo y favorezca su crecimiento.

Al realizar el comparativo antioxidante con las tres variedades de hongos y empleando los radicales DPPH• y ABTS•+ se pudo apreciar que el porcentaje de inhibición y capacidad antioxidante fue en la especie de *Cantharellus cibarius*.

Modificando los pH del hongo *Cantharellus cibarius* el mejor pH para que el hongo presente un alto potencial antioxidante tanto en DPPH• como ABTS•+ es a pH=6.

En el proceso de fermentación a escala en el que se apreció un mayor porcentaje de inhibición y capacidad antioxidante fue al utilizar el radical ABTS•+.

Los compuestos analizados por cromatografía destacan la presencia de compuestos principalmente azúcares, aminoácidos que a la vez actúan con capacidad antioxidante según lo investigado por la bibliografía citada. Y pueden ser utilizados para la elaboración de productos con alto impacto nutricional y fines medicinales.

En este proyecto se desea optimizar el tiempo de producción y rendimiento de antioxidantes de diferentes cepas de hongos el cual por cuestiones de tiempo ya no se pudo realizar, pero esto deja abierta la perspectiva para seguir desarrollando investigaciones complementarias.

Referencias

- Aldavero P, A. C. (2014). "Estudio de la capacidad antioxidante y el contenido en β -(1,3-1,6-) glucanos de diversas setas comestibles de Castilla y León" [Tesis doctoral]. Universidad de Valladolid. Valladolid, España.
- Ancona, L., S. Medina, G. Cetz (2005). Preferencia en el consumo de *Pleurotus djamor* en Baca, Yucatán, México. *Revista Mexicana de Micología* 20: 39-44.
- Anantharaju PG, Gowda PC, Vimalambike MG, et al. (2016) An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. *Nut J*; 15: 99. <http://dx.doi.org/10.1186/s12937-016-0217-2>
- Arbaayah HH, Umi KY. (2013) Antioxidant properties in the oyster mushrooms (*Pleurotus spp.*) and split gill mushroom (*Schizophyllum commune*) ethanolic extracts. *Mycosphere*; 4: 661-73. <http://dx.doi.org/10.5943/mycosphere/4/4/2>
- Barros L, Dueñas M, Ferreira IC, et al. (2009) Phenolic acids determination by HPLC-DAD-ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species. *Food Chem Toxicol*; 47(6): 1076-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2009.01.039>
- Barros L, Venturini BA., Baptista P, Estevinho LM., and Ferreira ICFR. (2008) Chemical Composition and Biological Properties of Portuguese Wild Mushroom: A comprehensive Study. *J Agric. Food Chem.*; 56: 3856-62.
- Barros L, Baptista P., Correia M., Casal S., Oliveira B., y Ferreira R. (2007). Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. *Food Chem*, 105, 140-145.
- Barros L., Cruz T., Baptista P., Estevinho M., y Ferreira R (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology*, 46(8), 2742- 2747. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.04.030>
- Beltran G. J, Estarron E. O. (1997). Volatile compounds secreted by the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and their antibacterial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4049-4052.

Bernas E., Jaworska G. y Lisiewska Z. (2006) Edible mushroom as a resource of valuable nutritive constituents. *Acta Sci, Pol, Technol Aliment.*, 5:5-20.

Bessette AE., Roody WC. and Bessette AR. (2000) North American Boletes: A Color Guide to the Fleshly Pored Mushrooms. Syracuse University Press, Syracuse, NY 1-400.

Bobek, P., y Ozdin L. (1994). The mushroom *Pleurotus ostreatus* accelerates plasma very-low-density lipoprotein clearance in hypercholesterolemic rat. *Physiol Res*, 43, 205- 206.

Brand W., W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).

Brewer M. (2011) Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action and potential application. *Compr Rev Food Sci Food Saf*; 10: 221-47. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x>

Buyck B., Olariaga I., Looney B., Justice I. & Hofstetter V. (2016) Wisconsin chanterelle revisited and first indications for very wide distributions of *Cantharellus* species in the United States East of Rock Mountain. *Cryptogamie, Mycologie* 37(3): 345-36.

Buyck B., Antonin V., Chakraborty D., Baghela A., Das K., *et al.* (2018) *Chatarellus* sect. *Amethystini* in Asia. *Mycological Progress* 17(8): 917-924.

Caballero M. A., Palacios R. J. (1999). *Flora micológica de La Rioja*. Zubía; 17:11-43.

Cardoso C., Fernandes A., Oliveira P., Calhella C., Barros L., Martins A., & Ferreira R. (2017). Development of nutraceutical formulations based on the mycelium of: *Pleurotus ostreatus* and *Agaricus bisporus*. *Food and Function*, 8(6), 2155-2164. <https://doi.org/10.1039/c7fo00515f>

Carocho M., Barreiro MF., Morales P., *et al.* (2014) Adding molecules to food, pros and cons: a review on synthetic and natural food additives. *Compr Rev Food Sci Food Saf*; 13(4): 377-99. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12065>

Cedano M., M. Martinez, C. Soto Velazco C., L. Guzman Davalos (1993). *Pleurotus ostreatoroseus* (Basidiomycotina, Agaricales) in Mexico and its growth in agroindustrial wastes. *Cryptogamic Botany* 3(4): 297-302.

Chang, S.T., Wasser, S.P. (2012) The role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health. *International Journal Medical Mushrooms*, 14(2), 95-134.

Chaves M., Libardi J. N., Borges G., Wisbeck E., Gern R., Furlan S., Furigo J. A., (2014), Production of Bioactive Substances in Fed-batch and Semi-continuous Culture by *Pleurotus Ostreatus*, *Chemical Engineering Transactions*, 38, 307-312.

Cheah K, y Halliwell B (2012). Ergothioneine; antioxidant potential, physiological function and role in disease. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1822, 784-793.

Chen H. y Li S. (2015). Polysaccharides from Medicinal Mushrooms and Their Antitumor Activities. In K. G. Ramawat & J.-M. Mérillon (Eds.), *Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology* (pp. 1893-1910). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16298-0_3

Chen L., Peng X., Lv J., Liao S., Ou S., *et al.* (2017) Purification and structural characterization of a novel water-soluble neutral polysaccharide from *Cantharellus cibarius* and its immunostimulating activity in RAW264. 7 cells. *International Journal of Polymer Science*, pp: 1-10.

Chu T., Xia L. y Ng B. (2005). Pleurostrin, an antifungal peptide from the oyster mushroom. *Peptides*, 26(11), 2098-2103. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2005.04.010>

Cohen R., Persky L. y Hadar Y. (2002) Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushroom of the genus *Pleurotus*. *Applied Microbiol Biotechnol*; 8:37-45.

Corner, E.J.H. (1981). The agaric genera *Lentinus*, *Panus* and *Pleurotus*. *Beih. Nova Hedwigia* 69: 1-169.

Mattos S. J., Ford L., Alberti F., Banks M., Bailey M., y Foster D. (2016). The good, the bad and the tasty: The many roles of mushrooms. *Studies in Mycology*, 85(Litten 1975), 125-157. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2016.11.002>

Devi S., Behera B., Mishra D. y Maiti K. (2015). Immune augmentation and Dalton's Lymphoma tumor inhibition by glucans/glycans isolated from the mycelia and fruit body of *Pleurotus ostreatus*. *Int. Immunopharmacol.*, 25, 207-217.

Devi S., Roy B., Patra P., Sahoo B., Islam S., y Maiti K. (2013). Characterization and lectin microarray of an immunomodulatory heteroglucan from *Pleurotus ostreatus* mycelia. *Carbohydr. Polym.*, 94, 857-865.

Dharmarai, K., R. Kubera, R. Mahalakshmi (2014). Comparison of nutrient contents and antimicrobial properties of *Pleurotus djamor*, *Agaricus bisporus* and *Ganoderma tsugae*. *International Journal Current of Microbiology and Applied Sciences* 3(6): 518-526.

Doğan H., Duman R., Özkalp B., & Aydin S. (2013). Antimicrobial activities of some mushrooms in Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 51(6), 707-711. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.764327>

Dong J., Zhang M., Lu L., *et al.* (2012) Nitric oxide fumigation stimulates flavonoid and phenolic accumulation and enhances antioxidant activity of mushroom. *Food Chem* 2012; 135(3): 1220-5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.055>

Doran, P. M. (1998). *Principios de ingeniería de los bioprocesos*. Acirbia, Editorial, S.A.

El Enshasy HA., Daba, El Demellawy M., *et al.* (2010) Bioprocess development for large scale production of anticancer exo-polysaccharide by *Pleurotus ostreatus* in submerged culture. *J Appl Sci*; 10: 2523-9. <http://dx.doi.org/10.3923/jas.2010.2523.2529>

Elsayed EA., El Enshasy HA., Al Wadaan MA., *et al.* (2014) Mushrooms: a potential natural source of anti-inflammatory compounds for medical applications. *Mediators Inflamm*; 805841. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/805841>

Ferrer R., J. C., Mas D., S. M., Beltrán D., Y., Rodríguez Q., Y., & Morris Q., H. J. (enero de 2019). Optimización del medio de cultivo para la producción de biomasa y compuestos fenólicos por *P. ostreatus* en fase sumergida utilizando la metodología de superficie de respuesta. Tecnología Química, Universidad de Oriente, 39, 16.

Fernandes A., Barros L., Martins A., et al. (2015) Nutritional characterisation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. produced using paper scraps as substrate. Food Chem; 169: 396-400. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.027>

Ferreira I., Barros L., Abreu R. (2009) Antioxidants in wild mushrooms. Curr Med Chem; 16(12): 1543-60. <http://dx.doi.org/10.2174/092986709787909587>

Foltz MJ., Perez KE., Volk TjJ. (2013) Molecular phylogeny and morphology reveal three new species of *Cantharellus* within 20 m of one another in western Wisconsin, USA. Mycologia 105 (2): 447-461

Fričová O., y Koval'aková M. (2013). Solid-State ¹³C CP MAS NMR spectroscopy as a tool for detection of (1→3, 1→6)-β-D-Glucan in products prepared from *Pleurotus ostreatus*. ISRN Anal. Chem., 2013(248164), 1-4.

Gaitán H., R., D. Salmones (1999). Análisis de la producción de cepas de *Pleurotus djamor*. Revista Mexicana de Micología 15: 115-118.

García, A., y Sánchez, J.A., (2009). Setas de la Península Ibérica y de Europa. Ed. Everest

García J. J, Singer R, Estrada E, Garza O. F, Valenzuela R. (2013) Dos especies nuevas del género *Boletus* (Boletales: Agaricomycetes) en México. Rev Mexicana Biodiversidad; 84:152-62.

Gąscka M., Mleczek M., Siwulski M., et al. (2015) The effect of selenium on phenolics and flavonoids in selected edible white rot fungi. LWT - Food Sci Technol; 63(1): 726-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.046>

Gąscka M., Mleczek M., Siwulski M., et al. (2016) Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc. Eur Food Res Technol; 242(5): 723-32. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-015->

2580-1

- Gil R. A., Pavo C. C., Baeza E., *et al.* (2016) Mushrooms do not contain flavonoids. *J Funct Foods*; 25: 1-13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2016.05.005>
- González P. I., Escalona B. HB., Ponce A. E, *et al.* (2016) Evaluation of the antioxidant activity of aqueous and methanol extracts of *Pleurotus ostreatus* in different growth stages. *Front Microbiol*; 7: 1099. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2016.01099>
- Guzmán, G., M. Piepenbring (2011). Los hongos de Panamá: introducción a la identificación de los macroscópicos. Instituto de Ecología, A. C., Xalapa.
- Guzmán, G. (2000). Genus *Pleurotus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm. (Agaricomycetideae): diversity, taxonomic problems, and cultural and traditional medicinal uses. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 2: 95-123.
- Hawksworth, D.L. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research*, 109, 1422-1432.
- Heleno SA., Martins A., Queiroz MJ., *et al.* (2015) Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food Chem*; 73: 501-13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.057>
- Hernández A. M. (2009) Efectos de extractos orgánicos de *Lactarius indigo* sobre la viabilidad de líneas tumorales humanas. Tesis de Licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán, México.
- Hernández R. G. y Moreno F. A. (2010) Hongos comestibles del género *Amanita* en el mercado de Acaxochitlán Hidalgo, México. *Etnobiología*; 8:31-8
- Huerta G, Martínez C. D, Sánchez JE., Leal L. H, Vilgalys R. (2010) Genetic relationships between mexican species of *Pleurotus* analyzing ITS-regions from rDNA. *Micol Aplicada Internac*; 22(1):15-25.
- Instituto Politécnica Nacional. (2002) Catálogo de hongos comestibles de Santiago Papasquiari. Sistema de Administración de Programas y Proyectos de Investigación, IPN ed., p 1-27.

Jaworska G., Pogoń K., Bernaś E., *et al.* (2015) Nutraceuticals and antioxidant activity of prepared for consumption commercial mushrooms *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*. *J Food Quality*; 38(2): 111-22. <http://dx.doi.org/10.1111/jfq.12132>

Jayakumar T., Thomas P. & Geraldine P. (2009) In-vitro antioxidant activities of an ethanolic extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Innov Food Sci Emerg Technol*; 10(2): 228-34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2008.07.002>

Jayakumar T, Thomas P, Sheu J, *et al.* (2011) In-vitro and in-vivo antioxidant effects of the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Food Res Int*; 44(4): 851-61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.015>

Jechalke NN., Nowak R., Juda M., Malm A., Lemieszek M., *et al.* (2018) New biological activity of the polysaccharide fractin from *Cantharellus cibarius* and its structural characterization. *Food chemistry* 268: 355-361.

Jeena GS., Punetha H., Prakash O., *et al.* (2014) Study on in vitro antioxidant potential of some cultivated *Pleurotus* species (Oyster mushroom). *Indian J Nat Prod Resour*; 5(1): 56-61. [cited 2018 June 8]: Available from <http://14.139.47.23/index.php/IJNPR/article/view/12457>

Jiang T., Zheng X., Li J., *et al.* (2011) Integrated application of nitric oxide and modified atmosphere packaging to improve quality retention of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food Chem*; 126(4): 1693-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.060>

Jonathan SG., Okon CB., Oyelakin AO., *et al.* (2012) Nutritional values of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) (Jacq.Fr.) Kumm. cultivated on different agricultural wastes. *Nat Sci*; 10(9): 186-91. [cited 2018 June 8]: Available from <http://free-journal.umm.ac.id/detail-7107-title-nutritional-values-of-oyster-mushroom-pleurotus-ostreatus-jacq-f>

Kang H., Kim H. (2017) Astaxanthin and β -carotene in *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation: a mini-review on action mechanisms. *J Cancer Prev*; 22(2): 57-61. <http://dx.doi.org/10.15430/JCP.2017.22.2.57>

Karacsonyi S. y Kuniak K. (1994) Polysaccharides of *Pleurotus ostreatus*: isolation

and structure of pleuran, an alkali-insoluble β -D-glucan. *Carbohydr Polym*; 24(2): 107-11. [http://dx.doi.org/10.1016/0144-8617\(94\)90019-1](http://dx.doi.org/10.1016/0144-8617(94)90019-1)

Karácsonyi Š., y Kuniakb L (1994). Polysaccharides of *Pleurotus ostreatus*: Isolation and structure of pleuran, an alkali-insoluble β -d-glucan. *Carbohydr. Polym.*, 24, 107-111.

Keller P., Turner G. y Bennett W. (2005). Fungal secondary metabolism – from biochemistry to genomics. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 937-947.

Khan, N. A., M. Ajmal, J. Nicklin, S. Aslam, M.A. Ali (2013). Nutritional value of *Pleurotus flabellatus djamor* (R-22) cultivated on sawdust of different woods. *Pakistan Journal of Botany* 45(3): 1105-1108.

Kim, D.-O., Lee, K. W., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2002). Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3713-3717. <https://doi.org/10.1021/jf020071c>

Kim M., Seguin P., Ahn J., et al. (2008) Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. *J Agric Food Chem*; 56(16): 7265-70. <http://dx.doi.org/10.1021/jf8008553>

Knowledge Sourcing Intelligence (2017). Global edible mushrooms market – Industry trends, opportunities and forecasts to 2023. Report. Available from: <https://www.knowledge-sourcing.com/products/global-edible-mushrooms-market-industry-trends-opportunitiesand-forecasts-to-2023>

Kosanic M., Rancovic B., Dasic M. (2012) Mushroom as possible antioxidant and antimicrobial agents. *Iranian J Pharmaceut Res.*; 11(4):1095-102.

Krinsky N. (2001) Carotenoids as antioxidants. *Nutr*; 17(10): 815-7. [http://dx.doi.org/10.1016/S0899-9007\(01\)00651-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0899-9007(01)00651-7)

Kumar S, Pandey AK. (2013) Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Sci. World J*: 162750. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/162750>

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., García P., M. C., Troncoso, A. M., & Fett, R. (2004). Actividad

antioxidante de pigmentos antocianicos. *Food Science and Technology*, 24, 691-693. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612004000400036>

Lechner, E.B., J.E. Wright (2004). The genus *Pleurotus* in Argentina. *Mycologia* 96(4): 845-858.

Legon, N.W. (1999). A mycological expedition to Puerto Rico. *Mycologist* 13(2): 58-62.

Lindequist U., Niedermeyer J. y Jülich D. (2005). The pharmacological potential of mushrooms. *ECAM*, 2, 285- 299.

Luo H., Mo M., Huang X., Zhang K. (2004) *Coprinus comatus*: a basiomycete fungus forms novel spiny structures and infects nematode. *Mycologia* 96(6): 1218-1224.

Madigan T. y Martinko M. (2009). Brock. Biología de los microorganismos (12a ed.). PEARSON Education. pp 601.

Manzi P., Gambelli L., Marconi S., Vivanti V. y Pizzoferrato L. (1999). Nutrients in edible mushroom: An inter-species comparative study. *Food Chem*, 65, 477-482.

Martínez GE., Padilla PC., García AC., Bárcena R.JA., & Díez DJ. (s.f.). Hidrólisis ácida y enzimática del glucógeno. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Campus Universitario de Rabanales.

Maftoun P., Malek R., Abbas M., *et al.* (2013) Bioprocess for semi-industrial production of immunomodulator polysaccharide Pleuran by *Pleurotus ostreatus* in submerged culture. *J Sci Ind Res*; 72: 655-662. <http://dx.doi.org/10.3923/jas.2010.2523.2529>

Mattila PH., Karoliina KN., Merja E., *et al.* (2001) Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *J Agric Food*; 49; 2343- 48. <http://dx.doi.org/10.1021/jf001525d>

Melgarejo E. (2015). Algunos usos de los hongos silvestres de Bolivia en el contexto sudamericano. *Kempffiana* 11(1): 48-65.

Menolli N., Breternitz B.S., Capelari M. (2014). The genus *Pleurotus* in Brazil: a molecular and taxonomic overview. *Mycoscience* 55(5): 378-389.

Miller G. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31 (3). pp. 426-428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>

Mishra KK., Pal RS., Arunkumar R. (2014) Antioxidant activities and bioactive compound determination from caps and stipes of specialty medicinal mushrooms *Calocybe indica* and *Pleurotus sajor-caju* (higher basidiomycetes) from India. *Int J Med Mushrooms*; 16(6): 555-67. <http://dx.doi.org/10.1615/intjmedmushrooms.v16.i6.50>

Mshandete, A.M., J. Cuff (2007). Proximate and nutrient composition of three types of indigenous edible wild mushrooms grown in Tanzania and their utilization prospects. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 7(6): 1-16.

Morales O., Bran M., Cáceres R., Flores R. (2003). Contribución al conocimiento de los hongos comestibles de Guatemala. Documento interno, Facultad de Ciencias Químicas y de Farmacia, Universidad de San Carlos, Guatemala.

Murakami S., Takemaru T. (1990). Genetic studies of *Pleurotus salmoneostramineus* forming albino basidiocarps. *Reports of the Tottori Mycological Institute* 28: 199-204.

MycCosm (2020) <https://mycocosm.jgi.doe.gov/mycocosm/home>

Nasiry D., Khalatbary AR., Ebrahimzede MA. (2017) Anti-inflammatory and wound-healing potential of golden chanterelle mushroom, *Chantharellus cinarius* (Agaricomycetes). *International journal of medicinal mushroom* 19(10):1-10.

Neda H., Furukawa H. and Miyagi T. (1988). Two *Pleurotus* species from Okinawa. *Proc. 32nd Annual Meeting Mycological Society of Japan*. P. 51.

Nouhra ER., Horton TR., Cazares E., Castellano M. (2005) Morphological and molecular Characterization of selected Ramaria Mycorrhizae. *Mycorrhiza*; 15:55-9.

Palacios I., Lozano M., Moro C., *et al.* (2011) Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. *Food Chem*; 128(3): 674-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.085>

Pardavé D. LM. (2001) Contribución al conocimiento del género *Amanita* en el estado de Aguascalientes, México. *Investigación y Ciencia*; 25:11-6.

- Pegler DN. (1977). A preliminary agaric flora of east Africa. Kew Bulletin Additional Series 6. Kew.
- Pegler DN. (1983). Agaric flora of the Lesser Antilles. Kew Bulletin Additional Series 9. Kew.
- Pegler, DN. (1986). Agaric flora of Sri Lanka. Kew Bulletin Additional Series 12. Kew.
- Petersen R.H. and Ridley G.S. (1996). A New Zealand *Pleurotus* with multiple-species sexual compatibility. Mycologia 88: 198-207.
- Piska K., Sułkowska ZK., y Muszyńska B. (2017). Edible mushroom *Pleurotus ostreatus* (Oyster mushroom) – Its dietary significance and biological activity. Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus, 16(1), 151-161.
- Putzke J. (2002). Los géneros *Pleurotus* e *Lentinus* (Agaricales, Basidiomycota, Fungos) no Brasil1. Lista de especies e chaves de identificação. Caderno de Pesquisa Series Biologia (Santa Cruz do Sul) 14: 67-75.
- Rajarathnam, S., Nanjaraja M., Shashirekha U., Bano Z. (1998). Biodegradative and biosynthetic capacities of mushrooms: present and future strategies. Critical Reviews in Biotechnology 18 (2-3): 91-236.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang, M., & Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Reis FS., Martins A., Barros L., *et al.* (2012) Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: A comparative study between in vivo and in vitro samples. *Food Chem Toxicol*; 50(5): 1201-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.013>
- Robaszekiewicz A., Bartosz G., Lawrynowicz M. and Soszynski. (2010) The role of Polyphenols, β -carotene and Lycopene in the antioxidative action of the extracts of dried edible mushrooms. *J Nutr Metab*:1-9.

Robaszekiewicz A., Bartosz G., Ławrynowicz M., *et al.* (2010) The role of polyphenols, β -carotene, and lycopene in the antioxidative action of the extracts of dried, edible mushrooms. *J Nutr Metab*: 173274. <http://dx.doi.org/10.1155/2010/173274>

Rodríguez M. R. (1996) Caracterización de cepas del hongo comestible *Pleurotus spp.* en medios de cultivo y su evaluación en sustratos lignocelulósicos forrajeros para la producción de carpóforos. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México.

Rodríguez N., Araque M., y Perdomo F. (2006). Producción de los hongos comestibles Orellanas y Shiitake. Sena, Asofungicol, FNC, Cenicafé, 33. [http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/857/1/Hongos comestibles Orellanas Shiitake.pdf](http://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/857/1/Hongos%20comestibles%20Orellanas%20Shiitake.pdf)

Sanches C. (2010). Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 1321–1377.

Sánchez C. (2017) Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms. *Synth Syst Biotechnol*; 2: 13-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.synbio.2016.12.001>

Selvakumar P., Rajasekar S., Babu A.M, Periasamy K., Raaman N., Sudhakara Reddy M. (2015). Improving biological efficiency of *Pleurotus* strain through protoplast fusion between *P. ostreatus* var. *florida* and *P. djamor* var. *roseus*. *Food Science and Biotechnology* 24(5): 1741-1748.

Shin-Yu C., Kung-Jui H., Yun-Jung H., Li-Ting W. y Jeng-Leun M. (2012). Contents of lovastatin, γ -aminobutyric acid and ergothioneine in mushroom fruiting bodies and mycelia. *Food Sci.Technol-Leb*, 47, 274–278.

Sies H, Stahl W. (2018) Vitamins E and C, α -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr*; 62(6): 1315S-21. <http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/62.6.1315S>

Sorice A., Guerriero E. and Capone F., *et al.* (2014) Ascorbic acid: its role in immune system and chronic inflammation diseases. *Mini Rev Med Chem*; 14(5): 444-52. <http://dx.doi.org/10.2174/1389557514666140428112602>

Téllez T. M., Fernández F. J., Montiel G. A. M., Sánchez C., & Díaz G. G. (2008). Growth and

laccase production by *Pleurotus ostreatus*. Applied Microbiology and Biotechnology.

Thorat ID., Jagtap DD., Mohapatra D., *et al.* (2013) Antioxidants, their properties, uses in food products and their legal implications. Int J Food Studies; 2: 1. [cited 2018 June 8]: Available from: <https://www.iseki-food-ejournal.com/ojs/index.php/e-journal/article/view/13>

Yang JH., Lin HC. and Mau J. (2002) Antioxidant properties of several commercial mushrooms. Food Chem; 77: 229-35. [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00342-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00342-9)

Varnero TM., Quiroz SM., Alvarez CH. (2010) Utilización de residuos forestales lignocelulósicos para producción del hongo ostra. Información Tecnológica 2010; 21(2):13-20.

Vrolijk M., Opperhuzen A., Jansen E., *et al.* (2015) The shifting perception on antioxidants: the case of vitamin E and β -carotene. Redox Biol; 4: 272-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2014.12.017>

Wani BA., Bonha RH. and Wani AH. (2010) Nutritional and medicinal importance of mushrooms. J Med Plants Res, 4(24):2598-604.

Wasser S.P. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. Appl Microbiol Biotechnol, 60, 258–274.

Woldegiorgis Z., Abate D., Haki D. and Ziegler R. (2014). Antioxidant property of edible mushrooms collected from Ethiopia. Food Chem, 157, 30–36.

Woldegiorgis AZ., Abate D., Haki GD., *et al.* (2014) Antioxidant property of edible mushrooms collected from Ethiopia. Food Chem; 157(15): 30-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.014>

Zawirska WR., Siwulski MS., Mildner S, Wąsowicz E. (2009). Studies on the aroma of different species and strains of *Pleurotus* measured by GC/MS, sensory analysis and electronic nose. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria 8(1): 47-61.

Sitios Web

Extractos de hongos orgánicos con ultrasonido (s.f.). Recuperado el 30 de agosto de 2022, de: <https://www.hielscher.com/es/organic-mushroom-extracts.htm>

ANEXOS

Anexo 1. Curva de calibración para la determinación de azúcares reductores.

Se disolvió los sólidos en la mitad del volumen final, disolviendo primero el NaOH

Se preparó una solución madre (SM) de Glucosa en 500 ml, en este caso 250 mg de Glucosa disueltos en 500 ml de agua destilada.

Posteriormente para los azúcares reductores se prepararon 5 tubos cada uno con 1 ml de agua destilada, del primer tubo se agregó 1 ml de la SM y de este tubo se tomó 1 ml para agregarlo al siguiente tubo y así sucesivamente. Una vez terminada las disoluciones de la solución madre agregar 3 ml de DNS a cada tubo (se realizaron por triplicado).

Se llevó a ebullición por 15 min, se dejó enfriar en un recipiente con hielo y se leyeron las muestras en el espectrofotómetro con una absorbancia de 540 nm (esta absorbancia se determinó a través de un barrido espectrofotométrico).

Tabla 12. Datos para la curva de calibración de glucosa.

Curva de calibración usando glucosa para determinación de azúcares reductores.				
Tubos	M ₁ (ABS)	M ₂ (ABS)	M ₃ (ABS)	(g/L)
1	0.398	0.435	0.397	0.03119
2	0.45	0.43	0.405	0.06238
3	0.55	0.512	0.56	0.01559
4	0.74	0.8	0.815	0.12476
5	1.02	0.99	0.998	0.24952
Blanco	0	0	0	0

Figura 13. Curva de calibración de glucosa.

