

**EVALUACIÓN COMPARATIVA DE ÁCIDOS GRASOS Y ESTEROLES
MAYORITARIOS ENCONTRADOS EN EL HONGO *Pleurotus ostreatus*
CULTIVADO EN SEIS SUSTRATOS DIFERENTES.**

**ERIKA VIVIANA CABRERA HIDALGO
ÁNDRES OVIDIO VILLOTA MUÑOZ**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
SAN JUAN DE PASTO
2012**

**EVALUACIÓN COMPARATIVA DE ÁCIDOS GRASOS Y ESTEROLES
MAYORITARIOS ENCONTRADOS EN EL HONGO *Pleurotus ostreatus*
CULTIVADO EN SEIS SUSTRATOS DIFERENTES.**

**ERIKA VIVIANA CABRERA HIDALGO
ANDRÉS OVIDIO VILLOTA MUÑOZ**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Ingeniero
Agroindustrial**

**Asesora:
OLGA LUCÍA BENAVIDES CALVACHE
Ing. Química, M. Sc.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
SAN JUAN DE PASTO
2012**

NOTA DE RESPONSABILIDAD

Las ideas y conclusiones aportadas en el siguiente trabajo son responsabilidad exclusiva del autor.

Artículo 1° del Acuerdo No. 324 de Octubre 11 de 1966 emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

Firma del Director

Firma del Jurado

Firma del Jurado

San Juan de Pasto, 7 de Noviembre de 2012

DEDICATORIA

*“El reino de Dios exige duros esfuerzos y solo los que se esfuerzan lo consiguen.”
Mateo 11,12*

A Dios por ser mi constante guía.

A mis Padres Ciro Cabrera y Mónica Hidalgo por su amor, por apoyarme en todos los momentos de mi vida y enseñarme que con dedicación se puede alcanzar todo que se proponga.

A mi hermanita Sofía por estar siempre conmigo y hacerme sonreír con sus locuras.

A mis abuelitos, tías, tíos y primos por su cariño y sus consejos.

A Andrés por cuidar de una parte de mi corazón y permitirme conocer el amor verdadero.

A todos mis amigos, en especial a Johana, Malu y Caro por brindarme su amistad incondicional.

DEDICATORIA

A mis padres HERNANDO y MARTHA, quienes han sido mi ejemplo a seguir y me han enseñado que con esfuerzo, sacrificio y perseverancia se cumplen las metas.

A mi hermano DANIEL, ejemplo de paciencia, base para una vida tranquila y plena.

A mi sobrina, NATALIA, espero convertirme en tu ejemplo a seguir.

A ERIKA MI PRINCESA PRECIOSA, una mujer llena de virtudes, tu constancia y fortaleza inspira a dar lo mejor de sí. Los mejores recuerdos de esta etapa de mi vida están a tu lado TE AMO.

AGRADECIMIENTOS

A M. Sc. Olga Lucía Benavides Calvache, por sus orientación y observaciones durante el desarrollo de ésta investigación.

Al jurado David Arturo Perdomo, por su colaboración en los análisis de ácidos grasos y esteroides.

Al jurado Jesús Romo, por facilitarnos las instalaciones para el desarrollo de la parte experimental del trabajo.

A Juan Pablo, por su colaboración en el análisis de ácidos grasos.

A Hugo Gomajoa, por la ayuda prestada en Planta Piloto.

A los profesores de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial por todas sus enseñanzas.

RESUMEN

El hongo *Pleurotus ostreatus* conocido comúnmente como Orellana tiene un gran interés industrial, ya que al ser un degradador de lignocelulosa se puede utilizar para su cultivo una amplia variedad de residuos agroindustriales.

En este trabajo se cultivó el hongo *Pleurotus ostreatus* en seis sustratos diferentes, tres de ellos a base de pulpa de café, bagazo de fique y raquis de palma, los otros sustratos se prepararon con cada material lignocelulósico y fueron enriquecidos con granza de avena. Se analizaron los ácidos grasos de las setas cosechadas, mediante Cromatografía de Gases con Detector de Ionización de Llama (CG-FID) y los esteroides usando la técnica de Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas (CG-EM).

Los ácidos grasos mayoritarios presentes en las seis muestras fueron el ácido linoleico, oleico y palmítico con una concentración máxima de 76,65%, 16,26% y 14,39%, respectivamente. Al realizar el análisis estadístico se encontró una diferencia significativa en la concentración de ácidos grasos en las seis muestras, excepto en la concentración del ácido linoleico entre las muestras de pulpa de café con granza de avena y raquis de palma.

Se identificaron y cuantificaron cuatro esteroides los cuales fueron Ergosterol, Fungisterol, Ergosta 5,8-dien-3 β -ol y Ergosta 7,22-dien-3 β -ol, éste último sólo estuvo presente en las muestras de pulpa de café y pulpa de café con granza de avena. Es importante resaltar que el Ergosterol es el esteroide que se encuentra en mayor proporción en la cuantificación, ya que presentó una concentración máxima de 2,483mg/g de hongo seco en la muestra de pulpa de café con granza de avena.

ABSTRACT

The mushroom *Pleurotus ostreatus* commonly called as Orellana, has been a great industrial interest because its a degrader of lignocellulose can be used for growing a wide variety of agroindustrial waste.

In this work, the mushroom *Pleurotus ostreatus* cultivated in six different substrates, three of them from the coffee pulp, fique marc and rachis palm and other substrates were prepared with each lignocellulosic material and were enriched with pellets oats. Fatty acids of harvested mushrooms, were analyzed by Gas Chromatography with Flame Ionization Detector (GC-FID) and sterols using the technique of Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS).

The major fatty acids present in the six samples were linoleic acid, oleic and palmitic with a maximum concentration of 76,65%, 16,26% and 14,39% respectively. When performing statistical analysis found a significant difference in the concentration of fatty acids in the six samples, except linoleic acid concentration between coffee pulp with pellets oats and rachis palm samples.

Four sterols were identified and quantified which were Ergosterol, Ergost 5,8-dien-3 β -ol, fungisterol and Ergost 7.22-dien-3 β -ol, the latter was only present in the coffee pulp and coffee pulp with pellets oats samples. Importantly, the sterol Ergosterol is protruding in the quantification, since presented a maximum concentration of 2,483 mg / g of dried mushroom in the coffee pulp with pellets oats sample.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	16
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
2. JUSTIFICACIÓN	20
3. OBJETIVOS	22
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	22
4. MARCO TEÓRICO	23
4.1 MARCO CONCEPTUAL	23
4.1.1 Generalidades.....	23
4.1.2 El hongo Pleurotus ostreatus:	24
4.1.2.1 Descripción:	24
4.1.3 Cultivo de Pleurotus ostreatus en Colombia.	25
4.1.4 Ácidos grasos.	26
4.1.5 Esteroles	27
4.1.6 Figue	28
4.1.7 Café.	29
4.1.8 Palma africana.	30
4.1.9 Técnicas para aislamiento y análisis.....	31
4.1.9.1 Cromatografía.	31
4.1.9.2 Cromatografía en Capa Delgada.	31
4.1.9.3 Cromatografía de Gases.....	32
4.1.9.4 Cromatografía de Gases Acoplado a Espectrometría de Masas.	32
4.2 MARCO REFERENCIAL.....	32
5. DISEÑO METODOLÓGICO.....	36
5.1 PRODUCCIÓN DE LAS MUESTRAS	36
5.1.1 Preparación de sustratos.	36
5.1.2 Cosecha.	39
5.1.3 Pretratamiento de las muestras.	40

5.2	ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS Y ESTEROLES	41
5.2.1	Extracción de ácidos grasos.	41
5.2.2	Determinación de ácidos grasos:	42
5.2.2.1	Análisis de los ácidos grasos por cromatografía de gases GC-FID	42
5.2.3	Extracción de esterole.	43
5.2.4	Determinación de esterole:	44
5.2.4.1	Identificación de esterole mayoritarios por Cromatografía de Gases - FID.	44
5.2.4.2	Estudio estructural de esterole por Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de masas CG-EM.	45
6.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	46
7.	RESULTADOS Y ANÁLISIS	48
7.1	COSECHA	48
7.2	EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS Y ESTEROLE.....	49
7.3	ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES CG-FID.....	49
7.3.1	Identificación y cuantificación de ácidos grasos mayoritarios..	49
7.3.2	Análisis estadístico de los ácidos grasos mayoritarios.....	51
7.4	ANÁLISIS DE ESTEROLE Y TRITERPENOS MAYORITARIOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES CG-FID Y CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS.	54
7.4.1	Identificación y cuantificación de esterole y triterpenos mayoritarios ..	54
7.4.2.	Esterole y triterpenos	58
7.4.3	Análisis estadístico de los esterole mayoritarios y triterpenos	60
	CONCLUSIONES	66
	RECOMENDACIONES.....	67
	BIBLIOGRAFÍA.....	68
	ANEXOS	74

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Ácidos Grasos Saturados e Insaturados.....	27
Cuadro 2. Composición química de bagazo de fique	29
Cuadro 3. Composición química de pulpa de café fresca	30
Cuadro 4. Macronutrientes del raquis expresado en porcentaje de materia seca	30
Cuadro 5. Sustratos empleados para el cultivo	38
Cuadro 6. Condiciones de análisis para ácidos grasos por CG-FID.....	43
Cuadro 7. Condiciones de análisis para esteroides por CG-FID	44
Cuadro 8. Condiciones de análisis para esteroides por CG-EM.....	45
Cuadro 9. Tratamientos utilizados en el cultivo de los hongos	46
Cuadro 10. Matriz del diseño experimental	47
Cuadro 11. Humedad y cantidad de hongo fresco, seco y molido.....	48
Cuadro 12. Extractos crudos de la fracción lipídica.....	49
Cuadro 13. Identificación y cuantificación de ácidos grasos mayoritarios en las seis muestras	51
Cuadro 14. Análisis de Varianza para el ácido palmítico.....	52
Cuadro 15. Análisis de Varianza para el ácido oleico.....	52
Cuadro 16. Análisis de Varianza para el ácido linoleico	52
Cuadro 17. Prueba de Múltiple Rangos para el ácido palmítico	53
Cuadro 18. Prueba de Múltiple Rangos para el ácido oleico	53
Cuadro 19. Prueba de Múltiple Rangos para el ácido linoleico	53
Cuadro 20. Esteroides mayoritarios y triterpenos presentes en las seis muestras..	55
Cuadro 21. Cuantificación de esteroides y triterpenos en las seis muestras.....	57
Cuadro 22. Análisis de varianza del Ergosterol	60
Cuadro 23. Prueba de Múltiple Rangos del Ergosterol.....	61
Cuadro 24. Análisis de varianza del Ergosta 5,8-dien-3 β -ol.....	61
Cuadro 25. Prueba de Múltiple Rangos del Ergosta 5,8-dien-3 β -ol.....	62
Cuadro 26. Análisis de varianza del Fungisterol.....	62
Cuadro 27. Prueba de Múltiple Rangos del Fungisterol	63

Cuadro 28. Análisis de varianza del Ergosta-2,5,7,9(11),22-pentaeno63

Cuadro 29. Prueba de Múltiple Rangos Ergosta-2,5,7,9(11),22-pentaeno64

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura básica para esteroides.....	28
Figura 2. Sustratos sin tratamientos	36
Figura 3. Sustratos acondicionados.....	37
Figura 4. Procedimiento realizado para el cultivo del hongo.....	38
Figura 5. Hongo fresco y cosecha	39
Figura 6. Hongos cosechados de los seis tratamientos.....	40
Figura 7. Pretratamiento de las seis muestras.....	41
Figura 8. Extracto orgánico de las muestras.....	42
Figura 9. Placas reveladas de esteroides 1 ^a , 2 ^a y 3 ^a extracción	44
Figura 10. Espectro de masas de Ergosterol	58
Figura 11. Espectro de masas de Ergosta 7,22-dien-3 β -ol.....	59
Figura 12. Espectro de masas de Ergosta 5,8-dien-3 β -ol.....	59
Figura 13. Espectro de masas de Fungisterol.....	59
Figura 14. Espectro de masas de Ergosta-2,5,7,9(11),22-pentaeno	60
Figura 15. Espectro de masas de Cafeína.....	60

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Perfil cromatográfico del extracto derivatizado – muestra Pulpa de café.....	75
Anexo B. Perfil cromatográfico del extracto derivatizado - muestra Pulpa de café con granza de avena.....	76
Anexo C. Perfil cromatográfico del extracto derivatizado - muestra Bagazo de fique.....	76
Anexo D. Perfil cromatográfico del extracto derivatizado - muestra Bagazo de fique con granza de avena.....	77
Anexo E. Perfil cromatográfico del extracto derivatizado - muestra Raquis de palma.....	77
Anexo F. Perfil cromatográfico del extracto derivatizado - muestra Raquis de palma con granza de avena.....	78
Anexo G. Perfil cromatográfico de esteroides - muestra Pulpa de café.....	78
Anexo H. Perfil cromatográfico de esteroides – muestra Pulpa de café con granza de avena	79
Anexo I. Perfil cromatográfico esteroides - muestra Bagazo de fique.....	80
Anexo J. Perfil cromatográfico esteroides – muestra Bagazo de fique con granza de avena	81
Anexo K. Perfil cromatográfico esteroides - muestra Raquis de palma.....	81
Anexo L. Perfil cromatográfico esteroides – muestra Raquis de palma con granza de avena	82
Anexo M. Determinación de la concentración de esteroides	83

INTRODUCCIÓN

En varios países del mundo, hasta la mitad del siglo XX se consumía solamente champiñones importados, por un grupo de personas selectas, y no con mucha frecuencia, ya que era demasiado costoso poder producir este alimento, además de existir una serie de mitos y miedos acerca del consumo de éstos. Es por esto que a partir de la década de los años cincuenta países como Brasil y Colombia empiezan a realizar investigaciones acerca del cultivo de hongos comestibles, obteniendo resultados positivos, ya que éstos se podían cultivar en diferentes residuos industriales¹.

Desde ese entonces se han llevado a cabo una serie de estudios en donde se ha encontrado que el cultivo y consumo de hongos comestibles no sólo genera desarrollo económico, sino también beneficios para el consumidor y el medio ambiente. Se ha demostrado que las setas producen cantidades relativamente grandes de proteínas de alta calidad, que si bien no se igualan con la proteína animal, su producción es más eficiente debido a que puede ser producida directamente desde materiales de desechos lignocelulósicos como paja, aserrín, bagazo, residuos de café, cáscara de semilla de algodón, entre otros, mientras que los animales deben ser alimentados con grandes cantidades de forraje por largos periodos de tiempo².

2A nivel alimenticio, los hongos comestibles poseen el doble del contenido de proteínas que los vegetales y disponen de aminoácidos esenciales. Así mismo poseen alta cantidad de minerales como fósforo y magnesio, bajo contenido de calorías y carbohidratos. También se caracterizan por tener propiedades medicinales como producir retardo en el crecimiento de tumores, disminuir niveles de colesterol en la sangre debido a su contenido de ácidos grasos insaturados y poseer sustancias antioxidantes³. “Además se ha encontrado que compuestos químicos como los esteroides son de gran importancia debido a que actúan como provitaminas o sustancias de relevancia farmacológica”⁴.

Los hongos comestibles presentan diversidad en actividad biológica debido a la fracción lipídica, de la cual hacen parte los ácidos grasos considerados como reguladores del metabolismo lipídico; los triterpenos que son reductores de la arterioesclerosis; cetosteroides poseedores de actividad antioxidante y antiinflamatoria; esteroides, lactonas y ácidos esteroidales con marcada

¹ ESCOBAR ROLDÁN, Jorge Iván. Producción de hongos comestibles para exportación a partir de los desechos de la mata de café como medio de aprovechamiento de los recursos naturales. Trabajo de grado Licenciado en Administración de Empresas con especialidad en Negocios Internacionales. Guatemala: Universidad del Istmo. Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales, 2006. 7 p.

² NIETO, Ivonne y CHEGWIN, Carolina. Influencia del sustrato utilizado para el crecimiento de hongos comestibles sobre sus características nutraceuticas. En: Revista Colombiana Biotecnol. 2010. vol.12, no.1. p. 169-178.

³ ROMERO, M. *Pleurotus ostreatus*: Grandes perspectivas para la alimentación animal y humana. Cienfuegos: MINAZ. 1990.

⁴ RIVERA, Augusto; NIETO, Ivonne; VALENCIA, Meiser. Composición y cuantificación por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de la fracción esterólica de once hongos colombianos. En: Revista Colombiana de Química. 2002. vol. 31, no.2. p. 95-102.

propiedad anticancerígena y ácidos sesquiterpénicos insaturados y esteroides característicos por su actividad antibacteriana⁵.

Uno de los hongos comestibles que más se ha estudiado y cultivado en Colombia durante los últimos años es *Pleurotus ostreatus* u Orellana debido a la facilidad de cultivo, a su gran potencial económico y calidad nutricional. “Este hongo se desarrolla en la naturaleza preferiblemente sobre residuos de material leñoso o rico en fibra como troncos, ramas y bagazos. Para su cultivo se pueden utilizar otro tipo de materiales que contengan una composición similar a los residuos que utiliza para crecer en su medio ambiente”⁶.

En este trabajo se realizó la identificación y cuantificación de los ácidos grasos y esteroides mayoritarios presentes en el hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado sobre sustratos de pulpa de café, bagazo de fique y raquis de palma de aceite. Con el fin de aprovechar las oportunidades que brinda el cultivo de hongos comestibles en los diferentes residuos que se generan en las cadenas productivas del departamento de Nariño, al igual que aportar en el conocimiento científico con respecto al contenido de productos naturales bioactivos del hongo *Pleurotus ostreatus*.

⁵ NIETO, Ivonne y CHEGWIN, Carolina. Op. cit., p. 169-178.

⁶ HERNÁNDEZ, Ricardo y LÓPEZ, Claudia. Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. Trabajo de grado Microbiólogo Industrial. Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias, 2008. p. 15.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

“En Colombia la industria cafetera genera una gran cantidad de desechos, entre éstos, uno de los de mayor importancia es la pulpa de café con un 40% en peso y 56% del volumen total de la cereza de café”⁷. En las zonas rurales el aprovechamiento de este subproducto es inadecuado, utilizándolo como abono sin previo tratamiento o se desecha en zonas donde puede contaminar fuentes hídricas y en ocasiones convertirse en un foco de plagas y malos olores.

“El fique ha sido un cultivo tradicional en los departamentos andinos, en donde se utiliza como materia prima para elaborar artículos artesanales. Esta actividad económica se concentró principalmente en las zonas rurales y pequeños municipios de Nariño”⁸.

Uno de los residuos de la cadena del fique es el bagazo, el cual se puede aprovechar como abono orgánico o para el cultivo de hongos comestibles donde no es necesario de equipos especiales, sino de un conocimiento adecuado sobre el tema y una infraestructura básica, lo que puede generar que pequeños productores puedan darle un mayor valor agregado a este subproducto.

“En el proceso de extracción de aceite crudo de palma se generan residuos como el raquis, éste se incinera para reducir el volumen y es devuelto al cultivo como fuente de potasio”⁹. “Sin embargo, durante la incineración se pierde toda la materia orgánica, todo el nitrógeno y parte de los nutrientes que las palmas pudieran aprovechar”¹⁰. “Este residuo se puede utilizar como abono pero requiere un procesamiento previo que representa inversión, trabajo y costo de operación lo que genera sobrecostos en el proceso”¹¹.

Como se mencionó anteriormente en la explotación de los subsectores de café, fique y palma de aceite en la mayoría de casos se genera una cantidad superior de residuos respecto al producto/beneficio obtenido. Aunque se han realizado investigaciones buscando un aprovechamiento a estos residuos no se ha encontrado que esto haya tenido un impacto en los sectores en cuestión, ya que

⁷ TOLEDO GIRÓN, Cintya Lizbeth. Proyecto de beneficiado ecológico de café en aldea plan de sánchez, rabinal, salamá, baja verapaz. Trabajo de grado Ingeniera Industrial. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ingeniería, 2003. 66 p.

⁸ VILORA DE LA HOZ, Joaquín. Economía del departamento de nariño: ruralidad y aislamiento geográfico. Banco de la República, 2007. 50 p.

⁹ ÁVILA, Jenner y CASTILLO, Emilse. Estudio de factibilidad para el montaje de una cooperativa para la producción de jabón en barra para lavar y jabón líquido industrial a partir de aceite ácido de palma africana (*Elaeis guineensis Jacq*). En la empresa Astorga S.A., Tumaco-Nariño-Colombia. Trabajo de grado Ingeniero Agroindustrial. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de Ingeniería Agroindustrial, 2005. 43 p.

¹⁰ CASTILLO, Edwin y FLOREZ, José. Estudio de factibilidad para la producción de carbón activado, a partir de la cascarilla de la palma africana (*Elaeis guineen*) en el municipio de San Andrés de Tumaco Nariño-Colombia. Trabajo de grado Ingeniero Agroindustrial. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de Ingeniería Agroindustrial, 2003. 20 p.

¹¹ MORA, Álvaro y GOMEZ, Álvaro. Impacto ambiental en el establecimiento de palma africana en selva, costa pacífica, Tumaco. Tesis de grado Especialista en Ecología. Pasto: Universidad de Nariño. Departamento de Biología, 1989. 41 p.

muchas de éstas, se enfocan en la elaboración de productos que implican costos considerables con respecto a las posibilidades de los productores. En otros casos se han buscado alternativas más viables como la elaboración de abonos, pero la mayor parte sólo se destinan a los cultivos propios y no se busca una comercialización lo que hace que no se genere un valor agregado a estos subproductos.

Como se ha demostrado en algunas investigaciones el cultivo del *Pleurotus ostreatus*, no necesita de una gran infraestructura y no tiene una exigencia nutricional alta con respecto a los sustratos utilizados a diferencia de otros hongos comestibles como el champiñón, lo que reduce los costos de producción haciendo más factible el cultivo de forma artesanal aumentando los ingresos de los productores.

Se ha indicado que en el caso del *Pleurotus spp.* la composición nutricional depende de las características del sustrato utilizado. Sin embargo, no se conoce información detallada acerca de los ácidos grasos y esteroides producidos por el hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado sobre residuos preparados con bagazo de fique, pulpa de café y raquis de palma de aceite.

Debido a lo anterior, surge la pregunta de investigación:

¿Teniendo en cuenta los sustratos utilizados a base de pulpa de café, bagazo de fique y raquis de palma de aceite, qué efecto tienen éstos en la producción de ácidos grasos y esteroides en el hongo *Pleurotus ostreatus*?

2. JUSTIFICACIÓN

Siendo Colombia un país en el cual la actividad agraria es generadora de cantidades apreciables de desechos que dan lugar a un problema ambiental, el cultivo de los hongos presenta un potencial en aplicaciones biotecnológicas que derivan de la diversidad metabólica de los mismos. Dicho potencial está tanto en la producción de los hongos como alimentos con óptimas calidades nutricionales, como en la obtención a partir de las setas de productos bioactivos que permitirían en un futuro no muy lejano contribuir a la economía del país y a la descontaminación ambiental¹².

“A pesar de que el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural no tiene registros de producción de hongos comestibles, en algunos municipios se han llevado a cabo proyectos de producción para aprovechar los desechos de cultivos tecnificados”¹³, como el mucílago del café, la cascarilla de arroz y el bagazo de la caña de azúcar, debido al alto potencial del hongo como transformador de residuos orgánicos, además de sus potencialidades de mercado, tanto nutricionales como farmacológicas”¹⁴. “Cabe resaltar que las técnicas de cultivo en Colombia son poco desarrolladas y tecnificadas, por lo cual el cultivo de hongos actualmente es considerado un cultivo artesanal asequible a pequeños agricultores a partir de cualquier residuo agroindustrial que se pueda utilizar como sustrato para el crecimiento de los hongos comestibles”¹⁵.

“Por otra parte si se analiza los residuos que se producen en las diferentes agroindustrias, se encuentra, que en la industria del fique se utiliza solamente el 2% de la biomasa producida, en la de aceite de palma menos del 9% de biomasa producida y en la del café solamente el 9,5% del peso del fruto fresco, residuos que podrían ser utilizados para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*”¹⁶.

Teniendo en cuenta lo anterior, es importante llevar a cabo la presente investigación, debido a que en estudios realizados se han encontrado diferencias entre los ácidos grasos y esteroides producidos en varios tipos de especies de *Pleurotus*, sin embargo no se ha evaluado la incidencia que pueden llegar a tener sustratos como bagazo de fique, pulpa de café y raquis de palma de aceite sobre la producción de los ácidos grasos y esteroides en los cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus*. Cabe resaltar que se empleó en los sustratos granza de

¹² NIETO, Ivonne y CHEGWIN, Carolina. Op. cit., p. 169-178.

¹³ RODRÍGUEZ, N. y JARAMILLO, C. Cultivo de hongos comestibles del género *Pleurotus* sobre residuos agrícolas de la zona cafetera. En: Cenicafé, Boletín técnico No. 27. 2005. 56 p.

¹⁴ RUIZ, Marilza Piedad. Aplicación de la ingeniería de matrices en el desarrollo de hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus*) mínimamente procesados, fortificados con vitaminas c, e y minerales calcio y zinc. Trabajo de grado Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Medellín: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2009. 19 - 22 p.

¹⁵ HERNÁNDEZ, Ricardo y LÓPEZ, Claudia. Op.cit., p. 45.

¹⁶ Seminario Internacional Gestión Integral de Residuos Sólidos y Peligrosos. (Noviembre, 1999: Medellín, Colombia). Manejo de los residuos en la agroindustria cafetera. Medellín: Cenicafé, 1999. 10 p.

avena, con el fin de observar si contribuye o no en la presencia de estos componentes químicos.

De igual forma, al aumentar el conocimiento de la composición química diferencial de los ácidos grasos y esteroides presentes en el hongo *Pleurotus ostreatus*, podría fomentar el uso de los residuos de las industrias de café, fique y palma de aceite para el cultivo de éste, disminuyendo los niveles de contaminación e incrementando la producción de hongos comestibles y medicinales.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar comparativamente los ácidos grasos y esteroides mayoritarios encontrados en el hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en seis sustratos diferentes.

3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Extraer y purificar las fracciones de ácidos grasos y esteroides de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* cultivado en seis sustratos diferentes.
- Identificar y cuantificar los ácidos grasos y esteroides mayoritarios presentes en *Pleurotus ostreatus*, mediante Cromatografía de Gases con Detector de Ionización de Llama y Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas.
- Analizar estadísticamente la relación entre los ácidos grasos y esteroides presentes en el hongo *Pleurotus ostreatus* y los seis sustratos.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 MARCO CONCEPTUAL

4.1.1 Generalidades. “La industria en Colombia ha venido creciendo para satisfacer un mercado más exigente y con mayor demanda, esto a su vez ha generado una mayor cantidad de desechos que se arrojan al medio ambiente en la mayoría de casos sin tratamiento previo. Estos desechos aun contienen nutrientes, que son utilizados por animales, vegetales y microorganismos en proporción autodeterminada; sin embargo, al excederse esta proporción se origina un desequilibrio en los factores ecológicos y contaminación del ambiente”¹⁷.

Debido al problema mundial de la contaminación, muchas personas han realizando investigaciones buscando un aprovechamiento para los residuos orgánicos, siendo los hongos uno de los organismos utilizados para su degradación.

Los hongos son organismos que poseen un cuerpo "vegetativo" distintivo llamado micelio, conformado por un conjunto de finos filamentos denominadas hifas, que constituyen la unidad estructural. El micelio debe tener a su disposición la fuente de carbono que constituye la base nutricional. Todos los hongos necesitan este tipo de fuente, dado que están desprovistos de clorofila, y no pueden realizar la fotosíntesis. Por ese motivo pueden vivir y prosperar sobre materia orgánica muerta, esto es, extraer su fuente de carbono y demás nutrientes, por ejemplo, del aserrín y la paja, entre otros¹⁸.

“Los hongos actualmente son de interés por sus atributos nutricionales, medicinales y por su alto potencial en su contenido de sustancias bioactivas con diversos usos industriales, tales como materiales para la elaboración de medicamentos, detergentes, curtiembres, en la industria alimentaria y como actores en procesos de biorremediación”¹⁹. “Las setas también han sido reportadas como alimentos terapéuticos, útiles en la prevención de enfermedades como hipertensión, hipercolesterolemia, aterosclerosis y el cáncer”²⁰.

Las especies de *Pleurotus* están entre los agentes de descomposición primaria más efectivos, los cuales tienen la habilidad de colonizar el rastrojo, degradarlo y utilizar la lignina, además de la hemicelulosa y la celulosa. Estos hongos son

¹⁷ HERNÁNDEZ, Ma. Elena y BAUTISTA, Mayela. Valor nutritivo de setas (*Pleurotus ostreatus*), cultivadas en paja de trigo y bagazo de agave (*Agave Tequilana* Weber, var. azul) enriquecido con col. 2006. 1 p.

¹⁸ RODRIGUEZ, Gustavo. Cultivo de hongos comestibles, En: Universidad Nacional del Comahue. 2007. no. 52, p. 10- 15.

¹⁹ MONTOYA, Sandra y RESTREPO, Gloria. Evaluación de la síntesis de proteína a partir del crecimiento vegetativo de *Pleurotus* sp. sobre residuos de algarrobo y uva pasa. En: Universidad de Caldas. 2006. p. 23 – 31.

²⁰ YILMAZ, Necmettin; SOLMAZ, Mehtap; TURKEKUL, Ibrahim; ELMASTAS, Mahfuz. Fatty acid composition in some wild edible mushrooms growing in the middle black sea region of turkey. En: food chemistry, 2006. no. 99. p. 168–174.

considerados como descomponedores primarios porque son capaces de utilizar los desechos de las plantas en su forma original sin que hayan sido sujetos previamente a algún proceso de degradación bioquímica o microbiológica²¹. Este género es el segundo más importante cultivado a nivel mundial²².

4.1.2 El hongo *Pleurotus ostreatus*:

Según Cardona²³, la clasificación taxonómica del hongo es:

Reino: Fungi
Subreino: Fungi superior
Division: Basidiomycota
Subdivisión: Basidiomycotina
Clase: Himenomycetes
Orden: Agaricales
Familia: Tricholomataceae
Género: *Pleurotus*
Especie: *Ostreatus*
Nombre común: Orellana
Nombre científico: *Pleurotus ostreatus*

4.1.2.1 Descripción:

Pleurotus: es el género de un hongo saprofítico o parásito débil, descomponedor de madera; crece abundantemente sobre aliso, balso y arce, principalmente en los valles de los ríos. “La palabra *Pleurotus* viene del griego “pleuro”, que significa formado lateralmente o en posición lateral, refiriéndose a la posición del estípite respecto al píleo; *ostreatus* en latín quiere decir en forma de ostra y en este caso se refiere a la apariencia y al color del cuerpo fructífero”²⁴.

Pleurotus ostreatus: “es un típico hongo agarical; a menudo se encuentra recubierto de una capa miceliar en la base y presenta carne delgada y blanca; al principio el píleo tiene forma de lengua y cuando madura adquiere forma de concha; las láminas son blancas o de color crema, en las cuales se disponen los basidios no tabicados con cuatro basidiosporas blanquecinas elípticas”²⁵.

²¹ FORERO, Clara; HOYOS, Olga y BAZANTE, William. Evaluación de residuos de ají (*capsicum* spp.) como sustrato en la producción de setas comestibles (*Pleurotus ostreatus*). En: Facultad de Ciencias Agropecuarias. 2008. vol 6, no. 1. 42-53 p.

²² MARTÍNEZ CARRERA, D. Oyster mushrooms. New York: McGraw Inc., 1999. 242-245 p.

²³ CARDONA URREA, Luis Fernando. Anotaciones acerca de la bromatología y el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* En: Crónica forestal y del medio ambiente. 2001. no. 16. p. 99-119.

²⁴ CARDONA URREA, Luis Fernando. Op. cit., p. 99-119.

²⁵ Ibid., p. 99-119.

El píleo donde se encuentran ubicadas las laminillas o lamelas, como también se les llama, es excéntrico cuando crece sobre las superficies verticales y es central cuando crece en camas de superficie lisa y brillante, un poco viscosa en tiempo húmedo; el estípite es corto y excéntrico; las lamelas son blancas, espaciadas ampliamente; las esporas en masa son de un color parecido al crema o de color gris o blanco. Es común que ésta tenga de 4 a 13 cm de diámetro, aunque algunas veces puede presentar tamaños mayores de acuerdo a las condiciones de fructificación; la superficie superior presenta color variable según la intensidad de la luz, con tonos entre blanco, gris o azul, según sea la iluminación o porcentaje de luz que éste posea; su margen es suave, delgada, de forma ondulatoria y eventualmente enrollada. Presenta pie corto de dos a tres centímetros de longitud por uno a dos centímetros de grueso y fibras de color crema claro²⁶.

Contenido Nutricional: “Su contenido en aminoácidos esenciales, vitaminas, fibras y minerales, así como su bajo contenido en grasas ubican a las orellanas en un lugar importante en la dieta, por arriba de la mayoría de vegetales, frutas y verduras que se consumen”²⁷.

“Su contenido proteico es de un 10,5 a un 30,5% de su peso seco y se considera de alta calidad debido a que se dispone de nueve aminoácidos esenciales, contando además con leucina y lisina que son ausentes en la mayoría de cereales”²⁸.

Por otra parte, son una fuente significativa de vitaminas como la tiamina (4,8mg), riboflavina (4,7mg), niacina (108,7mg) y de ácido ascórbico (144mg) por cada 100g de sustancia seca. Además posee minerales como el calcio (33mg), hierro (15mg), fósforo (1,384mg) y sodio (837mg). “También es importante mencionar que la mayor parte de la grasa con un 56% corresponde a un ácido graso insaturado, el ácido oleico y el resto principalmente al ácido palmítico con un 16% y al ácido esteárico con un 24%”²⁹.

4.1.3 Cultivo de *Pleurotus ostreatus* en Colombia. El cultivo de *Pleurotus ostreatus* fue iniciado en Colombia hacia 1990 en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Antioquia. En la última década del siglo XX se iniciaron pequeños cultivos de *Pleurotus* en Antioquia, Caldas y Cundinamarca.³⁰

Las especies del género *Pleurotus*, cuya producción y consumo están en aumento en Colombia, pueden utilizar como sustrato para su cultivo una mayor variedad de

²⁶ ESCOBAR ROLDÁN, Jorge Iván. Op. cit., p. 26-27.

²⁷ AGUILAR GAITÁN, Martha Eugenia. Aprovechamiento de cascaras de pitaya para el crecimiento de setas (*Pleurotus ostreatus*) en condiciones de laboratorio. Trabajo de grado Ingeniera de Alimentos. Oaxaca: Universidad tecnológica de la Mixteca. Facultad de Ingeniería, 2003. 20 p.

²⁸ Ibid., p. 20.

²⁹ Ibid., p. 21.

³⁰ CARDONA URREA, Luis Fernando. Op. cit., p. 99-119.

materiales que otros hongos, debido a su rápido crecimiento micelial, “a las demandas nutricionales simples necesarias para su desarrollo, que deben ser proporcionadas por el sustrato, y a su sistema de enzimas multilaterales, que le permiten biodegradar casi todos los tipos de residuos disponibles”.³¹

“En Colombia el hongo comestible *Pleurotus ostreatus*, se ha cultivado sobre diferentes desechos agrícolas entre los cuales están bagazo de caña de azúcar, tallo de maíz, y aserrín”³². “De igual forma, en Cundinamarca se realizó una evaluación del cultivo de este hongo en residuos de capacho de uchuva, cáscara de arveja y tuza de mazorca, con el fin de determinar qué residuo era el más adecuado para el crecimiento y la producción de alta calidad”³³.

4.1.4 Ácidos grasos. Los ácidos grasos son ácidos carboxílicos de cadena alifática larga. De los lípidos de animales, vegetales y microorganismos se han aislado más de cien ácidos grasos diferentes. Existen dos clasificaciones de ácidos grasos, saturados e insaturados³⁴. Los ácidos grasos saturados tienen una longitud de cadena desde 4 carbonos de ácido butírico a los 35 de ácido ceroplástico. Los ácidos grasos saturados más comunes son el mirístico, palmítico y esteárico. Dada su estructura los ácidos grasos saturados son sustancias extremadamente estables desde el punto de vista químico. Mientras que los ácidos grasos insaturados tienen en la cadena dobles enlaces, en un número que va de 1 a 6.

“Los que tienen una sola insaturación se llama monoinsaturados, quedando para el resto el término de poliinsaturados”³⁵. “Entre los ácidos grasos poliinsaturados se encuentra el ácido linoleico y el ácido linolénico los cuales se denominan ácidos grasos esenciales y los mamíferos deben obtenerlos de fuentes vegetales”³⁶. “Se han encontrado cantidades significativas iguales a 46,6% y 20,8% de ácido linoleico y ácido oleico en el hongo *Pleurotus ostreatus*”³⁷.

En la siguiente Cuadro se especifican algunos de los ácidos grasos saturados e insaturados más importantes.

³¹ NIETO, Ivonne y CHEGWIN, Carolina. Op. cit., p. 169-178.

³² GARZÓN, Juan Pablo y CUERVO, Jairo Leonardo. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. En: NOVA - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. 2008. vol. 6. no. 10. p. 126-140.

³³ HERNÁNDEZ, Ricardo y LÓPEZ, Claudia. Op.cit., p. 14.

³⁴ LUQUE, J. Ernesto. Bioquímica descriptiva. 1 ed. Pasto: CEPUN, 1995. 152 p.

³⁵ CALVO, Miguel. Bioquímica de los alimentos. Zaragoza: Universidad de Zaragoza, 1992.

³⁶ LUQUE, J. Ernesto. Op. cit., p. 153 – 154.

³⁷ YILMAZ, Necmettin; SOLMAZ, Mehtap; TURKEKUL, Ibrahim; ELMASTAS, Mahfuz. Op. cit., p. 168–174.

Cuadro 1. Ácidos Grasos Saturados e Insaturados

Nombre	Estructura	Símbolo
Ácidos grasos Saturados		
Butírico	$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	4:0
Caprílico	$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	8:0
Laúrico	$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	12:0
Palmítico	$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	16:0
Estearico	$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	18:0
Ácidos grasos Insaturados		
Palmitoleico	$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	16:1(9c)
Oleico	$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	18:1(9c)
Linoleico	$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	18:2(9c,12c)
Linolénico	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2-\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	18:3(9c,12c,15c)
Araquidónico	$\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3-\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	20:4(5c,8c,11c,14c)

Fuente: LUQUE, J. Ernesto. Bioquímica descriptiva.

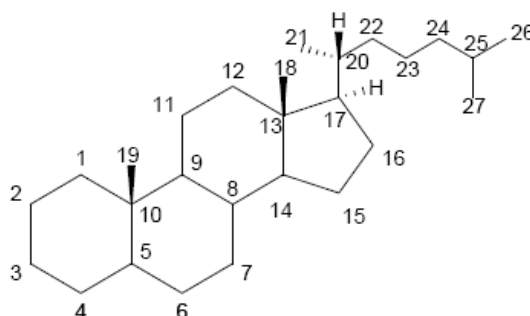
4.1.5 Esteroles. “Otro componente importante en los hongos son los esteroides, los cuales son derivados isoprenoides cíclicos formados por 17 carbonos dispuestos en tres anillos hexagonales y uno pentagonal, cuya estructura básica o núcleo del esterano forma el esqueleto de importantes sustancias biológicas entre las que se encuentran: colesterol, ácidos biliares y sus sales y hormonas esteroideas. Para los esteroides y sus derivados, la estructura básica es del tipo colastano como se muestra en la figura 1³⁸, las diferencias se deben a los distintos grupos sustituyentes que se producen fundamentalmente en los carbonos 3, 11 y 17³⁹. El colesterol aparece sólo muy raramente en las plantas superiores las cuales contienen otros tipos de esteroides conocidos como fitoesteroides. Los hongos y las levaduras contienen otro tipo de esteroides, los micosteroides; figura entre ellos el Ergosterol que se convierte en vitamina D por irradiación de la luz solar”⁴⁰.

³⁸ MAKIN, H y GOWER, D. Steroid Analysis. 2 ed. New York: Springer, 2010. 1-2 p.

³⁹ TEIJÓN RIVERA, José María y GARRIDO PERTIERRA, Amando. Fundamentos de la bioquímica estructural. 2 ed. Madrid: Tebár, S.L., 2006. 385 p.

⁴⁰ LUQUE, J. Ernesto. Op. Cit., p. 167.

Figura 1. Estructura básica para esteroides.



Fuente: MAKIN, H y GOWER, D. Steroid Analysis.

4.1.6 Fique. “En Colombia se ha cultivado desde el siglo XVIII. Conocida hoy como la fibra natural nacional por excelencia, la cabuya es destinada a la industria de empaques, hilanderías, artesanía y recientemente a una diversidad de aplicaciones como producción de lombricompuesto y hongos comestibles a partir del bagazo sobrante. Esta producción se concentra principalmente en cinco departamentos Cauca, Nariño, Santander, Antioquia y Boyacá⁴¹. Gran parte del fique de Nariño pertenece a la especie *Furcraea andina*”⁴².

“Los subproductos del desfibrado del fique representan el 96% de la producción total expresado en el bagazo y jugo”⁴³.

“Está conformado por un 30% de fibrillas y un 70% de pulpa vegetal. Las fibrillas, conocidas como estopa, pueden extraerse por tratamientos fisicoquímicos del residuo para ser utilizados en la fabricación de pulpa para papel, mientras que el producto restante, conocido como bagazo, se utiliza como fertilizante orgánico en los mismos cultivos”⁴⁴.

En la siguiente Cuadro se presenta la composición química del bagazo de fique⁴⁵.

⁴¹ MORENO, José. Aprovechamiento ecológico del bagazo de fique como sustrato en la producción y comercialización de dos especies de orellanas comestibles: *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus djamor*. Río Negro, Antioquia: Universidad Católica de Oriente. 1996. 52 p.

⁴² PÉREZ, Jorge. El fique su taxonomía, cultivo y tecnología. 2 ed. Medellín: Colina.1974. 19 p.

⁴³ MORENO, José. Op. cit., p. 52.

⁴⁴ COLOMBIA. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. Guía ambiental del subsector Fiquero. 2006.

⁴⁵ ARROYAVE, Paola y VELÁSQUEZ, David. Aprovechamiento integral de *Furcraea macrophylla* Backer. Medellín: Universidad EAFIT. Departamento de Ingeniería de Procesos, 2001. 250 p.

Cuadro 2. Composición química de bagazo de fique

Compuesto	Cantidad (%)
Elementos nitrogenados	71,29
Cenizas	12,2
Proteína	9,84
Extracto etéreo	3,64
Calcio	2,74
Magnesio	0,2
Fósforo	0,09

Fuente: ARROYAVE, Paola y VELÁSQUEZ, David. Aprovechamiento integral de *Furcraea macrophylla* Backer.

4.1.7 Café. “En el proceso de cultivo e industrialización del café, solamente se aprovecha el 5% del peso del fruto fresco en la preparación de la bebida, el 95% restante está representado por residuos. Los principales subproductos que se generan en el proceso de beneficio e industrialización del fruto de café y en los procesos de renovación del cultivo son: la pulpa, el mucílago, el cisco, las pasillas, la borra y los tallos de café”⁴⁶.

”La pulpa del café fermentada y secada parcialmente puede ser usada como sustrato para el cultivo de setas. De interés especial es la mezcla de cáscara y pulpa semi-seca para el cultivo rápido de *Shiitake*, *Linchi* y otras setas que habitualmente tardan muchos meses en crecer en leños de roble. Más rápida aún es la producción de *Pleurotus* o setas ostra que habitualmente crecen en árboles en descomposición en los matorrales”⁴⁷. La composición química de la pulpa de café⁴⁸ se presenta en la Cuadro 3.

⁴⁶ CENICAFÉ. Manejo de subproductos. 2011. (En línea). Disponible en: http://www.cenicafe.org/es/index.php/cultivemos_cafe/manejo_de_subproductos/

⁴⁷ RATHINAVELU, Rajkumar y GRAZIO, Giorgio. Posibles usos alternativos de los residuos y subproductos del café. 2005. Disponible en: <http://infocafes.com/descargas/biblioteca/112.pdf>

⁴⁸ BRAHAM, J. Edgar y BRESSANI, Ricardo. Pulpa de café: Composición, tecnología y utilización. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, 1978. 21 p.

Cuadro 3. Composición química de pulpa de café fresca

Compuesto	Cantidad (%)
Humedad	76,7
Materia seca	23,3
Extracto etéreo	0,48
Fibra cruda	3,4
Proteína	2,1
Cenizas	1,5
Extracto libre de nitrógeno	15,8

Fuente: BRAHAM, J. Edgar y BRESSANI, Ricardo. Pulpa de café: Composición, tecnología y utilización.

4.1.8 Palma africana. "Los subproductos orgánicos de la palma africana (*Elaeis guineensis*) son numerosos, entre los cuales se destacan el raquis, cuesco y la fibra. El raquis se puede utilizar para la producción de papel, pero el contenido alto de lignina y cenizas, así como colorantes pueden dificultar el proceso de transformación"⁴⁹. Éste tiene un porcentaje de materia seca del 35%, su composición principal de macronutrientes se muestra en la Cuadro 4 ⁵⁰.

Cuadro 4. Macronutrientes del raquis expresado en porcentaje de materia seca

Compuesto	Cantidad (%)
Nitrógeno	0,35
Fósforo	0,028
Potasio	2,285
Magnesio	0,175
Calcio	0,149
Lignina	20-25
Pentosa	21-26
α - celulosa	35-42
Cenizas	5

Fuente: MORA, Álvaro y GOMEZ, Álvaro. Impacto ambiental en el establecimiento de palma africana en selva, Costa Pacífica.

⁴⁹ MORA, Álvaro y GOMEZ, Álvaro. Op. cit., p. 48 - 50.

⁵⁰ Ibid., p. 60 - 61.

4.1.9 Técnicas para aislamiento y análisis. Las técnicas que se describen a continuación son una herramienta importante para el análisis de los componentes a estudiar, ya que permite identificar sustancias útiles para la industria farmacéutica e industrial.

4.1.9.1 Cromatografía. "Ésta técnica agrupa un conjunto importante y diverso de métodos, que permite separar componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas. En todas las separaciones cromatográficas, la muestra se desplaza con una fase móvil, que puede ser un gas, un líquido o un fluido supercrítico. Esta fase móvil se hace pasar a través de una fase estacionaria con la que es inmisible, y que se fija a una columna o a una superficie sólida. Las dos fases se eligen de tal forma, que los componentes de la muestra se distribuyen de modo distinto entre la fase móvil y la fase estacionaria"⁵¹.

4.1.9.2 Cromatografía en Capa Delgada. "En este tipo de cromatografía se emplea una capa plana y relativamente delgada de un material que a la vez es el soporte, o bien que recubre una superficie de vidrio, plástico o metálica. La fase móvil se mueve a través de la fase estacionaria por capilaridad, donde el recorrido particular de cada sustancia (R_f) se emplea para su identificación. En la actualidad, este tipo de técnica es más rápida, tiene mejor resolución y un bajo coste en los ensayos experimentales. Además se ha convertido en una herramienta importante para la industria farmacéutica debido a los controles de pureza del producto"⁵².

R_f . Es la relación entre la distancia recorrida por el frente del disolvente y la sustancia, lo cual se expresa como:

$$R_f = \frac{\text{Distancia que recorre la muestra desde el punto de aplicación}}{\text{Distancia que recorre el disolvente hasta el frente del eluyente}}$$

Los valores de R_f son fuertemente dependientes de la naturaleza del adsorbente y del disolvente. Por lo tanto, los valores experimentales y los valores R_f de literatura a menudo no concuerdan muy bien. "Para determinar si una sustancia desconocida es la misma que una sustancia de estructura conocida, las dos sustancias se deben ejecutar lado a lado en el mismo cromatograma, preferiblemente en la misma concentración"⁵³.

⁵¹ SKOOG, Douglas; HOLLER, James; NIEMAN, Timothy. Principios de análisis instrumental. 5 ed. Madrid, España: McGraw-HILL, 1992. 731 p.

⁵² SKOOG, Douglas; HOLLER, James; NIEMAN, Timothy. Op. Cit., p. 824.

⁵³ AULT, Addison. Techniques and experiments for organic chemistry. 6 ed. USA: University Science. Books, 1997. 117p.

4.1.9.3 Cromatografía de Gases. En Cromatografía de Gases (CG), la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil que es un gas inerte. A diferencia de la mayoría de los tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna⁵⁴. Una vez que los componentes de la muestra han sido separados por la columna, es preciso disponer de un detector siendo el más utilizados en cromatografía de gases es el detector de ionización de llama (FID).

Detector de Ionización de Llama (FID). "En este tipo de quemador, el efluente de la columna se mezcla con hidrógeno y con aire para luego encenderse eléctricamente. La mayoría de los compuestos orgánicos, cuando se pirolizan a la temperatura de una llama de hidrógeno/aire, producen iones y electrones que pueden conducir la electricidad a través de la llama. El FID responde al número de átomos de carbono que entra en el detector por unidad de tiempo, por ello, es más un detector sensible a la masa, que un sistema sensible a la concentración"⁵⁵.

4.1.9.4 Cromatografía de Gases Acoplado a Espectrometría de Masas. "La cromatografía de gases a menudo se combina con otras técnicas selectivas como la espectroscopia, proporcionando una potente herramienta para la identificación de componentes de mezclas complejas. El caudal de las columnas capilares en general es suficientemente bajo como para que la salida de la columna pueda introducirse directamente en la cámara de ionización de un espectro de masas"⁵⁶.

4.2 MARCO REFERENCIAL

Debido a la importancia de los hongos, especialmente la de *Pleurotus ostreatus* uno de los más consumidos a nivel mundial, se han realizado muchos estudios buscando confirmar los beneficios nutricionales y medicinales que desde la antigüedad se han venido aprovechando, además de utilizar su gran capacidad para degradar residuos lignocelulósicos optimizando la explotación de las materias primas agroindustriales, ya que los residuos de los procesos de transformación son utilizados para la producción de este hongo.

Se ha evaluado la capacidad de transformación de residuos lignocelulósicos por ejemplo Ortega⁵⁷, utilizó el hongo *Pleurotus* para la biotransformación de los residuos de la producción de azúcar en Cuba, encontró que el hongo fue capaz de degradar la hemicelulosa, lignina y celulosa en un 77, 75 y 53% respectivamente,

⁵⁴ SKOOG, Douglas; HOLLER, James; NIEMAN, Timothy. Op. Cit., p. 759.

⁵⁵ Ibid., p. 765.

⁵⁶ Ibid., p. 777-778.

⁵⁷ ORTEGA, Grisel María; BUENO, Gloria; BETANCOURT, Dionisio; ÁLVAREZ, Ivis; GONZÁLEZ, Ana. Biotransformación de residuos lignocelulósicos con hongos *Pleurotus*. En: CENIC ciencias biológicas. 2005. vol. 36.

los residuos del cultivo podrían ser utilizados como forrajes para animales. "En otras investigaciones se han reportado reducciones hasta del 80% de la lignina y la celulosa presentes en los sustratos, por esta razón las especies de este hongo están consideradas entre las mejores especies degradadoras de materiales lignocelulósicos"⁵⁸.

Se han realizado otros estudios utilizando sustratos con menor cantidad o carencia total de lignina y celulosa. Forero⁵⁹, utilizó residuos de la obtención de oleorresinas de ají, el hongo creció sin problemas, sin embargo se encontró que aparentemente el contenido nutricional de éste depende del sustrato utilizado. Nieto⁶⁰, confirmó que la composición química del *Pleurotus* depende del sustrato y de la especie.

Yitzhak y Cohen-Arazi⁶¹, estudiaron la composición química del *Pleurotus ostreatus* cultivado en un medio líquido previamente preparado a escala de laboratorio utilizando como fuente de carbono glucosa y un medio sólido con paja de algodón, ellos encontraron que existía una gran similitud en el contenido nutricional en el cuerpo fructífero cultivado en los dos medios, pero que el hongo presentaba una mayor velocidad de crecimiento en el medio líquido.

En cuanto al valor nutritivo de *Pleurotus ostreatus* algunas investigaciones indican que presenta minerales, vitaminas y proteínas. Igualmente presenta un sabor agradable que hace que sea apetecible en muchas regiones del mundo. "Este hongo posee bajo contenido en grasa y sodio unido al relativamente alto contenido de potasio, lo cual hace que tenga también una importancia para padecimientos cardiovasculares y estados de hipertensión. En éste están presentes todos los aminoácidos esenciales, es una rica fuente de vitaminas como también de Ergosterol"⁶².

"Es importante resaltar que en estudios realizados en ratas, el Ergosterol es un buen inhibidor del crecimiento de cáncer de vejiga, así como otras propiedades que incluyen la reducción del dolor asociado a la inflamación, la inhibición del crecimiento de tumores cancerosos y la disminución en la incidencia de enfermedades cardiovasculares"⁶³.

"Se ha determinado el contenido de Ergosterol en cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*, encontrando un incremento de 0,158 a 0,214% cuando el hongo se cultivó en paja de cebada en presencia de 1% de acetato de sodio"⁶⁴.

⁵⁸ MONTOYA, Sandra y RESTREPO, Gloria. Op. cit., p. 23 – 31.

⁵⁹ FORERO, Clara; HOYOS, Olga y BAZANTE, William. Op. cit., 42-53 p.

⁶⁰ NIETO, Ivonne y CHEGWIN, Carolina. Op. cit., p. 169-178.

⁶¹ YITZHAK, Hadar y COHEN-ARAZI, Ephraim. Chemical composition of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* Produced by fermentation. En: Applied and Environmental Microbiology. 1986. vol. 51, no. 6. p. 1352-1354.

⁶² HERNÁNDEZ, Ricardo y LÓPEZ, Claudia. Op. cit., p.30.

⁶³ TRIGOS, A. y SUAREZ, J. Los hongos como alimentos funcionales y complementos alimenticios. En: Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción – consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica. 2010. Capítulo 5, p 59-76.

⁶⁴ CARDONA URREA, Luis Fernando. Op. cit., p. 99-119.

"En el 2008, en la seta *Pleurotus sajor-cajú* se identificaron algunos esteroides entre los cuales se encuentra el Ergosterol. Asimismo, tres ácidos grasos fueron encontrados e identificados como el ácido palmítico, ácido linoleico y el ácido esteárico"⁶⁵.

Según Yilmaz⁶⁶, el hongo *Pleurotus ostreatus* presenta ácidos grasos como el ácido linoleico y ácido oleico siendo muy importantes para la salud humana, debido a que estos ácidos pueden reducir la arteriosclerosis mediante la interacción con el colesterol HDL en la sangre.

El ácido oleico se encuentra en el aceite de oliva y se ha conocido por su eficacia en la reducción de los niveles de colesterol, que promueve la disminución de las enfermedades cardiovasculares. Mientras que el ácido linoleico es un ácido graso esencial, ya que no puede ser sintetizado por el organismo humano, debido a la falta de enzimas necesarias para su producción y por esta razón debe obtenerse de la dieta⁶⁷. Por otro lado, es importante la presencia del ácido linoleico en las setas, debido a que es precursor de compuestos causantes del aroma y sabor exclusivos de los hongos comestibles, por lo cual son apetecidos en la gastronomía gourmet⁶⁸.

Siendo Colombia un país mayoritariamente agrícola, en el cual se está buscando el aprovechamiento de los residuos de esta actividad, son diversos los desechos que se emplean para el cultivo de los hongos⁶⁹, entre los cuales están la pulpa de café, el bagazo de fique y el raquis de palma de aceite.

La Universidad Católica de Oriente en Antioquia ha logrado emplear el bagazo del fique esterilizado, como sustrato en la producción de hongos comestibles del género *Pleurotus*. La extraordinaria capacidad de degradación de los compuestos lignocelulósicos presentes en este bagazo, por parte de los hongos, ha permitido su utilización en el manejo ambiental de estos residuos agroindustriales con el fin de obtener proteínas, minerales y vitaminas de origen fúngico entre otros nutrientes para la alimentación humana⁷⁰.

El centro de investigaciones de café, Cenicafé, utilizan hongos de los géneros *Pleurotus*, *Lentinula*, *Ganoderma* e *Hypsizygus* para el aprovechamiento de residuos sólidos generados durante el proceso de cultivo y beneficio del café⁷¹.

⁶⁵ NIETO, Ivonne y CHEGWIN, Carolina. Triterpenoids and fatty acids identified in the edible mushroom *Pleurotus sajor-cajú*. En: Journal of de Chilean Chemical Society. 2008. vol.53, no.2. p. 1515-1517.

⁶⁶ YILMAZ, Necmettin; SOLMAZ, Mehtap; TURKEKUL, Ibrahim; ELMASTAS, Mahfuz. Op. cit., p. 168–174.

⁶⁷ RIBEIRO, Bárbara; DE PINHO, Paula; ANDRADE, Paula; BAPTISTA, Paula; VALENTÃO, Patrícia. Fatty acid composition of wild edible mushrooms species: A comparative study. En: Microchemical journal. 2009. no. 93. p. 29–35.

⁶⁸ KALAC, P. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. En: Food Chemistry, 2009. no.113. p. 9–16.

⁶⁹ NIETO, Ivonne y CHEGWIN, Carolina. Op. cit., p. 169-178.

⁷⁰ MORENO, José. Op.cit.,p. 52.

⁷¹ Seminario Internacional Gestión Integral de Residuos de Residuos Sólidos y Peligrosos. Op. Cit., p. 10.

Girón⁷², estudió la eficiencia del *Pleurotus ostreatus* en tres sustratos de la agroindustria de la palma africana el raquis o tusa, cuesco y fibra obteniendo los mejores resultados con la fibra, seguido del cuesco y el raquis.

⁷² GIRÓN DE LEÓN, Danny. Cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* en subproductos lignocelulósicos derivados de la agroindustria de la palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq). Trabajo de grado Ingeniero Agrónomo. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Agronomía, 2000. 41 – 42 p.

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 PRODUCCIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras del hongo se obtuvieron del macroproyecto desarrollado en convenio entre la Universidad de Nariño y la Gobernación de Nariño, enfocado al aprovechamiento de residuos agrícolas para el cultivo de hongos comestibles y medicinales tipo orellanas, y la evaluación del contenido de algunos compuestos bioactivos presentes en las setas.

5.1.1 Preparación de sustratos. Para esta investigación, se trabajó con seis sustratos preparados a base de raquis de palma de aceite, pulpa de café y bagazo de fique (Figura 2). Tres de los tratamientos se prepararon con cada material lignocelulósico acondicionado con 2% de sulfato de amonio y 2% de carbonato de calcio. Los otros tratamientos fueron preparados con 2% de sulfato de amonio, 2% de carbonato de calcio y enriquecidos con 30 % de granza de avena (Figura 3).

Figura 2. Sustratos sin tratamientos



Fuente: esta investigación

Figura 3. Sustratos acondicionados



Pulpa de café



Pulpa de café con
granza de avena



Bagazo de fique



Bagazo de fique con
granza de avena



Raquis de palma



Raquis de palma con
granza de avena

Fuente: esta investigación

Las unidades productivas de los seis sustratos se nombraron como se muestra a continuación:

Cuadro 5. Sustratos empleados para el cultivo

SUSTRATO	CÓDIGO
Pulpa de café	P
Pulpa de café con granza de avena	PA
Raquis de palma	R
Raquis de palma con granza de avena	RA
Bagazo de fique	B
Bagazo de fique con granza de avena	BA

Fuente: esta investigación

Para cada uno de los tratamientos se elaboraron cuatro unidades productivas. Cada unidad productiva se preparó empacando 1 kg de sustrato al 70% de humedad en una bolsa de polipropileno. El micelio de *Pleurotus ostreatus* se inoculó con 4% en peso en cada unidad productiva. Se dejaron las unidades productivas en un sitio protegido de la luz y de la lluvia, hasta que se completó la invasión micelial. Posteriormente, las bolsas se retiraron para dar paso a la etapa de fructificación (Figura 4).

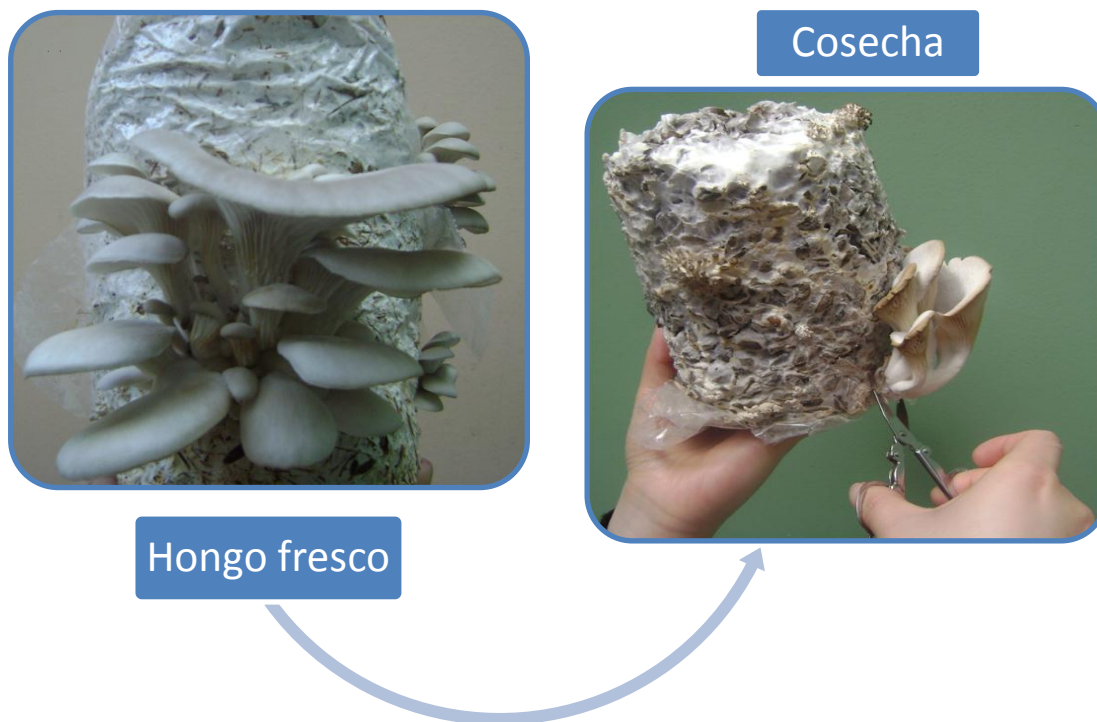
Figura 4. Procedimiento realizado para el cultivo del hongo



Fuente: esta investigación

5.1.2 Cosecha. Se cosecharon los hongos de cada unidad productiva en su máximo estado de madurez. Los hongos frescos se limpiaron y se pesaron.

Figura 5. Hongo fresco y cosecha



Fuente: esta investigación

Las setas cosechadas de cada sustrato se unieron en su totalidad para conformar seis muestras únicas y representativas.

Figura 6. Hongos cosechados de los seis tratamientos



Fuente: esta investigación

5.1.3 Pretratamiento de las muestras. Las muestras de hongos frescos se dejaron secar al ambiente, alejadas del suelo y protegidas de la luz directa. Posteriormente a las muestras secas se les determinó la humedad mediante el método por secado de estufa hasta peso constante, se cortaron en trozos pequeños, se trituraron en un molino, se pesaron y se almacenaron en bolsas resellables, que se conservaron en refrigeración como se puede observar en la figura 7.

Figura 7. Pretratamiento de las seis muestras



Fuente: esta investigación.

5.2 ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS Y ESTEROLES

5.2.1 Extracción de ácidos grasos. “Se utilizó 0,5 g $\pm$ de cada una de las muestras molidas. A éstas se les adicionó 15mL de una mezcla de cloroformo y metanol en relación 1:2 v/v ⁷³. Se dejaron en maceración por un día, se utilizó ultrasonido para romper las células mediante un sonicador Fisher Scientific FS20H por 15 minutos a temperatura ambiente y se filtró.

Las muestras se concentraron a presión reducida en un rotoevaporador Eyela 1100. Esta fracción se analizó por Cromatografía de Gases con Detector de Ionización de Llama (CG – FID) ⁷⁴.

⁷³ BLIGH, E.G. y DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. En: Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. 1959. vol. 37. p. 911-917.

⁷⁴ BENAVIDES, Olga Lucía. Estudio químico de la fracción insaponificable del hongo macromiceto *Lentinula edodes* (Shitake). Trabajo de grado Magister en Ciencias – Química. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias – Programa de Posgrado en Química, 2004. 38 p.

5.2.2 Determinación de ácidos grasos:

5.2.2.1 Análisis de los ácidos grasos por cromatografía de gases GC-FID

- Derivatización de la muestra

A cada muestra (ver Cuadro 12) se adicionó 0,5 mL de Hexano grado HPLC, se agitó y se colocó en tubo de ensayo con tapa rosca y se añadió 5 mL de HCl/Metanol al 5% v/v. Se dejaron los tubos en baño maría a una temperatura de 55°C por 14 horas. Posteriormente se dejaron enfriar, se agregó 0,5 mL de agua destilada, 0,5 mL de cloruro de sodio al 10% y 1 mL de n-hexano y se dejó reposar. Se tomó el extracto orgánico (figura 8), se colocó en un vial y se conservó en refrigeración hasta el momento de su análisis* ⁷⁵.

Figura 8. Extracto orgánico de las muestras



Fuente: esta investigación

- Análisis de las Muestras

La identificación de los metil ésteres de los ácidos grasos de las muestras se realizó usando el método de comparación de sus tiempos de retención con los de Estándares de Metil Esteres de Ácidos Grasos (FAMES)⁷⁶. Las condiciones de análisis se indican en la Cuadro 6.

⁷⁵ * ARTURO PERDOMO, David. Metodología para el análisis de ácidos grasos. Laboratorio de especializados Universidad de Nariño. San Juan de Pasto, Colombia. Observación inédita.

⁷⁶ CASTELLANOS, Alexis y ORDÓÑEZ, Angélica. Análisis bromatológico, ácidos grasos y esteroides mayoritarios del hongo silvestre *Cantharellus lateritius* var. *Colombianus* R.H. Petersen del alto de Daza (Nariño). Trabajo de grado Químico. San Juan de Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – Departamento de química, 2010. 41 p.

Cuadro 6. Condiciones de análisis para ácidos grasos por CG-FID

Equipo	Shimadzu GC17A
Detector	ionización de llama (FID)
Columna	DB-WAX (J&W Scientific. 30m, 0,25mm, 0,25 micras)
Temperatura del inyector	250°C
temperatura del detector	280°C
puerto de Inyección	Split/splitless

Fuente: esta investigación

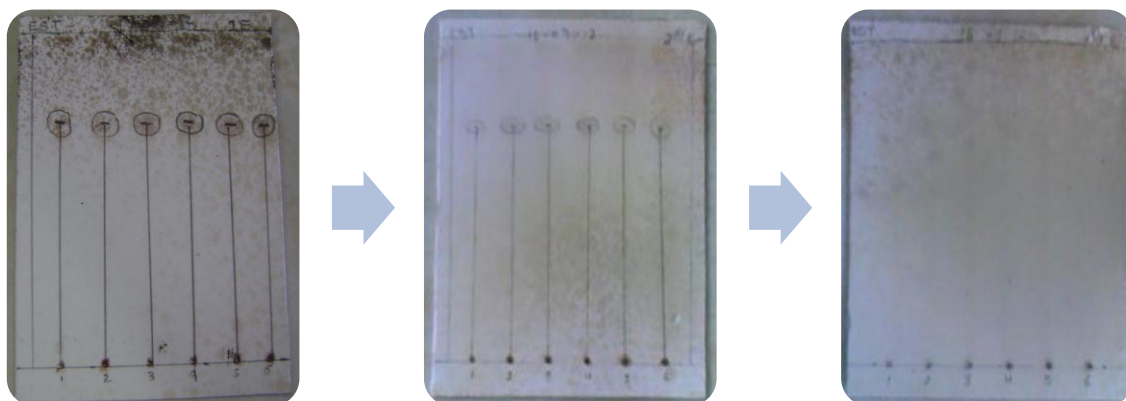
5.2.3 Extracción de esteroides. Se utilizó 0,5 g $\pm$ de cada una de las muestras, a éstas se les adicionó 15 mL de cloroformo, se dejaron en maceración por un día⁷⁷. Para romper las células se sonicaron por 15 minutos a temperatura ambiente y se filtró.

“Debido a que no se realizaron réplicas para la obtención del extracto crudo, se utilizó como método de control la Cromatografía de Capa Delgada (CCD). Para esto, en una placa de sílica gel 60 se sembraron los seis extractos, ésta se introdujo en un beaker con 2 mL de benceno y 2 mL de acetato de etilo. Una vez el solvente alcanzó la altura deseada en la placa de sílica gel, se retiró y se dejó secar. Se reveló con el reactivo de Liebermann - Burchard y se colocó en una placa refractaria caliente hasta que aparecieron las manchas”⁷⁸. El procedimiento de extracción se realizó hasta que ya no se observaron compuestos esteroidales en la placa revelada como se muestra en la figura 9.

⁷⁷ RIVERA, Augusto; OSORIO, Héctor Jairo; RÍOS-MOTTA, Jaime; NIETO, Ivonne J.; LAVERDE, Cilia Marilu. Dehidroergosterol: un artefacto generado durante el proceso de extracción de esteroides en el hongo *Pleurotus sajor-caju*. En: Revista colombiana de química. 2005. vol.34, no.2, p. 117-125.

⁷⁸ BENAVIDES, Olga Lucía. Op. Cit., p. 40.

Figura 9. Placas reveladas de esteroides 1^a, 2^a y 3^a extracción



Fuente: esta investigación

5.2.4 Determinación de esteroides:

5.2.4.1 Identificación de esteroides mayoritarios por Cromatografía de Gases - FID. Los extractos esteroidales se disolvieron en 1mL de cloroformo (Reactivo Analítico). A estas soluciones se les adicionó 200µL de estándar interno colesterol de 1000ppm. Se calculó la concentración de los esteroides mayoritarios usando el método de áreas normalizadas de acuerdo a la respuesta del patrón (Ver anexo M). Las condiciones para el análisis de esteroides fueron:

Cuadro 7. Condiciones de análisis para esteroides por CG-FID

Equipo	Shimadzu GC17A
Detector	ionización de llama (FID)
Columna	DB-5MS (J&W Scientific. 30m, 0,25mm, 0,25 micras)
Temperatura del inyector	280°C
Temperatura del detector	310°C
Puerto de Inyección	Split/splitless
Volumen de inyección	1 µL

Fuente: esta investigación

5.2.4.2 Estudio estructural de esteroides por Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de masas CG-EM. La identificación de los esteroides extraídos y purificados se realizó mediante CG-EM ⁷⁹, en la Cuadro 8 se indican las condiciones de análisis. La identificación de los esteroides y triterpenos se realizó con los espectros de masas reportados en la literatura^{80, 81} y en las bases de datos Nist WebBook, Nist 05 y Pherobase.

Cuadro 8. Condiciones de análisis para esteroides por CG-EM

Equipo	Shimadzu QP2010S
Columna	DB-5MS (J&W Scientific. 30m, 0,25mm, 0,25 micras)
Detector	Selectivo de masas. EI QP2010S Modo Scan
Temperatura del inyector	280°C
Temperatura del detector	310°C
Puerto de Inyección	Split/splitless
Volumen de inyección	1 µL

Fuente: esta investigación

⁷⁹ CASTELLANOS, Alexis y ORDÓÑEZ, Angélica. Op.cit.,p. 43.

⁸⁰ CASTELLANOS, Alexis y ORDÓÑEZ, Angélica. Op.cit.

⁸¹ BENAVIDES, Olga Lucía.Op. cit.

6. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se trabajó un diseño de experimentos completamente al azar (DCA) para determinar dos variables respuesta. En este caso se modificó el sustrato utilizado para el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus*.

Sustrato: Se trabajó con seis sustratos, de los cuales tres contenían pulpa de café, bagazo de fique y raquis de palma de aceite, respectivamente. A los sustratos restantes se les adicionó granza de avena para enriquecerlos con lignina. A continuación se indica cada tratamiento con su respectivo símbolo.

Cuadro 9. Tratamientos utilizados en el cultivo de los hongos

TRATAMIENTO	SUSTRATO
T1	Pulpa de café
T1A	Pulpa de café con granza de avena.
T2	Bagazo de fique
T2A	Bagazo de fique con granza de avena.
T3	Raquis de palma de aceite.
T3A	Raquis de palma de aceite con granza de avena.

Fuente: esta investigación

Los resultados obtenidos en el proyecto se analizaron mediante ANOVA utilizando el programa STATGRAPHICS CENTURION. Con el fin de evaluar el efecto de los seis tratamientos sobre las diferentes variables respuesta y poder realizar el estudio comparativo entre los tratamientos.

Es importante aclarar que en el presente trabajo no se realizaron replicas, debido a que los costos de los análisis son elevados.

Las variables respuesta escogidas son: la concentración y el número de ácidos grasos y esteroides identificados.

Cuadro 10. Matriz del diseño experimental

TRATAMIENTO	VARIABLES RESPUESTA (concentración y número de compuestos identificados)	
	Ácidos grasos	Esteroles
T1	X	x
T1A	X	x
T2	X	x
T2A	X	x
T3	x	x
T3A	x	x

Fuente: esta investigación

7. RESULTADOS Y ANÁLISIS

7.1 COSECHA

A continuación se presentan las cantidades obtenidas de hongos frescos, secos y molidos de los seis tratamientos (Cuadro 11) y la eficiencia biológica para cada una de las muestras.

Cuadro 11. Humedad y cantidad de hongo fresco, seco y molido

Muestra	% Humedad en fresco	Cantidad (g)		Eficiencia biológica
		Fresco	Seco y Molido	
Pulpa	91,0	70,723	46,624	23,57
Pulpa Avena	86,1	75,381	39,660	25,13
Fique	87,0	72,335	42,237	24,11
Fique Avena	89,0	74,464	43,507	24,82
Raquis	86,4	71,123	40,336	23,71
Raquis Avena	86,0	73,627	38,526	24,54

Fuente: esta investigación

Se obtuvo una mayor eficiencia biológica en el tratamiento pulpa de café enriquecida con granza de avena con un 25,13% mientras que el de menor eficiencia biológica fue de pulpa de café con un 23,57%. Rodríguez & Zuluaga cultivaron *Pleurotus pulmonarius* en pulpa de café y obtuvieron una eficiencia biológica de 54,4%⁸². En esta investigación se obtuvo una eficiencia biológica menor, resultado que se pudo deber a que se utilizó una especie diferente y también por las condiciones de cultivo ya que durante la etapa de fructificación la humedad relativa se vio afectada por el aumento de la temperatura del ambiente.

En el cuadro 11 se puede observar que los tratamientos enriquecidos con granza de avena presentaron un incremento en la eficiencia biológica en comparación con los otros tratamientos, debido a que la granza de avena aumenta las cantidades de polisacáridos, lignina y fuentes orgánicas de nitrógeno en cada uno de los sustratos, permitiendo que el hongo pueda aprovechar estos nutrientes para mejorar su crecimiento⁸³.

⁸² RODRÍGUEZ, V.N. y ZULUAGA, V.J. Cultivo de *Pleurotus pulmonarius* en pulpa de café. En: Cenicafé. 1994. vol. 45. no. 3, p. 81-92.

⁸³ VIZITEU, Gabriel. Paja de cereal y mazorca o marlos de maíz. En: Manual del Cultivador de Hongos: Cultivo del hongo ostra. República de Corea: MushWorld, 2005. Capítulo 5. p. 94.

7.2 EXTRACCIÓN DE ÁCIDOS GRASOS Y ESTEROLES

Después de concentrar a presión reducida hasta sequedad, se obtuvieron las siguientes cantidades de ácidos grasos y esteroides a partir de los extractos crudos de la fracción lipídica (Cuadro 12).

Cuadro 12. Extractos crudos de la fracción lipídica

Muestra	Cantidad (g)		Porcentaje (%)	
	Ácidos Grasos	Esteroides	Ácidos Grasos	Esteroides
Pulpa	0,06	0,01	12	2
Pulpa Avena	0,0544	0,011	10,88	2,2
Fique	0,0894	0,0086	17,88	1,72
Fique Avena	0,0511	0,0088	10,22	1,76
Raquis	0,1121	0,0116	22,42	2,32
Raquis Avena	0,0547	0,0127	10,94	2,54

Fuente: esta investigación

En la Cuadro 12 se observa que las cantidades de ácidos grasos disminuyeron en los sustratos enriquecidos con granza de avena en comparación con los otros sustratos. Mientras que para los esteroides el porcentaje aumentó al utilizar granza de avena en cada uno de los sustratos, lo que demuestra que la granza de avena tiene un efecto en el metabolismo del hongo dando como resultado diferencias en la composición química de éste.

7.3 ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS POR CROMATOGRFÍA DE GASES CG-FID.

7.3.1 Identificación y cuantificación de ácidos grasos mayoritarios. Los perfiles cromatográficos de cada una de las muestras se encuentran en los anexos A, B, C, D, E y F.

En *Pleurotus ostreatus* predominan los ácidos grasos mono y poliinsaturados, siendo los más importantes el ácido linoleico y oleico. Mientras que en los ácidos grasos saturados, el más común en esta especie de hongo es el ácido palmítico⁸⁴. Esto también lo confirma Dimitris y colaboradores, quienes encontraron que entre los ácidos grasos producidos por *P.ostreatus*, el ácido graso predominante

⁸⁴ YILMAZ, Necmettin; SOLMAZ, Mehtap; TURKEKUL, Ibrahim; ELMASSTAS, Mahfuz. Op. cit., p. 168–174.

fue el ácido linoleico, y los ácidos oleico y palmítico estaban presentes en valores mayores al 12%”⁸⁵. “Sin embargo, Solomko *et al.* informó que el ácido graso principal de los lípidos de *P. ostreatus* fue el ácido oleico con un 56% de los lípidos totales”⁸⁶.

Lo anterior concuerda con los resultados obtenidos en la identificación y la normalización de áreas realizada a los ácidos grasos presentes en las seis muestras, debido a que se encontró el ácido linoleico, oleico y palmítico con un valor máximo de 76,65%, 16,26% y 14,39%, respectivamente como se muestra en la Cuadro 13. Además se encontraron los ácidos tetradecánico, palmitoleico, esteárico y linolénico, pero éstos no se incluyeron en el análisis ya que los porcentajes de éstos eran inferiores al 3% del total de los ácidos grasos identificados.

Es importante resaltar que se encontró una concentración mayor de ácidos grasos insaturados con un valor máximo del 88,13% en relación a los ácidos grasos saturados con un máximo del 14,39%. “Siendo los ácidos grasos insaturados muy importantes para la salud humana, debido a que ácidos como el ácido linoleico (omega 6) y el ácido oleico (omega 9) pueden reducir la arteriosclerosis mediante la interacción con el colesterol HDL en la sangre”⁸⁷.

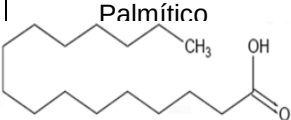
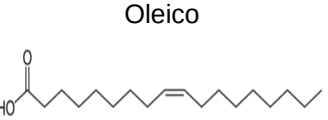
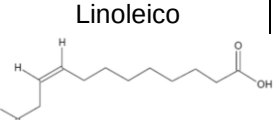
En la Cuadro 13 se puede observar que en el tratamiento de pulpa de café con granza de avena se presentó un aumento en la cantidad de los ácidos palmítico y oleico y una disminución del ácido linoleico, con respecto al mismo tratamiento sin granza de avena. De igual forma, en el tratamiento de bagazo de fique existe una mayor concentración de ácido oleico y linoleico, mientras que hay una disminución de éstos en el tratamiento bagazo de fique con granza de avena con un aumento del ácido palmítico en el mismo. Por último, en el tratamiento donde sólo se uso raquis de palma se presentó una mayor concentración en el ácido palmítico y linoleico y una menor cantidad de ácido oleico en relación al tratamiento raquis de palma con granza de avena. Los tratamientos con mayor cantidad de ácido palmítico, oleico y linoleico fueron bagazo de fique con granza de avena, raquis de palma con granza de avena y pulpa de café, respetivamente. Mientras que en los de menor concentración para el ácido palmítico y oleico fue el tratamiento de pulpa de café y para el ácido linoleico fue el de raquis de palma enriquecido con granza de avena. Teniendo en cuenta lo anterior no se observa una tendencia a aumentar o disminuir en la concentración de los diferentes ácidos grasos con el uso de granza de avena como suplemento de los tratamientos.

⁸⁵ DIMOU, Dimitris M; GEORGALA, Aikaterini; KOMAITIS, Michael; AGGELIS George. Mycelial fatty acid composition of *Pleurotus* spp. and its application in the intrageneric differentiation. En: The British Mycological Society. 2002. vol.106, no.8. p. 925-929.

⁸⁶ SOLOMKO, E. F; PANCHENKO, L. P; SILCHENKOVA, R. K. Lipids content and fatty acids composition of a higher edible fungus – oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer. En: Applied biochemistry and microbiology. 1984. vol. 20, no.2. p. 224-229.

⁸⁷ YILMAZ, Necmettin; SOLMAZ, Mehtap; TURKEKUL, Ibrahim; ELMASTAS, Mahfuz. Op. cit., p. 168–174.

Cuadro 13. Identificación y cuantificación de ácidos grasos mayoritarios en las seis muestras

	 Palmitico	 Oleico	 Linoleico
Pulpa			
Tiempo de retención (min)	13,191	15,299	15,999
% Área	11,86	11,48	76,65
Pulpa avena			
Tiempo de retención (min)	13,124	15,216	15,874
% Área	13,16	14,81	72,03
Fique			
Tiempo de retención (min)	12,908	14,924	15,574
% Área	13,3	14,06	72,63
Fique avena			
Tiempo de retención (min)	13,107	15,191	15,857
% Área	14,39	13,51	72,11
Raquis			
Tiempo de retención (min)	13,016	15,074	15,749
% Área	14,23	13,73	72,04
Raquis avena			
Tiempo de retención (min)	13,032	15,099	15,749
% Área	13,58	16,26	70,16

Fuente: Esta investigación

7.3.2 Análisis estadístico de los ácidos grasos mayoritarios.Una vez realizado el análisis estadístico ANOVA con un nivel de confianza del 95% para los datos de los ácidos grasos palmítico, oleico y linoleico encontrados en la seis muestras, se

observó que existe una diferencia significativa en la concentración de estos ácidos grasos ya que su P- valor es inferior a 0,05 como se muestra en las Cuadros 14, 15 y 16. Esto demuestra que los sustratos influyen en la producción de ácidos grasos en los cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus*.

Cuadro 14. Análisis de Varianza para el ácido palmítico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	8,2764	5	1,65528	8276,40	0,0000
Intra grupos	0,0012	6	0,0002		
Total (corregido)	8,2776	11			

Fuente: esta investigación

Cuadro 15. Análisis de Varianza para el ácido oleico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	24,8539	5	4,97078	24853,90	0,0000
Intra grupos	0,0012	6	0,0002		
Total (corregido)	24,8551	11			

Fuente: esta investigación

Cuadro 16. Análisis de Varianza para el ácido linoleico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	46,4711	5	9,29421	46471,07	0,0000
Intra grupos	0,0012	6	0,0002		
Total (corregido)	46,4723	11			

Fuente: esta investigación

La prueba de múltiple rangos se realizó con el fin de conocer las diferencias en la producción de ácidos grasos entre los seis sustratos usados. En las Cuadros 17 y 18 se indica que para los ácidos palmítico y oleico, se obtiene cantidades diferentes de éstos para cada sustrato utilizado ya que los grupos homogéneos de cada una de las muestras no se cruzan, lo que demuestra que las características de los sustratos usados tienen un efecto en la producción de estos ácidos grasos.

Cuadro 17. Prueba de Múltiple Rangos para el ácido palmítico

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Pulpa	2	11,86	0,01	X
Pulpa Avena	2	13,16	0,01	X
Fique	2	13,3	0,01	X
Raquis Avena	2	13,58	0,01	X
Raquis	2	14,23	0,01	X
Fique Avena	2	14,39	0,01	X

Fuente: esta investigación

Cuadro 18. Prueba de Múltiple Rangos para el ácido oleico

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Pulpa	2	11,48	0,01	X
Fique Avena	2	13,51	0,01	X
Raquis	2	13,73	0,01	X
Fique	2	14,06	0,01	X
Pulpa Avena	2	14,81	0,01	X
Raquis Avena	2	16,26	0,01	X

Fuente: esta investigación

Para el ácido linoleico en las muestras de pulpa de café con granza de avena y raquis de palma no se encontró una diferencia significativa según los resultados de la prueba múltiple de rangos (Cuadro 19). Es decir, que el sustrato que se utilice para el cultivo del hongo no influye en el resultado en cuanto a la cantidad obtenida de este ácido graso insaturado.

Cuadro 19. Prueba de Múltiple Rangos para el ácido linoleico

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Raquis Avena	2	70,16	0,01	X
Pulpa Avena	2	72,03	0,01	X
Raquis	2	72,04	0,01	X
Fique Avena	2	72,11	0,01	X
Fique	2	72,63	0,01	X
Pulpa	2	76,65	0,01	X

Fuente: esta investigación

7.4 ANÁLISIS DE ESTEROLES Y TRITERPENOS MAYORITARIOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES CG-FID Y CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOLPADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS.

7.4.1 Identificación y cuantificación de esteroides y triterpenos mayoritarios.
En los anexos se presentan los perfiles cromatográficos de las seis muestras analizadas.

En el pico 2 de la muestra de pulpa de café (anexo G) y en el pico 1 de la muestra de pulpa de café con granza de avena (anexo H) se encontró Cafeína. En este compuesto los tiempos de retención fueron de 13,566 min y 13,549 min en las muestras de pulpa de café y pulpa de café con granza de avena, respectivamente. Las concentraciones fueron diferentes ya que para pulpa de café su valor fue de 15,124% y en pulpa de café enriquecida con granza de avena de 9,391%.

Se observó que en la muestra de pulpa de café se encuentra la mayor cantidad de cafeína absorbida por el hongo, lo que demuestra la capacidad del hongo para incorporar los compuestos presentes en el sustrato sin que éstos sean degradados. Nieto también tuvo el mismo resultado con el cultivo del hongo *P. sajor-caju* en pulpa de café⁸⁸. “De igual forma, Salmones et al., observaron la disminución en el contenido de cafeína en el sustrato a medida que se producía el crecimiento de *Pleurotus* spp. sobre pulpa de café, y el aumento dentro del cuerpo fructífero y el micelio de los hongos, llegando a la conclusión de que las especies pertenecientes a este género no tienen la habilidad de degradar la cafeína cuando son cultivadas sobre pulpa y cáscara de café⁸⁹. “Este comportamiento no es habitual dentro de los hongos, ya que en la mayoría de los casos los componentes del sustrato son metabolizados para así conseguir sustancias que le sean útiles al hongo⁹⁰”.

Se identificaron en las muestras otros compuestos 3-metilnonadecano y etil-hexadecanoato. Esto se pudo presentar, ya que con la técnica utilizada se extraen diferentes compuestos de las muestras y al no realizar un fraccionamiento, éstas contenían compuestos como hidrocarburos y ésteres de ácidos grasos, los cuales fueron identificados durante el análisis que se realizó a las seis muestras.

En investigaciones recientes se indica la presencia de éstos compuestos, por ejemplo en *Ganoderma australe* y *Laccaria laccata* se encontraron hidrocarburos y ésteres de ácidos grasos como el etil-hexadecanoato (palmitato de etilo)^{91,92}.

⁸⁸ NIETO, Ivonne Jeannette; CHEGWIN, Carolina; OSORIO, Hector Jairo. Incorporación de cafeína en el hongo *Pleurotus sajor-caju* cultivado sobre pulpa de café. En: Revista Iberoamericana de Micología. 2007. vol. 24, no. 1. p. 72-74.

⁸⁹ SALMONES, Dulce; MATA, Gerardo; WALISZEWSKI, Krzysztof. Comparative culturing of *Pleurotus* spp. on coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation. En: Bioresource Technology. 2005. vol.96. p. 537-544.

⁹⁰ NIETO, Ivonne Jeannette; CHEGWIN, Carolina; OSORIO, Hector Jairo. Op. cit., p. 72-74.

⁹¹ NIETO, Ivonne y VALENCIA, Meiser. Esteroides, ácidos grasos e hidrocarburos de los cuerpos fructíferos de *Ganoderma australe*. En: Sociedad Chilena de Química. 2002. vol.47, no.4. p. 511-516.

En la muestra de raquis de palma con granza de avena se encontró la mayor concentración de 3-metilnonadecano con un valor de 12,722% en el pico 4 (anexo L) y en la muestra de raquis de palma en el pico 2 (anexo K) el etil-hexadecanoato presentó una cantidad mayor de 1,630%.

A continuación se muestran los esteroides mayoritarios y triterpenos que se encontraron en las seis muestras (Cuadro 20).

Cuadro 20. Esteroides mayoritarios y triterpenos presentes en las seis muestras

	ESTEROLES Y TRITERPENOS				
	Ergosta-2,5,7,9(11),22-pentaeno	Ergosterol	Ergosta 7,22-dien-3 β -ol	Ergosta 5,8-dien-3 β -ol	Fungisterol
Pulpa					
Tiempo de retención (min)	32,706	36,831	37,281	38,089	38,398
%Área	4,024	88,573	1,029	4,259	2,115
Pulpa Avena					
Tiempo de retención (min)	32,673	36,789	37,206	38,056	38,356
%Área	8,406	85,056	1,570	3,778	1,189
Fique					
Tiempo de retención (min)	32,656	36,773	N.D	38,014	38,348
%Área	4,813	89,420	N.D	4,061	1,706
Fique Avena					
Tiempo de retención (min)	32,648	36,773	N.D	38,006	38,323
%Área	6,934	86,212	N.D	1,946	4,908

⁹² NIETO, Ivonne y CUCAITA, Edna del P. Ácidos grasos, ésteres y esteroides del cuerpo fructífero del hongo *Laccaria laccata*. En: Revista Colombiana de Química. 2007. vol.36, no.3. p. 277-284.

Cuadro 20. (Continuación)

	ESTEROLES Y TRITERPENOS				
	Ergosta-2,5,7,9(11),22-pentaeno	Ergosterol	Ergosta 7,22-dien-3 β -ol	Ergosta 5,8-dien-3 β -ol	Fungisterol
Raquis					
Tiempo de retención (min)	32,64	36,764	N.D	37,973	38,323
%Área	7,899	85,691	N.D	1,500	4,910
Raquis Avena					
Tiempo de retención (min)	32,556	36,756	N.D	37,981	38,314
%Área	13,183	80,540	N.D	4,312	1,965

N.D: No detectado

Fuente: esta investigación

En la Cuadro 21 se presentan los esteroides y triterpenos identificados en las seis muestras con su respectiva cuantificación. El Ergosterol se encontró en las seis muestras, esto se presentó debido a que todos los hongos, incluidos los comestibles, contienen Ergosterol como componente de su membrana, siendo éste un distintivo entre los miembros del reino Fungi⁹³. De igual forma Nieto y Chegwin identificaron en el hongo *Pleurotus sajor-cajú* el Ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol (Ergosterol)⁹⁴. Se presentó una mayor concentración de Ergosterol en la muestra de pulpa de café con granza de avena con un valor de 2,483 mg/g de hongo seco, este compuesto se observa en el pico 14 (anexo H).

⁹³ TRIGOS, A. y SUAREZ, J. Op. cit., p. 59-76.

⁹⁴ NIETO, Ivonne y CHEGWIN, Carolina. Op. cit. p. 1515-1517.

Cuadro 21. Cuantificación de esteroides y triterpenos en las seis muestras

Compuesto	mg/g de hongo seco					
	Pulpa	Pulpa Avena	Fique	Fique Avena	Raquis	Raquis Avena
Ergosta-2,5,7,9(11),22-pentaeno	0,057	0,245	0,108	0,135	0,186	0,256
Ergosterol	1,254	2,483	2,001	1,672	2,016	1,563
Ergosta 7,22-dien-3 β -ol	0,015	0,046	N.D	N.D	N.D	N.D
Ergosta 5,8-dien-3 β -ol	0,06	0,11	0,091	0,038	0,035	0,084
Fungisterol	0,03	0,035	0,038	0,095	0,116	0,038

N.D: No detectado.

Fuente: esta investigación

Se identificó el Ergosta-7,22-dien-3 β -ol solamente en las muestras de pulpa de café pico 16 (anexo G) y pulpa de café con granza de avena pico 15 (anexo H) con una concentración de 0,015 mg/g y 0,046 mg/g de hongo seco, respectivamente. Este esteroide se ha empezado a usar para el tratamiento del cáncer, específicamente leucemia⁹⁵, demostrando las ventajas farmacológicas que tiene el hongo *Pleurotus ostreatus*.

En la muestra que se presentó una mayor concentración del Ergosta-5,8-dien-3 β -ol fue en pulpa de café con granza de avena con un valor de 0,11mg/g de hongo seco pico 16 (anexo H). Este esteroide fue aislado por primera vez en 1974 de la alga *Chlorella ellipsoidea*, se ha encontrado también en una cepa mutante de *Saccharomyces cerevisiae*, así como en los aislados clínicos de *Aspergillus fumigatus*. A pesar de su presencia en un amplio espectro de los organismos vivos, hasta ahora en la literatura no se ha publicado suficiente información acerca de los datos fisicoquímicos de este esteroide⁹⁶.

“La mayor concentración del Ergosta-7-en-3 β -ol se encontró en la muestra de raquis de palma con un valor de 0,116 mg/g de hongo seco pico 14 (anexo K). En estudios recientes se ha identificado este esteroide también denominado fungisterol en los hongos *Pleurotus sajor-cajú*⁹⁷ y *Ganoderma australe*⁹⁸.

⁹⁵ Preparación y utilización de ergosta-7,22-dien-3 β -ol. Inventor: Hei Ling Helen, CHAN. Estados Unidos, patente de investigación. US 2009/0247497 A1. 1, Octubre, 2009.

⁹⁶ GIERA, Martin y BRACHER, Franz. First Total Synthesis of Ergosta-5,8-dien-3 β -ol. En: Sci Pharm. 2008. vol.76. p. 599–604.

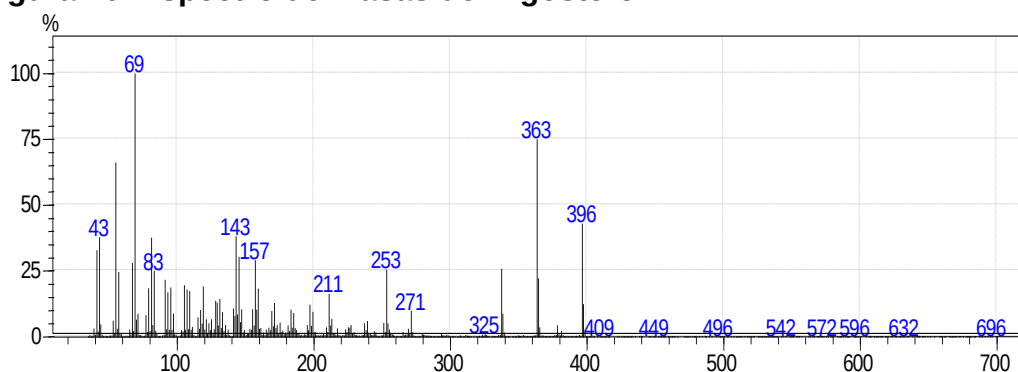
⁹⁷ NIETO, Ivonne y CHEGWIN, Carolina. Op. cit., p. 1515-1517.

⁹⁸ NIETO, Ivonne y VALENCIA, Meiser. Op. cit., p. 511-516.

En las seis muestras se encontró el triterpeno Ergosta-2, 5, 7,9 (11) ,22-pentaeno, donde las muestras de raquis de palma con granza de avena pico 14 (anexo L) y pulpa de café con granza de avena pico 11 (anexo H) presentaron las concentraciones más altas 0,256 y 0,245 mg/g de hongo seco, respectivamente. “Este triterpeno se ha identificado en el hongo *Pleurotus sajor-cajú*⁹⁹, también se ha encontrado en el hongo comestible *Laccaria laccata*¹⁰⁰ .

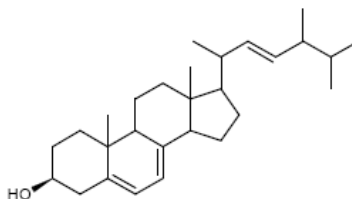
7.4.2. Esteroles y triterpenos. Los espectros de masas de cada uno de los anteriores compuestos se muestran a continuación. Se especificaron las señales características sólo del Ergosterol, ya que éste es el de mayor concentración y está presente en las seis muestras.

Figura 10. Espectro de masas de Ergosterol



Fuente: esta investigación

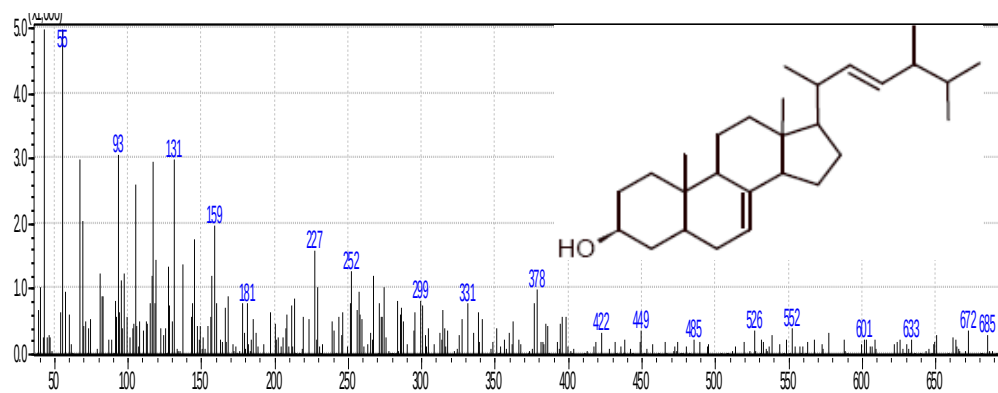
Este esterol presenta iones m/z (%): 396[M+ (64.64)]; 363 (100); 271 (5.31); 253 (20.15); 211 (15.21); 143 (17.29).



⁹⁹ NIETO, Ivonne y CHEGWIN, Carolina. Op. cit., p. 1515-1517.

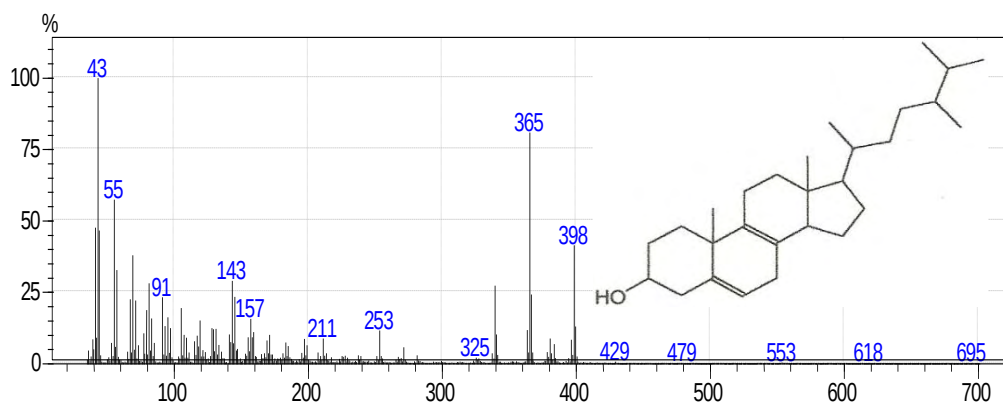
¹⁰⁰ NIETO, Ivonne y CUCAITA, Edna del P. Op. cit., p. 277-284.

Figura 11. Espectro de masas de Ergosta 7,22-dien-3 β -ol



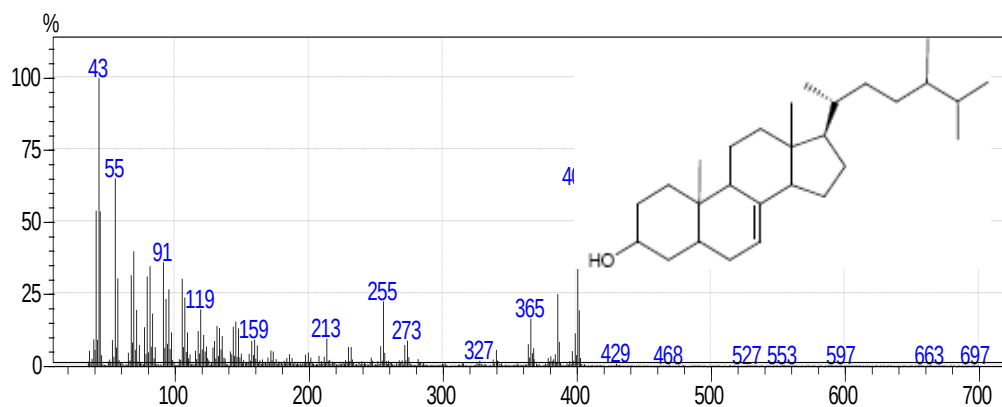
Fuente: esta investigación

Figura 12. Espectro de masas de Ergosta 5,8-dien-3 β -ol



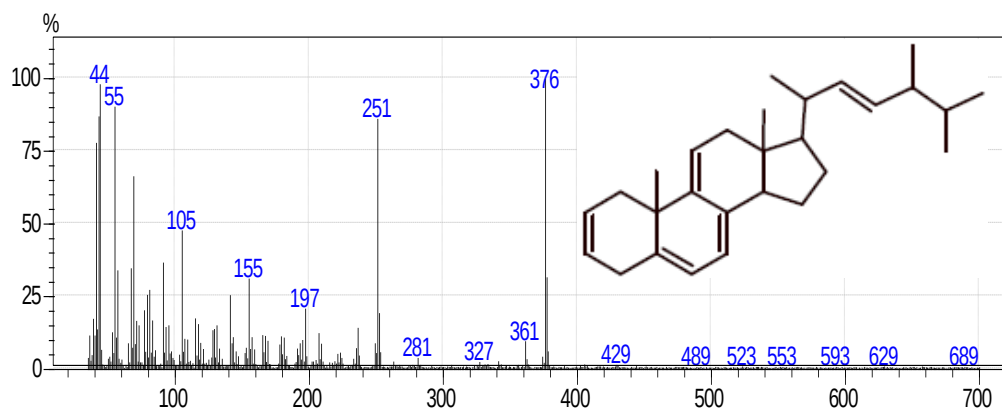
Fuente: esta investigación

Figura 13. Espectro de masas de Fungisterol



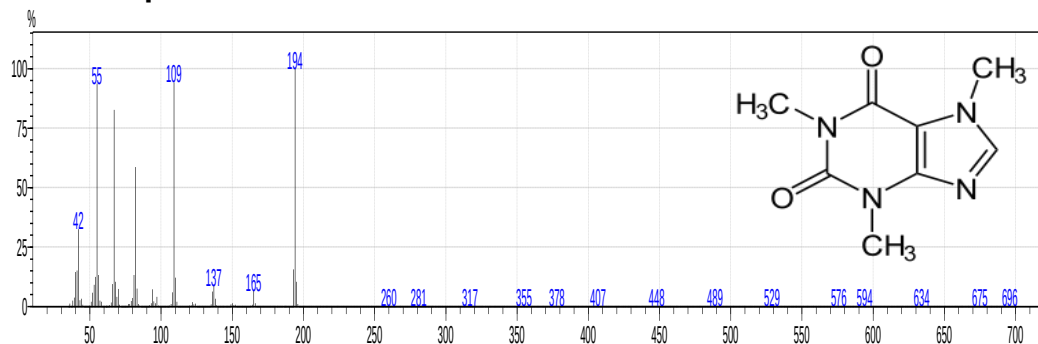
Fuente: esta investigación

Figura 14. Espectro de masas de Ergosta-2,5,7,9(11),22-pentaeno



Fuente: esta investigación

Figura 15. Espectro de masas de Cafeína



Fuente: esta investigación

7.4.3 Análisis estadístico de los esteroides mayoritarios y triterpenos Al realizar el análisis de varianza y la prueba de rangos múltiples para los esteroides y triterpenos identificados se obtuvieron los siguientes resultados.

Cuadro 22. Análisis de varianza del Ergosterol

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1,83652	5	0,367305	12665,68	0,0000
Intra grupos	0,000174	6	0,000029		
Total (Corr.)	1,8367	11			

Fuente: esta investigación

Cuadro 23. Prueba de Múltiple Rangos del Ergosterol

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Pulpa	2	1,254	X
Raquis Avena	2	1,563	X
Fique Avena	2	1,672	X
Fique	2	2,001	X
Raquis	2	2,016	X
Pulpa Avena	2	2,483	X

Fuente: esta investigación

Al realizar el análisis de varianza ANOVA para las medias obtenidas de las seis muestras, se observa que existe diferencia significativa entre éstas, para un nivel de confianza del 95%. Con la prueba de múltiple rangos se determina que las concentraciones obtenidas de Ergosterol en cada muestra son significativamente diferentes entre sí. En los tratamientos que se obtuvo una mayor y menor concentración de Ergosterol fueron pulpa de café enriquecido con granza de avena y pulpa de café, respectivamente. Se observó que enriquecer los sustratos con granza de avena sólo tuvo un efecto positivo en el aumento de la concentración del Ergosterol con pulpa de café, mientras que con bagazo de fique y raquis de palma éste fue inverso, es decir que hubo una disminución en la concentración de Ergosterol. Esto se pudo presentar por la variación en el contenido de lignina de la granza de avena en cada sustrato, de igual forma éstos tiene sus propios componentes químicos que al mezclarse con la granza de avena pueden influenciar en los resultados que se obtienen del metabolismo del hongo.

Cuadro 24. Análisis de varianza del Ergosta 5,8-dien-3 β -ol

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,00917067	5	0,00183413	101,90	0,0000
Intra grupos	0,000108	6	0,000018		
Total (Corr.)	0,00927867	11			

Fuente: esta investigación

Cuadro 25. Prueba de Múltiple Rangos del Ergosta 5,8-dien-3 β -ol

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Raquis	2	0,035	X
Fique Avena	2	0,038	X
Pulpa	2	0,06	X
Raquis Avena	2	0,084	X
Fique	2	0,091	X
Pulpa Avena	2	0,11	X

Fuente: esta investigación

Con el Valor-P inferior a 0,05 en la prueba de varianza ANOVA demuestra que existe una diferencia significativa entre las medias de las seis muestras para el Ergosta 5,8-dien-3 β -ol. Sin embargo, una vez realizadas las pruebas de múltiple rangos se observa que no hay diferencia significativa entre las muestras de raquis de palma y bagazo de fique con granza de avena (grupo 1), raquis de palma con granza de avena y bagazo de fique (grupo 3).

Además se observa que en la muestra de raquis de palma se obtuvo la menor concentración del Ergosta 5,8-dien-3 β -ol y en la muestra de pulpa de café con granza de avena se encontró la mayor concentración del mismo. Para las muestras de raquis de palma y pulpa de café existe un aumento en la producción del esterol cuando se enriqueció el sustrato con granza de avena, un comportamiento opuesto se observó con el sustrato bagazo de fique, ya que este sustrato enriquecido con granza de avena presentó una disminución de este esterol.

Cuadro 26. Análisis de varianza del Fungisterol

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,0136867	5	0,00273733	152,07	0,0000
Intra grupos	0,000108	6	0,000018		
Total (Corr.)	0,0137947	11			

Fuente: esta investigación

Cuadro 27. Prueba de Múltiple Rangos del Fungisterol

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Pulpa	2	0,03	X
Pulpa Avena	2	0,035	X
Raquis Avena	2	0,038	X
Fique	2	0,038	X
Fique Avena	2	0,095	X
Raquis	2	0,116	X

Fuente: esta investigación

Al igual que en los anteriores esteroides, con el fungisterol existe una diferencia significativa entre las medias de las concentraciones obtenidas de éste. Una vez realizada la prueba de múltiple rangos se observan que en el primer grupo no existen diferencias significativas entre las muestras de pulpa de café, pulpa de café con granza de avena, raquis de palma con granza de avena y bagazo de fique. El segundo y tercer grupo está conformado por las muestras de bagazo de fique con granza de avena y raquis de palma, respectivamente. Es importante aclarar que existe una diferencia significativa entre las medias de los tres grupos. Al enriquecer los sustratos con granza de avena se encontró que las muestras de pulpa de café no presentan diferencia significativa mientras que para las muestras de bagazo de fique la concentración de fungisterol aumenta y para raquis de palma disminuye.

Cuadro 28. Análisis de varianza del Ergosta-2,5,7,9(11),22-pentaeno

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,061867	5	0,0123734	608,53	0,0000
Intra grupos	0,000122	6	0,000020333		
Total (Corr.)	0,061989	11			

Fuente: esta investigación

Cuadro 29. Prueba de Múltiple Rangos Ergosta-2,5,7,9(11),22-pentaeno

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Pulpa	2	0,057	X
Fique	2	0,108	X
Fique Avena	2	0,135	X
Raquis	2	0,186	X
Pulpa Avena	2	0,245	X
Raquis Avena	2	0,256	X

Fuente: esta investigación

Ya que el Valor-P es inferior a 0,05 se demuestra que existe una diferencia significativa entre las medias de las concentraciones del triterpeno ergosta-2,5,7,9(11),22-pentaeno en las muestras. Con la prueba de múltiple rangos se observa que no existe diferencia significativa entre las concentraciones de pulpa de café y raquis de palma enriquecidas con granza de avena, mientras que si se presenta diferencia significativa entre estas muestras y las de pulpa de café, bagazo de fique, bagazo de fique con granza de avena y raquis de palma. Se encontró que al enriquecer los sustratos bases con granza de avena se obtuvo un aumento en la concentración del triterpeno.

De los resultados obtenidos para ácidos grasos, se encontró que el mejor sustrato fue pulpa de café debido a que con este se obtuvo la mayor cantidad de ácidos grasos totales y a su vez de ácidos grasos insaturados. En cuanto al análisis estadístico para esteroides, se puede afirmar que los sustratos de pulpa de café y raquis de palma enriquecidos con granza de avena presentan las concentraciones más altas, respecto a los otros sustratos. Lo anterior indica que los sustratos utilizados para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* enriquecidos o no con materiales de alto contenido de lignina, influyen en el metabolismo y por ende en la concentración de los compuestos, tal como lo confirman en sus estudios Forero¹⁰¹ y Nieto¹⁰².

En la mayoría de estudios que se han llevado a cabo en el hongo *Pleurotus ostreatus* se enfocan en mejorar la producción de éste, aumentar el conocimiento en cuanto a su valor nutricional e identificar nuevos sustratos para su cultivo. Como resultados se han encontrado esteroides y triterpenos entre los cuales se destacan Ergosta-2,5,7,9(11),22-pentaeno, Ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol (Ergosterol),

¹⁰¹ FORERO, Clara; HOYOS, Olga y BAZANTE, William. Op. cit., p. 42-53.

¹⁰² NIETO, Ivonne y CHEGWIN, Carolina. Op. cit., p. 169-178.

“Ergosta-7,22-dien-3 β -ol y Ergosta-7-en-3 β -ol, en *Pleurotus sajor-cajú* cultivado en pulpa de café. Asimismo, se ha reportado en el *Pleurotus ostreatus* predominan los ácidos grasos insaturados como linoleico y oleico y en menor cantidad los saturados como el ácido palmítico”¹⁰³. De igual forma, en este trabajo todos los compuestos que se mencionaron anteriormente se identificaron en el cuerpo fructífero del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en sustratos a base de pulpa de café, bagazo de fique y raquis de palma de aceite.

¹⁰³ YILMAZ, Necmettin; SOLMAZ, Mehtap; TURKEKUL, Ibrahim; ELMASTAS, Mahfuz. Op. cit., p. 168–174.

CONCLUSIONES

Mediante la técnica de Cromatografía de Gases –FID se identificaron 3 ácidos grasos mayoritarios los cuales fueron el ácido palmítico, oleico y linoleico presentes en los seis sustratos.

Se presentó una mayor concentración de ácido palmítico con un porcentaje de área igual a 14,39%, oleico 16,26% y linoleico 76,65% en las muestras de bagazo fique con granza de avena, raquis de palma con granza de avena y pulpa de café, respetivamente.

Los esteroides Ergosterol, Ergosta 5,8-dien-3 β -ol y Fungisterol se encontraron en los seis sustratos, con unas concentraciones máximas de 2,483 mg/g, 0,11 mg/g y 0,116 mg/g de hongo seco. Mientras el Ergosta 7,22-dien-3 β -ol sólo se identificó en las muestras de pulpa de café y pulpa de café con granza de avena.

Se identificó el Ergosta-2,5,7,9(11),22-pentaeno, el cual se encontró en las seis muestras. El sustrato con la mayor concentración de éste fue raquis de palma con granza de avena con un valor de 0,256 mg/g de hongo seco.

No se presentó un efecto significativo en la concentración de ácidos grasos y esteroides en los sustratos de pulpa de café, bagazo de fique y raquis de palma de aceite al ser enriquecidos con granza de avena.

Realizado el análisis de Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas, se encontró Cafeína en las muestras de pulpa de café y pulpa de café con granza de avena, indicando que el hongo *Pleurotus ostreatus* no puede degradar este tipo de compuestos.

Se identificaron otros compuestos como el etil-hexadecanoato y el 3-metilnonadecano, donde la mayor cantidad del primero fue en raquis de palma y la concentración más alta del hidrocarburo se encontró en raquis de palma con granza de avena.

Se encontró que los sustratos utilizados para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*, influyen en el metabolismo del hongo y a su vez en las concentraciones de los componentes identificados.

RECOMENDACIONES

Poner en práctica el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* utilizando los sustratos estudiados, con el fin de dar un mejor uso a los residuos agroindustriales dándole un valor agregado a éstos.

Investigar acerca de las utilidades farmacológicas y propiedades que los esteroides encontrados en esta investigación puedan tener, ya que en literatura se encuentra poca información acerca de los beneficios de estos compuestos.

Realizar estudios en donde se encuentren otros compuestos que el hongo no pueda degradar que enriquezcan el valor nutricional del hongo, teniendo en cuenta el sustrato que se utilice para el cultivo de éste.

Estudiar las características organolépticas del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*, al ser cultivado en los sustratos de pulpa de café, bagazo de fique y palma de aceite.

BIBLIOGRAFÍA

AGUILAR GAITÁN, Martha Eugenia. Aprovechamiento de cascaras de pitaya para el crecimiento de setas (*Pleurotus ostreatus*) en condiciones de laboratorio. Trabajo de grado Ingeniera de Alimentos. Oaxaca: Universidad tecnológica de la Mixteca. Facultad de Ingeniería, 2003. 20-21 p.

ARROYAVE, Paola y VELÁSQUEZ, David. Aprovechamiento integral de *Furcraea macrophylla* Backer. Medellín: Universidad EAFIT. Departamento de Ingeniería de Procesos, 2001. 250 p.

ARTURO PERDOMO, David. Metodología para el análisis de ácidos grasos. Laboratorio de especializados Universidad de Nariño. San Juan de Pasto, Colombia. Observación inédita.

ÁVILA, Jenner y CASTILLO, Emilse. Estudio de factibilidad para el montaje de una cooperativa para la producción de jabón en barra para lavar y jabón líquido industrial a partir de aceite ácido de palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq). En la empresa Astorga S.A., Tumaco-Nariño-Colombia. Trabajo de grado Ingeniero Agroindustrial. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de Ingeniería Agroindustrial, 2005. 43 p.

AULT, Addison. Techniques and experiments for organic chemistry. 6 ed. USA: University Science. Books, 1997. 117 p.

BENAVIDES, Olga Lucía. Estudio químico de la fracción insaponificable del hongo macromiceto *Lentinula edodes* (Shitake). Trabajo de grado Magister en Ciencias – Química. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias – Programa de Posgrado en Química, 2004. 38, 40 p.

BLIGH, E.G. y DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. En: Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. 1959. vol. 37. p. 911-917.

BRAHAM, J. Edgar y BRESSANI, Ricardo. Pulpa de café: Composición, tecnología y utilización. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, 1978. 21 p.

CALVO, Miguel. Bioquímica de los alimentos. Editorial Universidad de Zaragoza, 1992.

CARDONA URREA, Luis Fernando. Anotaciones acerca de la bromatología y el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* En: Crónica forestal y del medio ambiente. 2001.no. 16. p. 99-119.

CASTELLANOS, Alexis y ORDÓÑEZ, Angélica. Análisis bromatológico, ácidos grasos y esteroides mayoritarios del hongo silvestre *Cantharellus lateritius* var. *Colombianus* R.H. Petersen del alto de Daza (Nariño). Trabajo de grado Químico. San Juan de Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – Departamento de química, 2010. 41 – 43 p.

CASTILLO, Edwin y FLOREZ, José. Estudio de factibilidad para la producción de carbón activado, a partir de la cascarilla de la palma africana (*Elaeis guineen*) en el municipio de San Andrés de Tumaco Nariño-Colombia. Trabajo de grado Ingeniero Agroindustrial. Pasto: Universidad de Nariño. Facultad de Ingeniería Agroindustrial, 2003. 20 p.

CENICAFÉ. Manejo de subproductos. 2011. (En línea). Disponible en: <http://www.cenicafe.org/es/index.php/cultivemos_cafe/manejo_de_subproductos/> [Citado el 30 de Octubre de 2012]

COLOMBIA. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL. Guía ambiental del subsector Fiquero. 2006.

DIMOU, Dimitris M; GEORGALA, Aikaterini; KOMAITIS, Michael; AGGELIS George. Mycelial fatty acid composition of *Pleurotus* spp. and its application in the intrageneric differentiation. En: The British Mycological Society. Agosto, 2002. vol.106, no.8. p. 925-929.

ESCOBAR ROLDÁN, Jorge Iván. Producción de hongos comestibles para exportación a partir de los desechos de la mata de café como medio de aprovechamiento de los recursos naturales. Trabajo de grado Licenciado en Administración de Empresas con especialidad en Negocios Internacionales. Guatemala: Universidad del Istmo. Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales, 2006. 7, 26-27 p.

FORERO, Clara; HOYOS, Olga y BAZANTE, William. Evaluación de residuos de ají (*capsicum* spp.) como sustrato en la producción de setas comestibles (*pleurotus ostreatus*). En: Facultad de Ciencias Agropecuarias. 2008. vol 6. no. 1. 42-53 p.

GARZÓN, Juan Pablo y CUERVO, Jairo Leonardo. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. En: NOVA - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. 2008. vol. 6. no. 10. p. 126-140.

GIERA, Martin y BRACHER, Franz. First Total Synthesis of Ergosta-5,8-dien-3 β -ol. En: Sci Pharm. 2008.vol.76. p. 599–604.

GIRÓN DE LEÓN, Danny. Cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* en subproductos lignocelulósicos derivados de la agroindustria de la palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq). Trabajo de grado Ingeniero Agrónomo. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Agronomía, 2000. 41 – 42 p.

HERNÁNDEZ, Ma. Elena y BAUTISTA, Mayela. Valor nutritivo de setas (*Pleurotus ostreatus*), cultivadas en paja de trigo y bagazo de agave (*Agave Tequilana* Weber, var. azul) enriquecido con col. 2006. 1 p.

HERNÁNDEZ, Ricardo y LÓPEZ, Claudia. Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del departamento de Cundinamarca. Trabajo de grado Microbiólogo Industrial. Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias, 2008. 15, 45 p.

KALAC, P. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. En: Food Chemistry. 2009. no.113, p. 9–16.

LUQUE, J. Ernesto. Bioquímica descriptiva. 1 ed. Pasto: CEPUN, 1995. 152 - 154 y 167 p.

MAKIN, H y GOWER, D. Steroid Analysis. 2 ed. New York: Springer, 2010. 1-2 p.

MARTÍNEZ-CARRERA, D. Oyster mushrooms. New York: McGraw Inc., 1999. 242-245 p.

MONTOYA, Sandra y RESTREPO, Gloria. Evaluación de la síntesis de proteína a partir del crecimiento vegetativo de *Pleurotus* sp. sobre residuos de algarrobo y uva pasa. En: Revista Universidad de Caldas. 2006. p. 23 – 31.

MORA, Álvaro y GOMEZ, Álvaro. Impacto ambiental en el establecimiento de palma africana en selva, costa pacífica, Tumaco. Tesis de grado Especialista en Ecología. Pasto: Universidad de Nariño. Departamento de Biología, 1989. 41,43,48-50, 60-61 p.

MORENO, José. Aprovechamiento ecológico del bagazo de fique como sustrato en la producción y comercialización de dos especies de orellanas comestibles: *Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus djamor*. Río Negro, Antioquia: Universidad Católica de Oriente. 1996. 52 p.

NIETO, Ivonne y CHEGWIN, Carolina. Influencia del sustrato utilizado para el crecimiento de hongos comestibles sobre sus características nutraceuticas. En: Revista Colombiana de Biotecnología. 2010. vol.12, no.1. p. 169-178.

_____. Triterpenoids and fatty acids identified in the edible mushroom *Pleurotus sajor-cajú*. En: Journal of de Chilean Chemical Society. 2008. vol. 53, no.2. p. 1515-1517.

NIETO, Ivonne; CHEGWIN, Carolina; OSORIO, Héctor Jairo. Incorporación de cafeína en el hongo *Pleurotus sajor-caju* cultivado sobre pulpa de café. En: Revista Iberoamericana de Micología. 2007. vol. 24, no. 1. p. 72-74.

NIETO, Ivonne y CUCAITA, Edna del P. Ácidos grasos, ésteres y esteroides del cuerpo fructífero del hongo *Laccaria laccata*. En: Revista Colombiana de Química. 2007. vol. 36, no.3. p. 277-284.

NIETO, Ivonne y VALENCIA, Meiser. Esteroides, ácidos grasos e hidrocarburos de los cuerpos fructíferos de *Ganoderma australe*. En: Sociedad Chilena de Química. 2002. vol. 47, no.4. p. 511-516.

ORTEGA, Grisel María; BUENO, Gloria; BETANCOURT, Dionisio; ÁLVAREZ, Ivis; GONZÁLEZ, Ana. Biotransformación de residuos lignocelulósicos con hongos *Pleurotus*. En: CENIC ciencias biológicas. 2005. vol. 36.

PÉREZ, Jorge. El fique su taxonomía, cultivo y tecnología. 2 ed. Medellín: Colina. 1974. 10,11 y 19 p.

Preparación y utilización de Ergosta-7 ,22-dien-3beta-Ol. Inventor: Hei Ling Helen, CHAN. Estados Unidos, patente de investigación. US 2009/0247497 A1. 1, Octubre, 2009.

RATHINAVELU, Rajkumar y GRAZIO, Giorgio. Posibles usos alternativos de los residuos y subproductos del café. Disponible en: <http://infocafes.com/descargas/biblioteca/112.pdf>

RIBEIRO, Bárbara; DE PINHO, Paula; ANDRADE, Paula; BAPTISTA, Paula; VALENTÃO, Patrícia. Fatty acid composition of wild edible mushrooms species: A comparative study. En: Microchemical journal. 2009. no. 93. p. 29–35.

RIVERA, Augusto; NIETO, Ivonne; VALENCIA, Meiser. Composición y cuantificación por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de la fracción esteróica de once hongos colombianos. En: Colombiana de Química. 2002. vol. 31, no. 2. p. 95-102.

RIVERA, Augusto; OSORIO, Héctor Jairo; RÍOS-MOTTA, Jaime; NIETO, Ivonne J.; LAVERDE, Cilia Marilu. Dehidroergosterol: un artefacto generado durante el proceso de extracción de esteroides en el hongo *Pleurotus sajor-caju*. En: Revista Colombiana de Química. 2005. vol.34, no.2. p. 117-125.

RODRIGUEZ, Gustavo. Cultivo de hongos comestibles, En: Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Comahue. 2007. no. 52, p. 10- 15.

RODRÍGUEZ, N. y JARAMILLO, C. Cultivo de hongos comestibles del genero *Pleurotus* sobre residuos agrícolas de la zona cafetera. En: Cenicafé, Boletín técnico No. 27. 2005. 56 p.

RODRÍGUEZ, N. y ZULUAGA, V. Cultivo de *Pleurotus pulmonarius* en pulpa de café. En: Cenicafé. 1994. vol. 45, no. 3. p. 81-92.

ROMERO, M. *Pleurotus ostreatus*: Grandes perspectivas para la alimentación animal y humana. Cienfuegos: MINAZ. 1990.

RUIZ, Marilza Piedad. Aplicación de la ingeniería de matrices en el desarrollo de hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus*) mínimamente procesados, fortificados con vitaminas c, e y minerales calcio y zinc. Trabajo de grado Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Medellín: Universidad de Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 2009. 19 - 22 p.

SALMONES, Dulce; MATA, Gerardo; WALISZEWSKI, Krzysztof. Comparative culturing of *Pleurotus* spp. on coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation. En: Bioresource Technology. 2005. vol. 96. p. 537–544.

Seminario Internacional Gestión Integral de Residuos de Residuos Sólidos y Peligrosos. (Noviembre, 1999: Medellín, Colombia). Manejo de los residuos en la agroindustria cafetera. Medellín: Cenicafé, 1999. 10 p.

SKOOG, Douglas; HOLLER, James; NIEMAN, Timothy. Principios de análisis instrumental. 5 ed. Madrid, España: McGraw-HILL, 1992. 731, 759, 765, 777-778, 824 p.

SOLOMKO, E. F; PANCHENKO, L. P; SILCHENKOVA, R. K. Lipids content and fatty acids composition of a higher edible fungus – oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer. En: Applied biochemistry and microbiology. 1984. vol. 20, no.2. p. 224-229.

TEIJÓN RIVERA, José María y GARRIDO PERTIERRA, Amando. Fundamentos de la bioquímica estructural. 2 ed. Madrid: Tebár, S.L., 2006. 385 p.

TOLEDO GIRÓN, Cintya Lizbeth. Proyecto de beneficiado ecológico de café en aldea plan de sánchez, rabinal, salamá, baja verapaz. Trabajo de grado Ingeniera Industrial. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ingeniería, 2003. 66 p.

TRIGOS, A. y SUAREZ, J. Los hongos como alimentos funcionales y complementos alimenticios. En: Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción – consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica. 2010. Capítulo 5. p. 59-76.

VILORA DE LA HOZ, Joaquín. Economía del departamento de nariño: ruralidad y aislamiento geográfico. Banco de la República, 2007. 50, 62, 70 p.

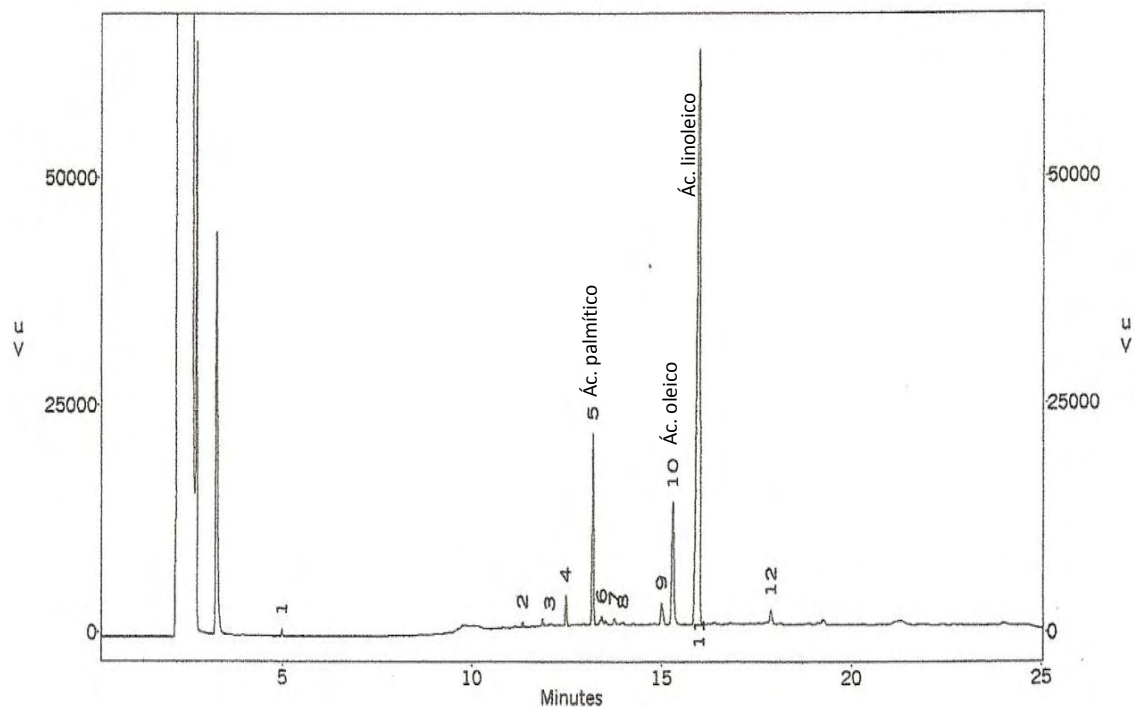
VIZITEU, Gabriel. Paja de cereal y mazorca o marlos de maíz. En: Manual del Cultivador de Hongos: Cultivo del hongo ostra. República de Corea: MushWorld, 2005. Capítulo 5. p. 94.

YILMAZ, Necmettin; SOLMAZ, Mehtap; TURKEKUL, Ibrahim; ELMASTAS, Mahfuz. Fatty acid composition in some wild edible mushrooms growing in the middle black sea region of turkey. En: food chemistry, 2006. no. 99. p. 168–174.

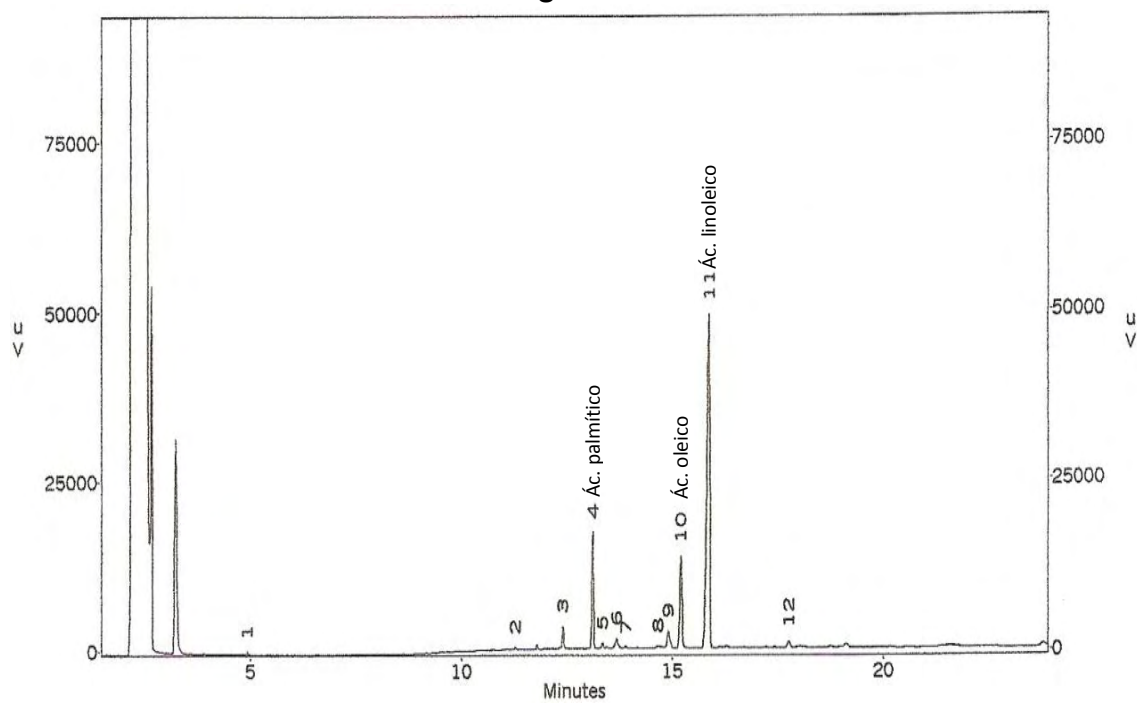
YITZHAK, Hadar y COHEN-ARAZI, Ephraim. Chemical composition of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* Produced by fermentation. En: Applied and Environmental Microbiology. Junio, 1986. vol. 51, no. 6. p. 1352-1354.

ANEXOS

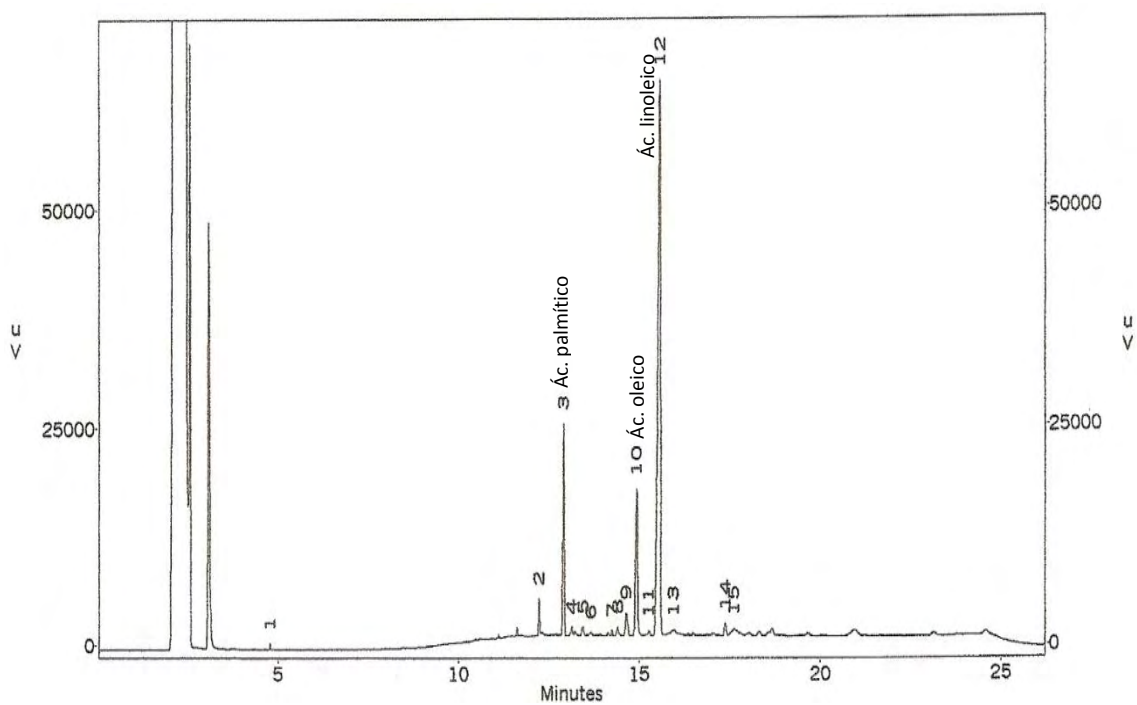
Anexo A. Perfil cromatográfico del extracto derivatizado – muestra Pulpa de café.



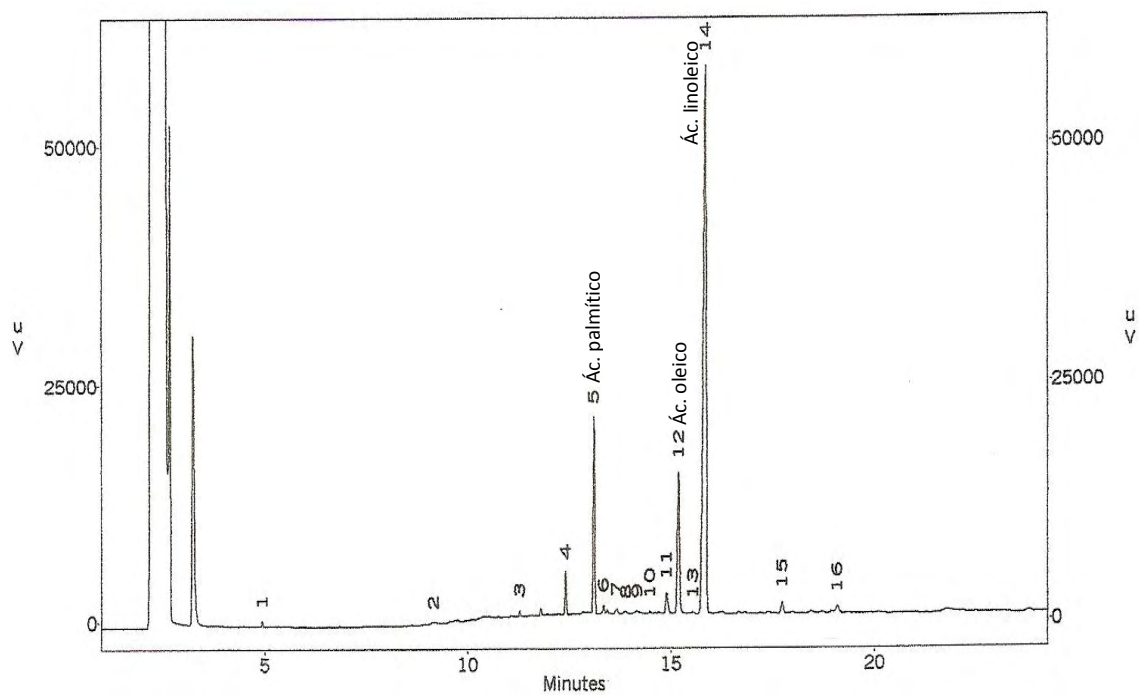
Anexo B. Perfil cromatográfico del extracto derivatizado - muestra Pulpa de café con granza de avena.



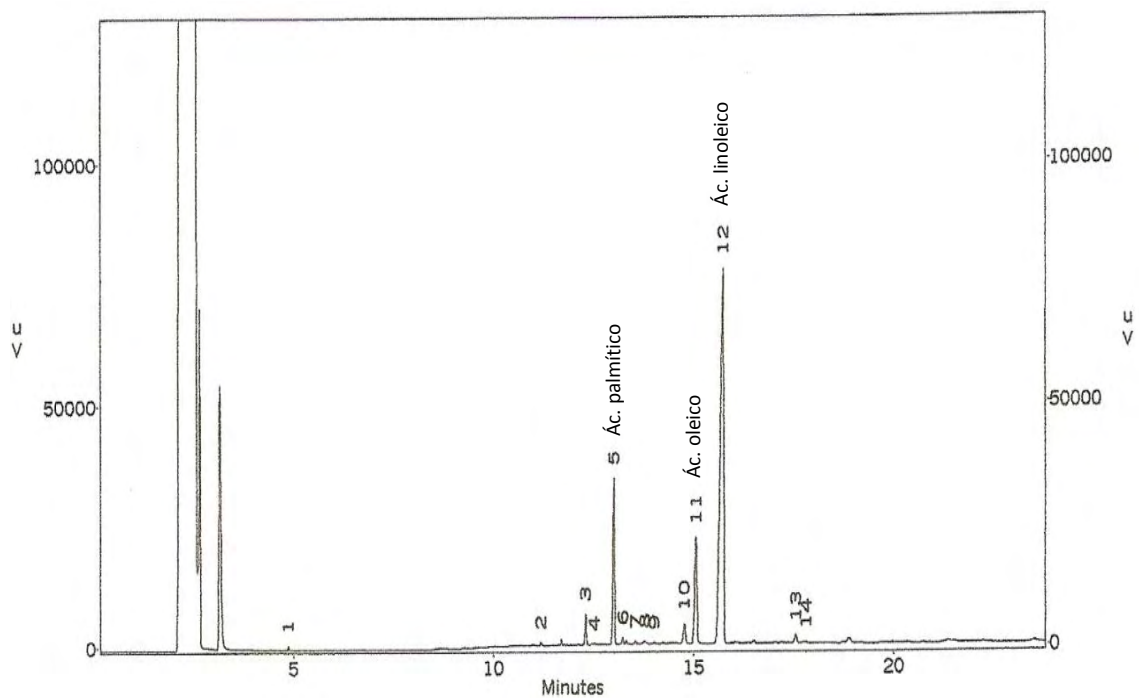
Anexo C. Perfil cromatográfico del extracto derivatizado - muestra Bagazo de fique.



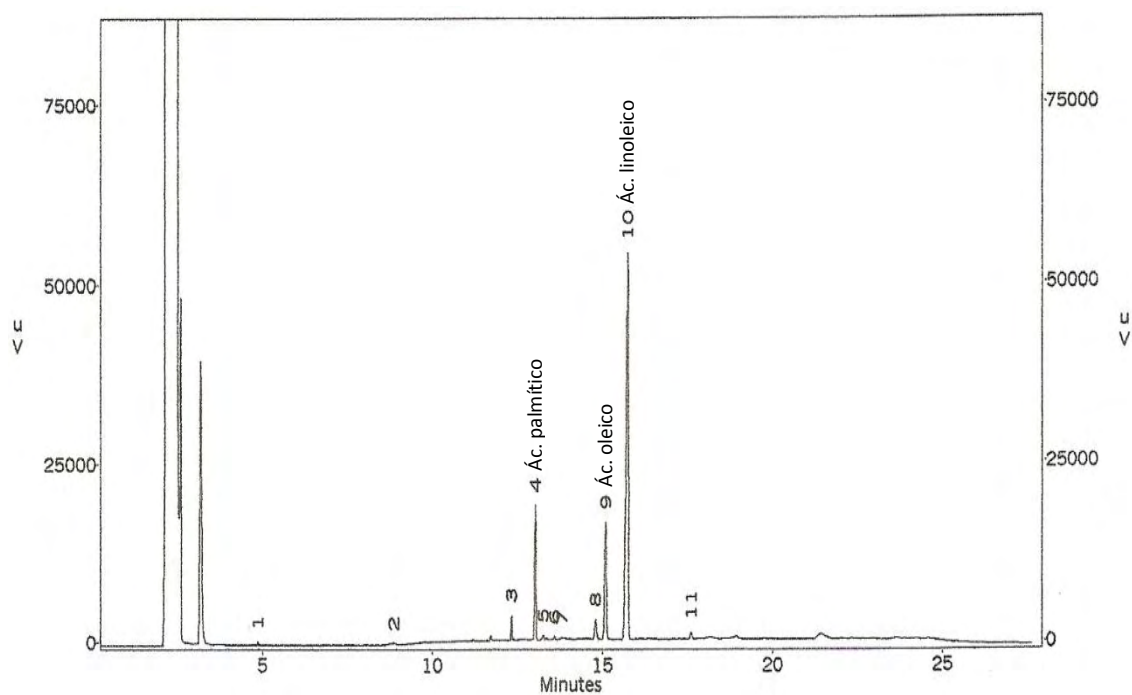
Anexo D. Perfil cromatográfico del extracto derivatizado - muestra Bagazo de fique con granza de avena.



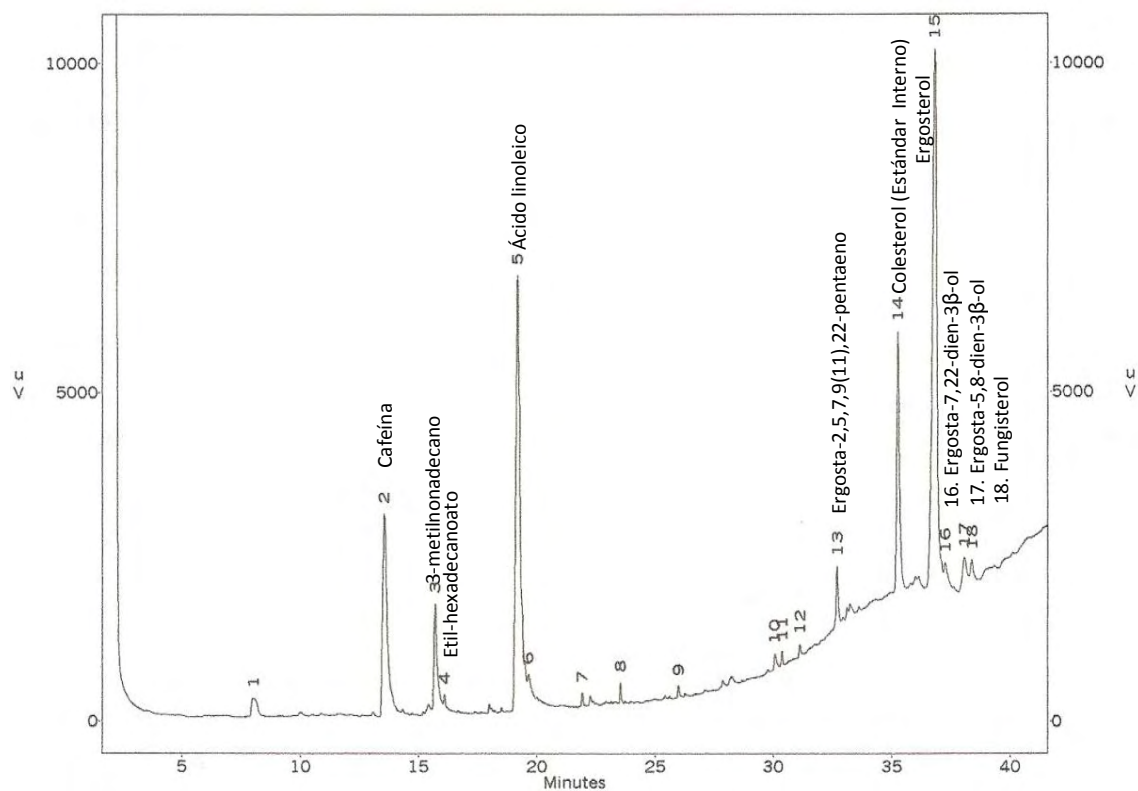
Anexo E. Perfil cromatográfico del extracto derivatizado - muestra Raquis de palma.



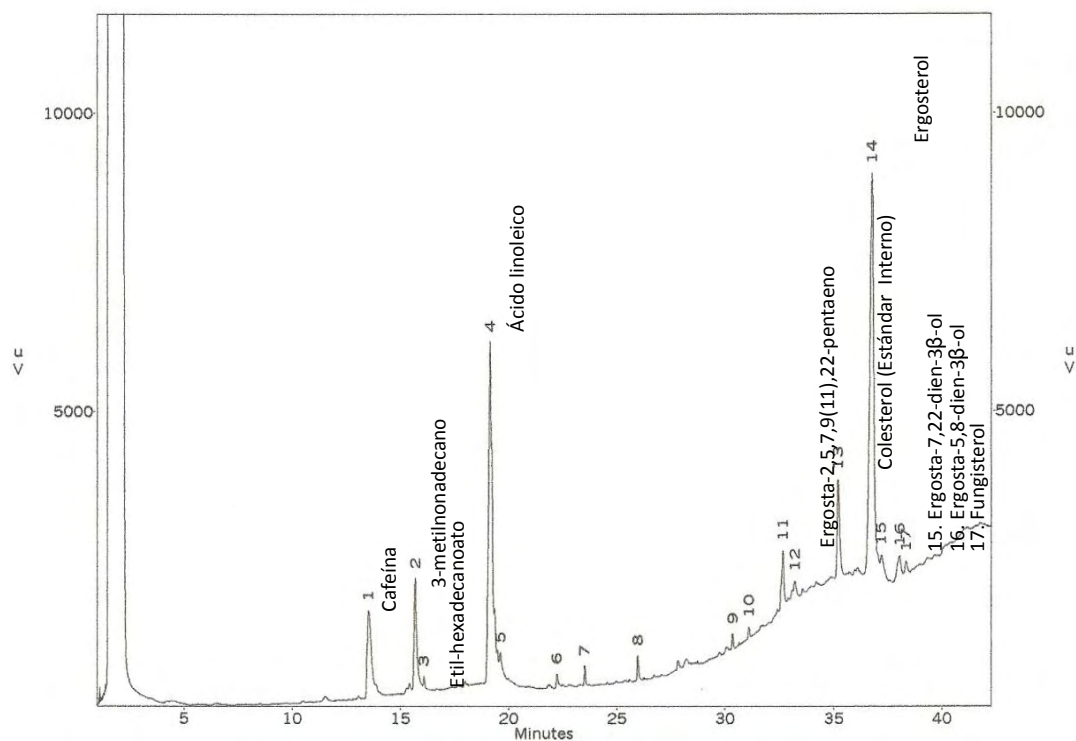
Anexo F. Perfil cromatográfico del extracto derivatizado - muestra Raquis de palma con granza de avena.



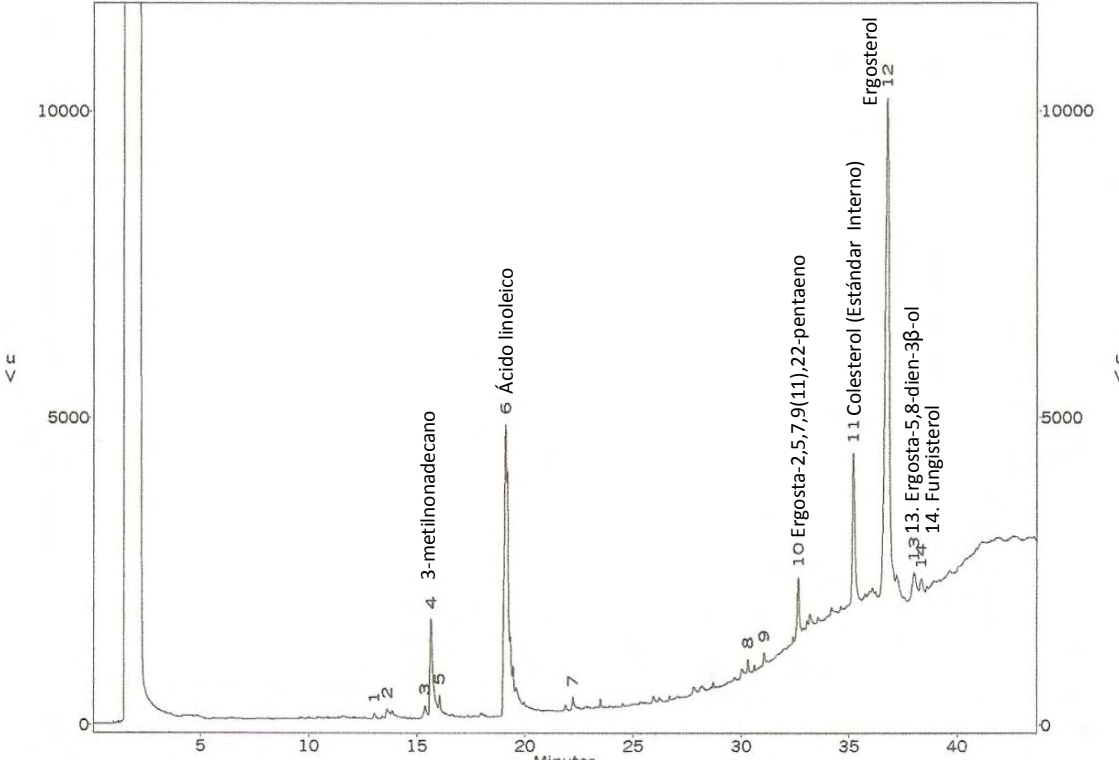
Anexo G. Perfil cromatográfico de esteroides - muestra Pulpa de café



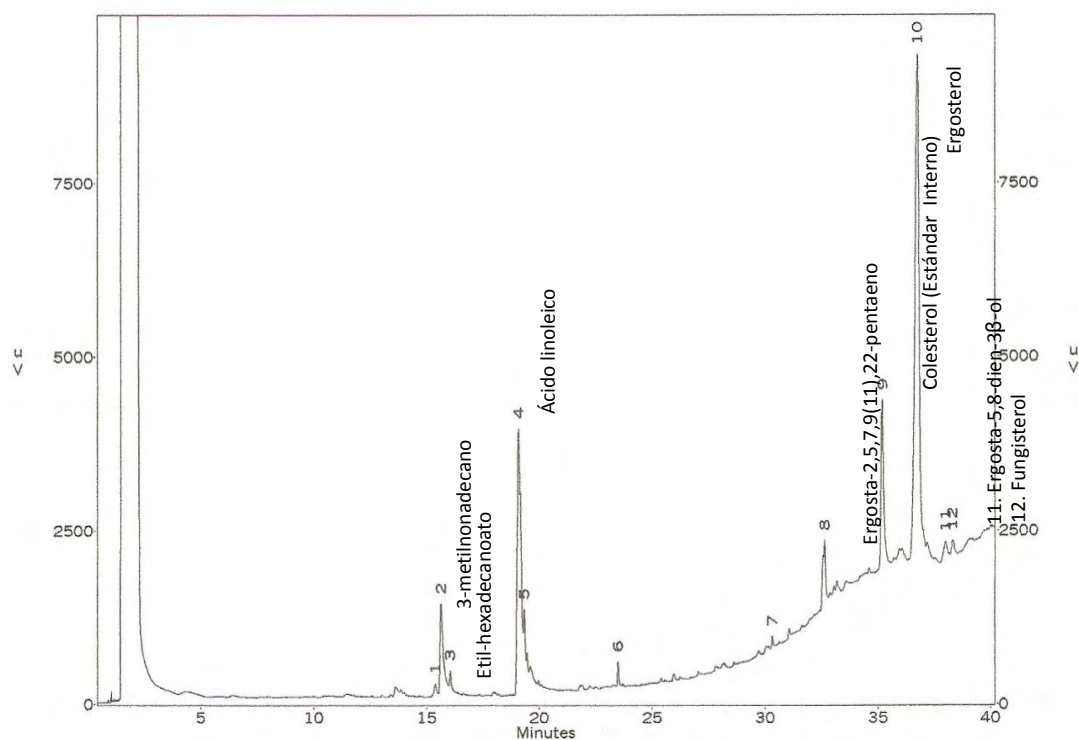
Anexo H. Perfil cromatográfico de esteroides – muestra Pulpa de café con granza de avena



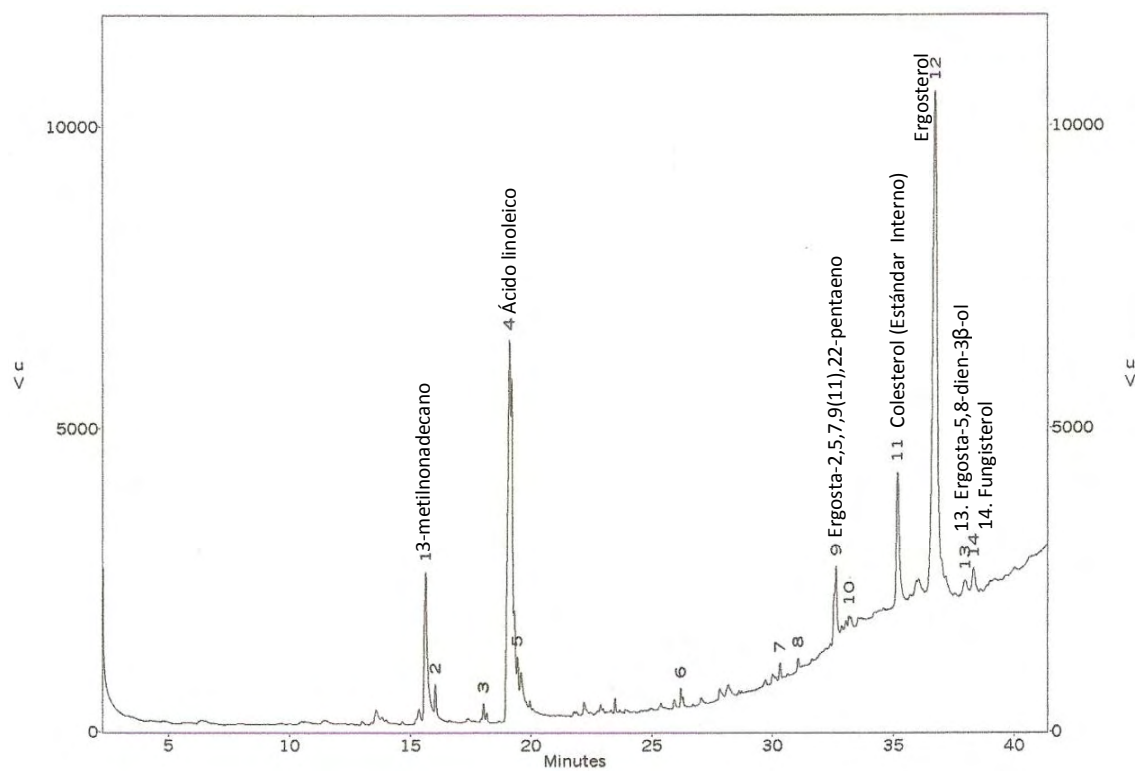
Anexo I. Perfil cromatográfico esteroides - muestra Bagazo de fique



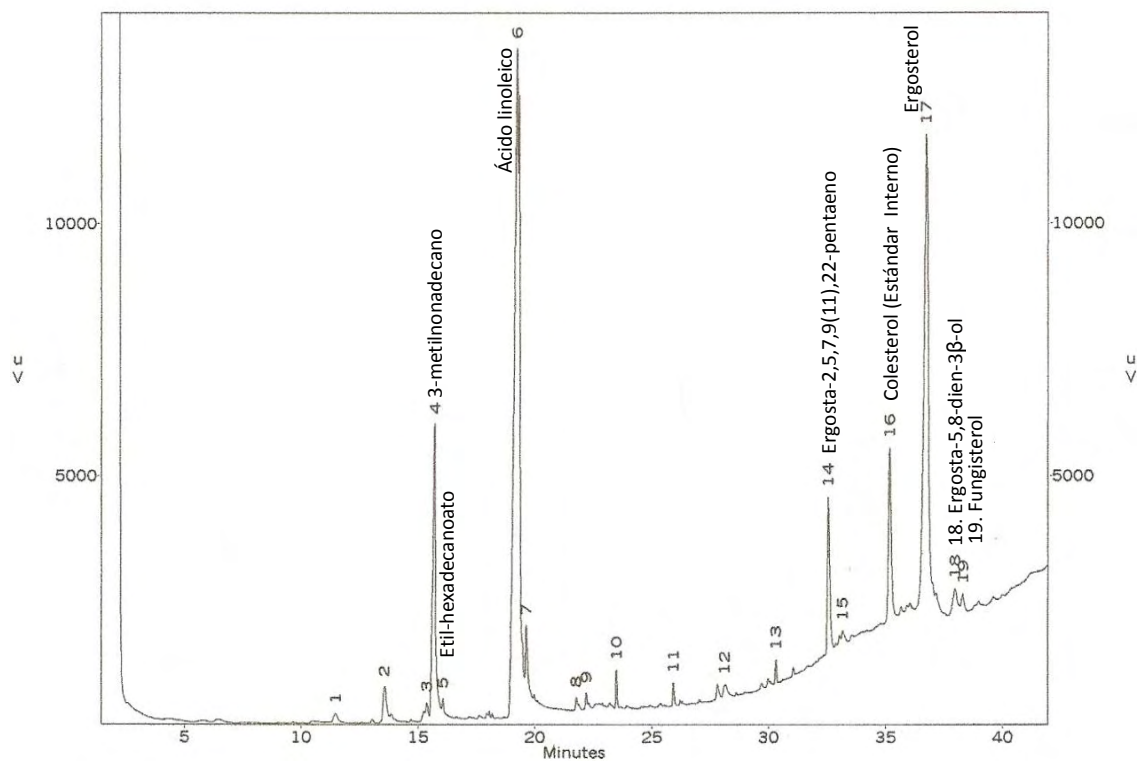
Anexo J. Perfil cromatográfico esteroides – muestra Bagazo de fique con granza de avena



Anexo K. Perfil cromatográfico esteroides - muestra Raquis de palma



Anexo L. Perfil cromatográfico esteroides – muestra Raquis de palma con granza de avena



Anexo M. Determinación de la concentración de esteroides

Se indica solamente para el Ergosterol en la muestra de pulpa de café, ya que el procedimiento a seguir para encontrar las concentraciones de los otros esteroides es el mismo.

Volumen del extracto final = 1 mL

Volumen adicionado de Estandar interno Colesterol = 200 μ L

$$[] \text{ Colesterol (E.I) en la muestra} = \frac{0,2 \text{ mg}}{0,0012 \text{ L}} = 166,67 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$[] \text{ Colesterol (E.I) en la muestra} = 166,67 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times \frac{100}{98}$$

$$[] \text{ Colesterol (E.I) en la muestra} = 170,068 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$[] \text{ Ergosterol en la muestra} \\ = \frac{\text{En la muestra de Colesterol (E.I)} \times \text{Area del Ergosterol}}{\text{Area del Colesterol}}$$

$$[] \text{ Ergosterol en la muestra} = 626,76 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$[] \text{ Ergosterol en la muestra} = \frac{626,76 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times \text{Volumen del extracto final}}{\text{Cantidad inicial de muestra}}$$

$$[] \text{ Ergosterol en la muestra} = \frac{626,76 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 0,001 \text{ L}}{0,5 \text{ g}}$$

$$[] \text{ Ergosterol en la muestra} = 1,254 \frac{\text{mg}}{\text{g}}$$

E.I: Estándar Interno