

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO  
DE FENOLES TOTALES DE "*Pleurotus ostreatus*" CULTIVADO EN RESIDUOS  
LIGNOCELULÓSICOS DE RAQUIS DE PALMA ACEITERA, BAGAZO DE FIQUE  
Y PULPA DE CAFÉ

ANGELA DEL CARMEN ZAMBRANO FIGUEROA

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
PROGRAMA DE QUÍMICA  
SAN JUAN DE PASTO  
2017

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE FENOLES TOTALES DE "*Pleurotus ostreatus*" CULTIVADO EN RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS DE RAQUIS DE PALMA ACEITERA, BAGAZO DE FIQUE Y PULPA DE CAFÉ

ANGELA DEL CARMEN ZAMBRANO FIGUEROA

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Químico

DIRECTOR (A):

OLGA LUCÍA BENAVIDES CALVACHE  
*M. Sc. En ciencias agrarias*

Co-ASESOR:  
JESÚS ADRIANO ROMO RAMOS  
*M. Sc. Ciencias Químicas*

UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
SAN JUAN DE PASTO  
2017

Las ideas y conclusiones aportadas en el presente trabajo de grado son de responsabilidad exclusiva de los autores.

Artículo 1° del acuerdo No.324 del 11 de octubre de 1966, emanado por el Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

---

---

---

---

---

---

Olga Lucía Benavides Calvache  
Directora

---

Jesús Adriano Romo Ramos  
Codirector

---

Juan Camilo Vargas.

---

Juan David Giraldo

San Juan de Pasto, Noviembre 28 de 2017

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, por ser el pilar de mi vida.

A mi hijo, mi esposo, mis padres, mis hermanos por apoyarme siempre.

A los docentes Olga Lucia Benavides y Jesús Romo por hacer posible el desarrollo de esta investigación y la asesoría en el trabajo.

A la vicerrectoría de investigaciones, postgrados y relaciones internacionales (VIPRI) por la financiación de esta investigación.

A Margy, David y Juan Pablo, mis ángeles, gracias por todo el apoyo, los aportes en este trabajo, los momentos de reflexión y las lecciones de vida.

A David Arturo y Juan Pablo Jiménez por sus aportes a este trabajo y todos los momentos compartidos.

A la Universidad de Nariño y a la Vicerrectoría de Investigaciones, Postgrados y Relaciones Internacionales (VIPRI), por el financiamiento de este trabajo.

Al personal de la sección de laboratorios especializados de la Universidad de Nariño, por su colaboración y comprensión, en especial a Sandra Espinoza y María del Rosario Carreño.

A los jurados Juan Camilo Vargas y Juan David Giraldo por las sugerencias oportunas en esta investigación.

A la docente Yolanda Lagos y a todos los docentes del departamento de química por haber aportado en mi formación académica.

A mis amigos Cristina, Nathalia, Darío, Camilo, Erwin, Edna, Diego, Yaneth y a todos mis compañeros por todo el tiempo compartido en este hermoso camino de mi vida.

A mi prima Diana y mi tía Rosió, por su tiempo y sus cuidados.

A los integrantes del grupo de investigación BIOTA por su colaboración y compañerismo en el desarrollo de este trabajo, en especial a los compañeros German, Raquel, Daniel y Edgar.

A Todos, Muchas Gracias.

*“Cuando camines, camina junto a los soñadores,  
A los que confían, a los que tiene coraje,  
A los alegres, a los que hacen planes, a los que actúan,  
Todos aquellos que tienen la cabeza en las nubes,  
Pero los pies en la tierra.  
Deja que su espíritu encienda tu fuego interno  
Para que entonces puedas también dejar el mundo  
Mejor de lo que lo encontraste”*

*Por ti aprendí que nunca es suficiente  
A mi Hijo Camilo y mi hermano Rolando*

## RESUMEN

Nariño es un departamento cuya economía se basa principalmente en el sector agrícola, encontrándose cultivos de café, palma aceitera, avena, fique, entre otros. Como subproducto de estos cultivos se encuentran los residuos lignocelulósicos pulpa de café, raquis de palma, bagazo de fique y granza de avena, los cuales se depositan inadecuadamente en los terrenos de cultivo generando contaminación de suelos, aire y fuentes de agua. Debido a esto surge la necesidad de aprovechar dichos residuos como sustratos de cultivo de setas comestibles con valor nutricional y propiedades antioxidantes como lo es el *Pleurotus ostreatus* (Orellana). Estudios demuestran que la variación del sustrato de cultivo influye en las propiedades nutricionales y antioxidantes en las setas comestibles, incluyendo el *P. ostreatus*.<sup>1</sup>

Mediante los métodos TEAC y Folin-Ciocalteu, se determinó la actividad antioxidante total (AAT) y el contenido de fenoles totales (FT) en los extractos de cuerpo fructífero de *P. ostreatus* cultivado en los sustratos pulpa de café, raquis de palma, bagazo de fique y granza de avena; con un análisis de varianza (ANOVA) y pruebas estadísticas se estableció la variación de los parámetros mencionados con respecto al sustrato de cultivo, así como la influencia del enriquecimiento de los sustratos con granza de avena, respecto a la AAT y el contenido de FT en el hongo *P. ostreatus*.

Los extractos de los cuerpos fructíferos cultivados en los sustratos sin enriquecer (pulpa de café, bagazo de fique, raquis de palma y granza de avena) mostraron diferencias estadísticamente significativas con respecto al contenido de FT y AAT. El extracto del cuerpo fructífero cultivado en raquis de palma presentó mayor contenido de FT ( $0,8650 \pm 1,187E-02$ ), seguido de la pulpa de café ( $0,5507 \pm 7,958E-03$ ), bagazo de fique ( $0,5114 \pm 4,444E-03$ ) y finalmente granza de avena ( $0,4206 \pm 6,663E-03$ ). La mayor AAT se observó el extracto del cuerpo fructífero cultivado en raquis de palma ( $0,21360 \pm 0,002079$ ), pulpa de café ( $0,14547 \pm 0,001269$ ), bagazo de fique ( $0,12125 \pm 0,001020$ ) y finalmente la granza de avena ( $0,08259 \pm 0,001358$ ). El enriquecimiento de los sustratos con granza de avena disminuye el contenido de FT y AAT en *P. ostreatus* cultivado en pulpa de café y raquis de palma, a diferencia del bagazo de fique donde la influencia no es significativa.

---

<sup>1</sup> SINGH, Vinita y colaboradores. Antioxidant potentiality of *Pleurotus ostreatus* (MTCC142) cultivated on different agro wast. En: Asian Journal of Plant Science and Research. 2015. Vol. 5, No.6, p.22-27

PALABRAS CLAVE: Orellana, antioxidante, ABTS, Folin-Ciocalteu, cultivo, residuos lignocelulósicos, *P. ostreatus*.

## ABSTRACT

Nariño is a department whose economy is mainly based on the agricultural sector, finding crops of coffee, oil palm, oat, fiqué, among others. As a byproduct of these crops are the lignocellulosic residues: coffee pulp, palm rachis, fiqué bagasse and oat straw, which are improperly deposited in the cultivation areas generating contamination of soil, air and water sources. Due to this, there is a need to take advantage of these residues as substrates for growing edible mushrooms with nutritional value and antioxidant properties such as *Pleurotus ostreatus* (Orellana). Studies show that the variation of the growing substrate influences the nutritional and antioxidant properties of edible mushrooms, including *P. ostreatus*.

Through the TEAC and Folin-Ciocalteu methods, it was determined the total antioxidant activity (AAT) expressed as mmolTrolox / 100g dry base and the content of total phenols (FT) as mgAG / g of dry base, in the extracts of fruiting body of *P. ostreatus* cultivated in the substrates coffee pulp, palm rachis, fiqué bagasse and oat straw; with an analysis of variance (ANOVA) and statistical tests, the variation of the evaluated aforementioned parameters with respect to the grow substrate, as well as the influence of the enrichment of the substrates with oat straw, with respect to the AAT and the content of FT of the fungus *P. ostreatus*.

The extracts of the fruiting bodies grown in the substrates without enriching (coffee pulp, bagasse from fiqué, palm rachis and oat straw) showed statistically significant differences with respect to the content of FT and AAT. The extract of the fruiting body grown in the palm rachis presented higher content of FT ( $0,8650 \pm 1,187E-02$ ), followed by the coffee pulp ( $0,5507 \pm 7,958E-03$ ), fiqué bagasse ( $0,5114 \pm 4,444E-03$ ) and finally the oat straw ( $0,4206 \pm 6,663E-03$ ). The highest AAT observed was the fruiting body extract grown in palm rachis ( $0,21360 \pm 0,002079$ ), coffee pulp ( $0,144547 \pm 0,001269$ ), fiqué bagasse ( $0,12125 \pm 0,001020$ ) and finally the oat straw ( $0,08259 \pm 0,001358$ ). The enrichment of substrates with oat straw decreases the content of FT and AAT in *P. ostreatus* cultivated in coffee pulp and palm rachis, unlike the fiqué bagasse where the influence is not significant.

**KEY WORDS:** Orellana, Antioxidant, ABTS, Folin-Ciocalteu, crop, Lignocellulosic residues, *P. ostreatus*.

## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	25
1 OBJETIVOS	28
1.1 OBJETIVO GENERAL	28
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
2 ESTADO DEL ARTE	29
2.1 MARCO TEÓRICO	29
2.1.1 <i>Macromicetos</i>	29
2.1.1.1 <i>Ascomicetos</i>	31
2.1.1.2 <i>Basidiomicetos</i>	31
2.1.2 Hongos de pudrición de la madera	33
2.1.3 <i>Pleurotus ostreatus</i>	35
2.1.3.1 Taxonomía de <i>P. ostreatus</i>	37
2.1.3.2 Características morfológicas de <i>P. ostreatus</i>	37
2.1.3.3 Ciclo reproductivo del hongo	39
2.1.4 Producción de hongos comestibles: <i>P. ostreatus</i>	39
2.1.4.1 Hongos comestibles.	39
2.1.4.2 Alimentación humana.	40
2.1.4.3 Nutrición de ganado.	41
2.1.4.4 Degradación de productos residuales.	42

2.1.4.5	Mejoramiento de cultivos	42
2.1.5	Cultivo de <i>P. ostreatus</i>	43
2.1.5.1	Acondicionamiento del sustrato	43
2.1.5.2	Preparación de la semilla	43
2.1.5.3	Etapas del cultivo	43
2.1.6	El café en Colombia	44
2.1.7	Sustratos utilizados para la producción de hongos comestibles	45
2.1.7.1	Nutrientes del sustrato	46
2.1.7.2	Requerimientos físicos	47
2.1.8	Palma aceitera	48
2.1.9	Fique la “fibra nacional” de Colombia	49
2.1.10	Capacidad antioxidante	51
2.1.10.1	Especies reactivas	51
2.1.10.2	Fuentes de especies reactivas	52
2.1.10.3	Las especies reactivas en el organismo y el daño oxidativo	53
2.1.10.4	Estrés oxidativo	54
2.1.10.5	Antioxidante	55
2.1.11	Métodos in vitro para la evaluación de la capacidad antioxidante.	60
2.1.11.1	Método TEAC	61
2.1.12	Método para evaluación del contenido de fenoles totales (FT).	62
2.1.12.1	Folin-Ciocalteu.	62
2.1.13	Análisis de varianza – ANOVA y potencia de la prueba.	63

2.2	ANTECEDENTES	66
3	METODOLOGIA	74
3.1	CULTIVO DEL HONGO <i>Pleurotus Ostreatus</i>	74
3.1.1	Preparación del lugar para el cultivo	74
3.1.2	Obtención y acondicionamiento de los sustratos.	74
3.1.3	Inoculación	78
3.1.4	Incubación	79
3.1.5	Fructificación y cosecha	80
3.2	OBTENCIÓN DEL EXTRACTO	82
3.2.1	Preparación de material de laboratorio	82
3.2.2	Extracto seco	82
3.2.3	Preparación del extracto para análisis.	84
3.3	DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES-FT	85
3.3.1	Blanco de muestra	85
3.3.2	Recta de calibración de ácido gálico- FT	85
3.4	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL	87
3.4.1	Solución de trabajo del catión-radical ABTS <sup>+</sup>	87
3.4.2	Solución de ácido ascórbico	87
3.4.3	Recta de calibración para AAT (actividad antioxidante total) con Trolox	87
3.4.4	Actividad antioxidante total de los extractos	88
3.5	TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS	89
3.5.1	Diseño experimental del cultivo	89

3.5.2	Análisis estadístico de los datos	90
3.5.3	Determinación del tamaño de la muestra: potencia de la prueba	91
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	92
4.1	CONTENIDO DE FENOLES TOTALES-FT	92
4.1.1	Recta de calibración con Ácido Gálico	92
4.1.2	Contenido de Fenoles Totales (FT) del extracto seco de <i>Pleurotus Ostreatus</i> .	95
4.1.3	Análisis estadístico para el contenido de FT en los extractos secos del cuerpo fructífero del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> .	101
4.1.3.1	Atributos de análisis de varianza (ANOVA) de un factor para contenido de FT.	101
4.1.3.2	ANOVA para la determinación del contenido de FT en los extractos de cuerpo fructíferos de <i>P. ostreatus</i>	104
4.1.3.3	Determinación del tamaño de la muestra: potencia de la prueba	107
4.2	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL-AAT	108
4.2.1	Recta de calibración con Trolox	108
4.2.2	Actividad antioxidante total (AAT) del extracto seco de <i>Pleurotus ostreatus</i> .	111
4.2.3	Análisis estadístico para actividad antioxidante total (AAT) de los extractos del cuerpo fructífero de las setas <i>Pleurotus ostreatus</i>	114
4.2.3.1	Atributos de análisis de varianza (ANOVA) unifactorial para AAT.	114
4.2.3.2	ANOVA para AAT del extracto de cuerpo fructífero de <i>P. ostreatus</i> cultivado en los sustratos sin enriquecer.	116
4.2.3.3	Determinación del tamaño de la muestra: potencia de la prueba	120
	CONCLUSIONES	126
	RECOMENDACIONES	128

BIBLIOGRAFÍA	130
ANEXOS	149

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Contenido de Fenoles totales y actividad antioxidante en productos y subproductos de la industrialización de café (Toledo, Norte de Santander-Colombia).....	45
Tabla 2. Estructura física de la hoja de fique .....	50
Tabla 3. Concentración letal media entre varios plaguicidas y el jugo del fique. ..	50
Tabla 4. Especies reactivas de oxígeno y relacionadas. ....	51
Tabla 5. Actividad antioxidante de diferentes partes del hongo <i>P. ostreatus</i> . ....	67
Tabla 6. Eficiencia biológica (EB) del cultivo de <i>P. ostreatus</i> .....	73
Tabla 7. Codificación y Acondicionamiento de los sustratos para el cultivo de <i>P. ostreatus</i> .....	76
Tabla 8. Mapa de campo cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	89
Tabla 9. Absorbancia promedio de las soluciones resultantes de la reacción de ácido gálico con Folin-Ciocalteu. ....	92
Tabla 10. Parámetros estadísticos de la regresión simple de las concentraciones de ácido gálico vs absorbancia. ....	93
Tabla 11. Determinación del porcentaje de error relativo para la recta de calibración método Folin-Ciocalteu .....	94
Tabla 12. Contenido de FT promedio de los extractos de cuerpos fructíferos de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivado en los sustratos sin enriquecer. ....	96
Tabla 13. Contenido de FT del cuerpo fructífero de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivado en los sustratos enriquecidos con granza de avena. ....	97
Tabla 14. Comparación del contenido de FT de los cuerpos fructíferos cultivados en los sustratos enriquecidos y los no enriquecidos (Estadístico: <i>Prueba-t</i> ) .....	97
Tabla 15. Contenido de humedad, lignina y celulosa de los sustratos en base seca utilizados para el cultivo del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	100

Tabla 16. Pruebas estadísticas de normalidad y homocedasticidad para aplicar ANOVA, para FT. ....	102
Tabla 17. Resumen Estadístico para contenido de fenoles totales (FT) de <i>P. ostreatus</i> desarrollado en sustratos sin enriquecer. ....	104
Tabla 18. ANOVA para contenido de FT (mg AG/g base seca de cuerpo fructífero) de <i>Pleurotus ostreatus</i> por sustrato de cultivo sin enriquecer. ....	104
Tabla 19. Pruebas de Múltiple Rangos para mg AG/g base seca por sustrato de cultivo no enriquecido (Método: 95,0 porcentajes Tukey HSD). ....	105
Tabla 20. Contraste de medias estadístico de Tukey HSD para contenido de FT por sustrato de cultivo ....	106
Tabla 21. Potencia de la prueba para determinar el número de réplicas para análisis contenido de FT ....	107
Tabla 22. Absorbancias Promedio de las soluciones de ABTS <sup>++</sup> con diferentes concentraciones de Trolox. ....	109
Tabla 23. Parámetros estadísticos de la recta de calibrado, absorbancia vs concentración Trolox ....	110
Tabla 24. Cálculo del porcentaje de error relativo (%ER), recta de calibración para AAT, método ABTS <sup>++</sup> ....	110
Tabla 25. Actividad antioxidante total (AAT) del extracto seco del cuerpo fructífero de <i>P. ostreatus</i> cultivado en sustratos sin enriquecer. ....	111
Tabla 26. AAT de los extractos de cuerpo fructífero <i>P. ostreatus</i> cultivados en sustratos enriquecidos con granza de avena ....	112
Tabla 27. TEAC experimental, reportado y AAT de las setas estudiadas ....	113
Tabla 28. Comparación de la AAT de los cuerpos fructíferos cultivados en los sustratos enriquecidos y los no enriquecidos. (Estadístico: prueba-t) ....	113
Tabla 29. Pruebas estadísticas de normalidad y homocedasticidad para aplicar ANOVA, para AAT. ....	115
Tabla 30. Resumen Estadístico para AAT ....	117

Tabla 31. ANOVA para AAT por Sustrato de cultivo .....	117
Tabla 32. Pruebas de Múltiple Rangos para AAT de extracto por Sustrato de cultivo (Método: 95,0% Tukey HSD) .....	118
Tabla 33. Contraste de medias estadístico de Tukey HSD para AAT de extracto por sustrato de cultivo .....	119
Tabla 34. Potencia de la prueba para determinar el número de réplicas para AAT .....	121

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Formación de las esporas en los <i>Basidiomicetos</i> y en los <i>Ascomicetos</i> . .....	31
Figura 2. Hongo champiñón ostra o gírgolas ( <i>Pleurotus ostreatus</i> ) .....	33
Figura 3. Etapas de reacción de la degradación de lindano por hongos de la pudrición blanca .....	35
Figura 4. Descripción taxonómica de <i>P. ostreatus</i> .....	37
Figura 5. Descripción morfológica de <i>P. ostreatus</i> : Partes principales.....	38
Figura 6. Ciclo reproductivo del hongo .....	39
Figura 7. Estructura de la Ergotioneina .....	57
Figura 8. Estructuras de compuestos químicos identificados en hongos comestibles, <i>Agaricus bisporus</i> . .....	58
Figura 9. Rutas metabólicas de metabolitos secundarios volátiles en los hongos	59
Figura 10. Estructura Pleuran, $\beta$ -glucano aislado de <i>P. ostreatus</i> .....	60
Figura 11. Estructura del ABTS (a) y el catión radical ABTS <sup>•+</sup> (b). .....	61
Figura 12. Esquema de la reacción ABTS, generación del catión radical ABTS <sup>•+</sup> y reacción con el antioxidante. ....	62
Figura 13. Biosíntesis de ergosterol en los hongos, ruta metabólica .....	72
Figura 14. Municipios de recolección de los sustratos residuales para el cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i> . .....	75
Figura 15. Pretratamiento de materiales lignocelulósicos. ....	76
Figura 16. Sustratos acondicionados para el cultivo de <i>P. ostreatus</i> .....	77
Figura 17. Preparación de los sustratos. ....	78

Figura 17. Inoculación de sustratos. ....	79
Figura 19. Invasión del micelio de <i>P. ostreatus</i> en los sustratos. ....	79
Figura 20. Inicio periodo de fructificación en unidades experimental correspondientes al sustrato T2 y T7 .....	80
Figura 21. Etapas del cultivo <i>P. ostreatus</i> : formación de los primordios-deshidratación de los cuerpos fructíferos. ....	81
Figura 22. Homogenización de los cuerpos fructíferos de <i>P. ostreatus</i> . ....	81
Figura 23. Determinación de la humedad de los cuerpos fructíferos de <i>P. ostreatus</i> deshidratados .....	82
Figura 24. Obtención del extracto del cuerpo del cuerpo fructífero de <i>P. ostreatus</i> . ....	83
Figura 25. Remoción de solvente del extracto de cuerpo fructífero <i>P. ostreatus</i> . ....	84
Figura 26. Preparación del extracto metanólico de <i>P. ostreatus</i> para análisis. ....	84
Figura 27. Soluciones ácido gálico tras la reacción con Folin-Ciocalteu para la obtención de la curva de calibración en la determinación de FT.....	86
Figura 28. Determinación de FT en los extracto del cuerpo fructífero de <i>P. ostreatus</i> .....	86
Figura 29. Preparación de la curva de calibración con Trolox para la determinación de AAT .....	88
Figura 30. Lectura en el espectrofotómetro de la reacción entre extracto de cuerpo fructífero de <i>P. ostreatus</i> y la solución de ABTS <sup>+</sup> .....	89
Figura 31. Ruta metabólica de 3-octenal y 1-octen-3-ol a partir de ácido linoleico en basidiomicetes .....	124

## LISTA DE GRÁFICAS

- Gráfica 1. Recta de calibración promedio para la determinación del contenido de FT método Folin-Ciocalteu; estándar ácido gálico (750nm) ..... 93
- Gráfica 2. Diagrama de barras para el contenido de fenoles totales (FT) en los extractos secos de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*, mg ácido gálico/g BS 99
- Gráfica 3. Comportamiento de los residuos contenido de FT: atributos de ANOVA para un factor. .... 103
- Gráfica 4. Comportamiento de los resultados para el contenido de FT de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* cultivado en los sustratos sin enriquecer, Dispersión por código de nivel. .... 105
- Gráfica 5. Contraste de medias, estadístico de Tukey HSD 95,0%, para contenido de FT de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* cultivado en los sustratos sin enriquecer. .... 106
- Gráfica 6. Diagrama Caja y Bigotes para contenido de FT de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* cultivado en sustratos sin enriquecer, mgAG/g base por nivel (sustrato). .... 107
- Gráfica 7. Recta de calibración promedio para AAT método ABTS, estándar Trolox (734nm) ..... 109
- Gráfica 8. Diagrama de barras para la actividad antioxidante total (AAT) del extracto seco de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*, mmolTrolox/100g BS. .... 114
- Gráfica 9. comportamiento de los residuos para AAT –atributos de ANOVA unifactorial. .... 115
- Gráfica 10. Comportamiento de los resultados para AAT de los extractos de cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* cultivado en los sustratos sin enriquecer, Dispersión por código de nivel. .... 118
- Gráfica 11. Contraste de medias, estadístico de Tukey HSD 95,0%, para AAT en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* cultivado en los sustratos puros. .... 119
- Gráfica 12. Diagrama Caja y Bigotes para AAT en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*; mmolTrolox/gBS por nivel (sustrato). .... 120

## LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Absorbancias de soluciones patrón de ácido gálico a diferentes concentraciones con Folin-Ciocalteu a 750nm .....	149
Anexo B. Contenido de fenoles totales en los extractos del cuerpo fructífero de <i>P. ostreatus</i> cultivados en los 7 sustratos. ....	150
Anexo C. Curva de calibración para AAT con Trolox, Absorbancia promedio de soluciones Trolox a diferentes concentraciones con ABTS <sup>•+</sup> a 734nm. ....	151
Anexo D. Actividad Antioxidante Total (AAT) en los extractos del cuerpo fructífero de <i>P. ostreatus</i> cultivados en 7 sustratos. ....	152
Anexo E. Preparación de reactivos .....	153

## GLOSARIO

**BAGAZO:** residuo de materia después de extraído su jugo

**BASIDIOMICETOS:** una de las nueve divisiones del reino Fungí.

**BIORREMEDIACIÓN:** Cualquier proceso que utilice microorganismos, hongos, plantas o las enzimas derivadas de ellos para retornar a un medio ambiente alterado por contaminantes a su condición natural.

**BIOSÍNTESIS:** procesos que implican reacciones químicas que permite la formación de compuestos orgánicos en un ser vivo (anabolismo).

**CADUCIFOLIOS:** árboles o arbustos que pierden su follaje durante una parte del año, la cual coincide en la mayoría de los casos con la llegada de la época desfavorable, la estación más fría (invierno) en los climas templados.

**CELULOSA:** es un biopolímero compuesto exclusivamente de moléculas de  $\beta$ -glucosa; constituye la membrana celular de muchos hongos y vegetales; se emplea en la fabricación de papel, tejidos, explosivos, barnices, etc.

**CONÍFERAS:** son un tipo de árbol o arbusto que se distribuye por los bosques más fríos del mundo.

**CUERPO FRUCTIFERO:** esporocarpio de los hongos basidiomicetos y ascomicetos, una estructura multicelular sobre la que se forman otras estructuras productoras de esporas

**ESTIPE:** hace referencia al pie que sustenta el píleo o sombrero del cuerpo fructífero de un *Basidiomiceto*

**EXOCARPIO:** parte del pericarpio que suele proteger al resto del fruto del exterior

**FIBRA:** Filamento de origen natural, artificial o sintético, apto para ser hilado y tejido, que generalmente presenta gran finura y buena flexibilidad.

**FRONDOSAS:** comunidad de árboles donde predominan las angiospermas; es decir, árboles de hoja ancha o planifolios, los cuales son considerados plantas superiores con semillas dentro de un ovario y con conducción de los líquidos a través de vasos.

**HEMICELULOSA:** polisacárido compuesto por más de un tipo de monómero; Forma parte de las paredes de las células vegetales, recubriendo la superficie de las fibras de celulosa y permitiendo el enlace de pectina

**LIGNINA:** sustancia natural que forma parte de la pared celular de muchas células vegetales, a las cuales da dureza y resistencia.

**METABOLITO SECUNDARIO:** son compuestos químicos sintetizados por los seres vivos que no son funcionales o esenciales para la reproducción, desarrollo o crecimiento del mismo.

**MICELIO:** es la masa de hifas que constituye el cuerpo vegetativo de un hongo.

**NEMATODOS:** gusanos nematelmintos del superfilo Ecdysozoa, son organismos pluricelulares, normalmente microscópicos.

**NUTRACÉUTICO:** propiedades funcionales de un alimento, además de la nutrición tiene características bioactivas como mejorar la salud o evitar el riesgo de contraer enfermedades.

**PRIMORDIOS:** estado rudimentario en que se encuentra un órgano en formación

**RECALCITRANTES:** Sustancia cuya composición química permanece inalterada por los procesos naturales, o que se modifica sólo de manera muy lenta por ejemplo, una sustancia que no es biodegradable en un proceso de tratamiento de aguas residuales.

**SAPRÓFITO:** organismos que obtienen sus nutrientes a partir de la materia orgánica de otro organismo muerto o en descomposición

**SETA:** son los esporocarpos, o cuerpos fructíferos, de hongos pluricelulares como los basidiomicetos, que incluye muchas especies entre ellas la especie *Pleurotus ostreatus*.

**SUSTRATOS AGOTADOS:** es el sustrato que ha dejado de producir hongos y al cual se puede darle algunos usos prácticos.

**ORELLANA:** nombre común que se le da al hongo *Pleurotus ostreatus*.

**XILÓFAGOS:** término usado en ecología para describir los consumidores primarios cuya dieta consiste principalmente (a menudo exclusivamente) en madera.

## ABREVIATURAS

AAT	Actividad antioxidante total
ABTS	2,2"-azinobis-(ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) Ácido 2,2"-azino bis(3-etilbencen-tiazolina-6-sulfónico)
AG	Ácido Gálico
ANOVA	ANalysis Of VAriance Análisis de varianza
EB	Eficiencia Biológica
GAE	Gallic Acid Equivalents equivalentes de ácido gálico
FT	Fenoles totales
<i>P. ostreatus</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>
TEAC	Trolox® equivalent antioxidant capacity Actividad antioxidante equivalente en Trolox
Trolox	6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid Acido 6-hidroxi-2,5,7,8-tatrametilcroman-2-carboxilico

## INTRODUCCIÓN

El espacio geográfico del departamento de Nariño hace del sector agrícola una de las actividades económicas más importantes de la región. Tumaco, municipio ubicado en la zona pacífica del departamento, produce aproximadamente 23.000 toneladas de aceite de palma, que corresponde al 2% de la producción nacional.<sup>2</sup> Los municipios cafeteros de Nariño, entre ellos Buesaco; aportan el 3% de la producción nacional de café; el cual es conocido a nivel mundial por su calidad.<sup>3</sup> La fibra de fique es otro producto originado en el sector agrícola del departamento, siendo el municipio de El Tambo uno de los principales productores de esta fibra.

La producción de café, fibra de fique, aceite de palma, y en general todos los productos agrícolas producen una gran cantidad de residuos. En el proceso de obtención de la fibra de fique; tan solo el 4% de la planta representa la fibra, el 96% restante corresponden a jugo y bagazo.<sup>4</sup> La pulpa o exocarpio del fruto del café representa aproximadamente el 44%.<sup>5</sup> Por cada tonelada de racimos de frutos frescos (RFF) de palma aceitera procesada, 220Kg corresponde a raquis<sup>6</sup>. Los residuos agrícolas están compuestos principalmente de lignina, celulosa y hemicelulosa; que son sustancias recalcitrantes, de difícil descomposición; el raquis de palma, bagazo de fique y pulpa de café son residuos lignocelulósicos ricos en minerales, azúcares (la pulpa de café contiene aproximadamente el 17% de azúcares reductores). La mayoría de los agricultores desconocen las utilidades que se les puede dar a los residuos como abono orgánico, bioplaguicidas, herbicidas, entre otros; por lo que son depositados inadecuadamente en los sitios de cultivo, generando contaminación del aire, suelos y fuentes de agua.

El hongo *Pleurotus ostreatus* es un basidiomiceto que tiene la capacidad de descomponer sustancias complejas como la lignina, es clasificado como un “hongo de pudrición blanca”.<sup>7</sup> Posee un complejo sistema enzimático capaz de degradar

---

<sup>2</sup> FEDEPALMA. La Palma de Aceite en Colombia: departamento de Nariño. [Citado, 15 de agosto 2016]. Disponible en: <http://web.fedepalma.org/la-palma-de-aceite-en-colombia-departamentos>

<sup>3</sup> SANDOVAL DUARTE, Héctor. De Nariño a la taza: Campesinos, junto a organizaciones. En: ELESPECTADOR, Bogotá-Colombia (21, agosto, 2011)

<sup>4</sup> CORPOICA. Acuerdo para el fomento de la producción y competitividad del subsector del fique. Bogotá D. C.: República de Colombia. Ministerio de agricultura y desarrollo rural. 2004, 38p.

<sup>5</sup> CENICAFÉ. Los subproductos del café: fuente de energía renovable. En: Avances técnicos 393. Chinchiná, Caldas, Colombia. Marzo, 2010. p. 2

<sup>6</sup> CORTÉS G., Camilo A. y colaboradores. Respuestas de palmas de vivero a la aplicación de residuos de la planta extractora. En: PALMAS. Octubre, 2006. Vol. 27 No. 3, p. 23-32

<sup>7</sup> SCHWARZE, Francis W. y colaboradores. Fundamental aspects. En: Fungal Strategies of Wood Decay in Trees, Springer. 2000, p. 5-31.

una gran variedad de sustancias contaminantes como hidrocarburos, plaguicidas, entre otros; son utilizados como biorremediadores.

*P. ostreatus* junto con *Agaricus bisporus* (champiñón), *Lentinula edodes* (shiitake) son los hongos comestibles más comercializados a nivel mundial por su amplio uso gastronómico. El cuerpo fructífero de *P. ostreatus* además de tener una textura suave y sabor agradable, aporta a la dieta alimenticia del ser humano amplio contenido nutricional con aminoácidos, vitaminas y minerales. En los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* se han identificado compuestos como el ácido gálico, ácido ascórbico,  $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -caroteno, licopeno, catequina, entre otros; que son reconocidos por su potencial antioxidante; asimismo proantocianidinas (PACs) que son antioxidantes más potentes que la vitamina C; y que pueden ser usadas en la industria farmacéutica.<sup>8</sup> Se le atribuye a la seta *P. ostreatus* propiedades biológicas como anticancerígenas, antitumorales, antiartríticas, entre otras. Metabolitos secundarios tales como policétidos, ácidos grasos, polifenoles, flavonoides y terpenoides, además de enzimas; son generados en el hongo durante el proceso de degradación de sustancias como la lignina, que se encuentran en los residuos agroindustriales. El tipo de sustrato utilizado para el cultivo influye en las propiedades nutricionales y biológicas de la seta.<sup>9</sup>

Para la determinación del contenido de polifenoles y la actividad antioxidante existen diferentes métodos: FRAP, DPPH, ORAC, TEAC, entre otros; debido a los complejos procesos de oxidación, no hay un método que indique el perfil antioxidante completo de un extracto.<sup>10</sup> Los métodos de Folin-Ciocalteu para determinar el contenido de polifenoles y el método TEAC para actividad antioxidante son ampliamente utilizados en una vasta variedad de extractos debido a que son métodos colorimétricos en donde se define un punto final de la reacción, son sensibles, sencillos, reproducibles y adaptables (sustancias hidrofílicas y lipofílicas).<sup>11</sup> Por lo anterior se optó por los métodos de Folin-Ciocalteu y TEAC para la determinación del contenido de fenoles totales y actividad antioxidante de los extractos de *P. ostreatus* cultivados en los sustratos de interés.

---

<sup>8</sup> COS, Paul y colaboradores. Proanthocyanidins in health care: current and new trends. En: Curr. Med. Chem. Mayo, 2004. Vol. 11, No.10, p. 1345-1359

<sup>9</sup> GONZÁLEZ PALMA, Ivette y colaboradores. Evaluation of the antioxidant activity of aqueous and methanol extracts of *Pleurotus ostreatus* in different growth stages. En: Frontiers in Microbiology. Julio, 2016. Vol. 7, No.1099

<sup>10</sup> PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. May, 2005. Vol. 53, No. 10, p. 4297

<sup>11</sup> FLOEGEL, Anna; KIM, Dae-Ok; CHUNG, Sang-Jin; KOO, Sung I.; CHUN, Ock K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. En: Journal of Food Composition and Analysis. January, 2011. Vol. 24, p.1043–1048

Dadas las propiedades nutricionales demostradas de *P. ostreatus* en diferentes investigaciones y la amplia generación de residuos agrícolas en el departamento de Nariño, surge esta investigación enfocada hacia la determinación de la actividad antioxidante y contenido de fenoles totales en orellanas cultivadas en pulpa de café, bagazo de fique y raquis de palma, enriquecidos y no enriquecidos con granza de avena; ya que además de buscar una alternativa para la mitigación ambiental, también representa una nueva opción alimentaria con alto valor nutricional y potencial antioxidante.

## 1 OBJETIVOS

### 1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la variabilidad de la capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales (FT) de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* cultivados en los diferentes sustratos (pulpa de café, raquis de palma aceitera, bagazo de fique enriquecidos y no enriquecidos con granza de avena).

### 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en setas de *P. ostreatus* mediante el método TEAC y Folin-Ciocalteu respectivamente.
- Desarrollar el estudio comparativo de las variables (capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales) según el tipo de sustrato empleado para el cultivo de *P. ostreatus*.

## 2 ESTADO DEL ARTE

### 2.1 MARCO TEÓRICO

Los hongos al ser organismos eucariotas pueden ser pluricelulares o unicelulares, que al no poseer clorofila absorbe los nutrientes requeridos para su desarrollo de fuentes de carbono en donde crecen, que tiene como principal componente de la pared celular la quitina, que es un polisacárido compuesto de unidades de N-acetilglucosamina.<sup>12</sup>

El reino de los hongos (Fungi) incluye un amplio número de organismos, considerándose que pueden ser más de 1 millón de los cuales unas 80.000 especies son conocidas, siendo en su gran mayoría microscópicas, muchas de las cuales son patógenos, causantes de una gran cantidad de enfermedades en plantas (mohos, oídios, royas, carbones, entre otros);<sup>13</sup> animales y el ser humano (tiña, hialohifomicosis, pie de atleta, etc.),<sup>14</sup> y otros hongos de los cuales el hombre ha sacado beneficio como las levaduras que son utilizados como fermentadores en la obtención del pan, en la producción de vino y cerveza, en la maduración de quesos, control biológico de plagas, obtención de antibióticos y otros fármacos, entre otros; de igual forma se conoce alrededor de 50.000 especies de hongos comestibles, dentro de las cuales seis (6) especies son de buena calidad puesto que se han desarrollado en cultivo a nivel industrial como los son: *Agaricus bisporus* (champiñones), *Lentinus edodes* (shiitake), *Ganoderma lucidum* (reishi), *Pleurotus ostreatus* (gírgolas o champiñón ostra), *Boletus edulis* (porcini) y *Catharellus cibarius*.<sup>15</sup>

#### 2.1.1 *Macromicetos*

Los *Macromicetos* son hongos que bajo condiciones determinadas son capaces de formar estructuras visibles, comúnmente denominadas cuerpos fructíferos, setas o

---

<sup>12</sup> CHANG, Shu-Ting and MILES, Philip. G. Mushrooms: Cultivation, Nutritional value, Medicinal Effect, and Environmental Impact. 2 Ed. Boca Raton: CRC PRESS. 2004. p. 3

<sup>13</sup> FRENCH, Eduardo R. & HEBERT, Teddy T. Métodos de investigación fitopatológica. San José Costa Rica: Instituto Interamericano De Ciencias Agrícolas, 1980. p. 128

<sup>14</sup> LÓPEZ MARTÍNEZ, Rubén. Ecología de los hongos patógenos para el hombre. En: Revista Mexicana de Micología. 2005. N° 21, p. 85-92.

<sup>15</sup> HERNÁNDEZ CORREDOR, Ricardo Alfredo y LÓPEZ RODRÍGUEZ, Claudia Liliana. 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.22

carpóforos; que se caracterizan principalmente por poseer una estructura filamentosa, una reproducción por esporas y una nutrición heterótrofa (saprófitos), que es a base de materia orgánica en descomposición o de otros seres vivos, ya que poseen enzimas lignolíticas las cuales son excretadas por el hongo ante la presencia de sustratos recalcitrantes<sup>16</sup> y son de gran importancia biotecnológica, puesto que son capaces de degradar una gran variedad de compuestos incluyendo aquellos de estructura aromática. Estas facultades permiten que estos hongos sean utilizados como biorremediadores.<sup>17</sup>

Entre los *Macromicetos* hay especies comestibles, venenosas y otras alucinógenas que pueden crecer en ambientes con temperaturas entre 4-60°C, a alturas que van desde el nivel del mar hasta por encima de los 4000 m.s.n.m. y en diferentes tipos de materiales.<sup>18 19</sup> Para los hongos comestibles el rendimiento en la etapa de la fructificación es mayor a temperaturas que se encuentran alrededor de los 25°C, por lo general en cualquier ambiente húmedo y de poca luz.<sup>20, 21</sup>

Los *Macromicetos* constan de dos partes bien diferenciadas: una parte difusa (subterránea), que se denomina micelio; y una vegetativa (visible), de aparición esporádica y con función reproductora, que se da cuando la seta está madura y las esporas caen, que es el carpóforo.

Dentro de los *Macromycetes* se encuentran los *Ascomicetos* y los *Basidiomicetos*, los cuales se diferencian en los órganos formadores de las esporas, como se observa en la Figura 1.

---

<sup>16</sup> LEONOWICZ, A. y colaboradores. Biodegradation of lignin by White rot fungi. En: Fungal Genetics and Biology. 1999. Vol. 27, p. 175-185

<sup>17</sup> ROSALES MORALES, Lui Adán. Biorremediación de suelos contaminados con aceite de automóvil con el hongo de la pudrición blanca *Pleurotus ostreatus* (setas) en Durango. Trabajo de grado (maestro en ciencias de gestión ambiental). Durango: Instituto Politécnico Nacional, centro interdisciplinario de investigación para el desarrollo integral regional unidad Durango, 2008. p.80

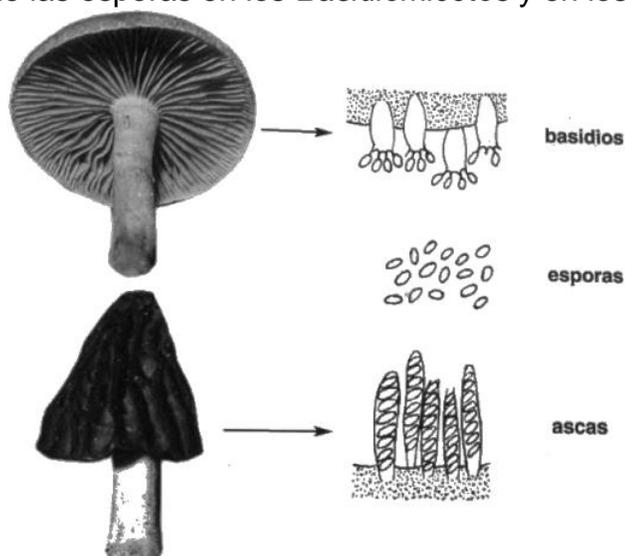
<sup>18</sup> KONEMAN, E. Micología: Práctica de Laboratorio. 3 ed. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana. 1997. 221p.

<sup>19</sup> STAMETS, Paul and YAO, Dusty Wu Carolyn. Mycomedicinals: An Informational Booklet on Medicinal Mushrooms. Olympia: MycoMedia Productions. 2002. p. 46

<sup>20</sup> LAGANÁ, A. y colaboradores. Periodicity, fluctuations and successions of macrofungi in fir forests (*Abies alba* Miller) in Tuscany, Italy. En: Forest ecology and management. Octubre, 2002. Vol 169, N° 3, p. 187-202

<sup>21</sup> SALDARRIAGA OSORIO, Yamile y PINEDA GUTIÉRREZ, Fabio. Manual de micología aplicada. 1 ed. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia. 2001, 97p.

Figura 1. Formación de las esporas en los *Basidiomicetos* y en los *Ascomicetos*.



Fuente: García Rollán, Mariano. 2006

#### 2.1.1.1 *Ascomicetos*

El nombre *Ascomiceto* o *Ascomicotina* se debe a que en estos hongos las esporas se forman en el interior de unas células con forma cilíndrica o de saco que se llaman ascas, las cuales se agrupan en cuerpos fructíferos especiales llamados ascocarpos, delimitados o cubiertos por una capa o pared de plecténquima que es un conjunto de hifas estériles, denominada peridio,<sup>22</sup> Sin embargo en aquellas especies de *Ascomicetos* que no producen ascocarpos ni cuerpos fructíferos los ascos quedan descubiertos y disseminados en el micelio.<sup>23</sup>

Este tipo de hongos pueden crecer en una gran variedad de hábitats como suelos, aguas, coprófilos (excrementos de herbívoros), parásitos, entre otros, existiendo los macroscópicos y microscópicos,<sup>24</sup>

#### 2.1.1.2 *Basidiomicetos*

Se denominan *Basidiomicetos* a aquellos hongos en donde las esporas de origen sexual denominadas basidiosporas, que se forman en unas pequeñas prolongaciones exteriores de unas células llamadas basidios. El micelio de un *Basidiomiceto* está constituido por hifas tabicadas, que presentan fíbulas que son

<sup>22</sup> HERRERA, Teofilo y ULLOA Miguel. El Reino de los Hongos: Micología Básica Aplicada. México D.F.: S.L. Fondo de Cultura Económica de España. 2013. p 25-28.

<sup>23</sup> SALDARRIAGA y colaboradores. Op. Cit., p.30

<sup>24</sup> KONEMAN, E. Op. cit., 30

conexiones a manera de puente entre dos células vecinas de la misma hifa. La mayoría de los basidiomicetes pertenecen a la clase *Holobasidiomicetos* y unos pocos de la clase *Heterobasidiomicetos*.<sup>25</sup>

Los *Basidiomicetos* al igual que los *Ascomicetos* se encuentran en una gran variedad de ambientes, creciendo sobre diversos materiales orgánicos; la mayoría de las especies de esta subdivisión tiene la capacidad de descomponer madera, papel, residuos de productos naturales, e incluso materiales recalcitrantes como la lignina; clasificándolos como hongos de pudrición blanca. Son de especial interés para procesos biotecnológicos como la remediación de suelos, encontrando dentro de estos el orden *Agaricales*.

#### ❖ Orden *Agaricales*.

En el orden *Agaricales* se conoce alrededor de 20.000 especies a nivel mundial, que se caracterizan por tener cutícula, píleo, himenóforo, pie anillo, volva y sus esporas son de color café chocolate.<sup>26</sup> Dentro de los *Agaricales* se ubican especies entre las cuales hay un número grande que forman asociaciones micorrícicas con especies de árboles de interés forestal,<sup>27</sup> otras de carácter comestible siendo silvestres como *Boletus edulis* y *Amanita caesarea*, o cultivadas en el caso *Pleurotus ostreatus*; también se pueden encontrar especies venenosas como la *Amanita muscaria* var. *flavivolvata* que se caracteriza por producir compuestos tóxicos como el ácido iboténico que es un neurotóxico y la *A. pantherina*, la cual posee altas concentraciones de ácido iboténico y muscimol, que son también neurotóxicos, hallándose comúnmente en bosques de encino.<sup>28</sup> Dentro del orden *Agaricales* se encuentra en género *Pleurotus*.

#### ❖ El género *Pleurotus*.

Se reconoce más de 200 especies en este género, los cuales se adaptan fácilmente a una amplia variedad de desechos forestales y agrícolas,<sup>29</sup> encontrando algunas

---

<sup>25</sup> HERRERA; ULLOA. Op. cit., p.31

<sup>26</sup> SOLOMON, Eldra P. y colaboradores. Biología de Villee. 3 ed. México, D.F.: Interamericana McGraw-Hill. 1996.

<sup>27</sup> GAITÁN HERNÁNDEZ, Rigoberto y colaboradores. Manual práctico del cultivo de setas: aislamiento siembra y producción. 1 ed. Veracruz, México: Instituto de Ecología, A.C. 2002. 74p.

<sup>28</sup> PARDAVÉ DÍAZ, Lidia Marisela y colaboradores. Distribución de los hongos venenosos conocidos en el estado de Aguascalientes. En: Investigación y Ciencia. 2006, Vol. 35, p. 31-36

<sup>29</sup> LÓPEZ RAMÍREZ, Armando. El Género *Pleurotus* y su Diversificación Taxonómica en Especies. En: Fungicultura. instituto de investigaciones Forestales. Universidad Veracruzana. Febrero, 2014. N° 14.

especies comestibles como el champiñón ostra o gírgola (*Pleurotus ostreatus*) o la seta de cardo (*Pleurotus eryngii*).

Este género se caracteriza por tener sombreros de formas variables como embudo, ostra o redonda, carnosos y consistentes, generalmente de colores grises, pardos, amarillentos, rosados y a veces de color oscuro, con un himenio laminado, donde las laminillas son longitudinalmente decurrentes (ni volva, ni anillo) sobre la base del estípite y con frecuencia anastomosadas transversalmente al nivel de la inserción del pie, además de que las esporas son de color blanco, crema o lila pálido presentando una forma cilíndrica (raramente elipsoides) y lisa<sup>30</sup> (Figura 2)

Figura 2. Hongo champiñón ostra o gírgolas (*Pleurotus ostreatus*)



Fuente: esta investigación

### 2.1.2 Hongos de pudrición de la madera

Investigaciones hechas desde el año 1985 por Bumpus y colaboradores,<sup>31</sup> indican que los hongos pertenecientes a la clase Basidiomycetes tienen la capacidad de degradar sustancias recalcitrantes como la lignina, la celulosa y la hemicelulosa, además de una gran variedad de contaminantes. Se han clasificado una gran

---

<sup>30</sup> CAMACHO SÁNCHEZ, Marcelo y colaboradores. Contribución al Estudio Taxonómico del Género *Pleurotus* (Basidiomycotina, Fungi). En: Semana de divulgación y video científico, UJA. México. 2005. Pág. 106-111

<sup>31</sup> BUMPUS, J.A. y colaboradores. Oxidation of persistent environmental pollutants by a white rot fungus. En: Science. Junio, 1985. Vol. 228, No. 4706, p.1434-1436.

variedad de especies de hongos de distintos géneros, según la capacidad para degradar la materia orgánica como: hongos de pudrición blanda, hongos de pudrición oscura y hongos de pudrición blanca.<sup>32, 33</sup>

- Hongos de pudrición blanda: la pudrición blanda la causan generalmente, los hongos descomponedores de la familia de los ascomycetes, y algunos basidiomycetes. Estos hongos atacan carbohidratos de fácil degradación como la celulosa y su nombre se debe a que este tipo de pudrición ablanda la madera. Entre los géneros causantes de este tipo de pudrición están: *Lepiota*, *Lepista*, *Morchella* y *Gyromitra*.<sup>34</sup>

- Hongos de pudrición oscura: la pudrición oscura o también conocida como pudrición marrón es causada por hongos del género *Volvariella*, *Coprinus*, *Stropharia* y *Agaricus* que degradan a los polisacáridos celulosa y hemicelulosa. El nombre se debe a que tras el proceso de degradación queda un color marrón, además de la pérdida de la firmeza de la madera dejando una consistencia quebradiza, atacando especialmente a las coníferas y en frondosas, siendo uno de los hongos más asociados a este tipo de pudrición el *Laetiporus sulphureus*.<sup>35</sup>

- Hongos de pudrición blanca: pueden degradar compuestos de alto peso molecular, inclusive a la lignina; entre las especies clasificadas en este grupo están: *Lentinus*, *Pleurotus*, *Flammulina*, *Auricularia*, *Pholiota*, *Tremella*, *Agrocybe*, *Ganoderma*.<sup>36</sup> El nombre se debe a que tras el proceso de degradación en la madera queda una apariencia blanquecina;<sup>37</sup> este tipo de hongos remueven la lignina antes o al mismo tiempo que remueve el componente de celulosa de la madera, la mayoría de los hongos xilófagos en los árboles caducifolios causan pudrición blanca.<sup>38</sup> La capacidad de los hongos de degradar sustancias como la lignina depende de condiciones ambientales como temperatura, pH, humedad entre otros; además de la especie de hongo y del tipo de material orgánico; la degradación de sustancias como la lignina se da gracias a que estos hongos producen varias isoformas de oxidasas y peroxidasas; en los procesos oxidativos están involucradas enzimas como: lacasas, manganeso peroxidasas, lignina peroxidasas, tirosinasas y peroxidasas.<sup>39</sup> En este tipo de hongos se encuentra especies de la división

---

<sup>32</sup> GARCÍA GARIBAY, Mariano y colaboradores. Biotecnología alimentaria. 5 ed. México D.F.: LIMUSA, S.A., 2004. p. 360.

<sup>33</sup> SCHWARZE y colaboradores. Óp. cit., p.25

<sup>34</sup> LULEY, Christopher J. Identificación del tipo de pudrición de la madera y hongos xilófagos en árboles urbanos. Traducción (LLORENS, Jacobo). En: Sociedad Internacional De Arboricultura, ISA Hispana. [En línea], abril 2006. [citado 14, octubre 2016]. Disponible en: <http://www.isahispana.com/treecare/articles/decay-fungi.aspx>

<sup>35</sup> Ibíd, p. 1

<sup>36</sup> GARCÍA GARIBAY y colaboradores. Óp. cit., p. 34

<sup>37</sup> SCHWARZE y colaboradores. Op. cit., p. 25

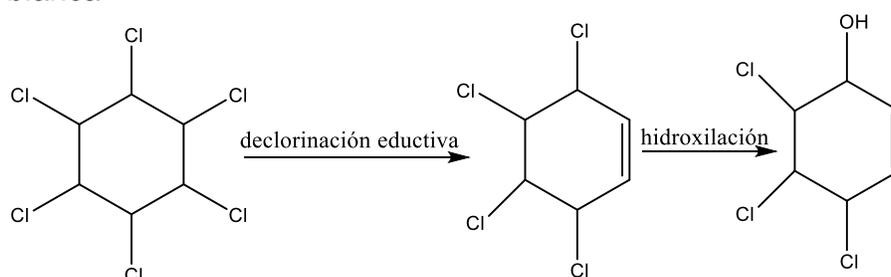
<sup>38</sup> LULEY, Op. cit. p. 34

<sup>39</sup> SCHWARZE y colaboradores. Óp. cit., p. 25

ascomiceta y basidiomiceta entre ellos el género *Pleurotus*, los cuales son ampliamente utilizados en biorremediación.

Con respecto a los mecanismos de biodegradación de los hongos de pudrición blanca se conocen tres principales mecanismos enzimáticos empleados para degradar contaminantes ambientales, dos de tipo oxidativo y uno reductivo: (1) sistemas de degradación de la lignina, que realiza ataques oxidativos a moléculas orgánicas por medio de radicales libres generados por las enzimas ligninolíticas peroxidadas; (2) fase I del metabolismo, mecanismo oxidativo en que intervienen las enzimas citocromo P-450 monooxigenasas; y (3) fase II del metabolismo donde un conjunto de enzimas cataliza reacciones de conjugación reduciendo los contaminantes (Figura 3).<sup>40</sup>

Figura 3. Etapas de reacción de la degradación de lindano por hongos de la pudrición blanca



Fuente: Singh and Kuhad, 1999.<sup>41</sup>

### 2.1.3 *Pleurotus ostreatus*

Es un hongo saprófito, lo que quiere decir que su nutrición es a base de otros organismos muertos, debido a que pertenece al grupo de los hongos de pudrición blanca lo que indica que tiene la capacidad de degradar compuestos complejos como la lignina, creciendo naturalmente sobre una gran variedad de árboles tocones, arbustos y otras plantas leñosas, alimentándose a costa de su madera y destruyéndola.<sup>42</sup> Este tipo de hongos se adapta fácilmente a una gran variedad de

<sup>40</sup> QUINTERO DÍAZ, Juan Carlos. Revisión: Degradación de Plaguicidas Mediante Hongos de la Pudrición Blanca de la Madera. En: Rev. Fac. Nat. Agr. Medellín, 2011. Vol. 64, No 1, p. 5867-5882

<sup>41</sup> SINGH, B.K. and KUHAD, R.C. Biodegradation of lindane gamma-hexachlorocyclohexane by the white-rot fungus *Trametes hirsutus*. En: Letters in Applied Microbiology. 1999. Vol. 28, No 3, p. 238-241

<sup>42</sup> GARCIA ROLLAN, Mariano [en línea]. Nuevas Técnicas De Cultivo Del *PLeurotus ostreatus*. México: Hojas divulgadoras No 8, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 1985, [citado 23,

sustratos residuales lo que hace que sea importante a nivel biotecnológico como descomponedor de materia orgánica.

*Pleurotus ostreatus* es de origen húngaro, también llamada Orellana, gírgola, seta de ostra, seta de chopo, champiñón ostra entre otros nombres. Su nombre se deriva del griego “*pleuro*”, que significa formado lateralmente en referencia a la posición del estípite respecto al píleo; y “*ostreatus*” en latín quiere decir en forma de ostra y en este caso se refiere a la apariencia y al color del cuerpo fructífero.<sup>43</sup>

Es un hongo comestible con sabor y textura suaves, con un alto valor nutricional además de propiedades medicinales, teniendo efectos antitumorales, antivirales, antiinflamatorios, efecto hepatoprotector, antihipertensión, antioxidante y control de colesterol, por lo que el cultivo se ha extendido en muchos países. Este hongo tiene la capacidad de convertir los residuos orgánicos poco digeribles y no comestibles en alimentos para animales y humanos de buena calidad y palatabilidad, aun cuando la calidad de las proteínas de los hongos no es tan alta como la proteína animal. Se considera que la producción de ésta es más eficiente en términos de costos, espacio y tiempo, pues producen proteínas de alta calidad sobre sustratos que consisten en desechos de carácter lignocelulósico.<sup>44, 45</sup>

El primer reporte de producción de este hongo fue realizado en Alemania en 1917, sobre tocones y troncos. A mediados de los años 50 se inició las investigaciones para la producción en sustrato artificial.<sup>46</sup> El mayor productor de *P. ostreatus* a nivel mundial es China con aproximadamente el 87% de la producción mundial, en Colombia el cultivo data hacia los años 1990 en el laboratorio de microbiología de la universidad de Antioquia y hasta la actualidad se lo hace de manera artesanal y poco tecnificado, y ha comenzado el interés por esta especie, de manera que se han realizado diversos estudios de la producción de *P. ostreatus*: sobre residuos generados en la industria del café sobre las zonas cafeteras de Colombia;<sup>47</sup> además

---

septiembre, 2016]. 20p. totales p. 3 Disponible:  
[http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd\\_1985\\_08.pdf](http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1985_08.pdf)

<sup>43</sup> *Ibíd*, p. 2

<sup>44</sup> MILES, Philip G, and CHANG, Shu-Ting. *Biología de las setas. Fundamentos básicos y acontecimientos actuales*. Singapore, New Jersey: World Scientific. 1 ed. en español. Bogotá: Instituto Zeri para Latinoamérica. 1999, 206p.

<sup>45</sup> CARDONA URREA, Luis Fernando. Anotaciones acerca de la bromatología y el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. En: *Crónica Forestal del Ambiente*. 2001, No. 16, p.99-118.

<sup>46</sup> RODRIGUEZ, Gustavo. *Cultivo De Hongos Comestibles*. En: *Fruticultura & Diversificación*. 2007. No. 52, p. 10-15

<sup>47</sup> RODRÍGUEZ VALENCIA, Nelson y JARAMILLO LÓPEZ, Carmenza. *Cultivo de hongos comestibles del género Pleurotus sobre residuos agrícolas de la zona cafetera*. CENICAFÉ, Federación nacional de Cafeteros. Chinchiná-Caldas, Colombia. Octubre, 2004. p. 10

de fortificaciones de estos hongos con selenio y vitamina C;<sup>48</sup> producción de este hongo sobre una gran variedad de sustratos residuales entre los cuales están la caña de azúcar y tallo de maíz; <sup>49</sup> Se han realizado estudios sobre la capacidad que tiene este hongo para la degradación de plaguicidas.<sup>50</sup>

#### 2.1.3.1 Taxonomía de *P. ostreatus*

Figura 4. Descripción taxonómica de *P. ostreatus*



*P. ostreatus*

Fuente: esta investigación

Reino:	Fungi
Subreino:	Fungi superior
División :	Basidiomycotina
Subdivisión:	Basidiomycotina
Clase:	Himenomycetes
Orden:	Agaricales
Familia:	<i>Tricholomaraceae</i>
Género:	<i>Pleurotus</i>
Especie:	<i>Pleurotus ostreatus</i>

*Global names index beta*<sup>51</sup>

#### 2.1.3.2 Características morfológicas de *P. ostreatus*

En cuanto a la morfología de *Pleurotus ostreatus*, presenta un cuerpo vegetativo que está formado por tres partes visibles, como se puede apreciar en la Figura 5; sombrerillo (Píleo), láminas (Himenio) y pie (estípite) y las que no están dispuestas a simple vista que son las esporas y el micelio.

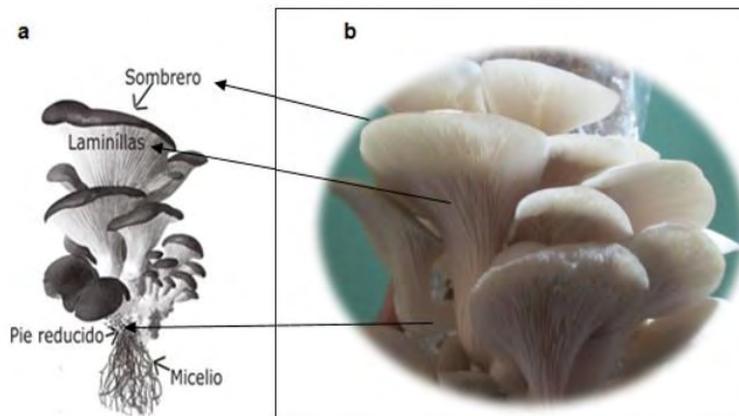
<sup>48</sup> CORTÉS R., Misael y colaboradores. Fortificación De Hongos Comestibles (*Pleurotus ostreatus*) Con Calcio, Selenio Y Vitamina C. En: VITAE, Revista De La Facultad De Química Farmacéutica. Medellín, Colombia, 2007. Vol. 14, No. 1, p. 16-24.

<sup>49</sup> GARZÓN GÓMEZ, Juan Pablo & CUERVO ANDRADE, Jairo Leonardo. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. En: NOVA, Publicación Científica En Ciencias Biomédicas. Diciembre, 2008. Vol.6, No. 10, p.126-140.

<sup>50</sup> QUINTERO. Óp. cit., p.35

<sup>51</sup> Global names index beta. CHAMP. JURA. VOSG., 1872, VOL., 1, P.112

Figura 5. Descripción morfológica de *P. ostreatus*: Partes principales.



a. Estructura básica de *Pleurotus ostreatus*,<sup>52</sup> b. *Pleurotus ostreatus* cultivado en granza de avena. Fuente: esta investigación.

- Sombrerillo (Píleo) o parte superior de la seta (cuerpo fructífero), es redondeado, con la superficie lisa, abombada y convexa cuando es joven, aplanándose luego poco a poco; el tamaño depende de la edad y de las condiciones del hongo, oscila entre 5 a 20 centímetros de diámetro, aunque pueden encontrarse ejemplares mucho más grandes; es de superficie lisa y un poco viscosa bajo las condiciones de humedad adecuada.
- Láminas (Himenio) que se encuentran en la parte inferior del sombrero, dispuestas radialmente como las varillas de un paraguas, que van desde el pie o tallo que lo sostiene, hasta el borde del sombrero. Están espaciadas unas de otras y son anchas, blancas o crema, a veces bifurcadas; en estas láminas se disponen los basidios en donde se producen las esporas destinadas a la reproducción de la especie.
- Las Esporas son de tamaño microscópico (7,5 a 11,5 x 3 a 5,6 micras), oblongas, casi cilíndricas. Aunque no se distinguen a simple vista, cuando se depositan en masa forman una especie de polvillo harinoso denominado «esporada», de color blanco con cierto tono lila-grisáceo; son las encargadas de la reproducción del hongo.
- Pie (estípite) es corto 1-4cm, sin embargo el tamaño depende de las condiciones de crecimiento (temperatura, humedad, pH, entre otras), es de consistencia firme y de color blanco. Su inserción suele ser algo lateral y su dirección ligeramente oblicua.

<sup>52</sup> CULTIVOS HIDROPONICOS [En línea]. El cultivo del Hongo Seta (*Pleurotus ostreatus*). Disponible en: <http://cultivoshidroponicosrj.blogspot.com.co/2010/09/el-cultivo-del-hongo-seta-pleurotus.html> [Citado, 12 de octubre 2016]

- Micelio está conformado por un conjunto de finos filamentos denominados hifas, de color blanco, es la parte vegetativa del hongo que sirve para absorber los nutrientes; el ciclo de vida hongo inicia con el nacimiento del micelio; le permite al hongo crecer y en el caso fructificar y finalmente morir.<sup>53</sup>

### 2.1.3.3 Ciclo reproductivo del hongo

Figura 6. Ciclo reproductivo del hongo



Fuente: Cultivos hidropónicos, 2010.

En la Figura 6 se observa que a partir de las esporas se desarrolla el micelio que invade el sustrato. El ciclo inicia cuando el hongo maduro suelta sus esporas tras abrirse el píleo, las cuales son las células que dan origen a las hifas y estas a su vez al micelio (semilla), la hifa crece a partir de su extremo y el material vegetal encontrado en su camino es descompuesto enzimáticamente dando origen al crecimiento de la seta; el ciclo concluye cuando el hongo seta maduro termina de soltar las esporas (esporada) e inicia a degradarse y muere, durando este ciclo de 7 a 8 semanas.<sup>54</sup>

### 2.1.4 Producción de hongos comestibles: *P. ostreatus*

#### 2.1.4.1 Hongos comestibles.

El uso gastronómico de los hongos en el mundo por parte del hombre se ha reportado desde hace más de cuatro siglos. En los últimos tiempos su consumo ha incrementado, evolucionando el cultivo de una gran variedad de especies ya sea de

<sup>53</sup> GARCIA ROLLAN. Óp. cit., p. 35

<sup>54</sup> CULTIVOS HIDROPONICOS. Óp. cit. p. 38

manera rústica o tecnificada. En Latinoamérica, México es pionero en la producción de un gran número de setas. En Colombia el cultivo de hongos comestibles está referenciado hacia los años de 1950 y el primer hongo cultivado fue el champiñón (*Agaricus bisporus*), años después se diversificó el cultivo con especies como el Shiitake (*Lentinula edodes*).<sup>55</sup> En la actualidad la especie *Pleurotus ostreatus* ha tenido gran acogida gracias a la capacidad de esta seta para adaptarse a diferentes pisos térmicos.

El contenido nutricional (proteínas, vitaminas, minerales, entre otros nutrientes) de los hongos comestibles, son factores que favorecen la inclusión de estos productos en la dieta alimenticia del ser humano;<sup>56</sup> además la producción de hongos comestibles es una actividad que no posee etapas o procesos que afecten el medio ambiente, por el contrario es una actividad biorremediadora, ya que el cultivo se realiza sobre materiales que son residuos producidos por diferentes sectores, entre ellos el sector agrícola.

#### 2.1.4.2 Alimentación humana.

- *Propiedades nutricionales:* las setas de *Pleurotus ostreatus* contienen minerales (fósforo, calcio, magnesio, manganeso, hierro, zinc, cobre y sodio) que son absorbidos a partir del sustrato en donde crece, vitaminas como la C y la D, además de proteína asimilable, en vista de que son ricas en aminoácidos esenciales.<sup>57</sup> Estudios hechos por Bermúdez y colaboradores<sup>58</sup> obtuvieron un contenido de proteína del cuerpo fructífero del hongo *Pleurotus ostreatus* de 28.90 % en base seca y un contenido de aminoácidos de 57.88% similar al del trigo (59.84%). Presenta buenas propiedades organolépticas por lo que es conocido como “bistec vegetal”. Ciappini y colaboradores<sup>59</sup> reportaron que los hongos frescos aportan muy pocas calorías, son 99% libres de grasas, ricos en fibras y bajos en sodio, además poseen alto contenido de potasio, ergosterol, entre otros nutrientes, un alto contenido de carbohidratos (57-14% fibra cruda, de los cuales 47% fibra dietética).

---

<sup>55</sup> CARDONA Óp. cit., p.36

<sup>56</sup> ASOHOFrucOL. [en línea]. [citado 7 septiembre 2016]. Disponible en: <http://www.asohopfrucol.com.co/>

<sup>57</sup> SALAS DE LA T., Norma y colaboradores. Estudio del Valor Nutricional y Propiedades Físicoquímicas y Bioquímicas de *Pleurotus ostreatus*. En: Revista Peruana Química e Ingeniería Química. Diciembre, 2004. Vol. 7, No. 2, p. 40-45

<sup>58</sup> BERMÚDEZ SAVÓN, Rosa Catalina y colaboradores. Influencia de la luz en la calidad proteica de *Pleurotus ostreatus* Var. Florida. En: Revista Cubana Investigación Biomédica, 2003. Vol. 22, No.4, p.226-231.

<sup>59</sup> CIAPPINI, María Cristina y colaboradores. *Pleurotus ostreatus*, una opción en el menú estudio sobre las gírgolas en la dieta diaria. En: Invenio. Junio, 2004. Vol. 7, No. 12, p. 127-132

- **Propiedades medicinales:** las setas de *Pleurotus ostreatus* son consideradas nutraceuticas debido a que aquellos alimentos o compuestos son capaces de dar un beneficio a la salud,<sup>60</sup> como el alto contenido de potasio en el hongo es importante para combatir padecimientos cardiovasculares, hipertensión y obesidad. Diversos estudios *in-vitro*<sup>61,62</sup> e *in-vivo*<sup>63</sup> se han llevado a cabo para determinar la capacidad antioxidante del hongo, precisando que las setas contienen compuestos entre ellos polisacáridos, que son capaces de reducir o retardar el crecimiento de células cancerosas, recomendándolo a nivel industrial como un agente con alto potencial antioxidante.<sup>64</sup>

Estudios hechos por Bobek y colaboradores<sup>65</sup> determinaron que el efecto del suministro de una dieta con setas de *Pleurotus ostreatus* deshidratadas en un 2% en ratas con hipercolesterolemia durante 6 meses disminuía los niveles de colesterol en un 65-80%, resultados que posteriormente fueron corroborados por los mismo autores en el año 1997.<sup>66</sup> Se le atribuye a las setas de *Pleurotus ostreatus* el efecto hepatoprotector y una múltiple variedad de propiedades medicinales.<sup>67</sup>

#### 2.1.4.3 Nutrición de ganado.

Investigadores como Castaño y colaboradores<sup>68</sup> han sugerido que una vez el sustrato haya sido completamente degradado por el hongo y se compruebe que esté libre de patógenos y micotoxinas, puede ser reciclado e incorporado en alimento

<sup>60</sup> KRÄMER, Klaus y colaboradores. Nutraceuticals in Health and Disease Prevention. 1 Ed. New York- Basel, USA: Marcel Dekker, Inc. 2001, p.21.

<sup>61</sup> PATRA, Sukesh y colaboradores. A heteroglycan from the mycelia of *Pleurotus ostreatus*: structure determination and study of antioxidant properties. En: Carbohydrate Research. Marzo, 2013. vol. 368, p. 16-21.

<sup>62</sup> ZHANG, Yunxia y colaboradores. Characterization and *in vitro* antioxidant activities of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus*. En: International Journal of Biological Macromolecules. Octubre, 2012. Vol. 51, p. 259-265.

<sup>63</sup> JAYAKUMAR, T. y colaboradores. Antioxidant activity of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, on CCl4-induced liver injury in rats. En: Food and Chemical toxicology. December, 2006. Vol. 44, p.1989-1996.

<sup>64</sup> JAYAKUMAR, T. y colaboradores. *In-vitro* antioxidant activities of an ethanolic extract of oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. En: Innovative Food Science and emerging Technologies. Abril, 2009. Vol.10, p. 228-234.

<sup>65</sup> BOBEK, P. y colaboradores. Dietary oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) accelerates plasma cholesterol turnover in hypercholesterolaemic rat. En: Physiological Research. 1995. Vol. 44, No.5, p. 287-91.

<sup>66</sup> BOBEK, P. y colaboradores. Dose-dependent hypocholesterolaemic effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in rats. En: Physiological Research. 1997. Vol. 46, No.4, p.327-9.

<sup>67</sup> LEBEN HERNÁNDEZ, Rodolfo [en línea]. Propiedades medicinales y nutrimentales de los hongos comestibles. Disponible en: <http://www.leben.com.mx/?p=38> [citado 2 octubre,2016]

<sup>68</sup> CASTAÑO, Natalia Lizette y colaboradores. Uso del Bagazo Enriquecido con el Hongo *Pleurotus ostreatus*, en Dietas para Bovinos Estabulados en Ceba. En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. Diciembre, 2012. Vol.10, No.2, p. 25-33

animal, dado que el sustrato en este punto tiene contenido proteico mejor. De igual forma los estudios de Castaño y colaboradores corroboraron que el alimento proveniente del enriquecimiento de bagazo de caña con sustratos resultantes de la producción de setas *Pleurotus ostreatus* para bovinos, mejora la producción de carne.

#### 2.1.4.4 Degradación de productos residuales.

El hongo *Pleurotus ostreatus* es un hongo de pudrición blanca, capaz de degradar compuestos complejos y tóxicos para el medio ambiente, como los plaguicidas, químicos xenobióticos, residuos recalcitrantes; además de servir como control de plagas.<sup>69, 70</sup> El control biológico es uno de los campos explorados en la producción de *P. ostreatus*, ya que el hongo de interés produce toxinas provenientes de sus glándulas espatuladas que inmovilizan los nematodos, de esta manera las hifas colonizan y digieren el nematodo, no generando efectos tóxicos para el ser humano.<sup>71</sup>

#### 2.1.4.5 Mejoramiento de cultivos

Entre los beneficios y aplicaciones de la producción de *P. ostreatus* están la implementación de los sustratos agotados para el cultivo de especies frutales, vegetales, entre otras; como lo demuestran estudios de Luna y colaboradores<sup>72</sup> evaluaron el crecimiento de plántulas de tomate bajo condiciones de invernadero en suelos con aserrín y cascarilla de arroz parcialmente biodegradado por *P. ostreatus* obteniéndose resultados bastante favorables para el crecimiento de estas plántulas de tomate. El uso del sustrato agotado para el cultivo del mismo hongo han sido investigadas por Picornell y colaboradores<sup>73</sup> indican que la utilización de sustratos agotados del cultivo de *P. ostreatus* para nuevos ciclos de vida de la misma especie. Así mismo se señaló que el enriquecer el sustrato con salvado de trigo y un suplemento comercial (Calprozime) produce una eficiencia biológica comprendida entre el 50 y 63%, considerándose que dichos sustratos agotados mejoran las características como la capacidad para retener agua en el rastrojo.

---

<sup>69</sup> USME, Wilson y colaboradores. Utilización de los hongos de pudrición blanca para la biodegradación de contaminantes orgánicos. En: BioTecnología. Vol. 9, No.1. p. 8-17

<sup>70</sup> QUINTERO. Óp. cit., p. 35

<sup>71</sup> PIEDRA NARANJO, Ricardo. Manejo Biológico de Nematodos Fitoparásitos con Hongos y Bacterias. En: Tecnología en Marcha. Marzo, 2008 .Vol. 21, No.1, p. 123-132

<sup>72</sup> LUNA FONTALVO, Jorge Alberto y colaboradores. Efecto de Residuos Agroforestales Parcialmente Biodegradados por *Pleurotus Ostreatus* (Pleurotaceae) Sobre el Desarrollo de Plántulas de Tomate. En: Acta Biol. Colomb. Agosto, 2013. Vol.18, No.2

<sup>73</sup> PICORNELL, María Raquel y colaboradores. Suplementación de sustratos degradados por el cultivo de *Pleurotus ostreatus* para la utilización en nuevos ciclos de vida. En: Agronomía Colombiana. Junio, 2015. Vol. 33, No.2, p. 261-270. DOI: 10.15446

## 2.1.5 Cultivo de *P. ostreatus*

### 2.1.5.1 Acondicionamiento del sustrato

Para obtener mayor eficiencia biológica y rendimiento en la producción de hongos comestibles es importante acondicionar los sustratos, asegurando que el hongo pueda obtener los nutrientes necesarios: *Tamaño de partícula*, recomendada entre 2-4 cm; los tamaños de partícula muy pequeños dificultan la aireación y si son muy grandes dificultan la compactación. *La humectación* del sustrato (humedad óptima entre 50-75%, para ciertos hongos máximo 60%); Rollan García, M.,<sup>74</sup> recomienda que se sumerja durante 1-2 días dependiendo del sustrato; *la pasteurización* es necesaria para disminuir la flora microbiana, semillas, parásitos u hongos, que en etapas posteriores inhiban el crecimiento del hongo; se puede realizar aplicando calor al sustrato o con inmersión en agua caliente a una temperatura entre 75-80°C por una hora. *El pH* se suele ajustar al rango adecuado para el crecimiento del hongo con la adición de carbonato de calcio. Se suele utilizar *sulfato de amonio* para asegurar el nitrógeno para el crecimiento del hongo<sup>75</sup>.

### 2.1.5.2 Preparación de la semilla

La calidad de la semilla es determinación en la producción de setas comestibles; hay laboratorios y casas comerciales que las preparan y las distribuyen. La semilla del hongo se obtiene a partir de cultivos puros que se mantienen criopreservados en agar o de un aislamiento a partir de la zona himenial de un cuerpo fructífero. Rollan (1985) recomienda que la semilla debe ser sacada de refrigeración un día antes de ser sembrada, para evitar cambios bruscos de temperatura (sustrato-semilla) que causen la muerte del micelio.<sup>76</sup>

### 2.1.5.3 Etapas del cultivo

- **Inoculación (Siembra):** es la etapa inicial del cultivo y consiste en mezclar el micelio de manera uniforme con el sustrato, la cantidad de micelio varía entre 1-4% en peso húmedo; se recomienda hacerlo en bolsas plástica previamente esterilizadas y con pequeñas aberturas para asegurar la respiración y ventilación; se debe hacer en lugar esterilizado o donde se garantice la no contaminación.
- **Incubación:** fase o periodo donde el micelio invade el sustrato en las condiciones ambientales adecuadas (luz, humedad, pH, etc.); tiene una duración

---

<sup>74</sup> GARCIA ROLLAN. Óp cit., p. 35

<sup>75</sup> CHANG. Óp. cit., p. 29

<sup>76</sup> GARCIA ROLLAN. Óp. cit., p. 35

entre 15-20 días, la invasión completa del micelio se observa cuando el sustrato toma un color blanco; se debe asegurar la concentración de CO<sub>2</sub> necesaria (cerca al 25%) para estimular el crecimiento del micelio en esta etapa.<sup>77</sup>

- **Fructificación:** inicia con la formación de los primordios o formación de los cuerpos fructíferos; se debe asegurar la luz y humedad necesaria para estimular la formación de los cuerpos fructíferos. El aumento de la temperatura hace que esta etapa dure menos tiempo pero el cuerpo fructífero se hace más débil, se debe tener la temperatura adecuada (disminuirla 2-3°C si es necesario) para obtener sombreros más gruesos y carnosos.
- **Cosecha:** generalmente se hace a partir de los 40 días, para que los cuerpos fructíferos sean aptos (agradables) para consumo humano se deben cosechar jóvenes, para evitar que la carne de la ostra se endurezca; cuando el borde del sombrero de la seta deja de ser convexo, ya no es conveniente para comercialización. Se pueden producir hasta cuatro cosechas (u oleadas) pero las más importantes o las de mayor producción son las dos primeras.<sup>78</sup>

#### 2.1.6 El café en Colombia

Para el 2012 la industria agrícola Colombiana reportó una producción de 25.3 millones de toneladas de origen agrícola<sup>79</sup>, el café es el producto de exportación que más valor aporta al sector, no obstante productos como la palma aceitera, la soya, el maíz y el tabaco rubio han tomado importancia en el tema de la exportación, debido al aumento en la demanda<sup>80</sup>. Colombia ocupa el tercer lugar entre los diez mayores exportadores de café, encabezado este *ranking* por Brasil, llegando la exportación de café en el 2010 a un alrededor de 6.735.489 sacos y para el 2012 la producción interna fue de 16.239.227 toneladas<sup>81</sup>. Nariño reporta 37 mil hectáreas dedicadas al cultivo de café, donde de los 62 municipios del departamento 35 son caficultores, entre los que se destaca el Tambo, La Unión, Consacá, Buesaco y Sandoná.<sup>82</sup>

---

<sup>77</sup> *Ibíd*, p. 12

<sup>78</sup> *Ibíd*, p. 19

<sup>79</sup> DEPARTAMENTO ECONÓMICO SAC. [En línea]. Balance y perspectivas del sector agropecuario 2012-2013. Disponible en: <http://www.sac.org.co/es/estudios-economicos/balance-sector-agropecuario-colombiano/290-balance-y-perspectivas-del-sector-agropecuario-2012-2013.html> [citado 12 agosto, 2016], 40p

<sup>80</sup> GÓMEZ, José Hernando y colaboradores. [En línea]. La política comercial del sector agrícola en Colombia. Fedesarrollo, 2011. Disponible en: [http://www.fedesarrollo.org.co/wp-content/uploads/2011/08/Cuaderno-No-38\\_web.pdf](http://www.fedesarrollo.org.co/wp-content/uploads/2011/08/Cuaderno-No-38_web.pdf) [citado, 5 agosto 2016]]

<sup>81</sup> DEPARTAMENTO ECONÓMICO SAC. *Op. cit.*, p. 44

<sup>82</sup> FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA [en línea]. Área cultivada según tecnificación por departamento- anual desde 2007. Disponible en: [http://www.federaciondefeteros.org/particulares/es/quienes\\_somos/119\\_estadisticas\\_historicas/](http://www.federaciondefeteros.org/particulares/es/quienes_somos/119_estadisticas_historicas/)

En la industrialización del café solo se utiliza el 9.5% del peso del fruto fresco, el 90.5% restante es generado en forma de residuo, el despulpado y desmucilaginado son las etapas donde se presenta la mayor cantidad de rescoldo (cerca del 64%), el mal manejo de estos residuos los ha convertido en una fuente de contaminación de los recursos naturales (agua, suelo y aire); en la actualidad se han realizado esfuerzos por evitar el deterioro del medio ambiente, diversos estudios indican que las características físicas y químicas de los residuos permiten que sean usados en diversas actividades como la elaboración de abono orgánico<sup>83</sup> y el cultivo de hongos, entre las más destacadas, beneficiando además a la industria alimenticia debido al valor nutricional que aportan géneros como: *Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinula*, *Auricularia*.<sup>84</sup> Estudios de Fonseca y colaboradores<sup>85</sup> indican que los subproductos de la industrialización del café poseen propiedades químicas como actividad antioxidante y contenido fenólico (Tabla 1).

Tabla 1. Contenido de Fenoles totales y actividad antioxidante en productos y subproductos de la industrialización de café (Toledo, Norte de Santander-Colombia)

	FT mg EAG/ g café	ABTS $\mu$ mol Etrolox/ g café
Almendra	735,0 $\pm$ 0,000	233,0 $\pm$ 0,000
Pulpa	252,2 $\pm$ 4,795	91,49 $\pm$ 1,721
Pergamino	102,6 $\pm$ 4,792	97,26 $\pm$ 0,000
Cascarilla	97,44 $\pm$ 0,000	128,5 $\pm$ 0,246

Fuente: Fonseca García, Libia y colaboradores (2014)<sup>86</sup>

### 2.1.7 Sustratos utilizados para la producción de hongos comestibles

Se ha estudiado el cultivo de *P. ostreatus* y muchas otras especies comestibles en una gran variedad de materiales, entre los cuales están los productos residuales de la industria agrícola: cáscara de plátano, hoja de plátano, paja de trigo, desechos del café, desperdicios de yuca, industria del papel, harina de soya, bagazo de caña de azúcar, entre muchos otros; productos de la industria papelera como diarios,

<sup>83</sup>LÓPEZ CASTILLO, Ana Llancys Y CASTILLO ARAÚ, Bayardo Antonio. Validación del mucílago de café para la producción de etanol y abono orgánico. Trabajo de grado (Ingeniero Agroindustrial). Universidad Nacional De Ingeniería, Sede Regional del Norte, Recinto Universitario Augusto C. Sandin, Estelí-Nicaragua, 2012, 70p.

<sup>84</sup>RODRIGUEZ VALENCIA, Nelson. Manejo de residuos en la agroindustria cafetera. CENICAFE. seminario internacional: gestión integral de residuos sólidos y peligrosos. Siglo XXI. Manizales-Colombia, 2012. 10p.

<sup>85</sup>FONSECA GARCÍA, Libia y colaboradores. Capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en café y subproductos del café producido y comercializado en Norte de Santander (Colombia). En: VITAE. Octubre, 2014. Vol. 21, No. 3, p. 228-236.

<sup>86</sup>Ibíd, p. 234

cartones; e incluso se ha cultivado *P. ostreatus* sobre troncos sintéticos observándose una disminución en el tiempo de cultivo y un aumento de la eficiencia biológica Miles y Chang<sup>87</sup> reportan que la eficiencia de cultivo está entre 70 a 125% sobre sustratos sintéticos.

*Pleurotus ostreatus* no es un hongo que sobreviva en el suelo; necesita para su nutrición y crecimiento, sustratos que contengan una fuente de carbono como celulosa, hemicelulosa y lignina;<sup>88</sup> que están presentes en diversos desechos agroindustriales.

#### 2.1.7.1 Nutrientes del sustrato

- Carbono: proveer a las células del hongo la energía necesaria para su crecimiento, los *Basidiomicetos* puede obtenerla de polisacáridos, monosacáridos, ácidos orgánicos, ciertos alcoholes, compuestos policíclicos, compuestos naturales como la lignina, entre otros<sup>89</sup>.
- Nitrógeno: el hongo puede obtener el nitrógeno a partir del nitrógeno atmosférico, especies como los nitratos, el ion amonio y el nitrógeno orgánico. Este elemento es esencial para la síntesis de proteínas, purinas y pirimidinas, especialmente de la quitina que es el componente principal de las paredes del hongo.
- Vitaminas: son requeridas en pequeñas cantidades por los hongos; actúan como coenzimas y tienen acciones catalíticas específicas; algunas vitaminas no son sintetizadas por el hongo. Entre las vitaminas requeridas y deficientes en los *Basidiomicetos* están la tiamina y la biotina.
- Minerales: las concentraciones de minerales requeridas por el hongo son muy bajas, pero son muy importantes. El sulfuro para la síntesis de aminoácidos azufrados. El fósforo es importante como cofactor en algunos procesos enzimáticos. Muchas enzimas utilizadas por el hongo para la degradación de los sustratos están activadas por magnesio; además es importante para el metabolismo ATP. Otros elementos llamados elementos traza como el zinc, hierro, cobre, calcio, molibdeno, manganeso entre otros son importantes en procesos enzimáticos, el cobre por ejemplo en la pigmentación de las esporas. El calcio en el proceso de la

---

<sup>87</sup> MILES, Philip. G. and CHANG, Shu-Ting. Mushrooms: Biology-Concise Basics and Current Developments. Singapore: World Scientific. 1997. 194p

<sup>88</sup> CHANG. Óp. cit., p. 29

<sup>89</sup> GARCIA ROLLAN. Óp. cit., p. 35

fructificación, aparentemente no es muy requerido por una gran cantidad de hongos.<sup>90</sup>

#### 2.1.7.2 Requerimientos físicos

En adición a las sustancias o elementos mencionados anteriormente para la nutrición del hongo, están los factores físicos o ambientales como la temperatura, humedad, pH, luz, aire y gravedad entre otros que están determinados en los rangos mínimo, óptimo y máximo como puntos cardinales, afectando por ejemplo en la nutrición, desarrollo genético y fructificación:

- **Temperatura:** es importante en la elaboración de productos metabólicos, y en etapas como la esporulación y fructificación. No todos los hongos necesitan la misma temperatura cardinal, esta puede estar en un rango entre 20-40°C, dependiendo de las temperaturas cardinales se clasifican en: Psicrófilos (temperatura mínima 0°C, óptima 17°C y máxima 20°), Mesófilos (temperatura mínima de 0°C, óptima entre 15-40°C y máxima 50°C) y Termófilos (mínima de 20°C, óptima alrededor de los 35°C y máxima de 50°C).
- **pH:** el crecimiento de los hongos se lleva a cabo en pH ácidos, no obstante estos pueden crecer en amplio rango de pH. Para el género *Pleurotus* se han referenciado rangos de pH entre 4-7, pero el óptimo para su crecimiento está entre 5-6 y para la etapa de fructificación entre 6.5-7.<sup>91</sup>
- **Humedad:** los hongos requieren altos niveles de humedad, reportándose esta en el rango entre 60-95% en el medio ambiente y en el sustrato equivalente al 50-75%, sin embargo el micelio del hongo *Serpula lacrymans* puede crecer en sustratos sin humedad, debido a que forma agua metabólica para el crecimiento. Para *Pleurotus ostreatus* la humedad óptima reportada oscila entre el 80-85%.<sup>92</sup>
- **Luz:** las exposiciones prolongadas a la luz directa puede inhibir el crecimiento o incluso ser letal; la exposición a luz ultravioleta en la región 200-300nm afecta el crecimiento del cuerpo vegetativo del hongo e incluso puede causar mutaciones; los hongos tienen la capacidad de revertir estas mutaciones con la exposición a la luz visible en el rango 360-420nm (fotoreactivación). Para los *Basidiomicetos* como el *P. ostreatus* la luz juega un papel muy importante en los procesos como la

---

<sup>90</sup> CHANG. Óp. cit., p.29

<sup>91</sup> GARCIA ROLLAN. Óp. cit., p. 35

<sup>92</sup> Ibíd, p. 8

reproducción; las partes del hongo encargados de la reproducción son fototróficas; en la formación de los primordios y durante la fructificación.<sup>93,94</sup>

- Aire: los *Macromicetos* como el *P. ostreatus* obtienen del aire carbono, oxígeno y dióxido de carbono. La mayoría de los hongos son aerobios, sin embargo los altos niveles de oxígeno inhiben el crecimiento del hongo. El CO<sub>2</sub> estimula la germinación de espora y el crecimiento del micelio; en presencia de altos niveles de CO<sub>2</sub> la etapa de fructificación puede ser inhibida e incluso causar malformaciones en el hongo. Chang & Philip (2004) reportan que las concentraciones óptimas de CO<sub>2</sub> para el crecimiento del hongo deben estar en el rango entre 0.1-0.5% y una concentración de oxígeno del 20%. Aunado a esto es importante tener una buena ventilación.
- Gravedad: este factor influye en la formación de los cuerpos fructíferos y la reproducción, siendo las esporas descargadas por el basidio, que se encuentra en el himenio. Las esporas caen por acción de la gravedad, donde las corrientes de aire se encargan de esparcirlas o llevarlas a su destino final.<sup>95</sup>

#### 2.1.8 Palma aceitera

La palma aceitera hace parte de la materia prima en la elaboración de productos en la industria alimenticia (margarinas, aceites y aliños), industria de jabones y en la última década se ha convertido en la materia prima para la elaboración del biodiesel<sup>96</sup>. Colombia es el quinto productor de palma aceitera en el mundo después de Indonesia, Malasia, Nigeria y Tailandia; en el 2010 se reportó 401 mil hectáreas dedicadas al cultivo de la palma africana (250 mil hectáreas (62,1%) en producción, y 152 mil hectáreas (37,9%) en desarrollo, correspondiendo al 2% de la producción mundial<sup>97</sup>. Para el 2012 FEDEPALMA reporta que en el suroccidente colombiano hay 20.131 hectáreas dedicadas al cultivo de palma aceitera de las cuales 4.229 se encuentran en producción.<sup>98</sup> La producción de palma aceitera, requiere grandes

---

<sup>93</sup> CHANG. Óp. Cit., p. 29

<sup>94</sup> CARVAJAL TOCAGÓN, Grace Margoth. Evaluación de la Producción de Hongo *Pleurotus ostreatus* Sobre Cinco Tipos de Sustrato (Tamo de Trigo, Tamo de Cebada, Tamo de Vicia y Paja de Páramo) Enriquecidos Con Tuza Molida, Afrecho de Cebada y Carbonato de Calcio. Tesis de Grado (Ingeniera Agropecuaria). Pontificia Universidad Católica del Ecuador-Sede Ibarra. Escuela de Ciencias Agrícolas Y Ambientales. 2010, p. 43

<sup>95</sup> CHANG. Óp. Cit., p. 29

<sup>96</sup> RINCÓN, Luis E. y colaboradores. Calculo del cambio en emisiones generadas asociadas a la expansión de cultivos de palma aceitera en Colombia. Manizales- Colombia: FAO, 2013.

<sup>97</sup> ZULUAGA, Sandra. Elementos para modificar el fondo de estabilización de precios para el palmiste, el aceite de palma y sus fracciones. Bogotá-Colombia: Fedesarrollo. Marzo 2011. 133pag.

<sup>98</sup> FEDEPALMA, (Federación Nacional De Cultivadores De Palma de Aceite). Principales cifras de la agroindustria de la palma de aceite en Colombia. Minianuario Estadístico 2013, Colombia, 2013, 54p.

extensiones de tierra, causando un impacto ambiental (deforestación);<sup>99</sup> se genera contaminación por los residuos (raquis, cuesco y palmiste) provenientes de la industrialización del producto (aceite), debido a que estos no tienen una aplicación inmediata y son dispuestos de manera inadecuada.

Las tusas (raquis), la cáscara y la cascarilla son la mayor cantidad de los residuos sólidos generados durante la extracción del aceite; debido a sus características físicas y químicas (nutrientes como potasio, nitrógeno, fósforo entre otros) estos han sido utilizados en la producción de abono orgánico,<sup>100</sup> y como combustible mediante la combustión directa para la producción de vapor; sin embargo no es posible utilizarlo todo por lo que el sobrante es dispuesto inadecuadamente<sup>101</sup>.

### 2.1.9 Fique la “fibra nacional” de Colombia

Las fibras naturales han sido utilizadas desde tiempos inmemorables por los antepasados, su aplicación está desde la parte artesanal hasta la medicinal; el fique es la tercera fibra más comercializada a nivel mundial después del yute y el sisal.<sup>102</sup> Colombia es el principal productor de fique en el mundo; países como Puerto Rico y Venezuela lo cultivan en menor cantidad; en Colombia el fique ha sido catalogado como la “Fibra Nacional” por excelencia<sup>103</sup>, para el año 2012 en Nariño se reportaron 4690 hectáreas de cultivo<sup>104</sup>. El Tambo es uno de los municipios del departamento de Nariño en el cual la plantación de fique no requiere adecuación en la tierra, posee el clima y las condiciones agronómicas óptimas para su cultivo.<sup>105</sup>

---

<sup>99</sup> SEEBOLDT, Sandra Y SALINAS ABDALA, Yamile. Responsabilidad y sostenibilidad de la industria de la palma ¿son factibles los principios y criterios de la RSPO en Colombia? En: Indepaz. Febrero 2010. ISBN: 978-958-8397-07-8. 76p.

<sup>100</sup> NUJLA COTO, Ramón Wilberto [En línea]. Compost humificado: proceso rentable y amigable con el ambiente usando residuos de la producción de palma africana. Buenos Aires, agosto 2011. Disponible en: <http://www.agromeat.com/15649/compost-humificado-proceso-rentable-y-amigable-con-el-ambiente-usando-residuos-de-la-produccion-de-aceite-de-palma-africana>

<sup>101</sup> SANTOS RÍOS, Gloria Inés [en línea]. Diagnóstico y propuesta para la gestión de los residuos sólidos generados por el proceso de extracción de aceite crudo de la Palma Africana en palmas oleaginosas BUCARELIA S.A. Bucaramanga, 2007, 84p Trabajo de grado (especialista en química ambiental), Universidad Industrial de Santander. Especialización en química ambiental. Disponible en: <http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/7044/2/123928.pdf>

<sup>102</sup> CASTELLANOS, Oscar Fernando y colaboradores. Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de fique en Colombia. Ministerio De Agricultura Y Desarrollo Rural- Universidad Nacional De Colombia. Bogotá D.C., 2009, 222p.

<sup>103</sup> CADEFIQUE [en línea]. Guía ambiental del subsector fiquero. 2 ed. Bogotá D.C., Colombia: Dirección de Desarrollo Sectorial Sostenible. 2006. 121p. Disponible en: [https://www.finagro.com.co/sites/default/files/node/basic-page/files/guia\\_ambiental\\_subsector\\_fiquero.pdf](https://www.finagro.com.co/sites/default/files/node/basic-page/files/guia_ambiental_subsector_fiquero.pdf) [citado, 23 agosto de 2016]

<sup>104</sup> *ibíd.*, p. 21

<sup>105</sup> *ibíd.*, p. 20.

De la hoja de la planta de fique se puede obtener diferentes productos, como se menciona en la Tabla 2; es la parte de la planta que genera la mayor utilidad; debido a sus características físicas y químicas. En la actualidad el procesamiento de la planta de fique se limita en mayor proporción a la obtención de fibra, la cual equivale a aproximadamente entre el 4-6% de la hoja; sin embargo, más del 95% de la hoja es desperdiciada y dispuesta en el terreno de cultivo, generando contaminación.

106,107

Tabla 2. Estructura física de la hoja de fique

Componente	% en la hoja	% útil	Usos
Fibra	5	4	Industria textil, empaques
Jugo	70	40	Extracción de esteroides
Estopa	8	3	Pulpa de papel
Bagazo	17	10	Material de construcción, abonos

Fuente: Arroyave y Velásquez, 2001<sup>108</sup>

La situación ambiental debido a la disposición final que se hace de los productos diferentes a la fibra expuestos en la Tabla 2 (bagazo, jugo y estopa) es uno de los problemas a los cuales se enfrenta el productor de fique; su disposición inadecuada provoca la contaminación en fuentes hídricas (quebradas y ríos), acumulación de biosólidos en el cultivo y atracción de insectos. Las características físicas y químicas como son el alto contenido de lignina, azúcares (sacarosa, fructosa y glucosa), proteínas sapogénicas, esteroides y minerales que hacen difícil la biodegradación; en la Tabla 3, se observa el peligro que representa el jugo de fique para especies animales como los peces de las fuentes en donde se lleva a cabo su disposición.

Tabla 3. Concentración letal media entre varios plaguicidas y el jugo del fique.

Plaguicidas y el jugo de fique	CL <sub>50</sub> (96 h) expresada en mg/l para Trucha Arco Iris
Insecticida (Clorpirifos)	0.007- 0.051
Jugo del fique	1.0
Fungicida (Mancozeb)	2.2
Herbicida (Propanil)	8-11

Concentración letal media CL<sub>50</sub> (96 horas). Fuente: CADEFIQUE, 2006<sup>109</sup>

No obstante el suelo cultivado con fique se ve altamente beneficiado, la acumulación de raíces de fique le ofrece al suelo un enriquecimiento en nitrógeno; una protección para el suelo, debido a la capacidad para almacenar agua; es una excelente especie

<sup>106</sup> CORPOICA, Op. Cit., p.25

<sup>107</sup> CADEFIQUE, Op. cit., p. 49

<sup>108</sup> ARROYAVE, Paola C. y VELÁSQUEZ, David E. Aprovechamiento integral de *Furcraea Macrophylla* Backer. Universidad EAFIT. Departamento de Ingeniería de Procesos, Medellín. 2001, 250p.

<sup>109</sup> CADEFIQUE., Op. Cit., p. 49.

para reforestación.<sup>110</sup> El bagazo que es un subproducto puede ser usado como abono orgánico, concentrado para animales, cultivo de hongos comestibles y fibra corta,<sup>111</sup> generando utilidades diferentes a la inadecuada disposición.

## 2.1.10 Capacidad antioxidante

### 2.1.10.1 Especies reactivas

Las especies reactivas de oxígeno (ERO o ROS por reactive oxygen species) son las más relevantes, como se observa en la Tabla 4, también están las especies reactivas de nitrógeno (ERN), las especies reactivas de cloro (ERCI), especies reactivas de bromo (ERBr) entre otras.<sup>112,113</sup>

Tabla 4. Especies reactivas de oxígeno y relacionadas.

	Radicales	No radicales
Especies reactivas de oxígeno	anión superóxido, O <sub>2</sub> <sup>-</sup> Hidroxilo, OH <sup>•</sup> Hidroperoxilo, HO <sub>2</sub> <sup>•</sup> peroxilo RO <sub>2</sub> <sup>•</sup> alcohoxilo, RO <sup>•</sup>	peróxido de hidrógeno, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> hidroperóxido lípido, LOOH ozono, O <sub>3</sub> oxígeno singulete, <sup>1</sup> Δg ácido hipobromoso, HBrO
Especies reactivas de nitrógeno	óxido de nitrógeno, •NO dióxido de nitrógeno, NO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	Acido nitroso, HNO <sub>2</sub> Catión nitrosil, NO <sup>+</sup> Anión nitroxilo, NO <sup>-</sup> Tetraóxido de dinitrogeno N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> Trióxido de dinitrógeno N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Catión nitronio NO <sub>2</sub> <sup>+</sup>
Otras especies reactivas	radical tiíl, RS <sup>•</sup> radical proteína, P <sup>•</sup> Lípido, L <sup>•</sup>	Acido hipocloroso, HClO Cloruro de nitrilo, NO <sub>2</sub> Cl Complejos de hierro y oxígeno Fe=O

Fuente: Evans, Patricia and Halliwell, Barry (2001)<sup>114</sup>

<sup>110</sup> CADEFIQUE. Consejo nacional de fique. Bogotá, D.C.: República de Colombia. Ministerio de agricultura y desarrollo rural. 2004. 38p.

<sup>111</sup> CORPOICA., Op. Cit., p. 25.

<sup>112</sup> *Ibíd.*, p. 67-74

<sup>113</sup> NOGUCHI, N. and NIKI, E. Chemistry of active oxygen species and antioxidants. En: Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health. 1 ed. Boca Raton: A.M. Papas, CRC Press, 1999. p. 3-20.

<sup>114</sup> EVANS, Patricia and HALLIWELL, Barry. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. En: British Journal of Nutrition. Mayo, 2001. Vol. 85, Suppl. 2. p. 67-74. DOI: 10.1049/BJN2000296

Algunas de las especies reactivas son importantes para muchas formas de vida incluida la del ser humano, como por ejemplo el  $O_2$ , sin embargo juega un doble papel debido a que es un agente oxidante<sup>115</sup>.

La configuración electrónica espacial de determinadas especie hacen que sean inestables químicamente, tienden a interactuar con átomos o moléculas que se encuentran a su alrededor de ahí el nombre “especies reactivas”; entre estas se encuentran los radicales libres que tienen electrones desapareados; el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el ozono ( $O_3$ ).

#### 2.1.10.2 Fuentes de especies reactivas

Algunas de las especies reactivas existen de forma natural, por ejemplo: el  $O_3$  que desempeña un papel importante en la atmósfera y el  $O_2$  que es un birradical libre; cerca del 21% de la atmósfera está compuesta por  $O_2$ , en gran parte es el producto de la oxidación del agua llevada a cabo por las plantas, cianobacterias y algas con la luz solar.<sup>116, 117</sup>

La formación de los radicales libres y especies oxidantes en el organismo pueden darse en: las reacciones durante el metabolismo celular, con o sin participación enzimática, pero mediada por iones metálicos de transición<sup>118</sup>, por ejemplo, durante la reducción del  $O_2$  a  $H_2O$  se puede producir la especie  $O_2^{\cdot}$  (entre 1-2%, cuando la reducción es incompleta) quien a la vez puede generar otras ERO como el  $H_2O_2$  y el  $OH^{\cdot}$ ;<sup>119</sup> en los sistemas de defensa, un ejemplo son los fagocitos, quienes durante una infección bacteriana liberan radicales libres para matar a las bacterias invasoras;<sup>120,121</sup> en la cadena transportadora de electrones en la mitocondria. Los cloroplastos y la membrana plasmática también son generadoras de especies reactivas, en situaciones externas como la actividad física;<sup>122</sup> radiaciones (rayos X,

---

<sup>115</sup> MAESTRO DURAN, R. y BORJA PADILLA, R. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. En: Grasas y Aceites, 1993. Vol. 44, No. 2, p.101-106.

<sup>116</sup> TORRES, Wilhelm Hansberg. Biología de las Especies reactivas de oxígeno. En: Mensaje Bioquímico, 2002. Vol. 26. p.19-53.

<sup>117</sup> GONZÁLEZ, Ricardo y colaboradores. Estudios sobre genotoxicidad del ozono. En: Revista Cubana Investigaciones Biomédica. Septiembre, 2004. Vol. 23, no. 3, p.177-8

<sup>118</sup> MALDONADO SAAVEDRA, Octavio y colaboradores. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. En: Rev Méd UV. Agosto, 2010. Vol. 10, No. 2, p.32-39

<sup>119</sup> CADENAS, Enrique y colaboradores. Production of superoxide radicals and hydrogen peroxide by NADH-ubiquinone reductase and ubiquinol-cytochrome c reductase from beef-heart mitochondria. En: Arch. Biochem. Biophys. Abril, 1977. Vol. 180, No. 2, p. 248-257.

<sup>120</sup> DEVLIN, Thomas M. Bioquímica: libro de texto con aplicaciones clínicas. 4 ed. New Jersey-USA.: Reverte, S.A. 2004. 1219p.

<sup>121</sup> TORRES, Wilhelm Hansberg. Óp. cit. p.52

<sup>122</sup> URBINA BONILLA, Adriana del Pilar. Nuevo papel de los radicales libres de oxígeno en el ejercicio: ¿otra paradoja? En: Colomb Med. 2008. Vol. 39, No. 3, p.266-75

radiaciones UV, gamma, etc.), contaminación ambiental como el humo del tabaco, hidrocarburos halogenados, entre otros.<sup>123, 124, 125</sup>

Las fuentes de especies reactivas se clasifican en dos grupos:

- Endógenos, que corresponden a sistemas biológicos: Cadena de transporte electrónico (mitocondrial, peroxisomal y microsomal), enzimas citoplasmáticas (la XOD, catecolamina y riboflavina), enzimas fagocíticas (la mieloperoxidasa y la NADPH-oxidasa) y proteínas como xantina oxidasa.
- Exógenos, que están directamente relacionados con la exposición a las diferentes condiciones ambientales como: las radiaciones (rayos X, UV provenientes de la radiación solar), el humo del cigarro, ciertos componentes de la dieta (sales de hierro, cobre y compuestos fenólicos), la hiperoxia, actividad física, estrés, exposición a metales como el arsénico, el exceso o deficiencia de nutrientes, las dietas ricas en ácidos grasos saturados o trans-insaturados, xenobióticos (benzopireno, quinonas, biperilidos), entre otros.<sup>126, 127, 128, 129</sup>

#### 2.1.10.3 Las especies reactivas en el organismo y el daño oxidativo

Estudios han demostrado que las especies reactivas tienen funciones específicas, el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> participa en la síntesis de la hormona tiroidea y en la maduración de los espermatozoides; el NO<sup>\*</sup> en la vasodilatación en los mamíferos, y en las plantas participa en la formación de la lignina y el entrecruzamiento en los componentes de la pared celular en los sitios de invasión de microorganismos. Para combatir infecciones bacterianas los fagocitos producen y liberan radicales oxigenados

---

<sup>123</sup> ABILÉS, Jimena soledad. Estrés oxidativo y su relación con el aporte de antioxidantes nutricionales en un paciente crítico. Trabajo de grado (doctor). Universidad de Granada, 2007.123p.

<sup>124</sup> HALLIWELL, Barry y colaboradores. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now?. En: The Journal of laboratory and clinical medicine. Junio, 1992. Vol. 119, No. 2, p. 598-620

<sup>125</sup> PÉREZ GASTELL, Pedro Luis, y PÉREZ DE ALEJO, José Luis. Métodos para medir el daño oxidativo. En: Rev Cubana Medicina Militar. 2000. Vol. 29, No. 3, p.192-198

<sup>126</sup> PAPAS, Andrea M. Diet and Antioxidant Status. En: Food and Chemical Toxicology. Octubre, 1999. Vol.37, No. 9-10, p. 999-1007

<sup>127</sup> LUNA LÓPEZ, Armando. Mecanismos endógenos de generación de especies reactivas de oxígeno y respuesta celular antioxidante ante el estrés oxidativo: Envejecimiento humano una visión transdisciplinaria. 1 ed. México: Instituto De Geriátria, 2010. 393p.

<sup>128</sup> SORG, Olivier. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? En: Comptes Rendus Biologies. Julio, 2004. Vol. 327, No. 7, p. 649-662

<sup>129</sup> MIGLIORE, Lucia and COPPEDÈ, Fabio. Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging. En: Mutation Research /Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. Marzo, 2009. Vol. 674, No. 1-2, p. 73-84

tóxicos para matar las bacterias invasoras en un proceso denominado explosión respiratoria, sin embargo en infecciones prolongadas los fagocitos tienden a morir liberando radicales libres tóxicos que afectan a células vecinas.<sup>130, 131</sup>

Aun cuando las especies reactivas son parte de la naturaleza de los seres vivos, debido a su alta inestabilidad, tienden a reaccionar con moléculas o átomos vecinos (ADN, proteínas, lípidos, carbohidratos, enzimas entre otras) causando daños que en ocasiones son irreparables; el radical hidroxilo es el más peligroso, está implicado en reacciones de peroxidación de lípidos y la generación de otros radicales muy tóxicos, un ejemplo de la peroxidación lipídica en el hombre son las manchas marrones que se observan frecuentemente en las personas ancianas. Las lesiones al ADN mitocondrial son unas de las consecuencias más graves causadas por la oxidación de especies reactivas.<sup>132,133</sup> Muchos de estos daños son la patogénesis de enfermedades como la arterioesclerosis, tumores y otras enfermedades.<sup>134,135</sup>

El radical hidroperóxilo ( $\text{HO}_2^*$ ) por ejemplo es mucho más reactivo frente a moléculas de importancia biológica, sin embargo éste no existe a pH fisiológico, no obstante es importante en la formación de otra molécula que es mucho más reactiva como lo es el peróxido de hidrógeno.<sup>136</sup>

#### 2.1.10.4 Estrés oxidativo

Las especies reactivas a bajas concentraciones son importantes en el metabolismo celular; principalmente en los complejos enzimáticos de la cadena de transporte de electrones mitocondrial.<sup>137, 138, 139</sup> Sin embargo cuando el organismo no logra controlar las concentraciones o estas especies rebasan las defensas antioxidantes

---

<sup>130</sup> DEVLIN, Thomas. Óp cit., p. 52

<sup>131</sup> TORRES, Wilhelm. Óp. cit., p.52

<sup>132</sup> DEVLIN, Thomas. Óp. cit., p.52

<sup>133</sup> TORRES, Wilhelm. Óp. cit., p.52

<sup>134</sup> LI, Yan-Feng and LIU, Zai-Qun. Original Contribution Dendritic antioxidants with pyrazole as the core: Ability to scavenge radicals and to protect DNA. En: Free Radical Biology & Medicine. Junio, 2012. Vol. 52, No. 1, p.103–108

<sup>135</sup> HALLIWELL, Barry and WHITEMAN, Matthew. Review: Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and cell culture: ¿how should you do it and what do it and what do the results mean? En: British journal of pharmacology. Mayo, 2004. Vol. 142, No. 2, p. 231-255.

<sup>136</sup> ABILÉS, Jimena. Óp. Cit., p. 53

<sup>137</sup> LENZA, Giorgio. The Mitochondrial Production of Reactive Oxygen Species: Mechanisms and Implications in Human Pathology. En: IUBMB Life. September, 2001. Vol. 52, No.3-5, p. 159–164.

<sup>138</sup> TURRENS, Julio F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. En: J.Physiol. Octubre, 2003. Vol. 552, No. 2, p.335-344.

<sup>139</sup> DAVIES, Kelvin J.A. Oxidative stress: the paradox of aerobic life Biochem. En: Biochemical Society Symposia. Noviembre, 1995. Vol. 61, p.1–31.

(el desequilibrio se da a favor de especies oxidantes) se produce lo que se conoce como estrés oxidativo; puede causar daños irreparables en las células.<sup>140, 141,142</sup>

Entre los factores que ocasionan el estrés oxidativo están: una dieta deficiente de alfa-tocoferol, ácido ascórbico o aminoácidos azufrados necesarios para la generación de glutatión, la exposición a altas concentraciones de oxígeno o radiaciones, excesiva activación de los sistemas naturales productores de radicales como las enfermedades crónicas inflamatorias (la artritis reumatoide) u otras situaciones que desencadenen inflamación sistémica. Diversos estudios han demostrado que el estrés oxidativo (EO) está relacionado con procesos degenerativos como la mutagénesis, carcinogénesis, arterioesclerosis; en el sistema respiratorio se asocia la neumonía, la fibrosis pulmonar, el enfisema, entre otros; en el sistema neurológico, el alzhéimer y la esquizofrenia; el envejecimiento es una de las causas del daño oxidativo.<sup>143,144,145,146,147</sup>

#### 2.1.10.5 Antioxidante

Halliwell y Gutteridge definen como antioxidante "*cualquier sustancia que, cuando está presente en concentraciones bajas en comparación con los de un sustrato oxidable, retrasa o previene significativamente la oxidación de ese sustrato*".<sup>148</sup> El término sustrato oxidable también incluye cada molécula orgánica que se encuentra *in vivo*. Los seres vivos poseen sistemas de defensa antioxidante frente al estrés oxidativo, dentro de los cuales se encuentran el enzimático y no enzimático:

---

<sup>140</sup> NOGUEIRA PAZ, Emilio José. Estudio de la respuesta celular a SOK1 y mecanismos de regulación. Trabajo de grado (Doctor). Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Medicina. Departamento de Fisiología, 2008. 194p.

<sup>141</sup> GARRIDO, Abel Martin. El peróxido de hidrógeno como mediador en el proceso de contracción-relajación. Estudios *in vitro* e *in vivo*. Trabajo de grado (Doctor). Alcalá de Henares (Madrid): Universidad de Alcalá. Facultad de medicina. Departamento de fisiología, 2007.130p.

<sup>142</sup> MONTERO, María. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. En: Revisión. Ann Fac. Med. 1996. Vol.57, No.4, p.278-81.

<sup>143</sup> ABILÉS, Jimena. Óp. Cit., p.53

<sup>144</sup> HALLIWELL, Barry. Óp. cit., p.53

<sup>145</sup> PÉREZ GASTELL, Pedro. Óp. cit., p.53

<sup>146</sup> UGARTONDO CASADEVALL, Vanessa. Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales. Citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estrés oxidativo en modelos celulares. Trabajo de grado (Doctor). Barcelona: Universidad de Barcelona. Facultad de farmacia. Departamento de Fisiología, 2009. 190p.

<sup>147</sup> ASHOK, Badithe T. and ALI, Rashid. The aging paradox: free radical theory of aging. En: Mini-Review. Experimental Gerontology. Junio, 1999. Vol. 34, No. 3, p. 293–303.

<sup>148</sup> HALLIWELL, Barry and GUTTERIDGE, John M. C. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. En: Free Radical Biology and Medicine. Enero, 1995. Vol. 18, No. 1, p.125–126.

- Enzimático: formados por enzimas que son estructuras proteicas que catalizan reacciones, entre las cuales se encuentran: la superóxido dismutasa (SOD), que está íntimamente relacionada en la protección de las células y tejidos del estrés oxidativo, la catalasa (CAT) convierte el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en agua y oxígeno molecular; la glutatión peroxidasa (GPX) y tiorredoxina reductasa.
- No enzimáticos: son una serie de moléculas de bajo peso molecular, su acción incluye retrasar, prevenir, inhibir y amortiguar la oxidación de compuestos oxidables, la producción de especies reactivas o efectos causados por las especies reactivas; entre las sustancias no enzimáticas se encuentran: el ácido ascórbico (vitamina C), vitamina E (α-tocoferol, tocotrienoles), glutatión reducido (GSH), carotenoides (la vitamina A como precursor del β-caroteno), flavonoides y nutrientes esenciales para el funcionamiento del sistema antioxidante endógeno como son los minerales (Cu, Mn, Zn, Se y Fe); la mayor parte de estos antioxidantes está representada principalmente en los antioxidantes adquiridos durante la dieta alimenticia.<sup>149, 150, 151, 152, 153</sup>

El estudio frente a las especies oxidantes y aquellos sistemas que previenen o retrasan la oxidación ha aumentado, muchos compuestos han sido identificados en una gran variedad de especies naturales y otros sintetizados entre los que se encuentran los compuestos pirazólicos.<sup>154</sup> Los compuestos naturales han tenido mayor acogida gracias a que son más potentes, eficaces y seguros que los antioxidantes sintéticos; los antioxidantes sintéticos traen una serie de efectos secundarios sobre el organismo entre los que se encuentran el aumento significativo del peso del hígado, daños en los pulmones y en la mucosa gastrointestinal.<sup>155, 156</sup>

En diferentes especies naturales se han identificado compuestos con capacidad antioxidante como son los compuestos fenólicos (alcoholes, ácidos fenólicos, ácidos cinámicos y sus derivados, cumarinas, flavonoides y sus glucósidos, catequinas y taninos); que le dan propiedades antioxidantes a esas especies<sup>157</sup>. Estudios han demostrado que vitaminas como la A, C y E pueden adquirirse dentro de una dieta

<sup>149</sup> PAPAS, Andrea. Óp. cit., p.53

<sup>150</sup> LUNA LÓPEZ, Armando. Óp. cit., p.53

<sup>151</sup> MONTERO, María. Óp. cit., p. 55

<sup>152</sup> PAPAS, Andrea. Óp. cit., p. 53

<sup>153</sup> GARRIDO, Abel. Óp. cit., p.55

<sup>154</sup> LI, Yan-Feng. Óp. cit., p.54

<sup>155</sup> MAESTRO. Óp. cit., p.52

<sup>156</sup> SIES, Helmut. Strategies of antioxidant defense. En: Eur. J. Biochem. Reviews. Marzo, 1993. Vol. 215, No. 2, p. 213-219

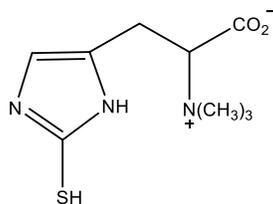
<sup>157</sup> MAESTRO DURAN, Op. cit., p. 52

alimenticia y reducen el riesgo de contraer enfermedades crónicas causadas por estrés oxidativo.<sup>158, 159</sup>

Los fenoles o polifenoles, a causa de su estructura química pueden actuar como antioxidantes debido a que pueden donar hidrógenos, particularmente los flavonoides, en bajas concentraciones pueden prevenir el desarrollo del cáncer y otras enfermedades. El potencial antioxidante de estos compuestos depende de: número, posición y conjugación de los grupos hidroxilo; la presencia de grupos donadores en el sistema estructural. Se pueden dividir en dos grupos: los flavonoides (los flavonoles, taninos condensados, flavonas, isoflavonas, entre otros) y los no flavonoides (ácidos fenólicos, estilbenos y taninos hidrolizados).<sup>160, 161, 162</sup>

La inclusión de setas de hongos comestibles en la dieta alimenticia del ser humano, ha dado lugar a la investigación de las propiedades nutricionales de este tipo de alimentos, incluyendo la presencia de sustancias con propiedades antioxidantes, como resultados de las investigaciones se han identificado compuestos con actividad biológica (Figura 8), en las setas de *Agaricus bisporus* (champiñón), en especies del genero *Pleurotus* se ha identificado la presencia de ergotioneina (Figura 7), que es un poderoso antioxidante.<sup>163</sup>

Figura 7. Estructura de la Ergotioneina



Fuente: Ruiz Rodríguez, Alejandro y colaboradores. (2009)<sup>164</sup>

<sup>158</sup> KUSHI, Lawrence H. y colaboradores. Dietary Antioxidant Vitamins and Death from Coronary Heart Disease in Postmenopausal Women. En: New England Journal of Medicine, 1996, vol. 334 Issue 18, p.1156-1162.

<sup>159</sup> SHIREEN, K.F. y colaboradores. Effects of dietary vitamin E, C and soybean oil supplementation on antioxidant enzyme activities in liver and muscles of rats. Food and Chemical Toxicology, 2008, vol.46, p. 3290–329

<sup>160</sup> GARCÍA RAMÍREZ, Bernardino. Absorción *in vivo* de oligómeros de epicatequina. Trabajo de grado (Doctor en Bioquímica). Tarragona - España: Universitat Rovira I Virgili. Departamento de Bioquímica I Biotecnología, 2005.

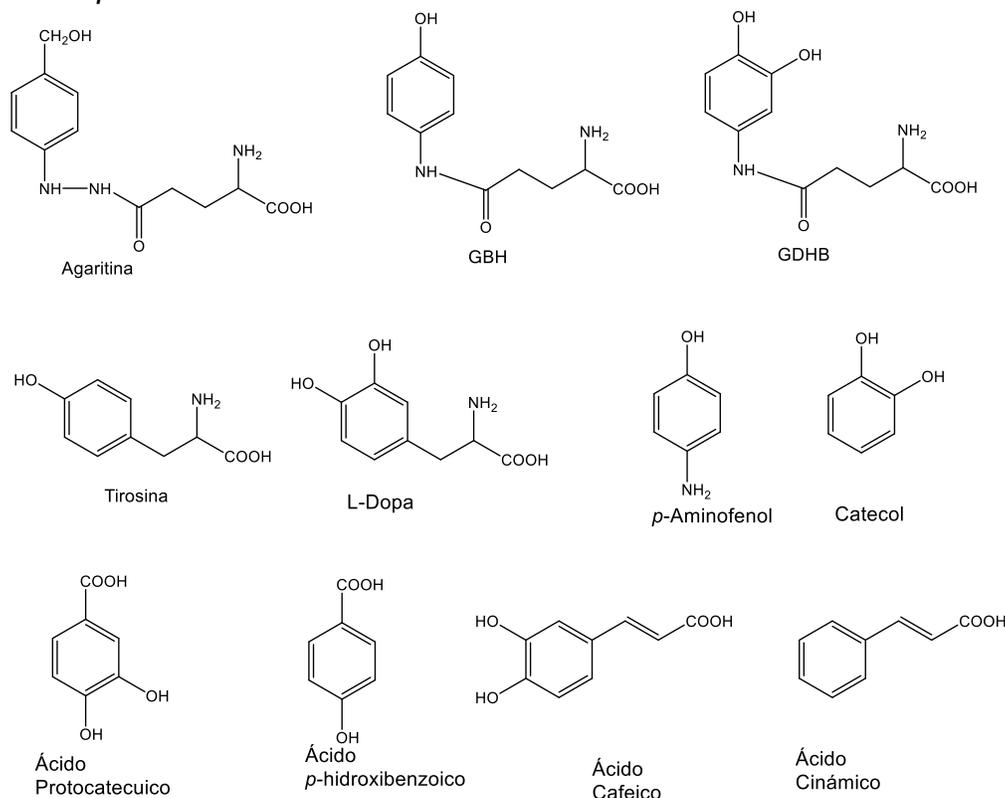
<sup>161</sup> BRAVO, Laura. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. En: Nutrition Reviews, 1998, vol. 56 Issue 11, p. 317–333.

<sup>162</sup> GONZÁLEZ AGUILAR, Gustavo A. y colaboradores. Interacción de compuestos fenólicos y fibra dietaria: capacidad antioxidante y biodisponibilidad. En: Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud. BIOTecnia, 2011, vol. 13 no. 3, p. 3-11.

<sup>163</sup> RUIZ RODRIGUEZ, Alejandro; SANTOYO, Susana y SOLER RIVAS, Cristina. Antioxidant Properties of Edible Mushrooms. En: Functional Plant Science and Biotechnology-Global Science Books. Marzo, 2009. Vol.3, No. 1, p. 91-102.

<sup>164</sup> *Ibíd.*, p. 100

Figura 8. Estructuras de compuestos químicos identificados en hongos comestibles, *Agaricus bisporus*.



Fuente: Ruiz Rodríguez, Alejandro y colaboradores (2009)<sup>165</sup>

Se debe tener en cuenta, que la degradación o incorporación de sustancias presentes en los sustratos de cultivo lleva a la biosíntesis de metabolitos secundarios (Figura 9), como las estatinas, esteroides, flavonoides, polisacáridos, ácidos grasos, entre otros<sup>166</sup>, determinando las propiedades biológicas y nutraceuticas de hongos comestibles<sup>167</sup>, entre ellos el *Pleurotus ostreatus*, conocido como Orellana.<sup>168</sup> Es de resaltar que los hongos son uno de los principales productores de estatinas, las cuales son reconocidas por sus propiedades biológicas (hipocolesterolemiantes, pleiotrópicos, entre otras). En la producción de

<sup>165</sup> RUIZ RODRIGUEZ, A. Óp Cit. 57

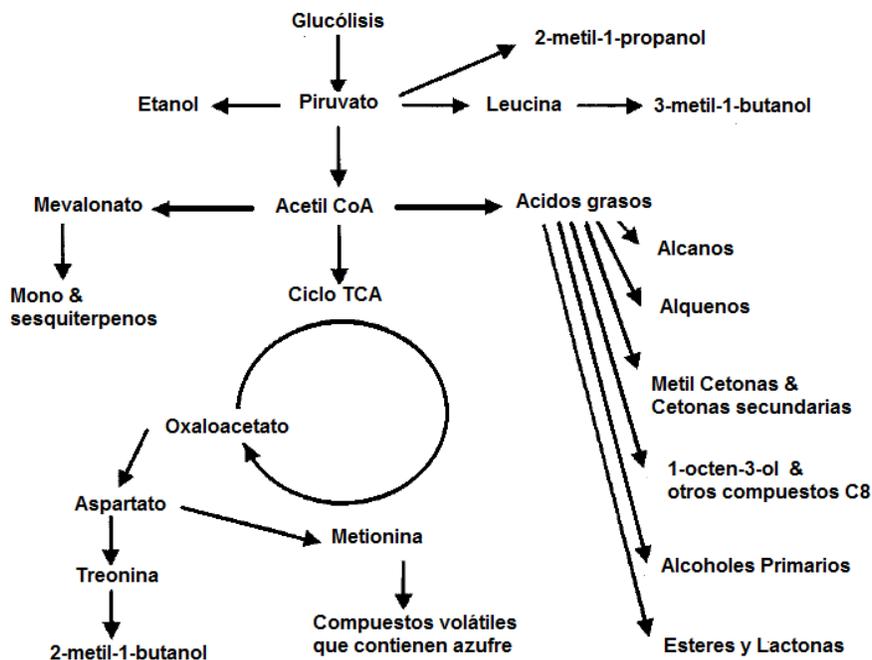
<sup>166</sup> NIETO, Ivonne Jeannette & CHEGWIN, Carolina A. Influencia del sustrato utilizado para el crecimiento de hongos comestibles sobre sus características nutraceuticas. En: Rev. Colomb. Biotecnol. 2010. Volumen 12, No. 1, p. 169-178.

<sup>167</sup> KANAGASABAPATHY, G. y colaboradores. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Extracts of Fresh Fruiting Bodies of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Febrero, 2011. Vol. 59, p. 2618-2625

<sup>168</sup> MOHAMED, Eman Mostafa and FARGHALY, Fatma Ali. Bioactive Compounds of Fresh and Dried *Pleurotus ostreatus* Mushroom. En: International Journal of Biotechnology for Wellness Industries. 2014. Vol. 3, No. 1, p. 4-14

estatinas que se obtienen de los hongos, se debe tener en cuenta la influencia del sustrato para la biosíntesis de estas, como por ejemplo la lovastatina se ve favorecida en sustratos de cultivo con concentración baja de lípidos, a diferencia de la mevastatina que el contenido significativo de lípidos en los sustratos, favorece la producción de este metabolito.<sup>169</sup>

Figura 9. Rutas metabólicas de metabolitos secundarios volátiles en los hongos



Fuente: adaptado de Boerjesson, Thomas S. y colaboradores (1993)<sup>170</sup>

Respecto a la producción de polisacáridos, los cuales son metabolitos secundarios de los hongos a quienes se le atribuye una gran variedad de propiedades biológicas (antiviral, inmunomoduladores, antitumorales, hipoglicémicos y antioxidantes), en especial los que se encuentran en la pared celular (quitina, celulosa,  $\beta$ -glucanos y complejos polisacáridos-proteína)<sup>171</sup>, esta se ve favorecida en el género *pleurotus*, en sustratos de cultivo con mayores contenidos de ácidos grasos, encontrando

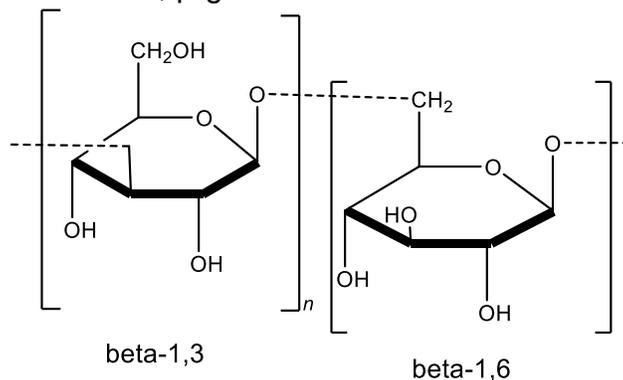
<sup>169</sup> CHEGWIN ANGARITA, Carolina y colaboradores. Las estatinas: Actividad biológica y producción biotecnológica. En: Rev. Colomb. Biotecnol. Diciembre 2012. Vol. 14, N° 2, p.157-178

<sup>170</sup> BOERJESSON, Thomas S. y colaboradores. Off-odorous compounds produced by molds on oatmeal agar: Identification and relation to other growth characteristics. En: J. Agric. Food Chem. November, 1993. Vol. 1, No. 11, p. 2104–2111

<sup>171</sup> NIETO; CHEGWIN. Óp. cit., p.58

dentro del género *pleurotus*<sup>172, 173</sup> el pleuran, que es un  $\beta$ -glucano (Figura 10), que ha permitido un amplio estudio en la especie *Pleurotus ostreatus*, de donde fue aislado este polisacárido, debido a sus propiedades bioactivas.<sup>174 175 176</sup>

Figura 10. Estructura Pleuran,  $\beta$ -glucano aislado de *P. ostreatus*



Fuente: adaptado de Karácsonyi & Kuniakb (1994).

#### 2.1.11 Métodos in vitro para la evaluación de la capacidad antioxidante.

La capacidad antioxidante se puede determinar mediante variados métodos; *in vivo* mediante el aumento de la estabilidad de diversos aceites, microsomas de hígado de rata, lipoproteínas de baja densidad, entre otros; *In vitro* las técnicas más usadas implican la inhibición de los radicales libres, están los métodos de determinación directa (TEAC y el DPPH) en donde el radical se emplea como un factor de cuantificación, produciéndose una señal analítica; los métodos de determinación indirecta (ORAC, FRAP, entre otros), en estos métodos los radicales libres producen la pérdida o aparición de un compuesto lo que implica que en presencia de un

<sup>172</sup> KARÁCSONYI, Š. & KUNIAKB L. Polysaccharides of *Pleurotus ostreatus*: Isolation and structure of pleuran, an alkali-insoluble  $\beta$ -d-glucan, En: Carbohydrate Polymers. March, 1994. Vol. 24, No. 2, p.107-111

<sup>173</sup> PALACIOS ROMERO, Irene. Extracción y caracterización de polisacáridos y estudio del perfil de compuestos volátiles en hongos comestibles. Trabajo de grado (doctorado). Universidad de Valladolid. Valladolid, 2015.

<sup>174</sup> BOBOVČÁK, M. y colaboradores. Effect of Pleuran ( $\beta$ -glucan from *Pleurotus ostreatus*) supplementation on cellular immune response after intensive exercise in elite athletes. En: Appl. Physiol. Nutr. Metab. December, 2010. Vol. 35, No. 6, p. 755-62.

<sup>175</sup> SYNYTSYA, Andriy y colaboradores. Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. En: Carbohydrate Polymers, May, 2009. Vol. 76, No. 4, p. 548–556

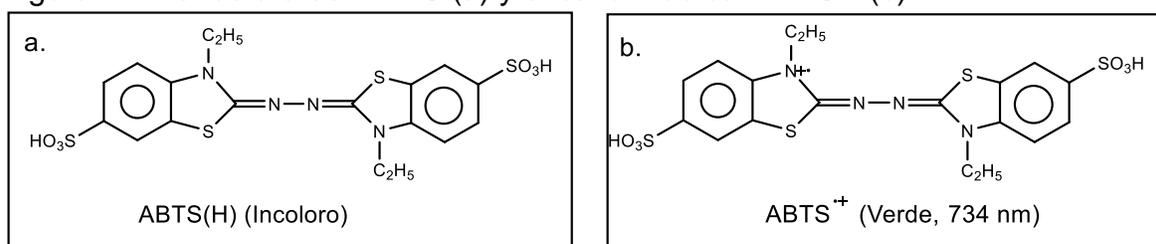
<sup>176</sup> WASSER, S. P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. En: Applied Microbiology and Biotechnology. November, 2002. Vol. 60, No. 3, p 258–274.

antioxidante aumente o disminuya la señal.<sup>177,178</sup> por lo anterior en la investigación se utilizó el método TEAC.

#### 2.1.11.1 Método TEAC

Este método consiste en un análisis espectrofotométrico de la captura del catión-radical ABTS<sup>•+</sup> (2,2 azonobis- 3-(3- etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico)) (Figura 11b) descrito por Re y colaboradores en 1999, el catión radical es generado tras la reacción del ABTS (Figura 11a) con el persulfato de postsio.

Figura 11. Estructura del ABTS (a) y el catión radical ABTS<sup>•+</sup> (b).



Fuente: adaptado de Prior y colaboradores.<sup>179</sup>

Observándose un cromóforo azul/verde con una absorción característica a 734nm (Figura 12)<sup>180</sup>. Este catión radical puede ser generado enzimáticamente (mioglobina, peroxidasa de rábano), químicamente (dióxido de manganeso, persulfato de potasio, radicales piróxilo) y electroquímicamente.<sup>181</sup> La ventaja del catión radical formado con persulfato potásico, es su estabilidad a bajas temperaturas o en refrigeración y lejos de la luz. Los resultados obtenidos expresan la capacidad antioxidante para donar un hidrógeno y estabilizar el catión radical ABTS<sup>•+</sup>, la decoloración que la solución de ABTS<sup>•+</sup> experimenta durante la reacción, expuesta en la Figura 112, se compara con la decoloración hecha por un antioxidante patrón derivado de la vitamina E conocido como trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico), mediante una curva de calibración. Por esta razón el resultado se expresa como capacidad antioxidante en equivalente trolox o TEAC (del inglés: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).<sup>182</sup> Se debe tener en cuenta que el punto final de la reacción está determinado por la sustancia

<sup>177</sup> MAESTRO. Óp. cit., p. 52

<sup>178</sup> KUSKOSKI, Marta E. y colaboradores. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. En: Ciênc. Tecnol. Aliment, 2005, vol.25 no.4, p. 726-732.

<sup>179</sup> PRIOR, R.L. Óp. cit., p. 26

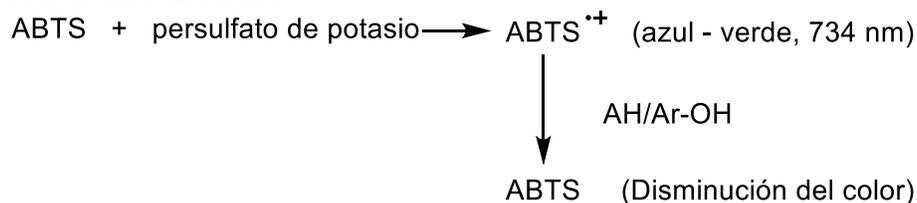
<sup>180</sup> GÜLÇİN, İlhami y colaboradores. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. En: Arabian Journal of Chemistry, 2010, vol. 3, p. 43–53.

<sup>181</sup> KUSKOSKI, E. Óp. cit., p. 61

<sup>182</sup> RE, Roberta y colaboradores. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. En: Free Radical Biology & Medicine, 1999, vol. 26, p.1231–1237.

antioxidante usada, lo que se convierte en una desventaja del método, debido a que puede haber tiempos muy cortos o muy elevados que pueden interferir en los resultados finales. La ventaja del método frente a otros como el DPPH es que se puede realizar en muestras hidrosolubles o liposolubles, pues ciertamente con el disolvente apropiado,<sup>183</sup> ya que posee un espectro con máximos de absorbancia a 414, 654, 734 y 815 nm.

Figura 12. Esquema de la reacción ABTS, generación del catión radical ABTS<sup>•+</sup> y reacción con el antioxidante.



Fuente: adaptado de Prior y colaboradores.<sup>184</sup>

## 2.1.12 Método para evaluación del contenido de fenoles totales (FT).

### 2.1.12.1 Folin-Ciocalteu.

El método más utilizado para determinar estos compuestos es el descrito por Folin y Ciocalteu en 1927, el cual consiste mide la capacidad que tiene los polifenoles contenidos en el analito para reducir el Mo (VI) a Mo (V) y el W (VI) a W (V) presentes en el reactivo Folin-Ciocalteu, este reactivo es la mezcla de ácido fosfotúngstico ( $\text{H}_3\text{PW}_{13}\text{O}_{40}$ ) y ácido fosfomolibdico ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ ). La base de este método es una reacción redox y de acuerdo a las modificaciones realizadas por Singleton y Rossi en 1965 que consisten en el uso de un heteropolianión fosfórico de molibdeno y tungsteno, permite que la reacción sea mucho más específica para fenoles. El resultado de la reacción es un complejo de color azul intenso, el cual posee una absorción máxima con una  $\lambda_{\text{max}}$  de 765nm, que es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos. La cuantificación se realiza con respecto a una curva patrón y por lo general se usa el ácido gálico.<sup>185, 186</sup>

<sup>183</sup> MEDINA AGUDO, Laura. Técnicas para la determinación de compuestos antioxidantes en alimentos. En: Autodidacta. 2012, ISSN: 1989-9041, p. 27-34.

<sup>184</sup> PRIOR, R.L. Óp. cit., p. 26

<sup>185</sup> SINGLETON, V. L. and ROSSI, Joseph A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. En: American journal of Enology and Viticulture, 1965, vol. 16 no. 3, p. 144-158.

<sup>186</sup> BELTRÁN DELGADO, Yaixa y colaboradores. Contenido de fenoles totales en extractos de *Pleurotus* obtenidos con solventes de diferente polaridad. En: *Rev Cubana Invest Bioméd.* 2013, Vol.32, no.2, p. 121-129

### 2.1.13 Análisis de varianza – ANOVA y potencia de la prueba.

ANOVA es una técnica estadística paramétrica utilizada para determinar si hay o no diferencias significativas entre la media, mediana o varianza de una variable de respuesta o factor categórico sobre una variable dependiente de dos más poblaciones<sup>187</sup>.

El diseño experimental de un solo factor con el modelo de efectos fijos;<sup>188</sup> esta descrito con la Ecuación 1.

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde  $y_{ij}$  es la observación  $j$ -ésima tomada bajo el tratamiento  $i$ ;  $\mu$  es un parámetro común para todos los tratamientos (llamado medida general). Se define como un diseño equilibrado, debido a que cada nivel tiene el mismo número de réplicas.

El modelo descrito es un modelo estadístico lineal;  $\tau_i$ , es el parámetro asociado con el tratamiento  $i$ -ésimo;  $\epsilon_{ij}$  es la componente del error aleatorio (variabilidad natural).<sup>189</sup>

La hipótesis estadística es un enunciado o afirmación acerca de cierta condición es válida o no para una población; para lo cual se examinan dos hipótesis opuestas sobre la condición o parámetro de la población, la hipótesis nula que es el enunciado que aprueba la condición sobre la población y se la define con la Ecuación 2, en donde se establece que la media, mediana o varianza ( $\mu$ ) de la condición o parámetro es igual en las dos o más poblaciones comparadas:

$$H_0: \mu_1 = \dots = \mu_i \quad \text{Ecuación 2}$$

Por tanto al confirmar o aceptar esta hipótesis se establece que no hay diferencia o efecto de la condición o parámetro en la población; por otra parte está la hipótesis alternativa definida con la Ecuación 3, que generalmente es la que se pretende confirmar ya que es establece que si hay diferencia o efecto de la condición o parámetro en la población estudiada.

$$H_1: \mu_1 \neq \dots \neq \mu_i \quad \text{Ecuación 3}$$

---

<sup>187</sup> MILLER, James N. & MILLER, Jane C. Estadística y quimiometría para química analítica. 4 Ed. Madrid, PEARSON EDUCACIÓN, S.A. 2002, p. 45

<sup>188</sup> MONTGOMERY, DOUGLAS C. Diseño y análisis de experimentos. 2 Ed. México, DF: Limusa Wiley. 2004, p.35.

<sup>189</sup> HINES, William W.; MONTGOMERY, Douglas C.; GOLDSMAN, David M.; BORROR, Connie M. Probabilidad y estadística para ingeniería y administración. 2 Ed. México: Compañía Editorial Continental, 2005, p. 389

Con el *Valor-P* obtenido en la técnica estadística, que para el caso de la investigación corresponde a ANOVA se confirma o se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ), que para efecto de rechazo corresponde a la aceptación de la hipótesis alternativa ( $H_1$ ).

El *Valor-P* o grado de significancia viene dado por los datos del experimento, es la probabilidad de encontrar una diferencia igual o superior a la hallada cuando la hipótesis nula es cierta. El *Valor-P* es la medida de evidencia estadística de que los datos aportan a favor de la hipótesis alternativa ( $H_1$ ) o en contra de la hipótesis nula ( $H_0$ ); el *Valor-P* se lo realiza a un cierto nivel e significancia  $\alpha$ , generalmente para investigaciones en áreas como la química se utiliza un nivel de significancia de 0,05; debido a que el *Valor-P* es una media de probabilidad sus valores oscilan entre 0 y 1, por ejemplo, para el nivel de significancia ( $\alpha$ ) 0,05<sup>190</sup>:

- si el valor p es menor que o igual a 0.05, se rechaza  $H_0$ .
- Si el valor p es mayor que 0,05, no puede rechazar  $H_0$ .

Para establecer si los resultados del *Valor-P* estimados por el estadístico de ANOVA son idóneos para confirmar o rechazar la  $H_0$ , los datos del experimento deben cumplir con unas condiciones que son normalidad, homocedasticidad y la independencia de los residuos.<sup>191, 192</sup>

- Normalidad: es una de las condiciones que deben cumplir los residuos para que el resultado de la prueba estadística de ANOVA sea fiable. El supuesto de que los errores siguen una distribución normal puede realizarse de forma gráfica y de forma analítica. Como estadísticos de prueba para chequear la distribución normal de los residuos están la prueba de Shapiro-Wilk y la prueba de Kolmogorov-Smirnov.
- Homocedasticidad: es la otra condición para que las conclusiones dadas por ANOVA sean válidas; hace referencia a la igualdad de las varianzas.<sup>193</sup> Supone que la variabilidad de las observaciones bajo los distintos tratamientos es la misma o no difiere significativamente (el modelo explica bien los datos). La homocedasticidad se la puede evidenciar de manera gráfica, con el análisis del gráfico de dispersión de residuos vs. predichos en donde no se debe evidenciar un patrón o tendencia sistemática; y mediante pruebas descriptivas como el estadístico de Bartlett o el de Levene's

---

<sup>190</sup> MONTGOMERY, DOUGLAS C. Op. Cit. p. 63

<sup>191</sup> MONTGOMERY, Douglas C. & RUNGER, George C. Probabilidad y estadística aplicadas a la ingeniería. 2 Ed. México: Limusa Wiley. 2002, p.543

<sup>192</sup> UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA. Análisis de la Varianza. [En línea]. <http://www.fca.proed.unc.edu.ar/mod/book/view.php?id=6305&chapterid=1184> [citado 4 de diciembre 2016]

<sup>193</sup> MONTGOMERY, DOUGLAS C. Op. Cit., p. 63

- Independencia de los residuos: esta condición hace referencia a la presencia o ausencia de la propagación de los errores (sistemático), una de las medidas más utilizadas para determinar la independencia de los residuos es analizar el gráfico vs. secuencia en el tiempo o espacio, que para efectos del paquete estadístico a utilizar (Statgraphics) es el número de fila. En la gráfica no se debe observar ninguna tendencia sistemática (forma de embudo); para el método de mínimos cuadrados la independencia de los residuos además del análisis gráfico es posible determinarla con el estadístico de Durbin Watson. La falta de independencia es grave y difícil de corregir.

Según la teoría propuesta por Neyman-Pearson existen dos fuentes de error cuando se establecen las dos hipótesis  $H_0$  y  $H_1$ ; el error de tipo I, que se produce cuando se rechaza la  $H_0$  cuando esta es verdadera (nivel de significación,  $\alpha_0$ ); el error de tipo II, no rechazar  $H_0$  cuando esta es falsa ( $\beta_0$ ); las decisiones correctas, no rechazar  $H_0$  cuando es verdadera ( $1-\alpha$ ) y rechazarla cuando es falsa ( $1-\beta$ ). Tener el tamaño adecuado de la muestra reduce un error de tipo II sin aumentar un error de tipo I, lo cual se define como la potencia de la prueba y corresponde a  $1-\beta$ . La potencia de la prueba es una medida de cuan buena es la prueba, como el *P-Valor* funcionará si la hipótesis alternativa es verdadera.<sup>194</sup> El tamaño de la muestra adecuado impide cometer el error de tipo II y llegar a conclusiones erróneas.

Para confrontar la falsedad o veracidad de la hipótesis nula es importante tener la suficiente información (cantidad de muestras y número de repeticiones); y determinar qué tan confiable es la confirmación de la hipótesis. El tamaño de la muestra establece la rigurosidad del experimento y la representatividad de las pruebas en una investigación;<sup>195</sup> si no hay suficientes datos se podría obtener una imprecisión en los resultados, y de lo contrario se estaría perdiendo tiempo y dinero. Montgomery & Runger,<sup>196</sup> plantean que el tamaño de la muestra para un diseño experimental de un solo factor está dado por la Ecuación 4.

$$\phi^2 = \frac{n \sum_{i=1}^a \tau_i^2}{a\sigma^2} \quad \text{Ecuación 4}$$

En donde:  $\phi$ , Parámetro de no centralidad ;  $\tau_i$ , Efectos de los tratamientos;  $n$ , número de réplicas por tratamiento ;  $\sigma^2$ , varianza;  $a$ , número de los tratamientos o niveles .

<sup>194</sup> ROMERO SUÁREZ, Nelson. La revolución en la toma de decisiones estadísticas: el p-valor. En: Telos. Septiembre-diciembre, 2012. Vol. 14, No. 3, pp. 439-446

<sup>195</sup> CONTANDRIOPOULOS, A.P.; CHAMPAGNE, F.; POTVIN, L.; DENIS, J.L. y BOYLE, P.: Preparar un proyecto de investigación. Barcelona, España: SG Editores, 1991.

<sup>196</sup> MONTGOMERY, D. Op. Cit., p. 63

## 2.2 ANTECEDENTES

Oyetayo y Ariyo,<sup>197</sup> Chirinang & Intarapichet<sup>198</sup> y Reis y colaboradores,<sup>199</sup> destacan que la seta de *P. ostreatus* es una fuente rica en micro y macronutrientes, con un significativo contenido de aminoácidos como arginina, alanina, isoleucina, entre otros, cuyos valores oscilan entre  $6.30 \pm 0.01$  y  $0.42 \pm 0.01$  g/100g; teniendo también presente minerales, proteínas y carbohidratos, que les atribuye propiedades biológicas como antiinflamatorias, anticancerígenas, antiartríticas y demás.<sup>200</sup>

La seta *P. ostreatus* según estudios de Vamanu<sup>201</sup> y Milovanović y colaboradores<sup>202</sup> indican que tanto el cuerpo fructífero de *P. ostreatus*, que es la parte más comercializada gastronómicamente, como el micelio que es importante para el crecimiento y desarrollo del hongo, se caracterizan por sus propiedades nutricionales. Vamanu,<sup>203</sup> evaluó las propiedades antioxidantes de los extractos etanólicos de diferentes lotes de micelios liofilizados de hongos de *Pleurotus ostreatus* y *Coprinus comatus*, encontrando que el contenido de FT en los extractos de los lotes de *P. ostreatus* analizados estuvieron entre  $35,40 \pm 6,75$  y  $98,60 \pm 1,85$  mgGAE/g biomasa; con el análisis por cromatografía HPLC se identificó en los extractos de micelio de *P. ostreatus* sustancias con alto efecto antioxidante como el ácido gálico, ácido ascórbico,  $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -caroteno, licopeno, catequina, entre otras. Estudios de Alispahić, y colaboradores,<sup>204</sup> demuestran que los cuerpos fructíferos de las setas comerciales como el boletus, champiñón blanco y café, oyster y shiitake de Bosnia, poseen diferente contenido de compuestos

---

<sup>197</sup> OYETAYO, Victor O. and ARIYO, Olatomiwa O. Micro and Macronutrient Properties of *Pleurotus ostreatus* (Jacq: Fries) Cultivated on Different Wood Substrates. En: Jordan Journal of Biological Sciences. Marzo, 2013. Vol. 6, No.3, p.223-226.

<sup>198</sup> CHIRINANG, Pornariya and INTARAPICHET, Kanok-Orn. Amino acids and antioxidant properties of the oyster mushrooms, *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. En: ScienceAsia. Octubre, 2009. Vol. 35, p.326–331

<sup>199</sup> REIS, Filipa S. y colaboradores. Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: A comparative study between *in vivo* and *in vitro* samples. En: Food and Chemical Toxicology. Mayo, 2012. Vol. 50, No.5, p. 1201-1207

<sup>200</sup> SINGH, Vinita y colaboradores. *Pleurotus ostreatus* produces antioxidant and anti-arthritic activity in wistar albino rats. En: World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Abril, 2015, Vol. 4, No.05, p.1230-1246.

<sup>201</sup> VAMANU, Emanuel. Antioxidant properties of mushroom mycelia obtained by batch cultivation and tocopherol content affected by extraction procedures. En: Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International. Junio, 2014. Vol. 2014, 8p.

<sup>202</sup> MILOVANOVIĆ, Ivan y colaboradores. Antioxidant, antifungal and anticancer activities of se-enriched *Pleurotus* spp. Mycelium extracts. En: Arch. Biol. Sci., Belgrade. 2014. Vol. 66, No.4, p.1379-1388.

<sup>203</sup> VAMANU. Op. cit., p. 66

<sup>204</sup> ALISPahiĆ, Amra y colaboradores. Phenolic content and antioxidant activity of mushroom extracts from Bosnian market. En: Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina. Junio, 2015. Vol.44, p. 5-8.

antioxidantes como los polifenoles, obteniendo un valor de 6,27 mgGAE/g para la seta de *Pleurotus ostreatus*, siendo éste mayor que el valor del cuerpo fructífero de la seta de *Lentinula edodes* (Shiitake) con 4,94 mgGAE/g.

González y colaboradores<sup>205</sup> al utilizar dos solventes para la obtención del extracto, metanol y agua y dos temperaturas (ambiente y ebullición) para analizar la actividad antioxidante de diferentes etapas de crecimiento de *P. ostreatus*, corroboraron que las propiedades antioxidantes del cuerpo fructífero de las setas en comparación con el micelio y el primordio (Tabla 5) son mayores en los extractos acuosos y a la temperatura ambiente, exhibiendo el mayor contenido de FT y mejor inhibición del catión radical ABTS<sup>•+</sup>.

Tabla 5. Actividad antioxidante de diferentes partes del hongo *P. ostreatus*.

Partes de <i>P. ostreatus</i>	Actividad antioxidante (mgGAE/g base seca)
cuerpo fructífero	11.36 ± 0.04
Primordio	8.94 ± 0.03
Micelio	1.65 ± 0.03

Fuente: González y colaboradores. (2016)

Chowdhury, Mohammed y colaboradores,<sup>206</sup> evaluaron en los extractos metanólicos de cuerpos fructíferos de tres especies de hongos comestibles como el *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes*, *Hypsizygus tessulatus* de Chittagong Bangladés, propiedades antioxidantes y compuestos bioactivos (contenido de ácido ascórbico, FT, flavonoides), siendo el contenido de FT en las especies analizadas, en un rango de 3,20 ± 0,05 a 10,66 ± 0,52 mgGAE/g, incluyendo todos los extractos de los hongos analizados el *P. ostreatus*, exhibiendo actividad antibacteriana en los microorganismos como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, y *Klebsiella pneumoniae* y actividad antifúngica en los microorganismos *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, presentándose en el extracto de *P. ostreatus* mayor actividad antimicrobiana frente a *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis*.

El cultivo del hongo *P. ostreatus*, es posible realizarlo en diversos residuos agroindustriales, pero en el departamento de Nariño se tiene la gran ventaja que al ser el sector agrícola una base económica muy importante, se presenta una gran diversidad de sustratos, los cuales le permiten obtener al hongo mejores

<sup>205</sup> GONZÁLEZ PALMA, Ivette y colaboradores. Óp. cit., p. 26

<sup>206</sup> CHOWDHURY, H. Mohammed y colaboradores. Screening of antimicrobial, antioxidant properties and bioactive compounds of some edible mushrooms cultivated in Bangladesh. En: Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. February, 2015. Vol. 14, No.8, p.2-6

propiedades nutricionales, puesto que estudios de Yılmaz, Ayşenur y colaboradores<sup>207</sup> exponen que el tipo de sustrato usado para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* afecta las propiedades nutricionales y biológicas de la seta, debido a que el contenido de FT del extracto metanólico del cuerpo fructífero del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivados en diferentes desechos, tales como residuos de maní, desechos agrícolas de papas, aserrín de nogal y aserrín de naranjo, es disímil, como por ejemplo la seta cultivada en aserrín de nogal posee la mayor cantidad de FT, con un valor de  $2,672 \pm 0,003$  mg GAE/g, mientras que el contenido de FT para las otras muestras analizadas oscilan entre  $1,073 \pm 0,028$  y  $2,672 \pm 0,003$  mg GAE/g. En igual sentido Yılmaz, Ayşenur y colaboradores<sup>208</sup> corrobora en otra investigación la influencia que tiene el tipo de sustrato de cultivo en las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de la seta *P. ostreatus*, ya que obtienen un mayor contenido de FT en la seta cultivadas en hojas de *Tilia tomentosa* con un valor de  $1.514 \pm 0.001$  mg GAE/g, en comparación con las setas cultivadas en cultivadas en aserrín de haya (*Fagus sylvatica*) con un contenido de FT de  $1.050 \pm 0.013$  mg GAE/g.

Otras investigaciones hechas por Singh y colaboradores,<sup>209</sup> Oyetayo, Victor y Ariyo, O.<sup>210</sup> y Patil y colaboradores<sup>211</sup> ratifican la influencia que tiene el tipo de sustrato utilizado en el cultivo, en las propiedades antioxidantes de la setas, donde Singh y colaboradores al analizar los extractos acuosos de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* cultivados en diferentes residuos agrícolas (paja de trigo, paja de soya y paja de garbanzo), obtuvieron que la paja de soya es el sustrato de cultivo en donde se obtiene las setas con mejor contenido de FT de 6.24 mg GAE/g de extracto seco, seguido de la paja de trigo con 4.17 mg GAE/g de extracto seco y paja de garbanzo con FT de 3.15 mg GAE/g de extracto seco; por otra parte Oyetayo y Ariyo, evaluaron las propiedades antimicrobiana y antioxidantes del hongo *P. ostreatus* cultivado en residuos tropicales como el *Canarium sp.*, *Pycnanthus angolensis* y *Ceiba pentandra*, logrando determinar que el contenido de FT estuvieron en un rango de 0.89 µg/g y 2.63 µg/g extracto, observándose mejor actividad antioxidante en la seta cultivada en aserrín de *P. ongoleubis*.

---

<sup>207</sup> YILMAZ, Ayşenur y colaboradores. Total phenolics, flavonoids, tannin contents and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* cultivated on different wastes and sawdust. En International Journal of Secondary Metabolite. Julio, 2016. Vol. 4, No. 1, p. 1-9

<sup>208</sup> YILMAZ, Ayşenur y colaboradores total phenolic content, antioxidant and antimicrobial properties of *Pleurotus ostreatus* grown on lime (*tilia tomentosa*) leaves. En: Hacettepe J. Biol. & Chem. Marzo, 2016. Vol. 44, No. 2, p. 119–124

<sup>209</sup> SINGH, Vinita y colaboradores. Óp. cit., p. 7

<sup>210</sup> OYETAYO, Victor O. and ARIYO, Olatomiwa O. Antimicrobial and Antioxidant Properties of *Pleurotus ostreatus* (Jacq: Fries) Cultivated on Different Tropical Woody Substrates. En: Journal of Waste Conversion, Bioproducts and Biotechnology. Febrero, 2013. Vol.1, No. 2, p. 28–32

<sup>211</sup> PATIL, Shyam Sopanrao y colaboradores. The nutritional value of *Pleurotus ostreatus* (jacq.:fr.) kumm cultivated on different lignocellulosic agrowastes. En: Innovative Romanian Food Biotechnology. September, 2010. Vol. 7, p. 66-76

El contenido de lignina en los sustratos utilizados para el cultivo de las setas, es un factor determinante en las propiedades biológicas y antioxidantes de los cuerpos fructíferos de las setas comestibles como el *P. ostreatus*, como lo expresa estudios de Stefan y colaboradores<sup>212</sup> observaron que un incremento en el contenido de lignina en los sustratos de cultivo de las setas decrece la presencia de compuestos con actividad biológica en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*, así mismo al analizar los extractos metanólicos de los cuerpos fructíferos cultivados en sustratos preparados a partir de paja de trigo, paja borceag (mezcla de arveja y avena), viruta de haya y vicia de Hungría (*Vicia pannonica*), se obtuvo un contenido de FT en un rango entre  $43.60 \pm 0.71$  y  $68.00 \pm 1.09$  mgGAE/g muestra, registrándose el mayor contenido de fenoles en los extractos del cuerpo fructífero cultivado en el sustrato preparado a partir de 53% de paja de trigo y 47% de viruta de haya, por el contrario el mayor contenido de proantocianidina (PACs),<sup>213</sup> que son antioxidantes más potentes que la vitamina C, se observó en los extractos de los cuerpos fructíferos cultivados en el sustrato que contenía 50% de viruta de haya y 50% de vicia, siendo esta última especie una planta forrajera utilizada ampliamente en la nutrición de bovinos que tiene un menor contenido de lignina con respecto a la paja de trigo y viruta de haya.

Factores como la temperatura, tiempo y especialmente el tipo de solvente, durante la etapa que comprende la obtención del extracto, ya sea del cuerpo fructífero, micelio u otra parte del hongo, es determinante para evaluar las propiedades biológicas o antioxidantes de los extractos, puesto que estas varían. Kortei y colaboradores<sup>214</sup> realizaron la extracción del cuerpo fructífero de *P. ostreatus* con diferentes solventes como el agua, etanol y metanol, obteniendo un contenido de FT para los extractos entre  $0.56 \pm 0.01$  y  $10.96 \pm 1.7$  mg GAE/g, mientras que los extractos acuosos presentaron el mayor contenido de FT  $1.96 \pm 0.05$  -  $10.96 \pm 1.7$  y los extractos con etanol obtuvieron un contenido de FT que osciló entre  $1,32 \pm 0,02$  y  $2,36 \pm 0,2$  mgGAE/g base seca.

Estudios de Beltrán y colaboradores<sup>215</sup> demuestran que al realizar la extracción con los solventes más polares, aumenta el contenido de fenoles (agua: 138.4 mgGAE/100 g y etanol 86.37 mgGAE/100 g, base seca), lo que explicaría la

---

<sup>212</sup> STEFAN, Roxana Iulia y colaboradores. Antioxidant Activity of Crude Methanolic Extracts from *Pleurotus ostreatus*. En: Research Journal of Phytochemistry. 2015. Vol. 9, No. 1, p. 25-32.

<sup>213</sup> COS, Paul. Óp. cit., p. 26

<sup>214</sup> KORLEY KORTEI, Nii y colaboradores. Evaluating the Effect of Gamma Radiation on the Total Phenolic Content, Flavonoids, and Antioxidant Activity of Dried *Pleurotus ostreatus* ((Jacq. ex. Fr) Kummer) Stored in Packaging Materials .En: Advances in Pharmaceutics. Agosto, 2014. Vol. 2014, 8p.

<sup>215</sup> BELTRÁN, Yaixa y colaboradores. Phenolic content and in-vitro antioxidant activities of fruiting bodies extracts from the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. En: Journal of International Society of Antioxidants in Nutrition and Health. Junio, 2015. Vol. 1, No.1

diferencia del contenido de FT en los extractos de cuerpo fructífero de *P. ostreatus*. Por el contrario

en las investigaciones realizados por Han y colaboradores<sup>216</sup> al evaluar la actividad biológica, capacidad antioxidante y fenoles en *P. ostreatus* utilizando como solventes de extracción acetona, acetato de etilo y etanol, observaron que la mayor actividad antioxidante se presenta en extractos con solventes menos polares como la acetona, pero menor contenido de flavonoides, para un contenido de fenoles totales de los tres solventes entre  $1,53 \pm 0,30$  y  $2,12 \pm 0,79$  mg GAE/g extracto, siendo para el extracto etanólico un valor de FT de  $2,12 \pm 0,79$  mg GAE/g de extracto; por el contrario la actividad antibacteriana fue mayor en los extractos etanólicos. Respecto al porcentaje de inhibición del catión radical ABTS<sup>•+</sup> del extracto con acetona fue 8% mayor que el extracto etanólico, que presentó un porcentaje de inhibición de 38,2% del catión radical ABTS<sup>•+</sup>, en relación con el extracto con acetato de etilo presentó el menor porcentaje de inhibición del catión radical del 21,2%.

Estudios como de Parihar y colaboradores<sup>217</sup> obtuvieron que el contenido de FT del cuerpo fructífero de las setas, *Pleurotus ostreatus*, *Agaricus bisporus*, *Coprinus comatus* y *Volvareilla volvacea*, es mayor en extractos metanólicos que en extractos acuosos.

Según Yim y colaboradores<sup>218</sup> el contenido de FT del cuerpo fructífero de setas comestibles difieren respecto al solvente (metanol, etanol, acetona, agua y hexano), temperatura 25, 30, 40, 50 y 60°C) y el tiempo de extracción (60, 150, 240, 330 y 420 min). De lo anterior se obtuvo que los extractos obtenidos con agua fueron los que mostraron un mayor contenido de fenoles y flavonoides, en el siguiente orden, 1. *Pleurotus sp.* (1046.87 mg GAE/100g; 330 min a 40°C), 2. *Lentinus ciliatus* (801.08 mg GAE/100g; 150 min a 50°C), 3. *Pleurotus ostreatus* (cultivado) (798.55 mg GAE/100g; 330 min a 50°C), 4. *Hygrocybe conica* (442.37 mg GAE/100g; 240 min a 60°C), 5. *Schizophyllum commune* (427.31 mg GAE/100g; 240 min a 25°C),

---

<sup>216</sup> HAN, So-Ra y colaboradores. Biological Activity Analysis of Different Solvent Extracts from *Pleurotus ostreatus*. En: Indian Journal of Science and Technology. Octubre, 2015. Vol 8, No. 26, p.1056-1057

<sup>217</sup> PARIHAR, Sanjay y colaboradores. Total phenolic content and antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus*, *Agaricus bisporus*, *Coprinus comatus* and *Volvareilla volvacea* mushrooms collected from mahal forest of dang district, Gujara. En: Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research. 2014. Vol. 4, No.3, p.20-26.

<sup>218</sup> YIM, Hip Seng y colaboradores. Phenolic profiles of selected edible wild mushrooms as affected by extraction solvent, time and temperature. En: Asian Journal of Food and agro-industry. 2009. Vol. 2, No.03, p.392-401

concluyendo que si bien la temperatura y el tiempo de extracción son importantes, el solvente es el factor más influyente al momento de determinar la actividad antioxidante.

Entre los compuestos con actividad antioxidante que se han identificado en extractos de cuerpo fructífero de *P. ostreatus*, en investigaciones hechas por Alam y colaboradores<sup>219</sup> están el ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido clorogénico, naringenina, hesperetina, formononetina, y biocanina-A, que fueron identificados por HPLC (High performance liquid chromatography) y que poseen potentes efectos antioxidantes. En cuanto a las propiedades antioxidantes del *P. ostreatus* cuando se cultiva en sustratos enriquecidos con minerales como zinc, hierro o litio se observa la disminución en dichas propiedades.<sup>220</sup>

Se han identificado y cuantificado compuestos esteroidales como el ergosterol, fungisterol, ergosta 5,8-dien-3 $\beta$ -ol, ergosta-2,5,7,9(11),22-pentaeno y ergosta 7,22-dien-3 $\beta$ -ol en cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.), cultivados en los sustratos de interés para esta investigación, usando las técnicas GCFID y GC-MS. Los estudios realizados por Benavides y colaboradores<sup>221</sup> muestran que el contenido de ergosterol fue mayoritario en todas las setas cultivadas en los diferentes sustratos, pero en mayor proporción en el hongo cultivado sobre pulpa de café enriquecida con granzas de avena, puesto que el compuesto ergosta 7,22-dien-3 $\beta$ -ol, sólo estuvo presente en hongos desarrollados sobre pulpa de café y pulpa de café enriquecido con granza de avena, concluyendo que el sustrato no solo influye en la cantidad sino también en la presencia o ausencia de esteroides en las setas. Siendo el ergosterol es el esteroide más representativo en los hongos, es un precursor de la vitamina D según la ruta metabólica propuesta por Wriessnegger & Pichler,<sup>222</sup> en donde se observa la biosíntesis de este compuesto en los hongos a partir de escualeno, producido durante la glucólisis (Figura 13);

---

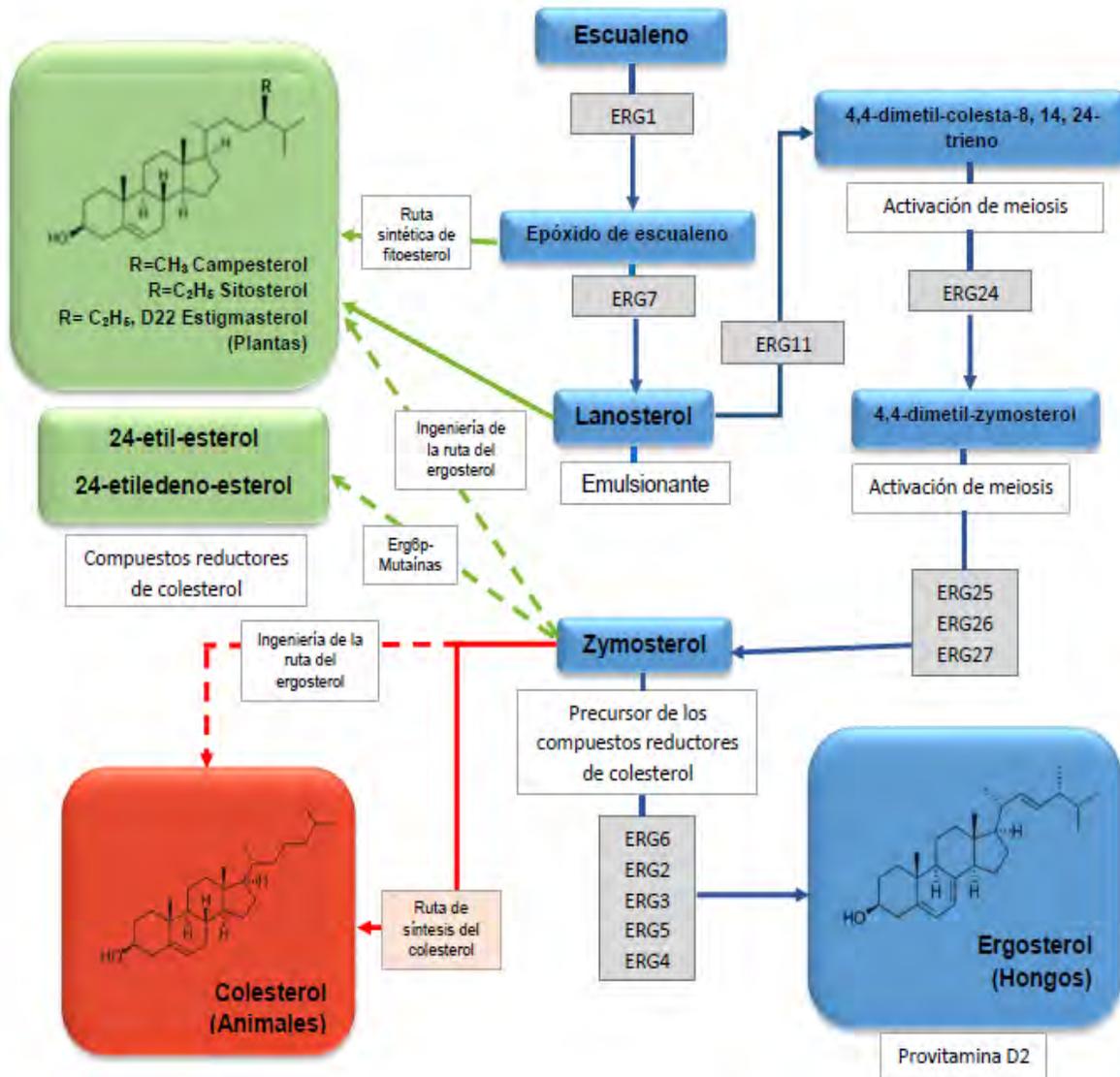
<sup>219</sup> ALAM, Nuhu y colaboradores. Antioxidant Activities and Tyrosinase Inhibitory Effects of Different Extracts from *Pleurotus ostreatus* Fruiting Bodies. En: The Korean Society of Mycology, Mycobiology Diciembre, 2010. Vol. 38, No. 4, p.295-301

<sup>220</sup> VIEIRA FONTES, Patricia A. y colaboradores. Antioxidant Activity and Total Phenolics in *Pleurotus ostreatus* Mushrooms Enriched with Iron, Zinc or Lithium. En: LWT - Food Science and Technology. Julio, 2013. Vol. 54, No.2, p.421-425.

<sup>221</sup> BENAVIDES CALVACHE, Olga y colaboradores. Esteroides de *Pleurotus ostreatus* Jacq. ex Fr. cultivado: potencial diferenciador para la industria farmacéutica y alimentaria. En: Agronomía Colombiana, 2016. Vol.34, 1Supl., p. S1121-S1123.

<sup>222</sup> WRIESSNEGGER, T.; PICHLER, H. Yeast metabolic engineering--targeting sterol metabolism and terpenoid formation. En: Prog. Lipid. Res. July, 2013. Vol.52, N° .3, p. 277-93.

Figura 13. Biosíntesis de ergosterol en los hongos, ruta metabólica



ERG = enzimas; ERG1: escualeno epoxidasa, ERG2: C-8 esterol isomerasa, ERG3: C-5 esterol desaturasa, ERG4: C-24(28) esterol reductasa, ERG5: C-22 esterol desaturasa, ERG6: C-24 esterol metil transferasa, ERG7: lanosterol sintasa, ERG11: C-24 esterol demetilasa, ERG24: C-14 esterol reductasa, ERG25: C-4 metil esterol oxidasa, ERG26: C-3 esterol dehidrogenasa, ERG27: 3-ceto esterol reductasa.

Fuente: adaptado de Wriessnegger, T. & Pichler, H. (2013).<sup>223</sup>

Los ácidos grasos insaturados (omega) son compuestos con actividad biológica importante, como la disminución de triglicéridos y colesterol. Benavides y

<sup>223</sup> WRIESSNEGGER, T.; PICHLER, H. Yeast metabolic engineering--targeting sterol metabolism and terpenoid formation. En: Prog. Lipid. Res. July, 2013. Vol.52, N°.3, p. 277-93.

*colaboradores*<sup>224</sup> determinaron lípidos totales (LT) mediante el método de Folch, Lees & Stanley (1957) y ácidos grasos por GC- FID en extractos de cuerpo fructífero de *P. ostreatus*, cultivado sobre los residuos lignocelulósicos de interés en esta investigación, encontrando un contenido de lípidos totales entre el 2% y 6%, siendo mayoritario los omega. Las setas cultivadas en raquis de palma, presentaron mayor concentración en LT y entre los ácidos grasos mayoritarios identificados están el ácido palmítico, ácido oleico y ácido linoleico, encontrándose ese último en valores mayores al 70% a excepción del bagazo de fique enriquecido con granza de avena, en donde el contenido de ácido linoleico(C<sub>18:2n-6</sub>) fue del 69,19%.

Respecto a la eficiencia biológica (EB) del cultivo de *P. ostreatus* en los siete (7) sustratos del cual fueron obtenidos los cuerpos fructíferos para la presente investigación, se tuvo en cuenta los resultados obtenidos en los estudios de Benavides y *colaboradores*,<sup>225</sup> en donde se indica que hay mayor EB en la primera cosecha y el sustrato de cultivo en donde se obtiene la mayor EB es la granza de avena (T7), seguido el raquis de palma aceitera (T6) y pulpa de café (T2) enriquecidos con granza de avena respectivamente; con relación al cultivo de *P. ostreatus* en bagazo de fique (T3) presenta menor EB, no obstante el enriquecimiento con granza de avena (T4), aumenta la EB en más de 280% con respecto al cultivo en el sustrato sin enriquecer (Tabla 6).

Tabla 6. Eficiencia biológica (EB) del cultivo de *P. ostreatus*

TRATAMIENTOo	EBC1( %)	EBC2( %)	EBA( %)
T1	173,75 ± 64,82 bc	98,84 ± 28,97 a	272,59
T2	252,37 ± 47,33 ab	85,63 ± 18,13 a	338,00
T3	49,59 ± 10,48 d	8,08 ± 4,50 c	57,67
T4	140,94 ± 43,19 c	38,23 ± 40,24 bc	179,17
T5	250,66 ± 56,28 ab	40,39 ± 15,66 bc	291,05
T6	312,99 ± 55,63 a	63,30 ± 14,06 ab	376,29
T7	326,41 ± 19,29 a	81,24 ± 15,91 a	407,65

EBC1: eficiencia biológica cosecha 1. EBC2: eficiencia biológica cosecha 2. EBA: eficiencia biológica acumulada.

Fuente: Benavides Calvache, Olga L. y *colaboradores*. (2016)

<sup>224</sup> BENAVIDES CALVACHE, Olga y *colaboradores*. Ácidos grasos del hongo funcional *Pleurotus ostreatus* cultivado en residuos sólidos agroindustriales. En: Producción + Limpia. Junio, 2015. Vol.10, No.1, p. 73-81

<sup>225</sup> BENAVIDES CALVACHE, Olga y *colaboradores*. Eficiencia biológica como variable de bioprocesamiento de residuos lignocelulósicos para la producción del hongo comestible y medicinal (*Pleurotus ostreatus*). En: Vitae, 2016. Vol. 23 (Supl. 1), p. 518-521.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 CULTIVO DEL HONGO *Pleurotus Ostreatus*

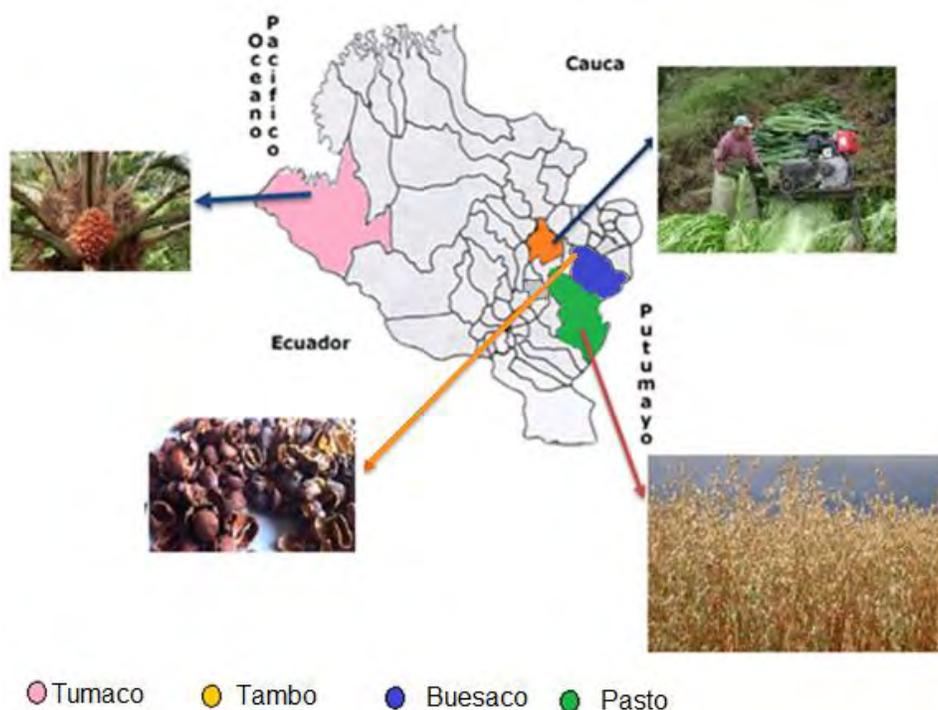
##### 3.1.1 Preparación del lugar para el cultivo

El área promedio del lugar utilizado para el cultivo de *P. ostreatus* fue de 17.5m<sup>2</sup>, ubicando los sustratos de cultivo en estantes hechos de madera, de una altura aproximada de 1.80 m y 0.25 m de ancho, acondicionados con polisombra negro; debido a que el objetivo principal del este material es proporcionar la oscuridad necesaria para la invasión del micelio en el sustrato; de igual forma se utilizó termohigrómetros digitales para el control de la temperatura y la humedad.

##### 3.1.2 Obtención y acondicionamiento de los sustratos.

Los sustratos se recolectaron en diferentes municipios del departamento de Nariño, expuestos en la Figura 14. La granza de avena que fue usado como testigo de cultivo, fue obtenida en Corpoica, corregimiento de Obonuco municipio de Pasto. El bagazo de fique perteneciente a la especie negra común (*Furcraea gigantea*), se obtuvo de la Finca la Brisa ubicada en la vereda Capulí de Minas, municipio de El Tambo. La pulpa de café correspondiente a la especie *Coffea arabica* fue obtenida del municipio de Buesaco, finalmente el raquis de palma aceitera (*Elaeis guineensis*), obtenido de la zona Palmera de Tumaco. Se recolectaron muestras frescas y representativas de los diferentes sustratos, mediante un muestreo aleatorio simple y posteriormente preparando una muestra compuesta.

Figura 14. Municipios de recolección de los sustratos residuales para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*.



Fuente: adaptado de Gobernación de Nariño<sup>226</sup>

Las impurezas de los residuos fueron removidas con lavados de agua potable, como se observa en la Figura 15 y de igual forma se realizó remoción diaria de agua durante una semana, necesitando lavados adicionales con agua caliente para el bagazo de fique, en razón de las propiedades antifúngicas del jugo de fique al poseer sustancias como las saponinas que inhiben el crecimiento del hongo *P. ostreatus*.<sup>227</sup>

Los sustratos se secaron mediante exposición directa al sol, además se redujo a un tamaño promedio de 2-4cm para los sustratos bagazo de fique, granza de avena y raquis de palma.<sup>228</sup>

<sup>226</sup>GOBERNACION DE NARIÑO: División Política Administrativa. [Citado, 30 octubre 2015]. Disponible en: <http://xn--nario-rta.gov.co/inicio/index.php/mi-departamento/mapa>

<sup>227</sup> BENAVIDES CALVACHE, Olga lucia. Aprovechamiento de residuos lignocelulósicos para el cultivo de orellanas (*Pleurotus ostreatus*). Trabajo de Grado (Maestría en Ciencias Agrarias. Énfasis en Producción de cultivos). Universidad de Nariño. San Juan de Pasto. 2013.

<sup>228</sup> VARNERO, María T. y colaboradores. Utilización de Residuos Forestales Lignocelulósicos para Producción del Hongo Ostra (*Pleurotus ostreatus*). En: Información Tecnológica. 2010. Vol. 21, No.2, p 13-20

Figura 15. Pretratamiento de materiales lignocelulósicos.



Fuente: esta investigación

Se prepararon siete sustratos (tratamientos) a partir de: bagazo de fique, raquis de palma aceitera, pulpa de café y granza de avena el cual fue usado como testigo de cultivo, los tratamientos fueron codificados como se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Codificación y Acondicionamiento de los sustratos para el cultivo de *P. ostreatus*

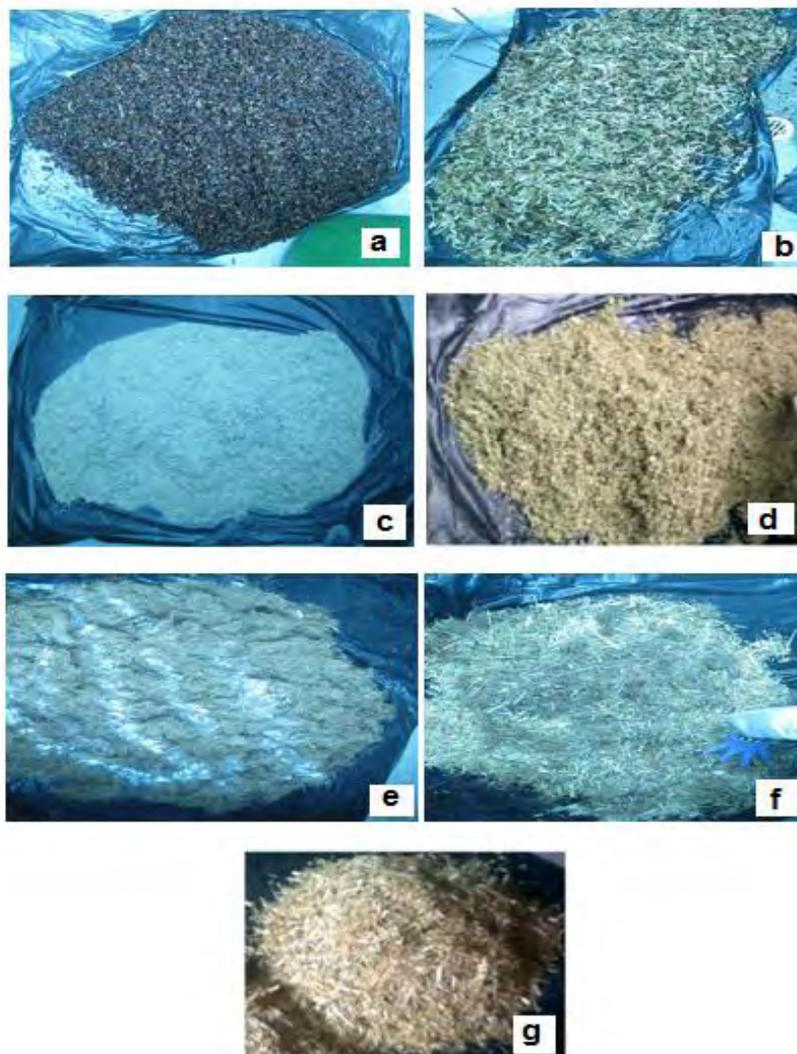
Codificación sustrato	Contenido de los sustratos (%)					
	PC <sup>a</sup>	BF <sup>b</sup>	RP <sup>c</sup>	GA <sup>d</sup>	Sulfato amonio	Carbonato de calcio
T1	97				1,0	2,0
T2	67			30	1,0	2,0
T3		97			1,0	2,0
T4		67		30	1,0	2,0
T5			97		1,0	2,0
T6			67	30	1,0	2,0
T7				97	1,0	2,0

<sup>a</sup> PC pulpa de café, <sup>b</sup> BF bagazo de fique, <sup>c</sup> RP raquis de palma aceitera y <sup>d</sup> GA granza de avena. Fuente: esta investigación

Los 7 sustratos fueron acondicionados con sulfato de amonio (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 1% en peso, carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>) al 2% en peso y agua hasta obtener una

humedad del 70% como lo sugiere Rodríguez y colaboradores,<sup>229</sup> los sustratos T2, T4 y T6 fueron enriquecidos con 30% en peso con granza de avena, como se indica en la Tabla 7. Los sustratos acondicionados (Figura 16), fueron empaquetados en las bolsas plásticas, seis (6) unidades experimentales por cada réplica.

Figura 16. Sustratos acondicionados para el cultivo de *P. ostreatus*



- a. T1 (pulpa de café)
- b. T2 (pulpa de café con granza de avena)
- c. T3 (bagazo de fique)
- d. T4 (bagazo de fique con granza de avena)
- e. T5 (raquis de palma)
- f. T6 (raquis de palma con granza de avena)
- g. T7 (granza de avena)

Fuente: esta investigación

<sup>229</sup> RODRÍGUEZ VALENCIA, Nelson y GÓMEZ CASTRO, F. Cultivo de hongos comestibles en pulpa de café. En: Avances Técnicos Cenicafé. 2001. Vol. 285, p.1-8.

Los sustratos se empacaron en bolsas de polipropileno de 1.5 kg de capacidad; previo a la siembra, en la parte superior de la bolsa se hizo una ventana de 3 x 4 cm como se observa en la Figura 17. La abertura se cubrió con interlón, para la entrada de oxígeno y humedad, necesario en la etapa de incubación. En cada unidad experimental se adicionó 500 g de sustrato, la esterilización de los tratamientos se realizó en autoclave Sterilof Mod. AUT/40/1PGR por una hora a 121°C, finalmente se dejaron enfriar a temperatura ambiente

Figura 17. Preparación de los sustratos.



**a.** ventana en la bolsa para aireación y humedad.

**b.** Sustratos empacados en bolsas de polipropileno

**c.** Esterilización del material

Fuente: esta investigación

### 3.1.3 Inoculación

La inoculación se llevó a cabo en cámara de flujo laminar, se empleó micelio comercial de *P. ostreatus* (CP-50), la cantidad de micelio fue del 2% por kg de sustrato, se esparció de manera uniforme, se sellaron las bolsas como se observa en la Figura 18.

Figura 18. Inoculación de sustratos.



a. inoculación de micelio de *P. ostreatus*

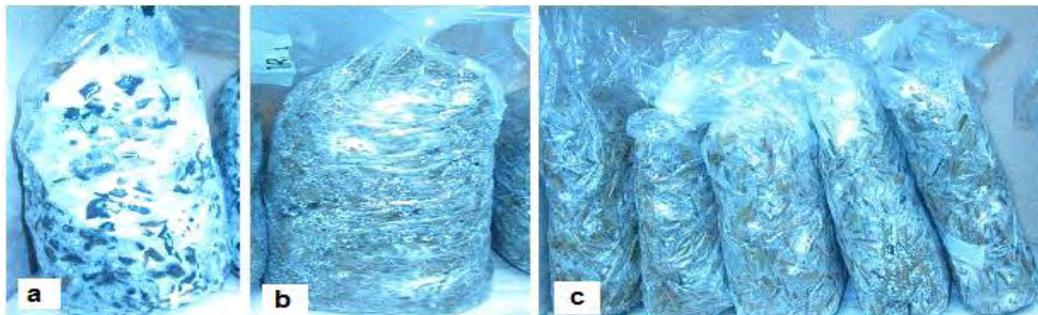
b. sellamiento de las bolsas de polipropileno inoculadas

Fuente: esta investigación.

### 3.1.4 Incubación

Las unidades experimentales de los sustratos inoculadas, se distribuyeron en los estantes, en forma aleatoria. Se cubrieron con polisombra negro removible para generar la oscuridad necesaria para la invasión del micelio, además de la protección del cultivo del polvo, plagas, entre otros factores. Se hizo un registro continuo de la temperatura y la humedad durante el periodo del cultivo, la humedad relativa osciló entre 60-80% y la temperatura entre 15-22°C. El periodo de invasión del micelio se evidenció cuando el sustrato toma un color blanco, Figura 19. A los 24 días de iniciado el cultivo se observa la aparición de un líquido amarillento (Figura 20) indicando el inicio de la etapa de fructificación. Se removió el polisombra y las bolsas plásticas en cada unidad experimental para dar las condiciones adecuadas para la fructificación.

Figura 19. Invasión del micelio de *P. ostreatus* en los sustratos.



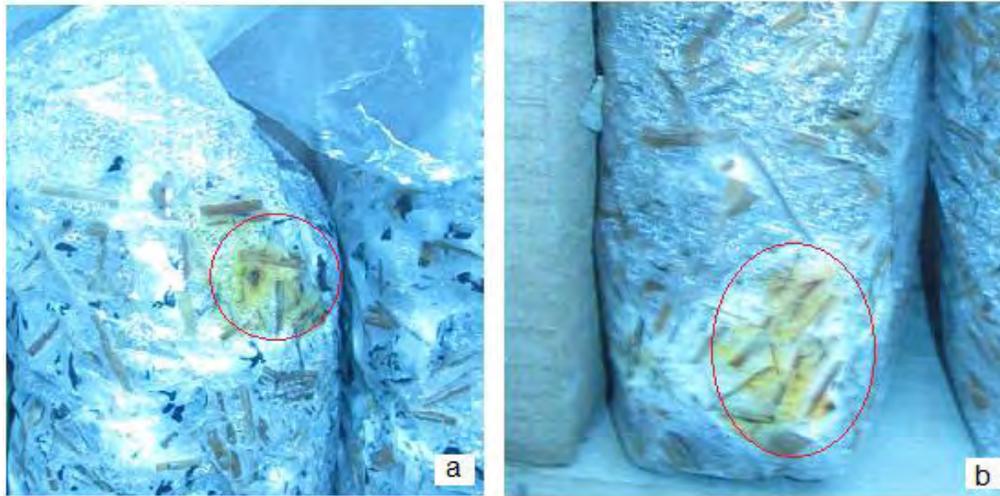
a. 24 días de invasión micelial invasión del micelio en el sustrato T1

b. invasión micelial en el sustrato T3

c. inicio de invasión del micelio en el sustrato T6

Fuente: esta investigación

Figura 20. Inicio periodo de fructificación en unidades experimental correspondientes al sustrato T2 y T7



a. sustrato T2

b. sustrato T7

Fuente: esta investigación.

### 3.1.5 Fructificación y cosecha

El periodo de fructificación comprendió entre los días 32-35. Se observó la formación y el crecimiento de los primordios en forma de racimo como se muestra en la Figura 21a y 21b. Cuando el sombrero presentó una característica planar se realizó la cosecha de los cuerpos fructíferos, se cortó el estipe de los cuerpos fructíferos del hongo, como se observa en la Figura 21. La totalidad de la cosecha de cada unidad experimental, se dejó a temperatura ambiente hasta obtener peso constante, como se observa en la Figura 21f. Se registró el peso al momento de la cosecha y durante la deshidratación, para llevar el registro de la humedad de los esporocarpos de *P. ostreatus* y finalmente los cuerpos fructíferos deshidratados fueron molidos con un homogeneizador (Figura 22), hasta obtener un tamaño de partícula adecuado (tipo polvillo). Cada muestra fue colocada en una bolsa ziploc, previamente esterilizada y marcada, fueron llevados al laboratorio del grupo de investigación BIOTA de la Universidad de Nariño, donde fueron almacenados en un refrigerador hasta su posterior uso.

Figura 21. Etapas del cultivo *P. ostreatus*: formación de los primordios-deshidratación de los cuerpos fructíferos.



- a. Formación de primordios en T4
- b. formación de los cuerpo fructíferos en T2
- c. cuerpos fructíferos en desarrollo en T2 a los 32 días
- d. primera cosecha
- e. cosecha de cuerpo fructífero en T1
- f. deshidratación de cuerpos fructíferos cosechados.

Fuente: esta investigación

Figura 22. Homogenización de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*.



- a. homogenización del cuerpo fructífero
  - b. cuerpo fructífero homogenizado
  - c. pesaje de cuerpo fructífero homogenizado
- Fuente: esta investigación

## 3.2 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

### 3.2.1 Preparación de material de laboratorio

Los reactivos utilizados para la extracción y análisis de las muestras fueron grado analítico como el etanol y metanol. Todo el material de trabajo: tubos de ensayo, vidrios de reloj, viales, varillas de vidrio para agitación, beakers, entre otro, fueron lavados con agua y jabón libre de fosfatos, posteriormente con una solución de ácido nítrico y con agua tipo I (T° de 90-100°C), a excepción de los balones de aforo; finalmente se realizó el enjuague con agua grado HPLC.<sup>230, 231</sup>

### 3.2.2 Extracto seco

Se determinó el contenido de humedad de las diferentes muestras; una muestra por réplica, de los cuerpos fructíferos en una balanza de medición de humedad marca KERN<sub>DBS</sub> (Figura 23)

Figura 23. Determinación de la humedad de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* deshidratados



Fuente: esta investigación.

<sup>230</sup> MAU, Jeng-Leun; TSAI, Shu-Yao; TSENG, Yu-Hsiu; HUANG, Shih-Jeng. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsuage*. En: Food Chemistry. December, 2005. Vol. 93, No. 4, p.641-9

<sup>231</sup> ARBOLEDA ECHEVARRÍA, Carolina y MEJÍA GALLÓN, Amanda Inés. Induction of laccase Activity in *Ganoderma sp.* and the antioxidant activity of its biomass. En: Revista Cubana de Farmacia, 2010. Vol. 44, No. 4, p.519-532

La obtención del extracto del cuerpo fructífero del hongo *P. ostreatus* cultivado en los diferentes tratamientos, se llevó a cabo según las condiciones descritas por Oyetayo - Ariyo <sup>232</sup> y modificadas.

Se llevó a cabo una extracción por maceración, para lo cual se pesó  $1,0000 \pm 0,0001$ g de cuerpo fructífero de hongo molido de cada réplica, adicionando a cada tubo de ensayo 7 mL EtOH absoluto grado analítico (MERCK), se agitaron en un vórtex IKA-Labortechnik VF2 (Figura 24d), cada ocho (8) horas y la extracción se realizó durante cinco (5) días, ejecutando cada día remoción de solvente, el cual se filtró con Whatman No. 1 y se recolectó en un frasco de vidrio de color ámbar, conservado en refrigeración hasta eliminar el disolvente en un rotaevaporador LABOROTA 4000 eco a una temperatura de 40°C, presión de 480-500mmHg.

Figura 24. Obtención del extracto del cuerpo del cuerpo fructifero de *P. ostreatus*.



- a. pesaje de cuerpo fructifero
- b. tubos de ensayo con base seca de cuerpo fructifero
- c. adición de etanol absoluto
- d. agitación de las muestras de cuerpo fructifero
- e. filtración del extrato etanólico
- f. almacenamiento del extracto etanólico
- g. rotaevaporacion del extracto etanólico.

Fuente: esta investigación.

<sup>232</sup> OYETAYO, Victor O. and ARIYO, Olatomiwa O. Op. Cit., p. 68

El solvente restante del extracto se removió mediante secado como se observa en la Figura 25, con ayuda de baño de maría a una temperatura de 28-32°C. Estos extractos fueron denominados “extractos secos”, para posteriormente ser almacenados en refrigeración hasta el momento del análisis.

Figura 25. Remoción de solvente del extracto de cuerpo fructífero *P. ostreatus*.



a. viales con extracto etanólico rotaevaporado

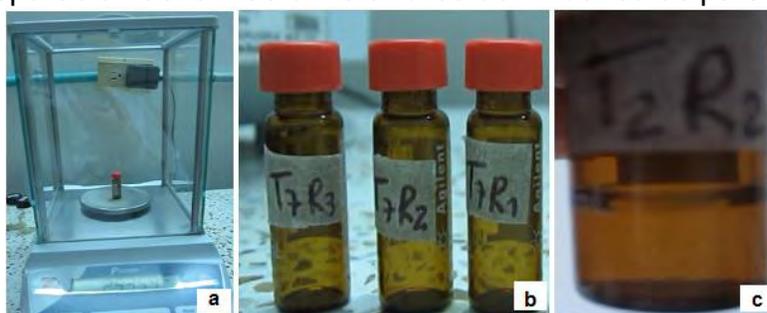
b. remoción del solvente del extracto

c. extracto seco.

Fuente: esta investigación.

### 3.2.3 Preparación del extracto para análisis.

Figura 26. Preparación del extracto metanólico de *P. ostreatus* para análisis.



a. pesaje del extracto seco

b. viales con extracto

c. extracto diluido en metanol

Fuente: esta investigación

El extracto para el análisis se obtuvo a partir de  $0,012 \pm 0,001$ g del extracto seco, y la adición de metanol grado HPLC (MERCK), con agitación se aseguró la disolución completa del extracto seco (Figura 26).

### 3.3 DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES-FT

La determinación de FT se hizo mediante el método de Folin-Ciocalteu (1927)<sup>233</sup>. Se midió 100 $\mu$ L del extracto disuelto previamente en metanol HPLC y se le adicionaron 2600 $\mu$ L de H<sub>2</sub>O grado HPLC y 300 $\mu$ L del reactivo de Folin-Ciocalteu. Se mezcló con la ayuda de un agitador vórtex, después de 6 minutos se adicionó 2000 $\mu$ L de carbonato de sodio al 7,5% (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) se dejó a temperatura ambiente y protegido de la luz durante 90 minutos, se procedió medir la absorbancia a una longitud de onda de 750nm en el espectrofotómetro UV-VIS PHARO 300 MERCK.

#### 3.3.1 Blanco de muestra

El blanco de la muestra se preparó a partir de 100 $\mu$ L de metanol HPLC, 2600 $\mu$ L de H<sub>2</sub>O grado HPLC y 300 $\mu$ L del reactivo de Folin-Ciocalteu, se mezcló en un agitador vórtex, después de 6 minutos se adicionó 2000 $\mu$ L de carbonato de sodio al 7,5% (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), se dejó a temperatura ambiente por 90 minutos hasta la lectura en el espectrofotómetro.

#### 3.3.2 Recta de calibración de ácido gálico- FT

A partir de la solución madre de ácido gálico (1000ppm) se prepararon soluciones de 10, 30, 60, 100, 150, 200 y 250ppm en balones aforados de 10mL. Se realizó el tratamiento de las soluciones preparadas a partir de la solución madre igual que para el blanco y los extractos secos: 100 $\mu$ L de solución, 2600 $\mu$ L de H<sub>2</sub>O grado HPLC, 300 $\mu$ L del reactivo de Folin-Ciocalteu, agitar; transcurrido 6 minutos la adición de 2000 $\mu$ L de carbonato de sodio al 7,5% (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), se dejó a temperatura ambiente y protegido de la luz durante 90 minutos; se midió la absorbancia en el espectrofotómetro UV-VIS PHARO 300 MERCK a una longitud de onda de 750nm como se observa en la Figura 27.

---

<sup>233</sup> FOLIN, Otto y CIOCALTEU, Vintila. On tyrosine and triptophane determinations in proteins. En: The Journal Of Biological Chemistry. Abril, 1927. Vol. 73, No. 2, p. 627-650

Figura 27. Soluciones ácido gálico tras la reacción con Folin-Ciocalteu para la obtención de la curva de calibración en la determinación de FT.



**a.** soluciones a diferentes concentraciones de ácido gálico

**b.** soluciones de ácido gálico tras reaccionar con el reactivo de Folin-Ciocalteu

**c.** lectura en el espectrofotómetro

Fuente: esta investigación.

Para la determinación de FT en los diferentes extractos de cuerpo fructífero de *P. ostreatus*, se utilizó el mismo tratamiento que para las muestras de la curva patrón descritas en el numeral 3.3 (Figura 28).

Figura 28. Determinación de FT en los extracto del cuerpo fructífero de *P. ostreatus*



**a.** reacción de FT de los extracto de *P. ostreatus*

**b.** lectura en el espectrofotómetro de la reacción de Folin-Ciocalteu de los extractos

Fuente: esta investigación.

### 3.4 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL

#### 3.4.1 Solución de trabajo del catión-radical ABTS<sup>•+</sup>

A 100µL de la solución madre de ABTS<sup>•+</sup> (Anexo E) se adicionó metanol HPLC hasta obtener una absorbancia entre 0,700-0,720 nm. Esta solución de ABTS<sup>•+</sup>; fue preparada inmediatamente antes de hacer cada determinación de la actividad antioxidante de las muestras.

#### 3.4.2 Solución de ácido ascórbico

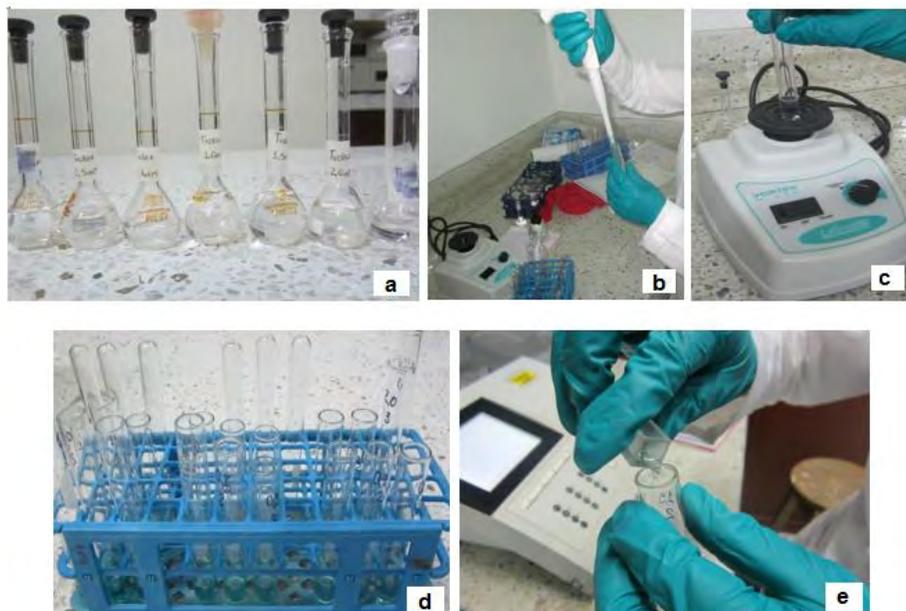
A partir de la solución madre de ácido ascórbico descrita en Anexo E se preparó la solución de análisis a una concentración de 0,534mM en un balón de aforo de 10mL y con metanol grado HPLC.

#### 3.4.3 Recta de calibración para AAT (actividad antioxidante total) con Trolox

A partir de la solución madre de Trolox descrita en Anexo E se prepararon siete soluciones de concentraciones 0.3, 0.5, 0.7, 1.00, 1.50 y 2.00 en balones aforados de 10mL; los aforos se realizaron con metanol HPLC. Las soluciones fueron protegidas de la luz con papel aluminio.

Se midió 20µL de cada una de las siete soluciones de Trolox preparadas anteriormente y se las depositó en diferentes tubos de ensayo, se adicionó 2000µL de la solución de trabajo de ABTS<sup>•+</sup>, la cual presentaba una absorbancia entre 0,700-0,720 a una longitud de onda de 734nm, se agitó durante 1 minuto en un vórtex como se observa en la Figura 29 y dejó en reposo durante 6 minutos; se procedió a hacer la lectura de la absorbancia en el espectrofotómetro UV-VIS PHARO 300 MERCK. Las mediciones se realizaron por triplicado para cada punto de la curva.

Figura 29. Preparación de la curva de calibración con Trolox para la determinación de AAT



**a.** soluciones Trolox a diferente concentración

**b.** reacción de las soluciones Trolox con  $ABTS^{+•}$

**c.** agitación de la solución resultante de Trolox con  $ABTS^{+•}$

**d.** soluciones en reposo para completar la reacción

**e.** lectura de la solución resultante de la reacción en el espectrofotómetro

Fuente: esta investigación

#### 3.4.4 Actividad antioxidante total de los extractos

A  $20\mu\text{L}$  de extracto metanólico (preparación descrita en el numeral 3.2.3) se adicionó  $2000\mu\text{L}$  de la solución de trabajo de  $ABTS^{+•}$  ( $0,700-0,720\text{nm}$ ), se mezcló durante un minuto con un agitador vórtex, se dejó en reposo durante 6 minutos. Finalmente se transfirió la solución resultante a la celda (Figura 30), se midió la absorbancia en el espectrofotómetro UV-VIS PHARO 300 MERCK a una longitud onda de  $734\text{nm}$ . El orden de adición de los reactivos es importante para que se lleve a cabo la reacción correctamente; cada medición se realizó por triplicado para cada una de las réplicas de cada tratamiento.

Figura 30. Lectura en el espectrofotómetro de la reacción entre extracto de cuerpo fructífero de *P. ostreatus* y la solución de ABTS\*\*



Fuente: esta investigación

### 3.5 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

#### 3.5.1 Diseño experimental del cultivo

El mapa de campo con los respectivos tratamientos y repeticiones para el cultivo, se indica en el Tabla 8. Para cada repetición se preparó seis unidades experimentales. Las unidades experimentales de cada tratamiento fueron ubicadas en los estantes manera aleatorizada.

Tabla 8. Mapa de campo cultivo de *Pleurotus ostreatus*

$T_iR_1, i = 1 \dots 7$	$T_iR_2, i = 1 \dots 7$	$T_iR_3, i = 1 \dots 7$
T <sub>1</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>6</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>3</sub>
T <sub>4</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>3</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>7</sub> R <sub>3</sub>
T <sub>2</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>5</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>3</sub>
T <sub>5</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>7</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>6</sub> R <sub>3</sub>
T <sub>7</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>1</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>3</sub>
T <sub>3</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>4</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>3</sub>
T <sub>6</sub> R <sub>1</sub>	T <sub>2</sub> R <sub>2</sub>	T <sub>5</sub> R <sub>3</sub>

T<sub>1</sub>: Tratamiento con sustrato de pulpa de café

T<sub>2</sub>: Tratamiento con sustrato de pulpa de café y granza de avena

T<sub>3</sub>: Tratamiento con sustrato de bagazo de fique

T<sub>4</sub>: Tratamiento con sustrato de bagazo de fique y granza de avena

T<sub>5</sub>: Tratamiento con sustrato de raquis de palma

T<sub>6</sub>: Tratamiento con sustrato de raquis de palma y granza de avena

T<sub>7</sub>: Tratamiento testigo con sustrato de granza de avena

R: Réplica

Fuente: esta investigación

### 3.5.2 Análisis estadístico de los datos

El diseño experimental utilizado para el análisis de los datos es de un solo factor con el modelo de efectos fijos; descrito con la Ecuación 1. El factor corresponde al tratamiento que se le va a aplicar al cultivo de los hongos, que para este caso son los tratamientos; ese tratamiento tiene 4 niveles, cuatro sustratos sin enriquecer (pulpa de café, bagazo de fique, raquis de palma y granza de avena) y tres sustrato enriquecidos (pulpa de café con granza de avena, bagazo de fique con granza de avena y raquis de palma con granza de avena), es decir siete sustratos de cultivo en total. Se analizaron los cuatro sustratos sin enriquecer para determinar la influencia del sustrato de cultivo en el contenido de FT y AAT de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*. Para los sustratos restantes se determinó el efecto en las propiedades de interés para esta investigación del cuerpo fructífero causado por la adición de granza de avena que es el sustrato testigo.

El análisis estadístico de los datos, tanto de curvas de calibración como los resultados de los extracto analizados se hizo con EXCEL 2013 y STATGRAPHICS Centurión XV.

Se establecieron los parámetros estadísticos para verificar que las curvas de calibración realizadas para la determinación de FT y AAT en los extractos eran óptimas:

- Linealidad y rango: tras analizar los resultados de las curvas por el método de mínimos cuadrados, se determinó la linealidad y el rango de las curvas con el coeficiente de correlación ( $r$ ) y el coeficiente de determinación ( $r^2$ ).
- Precisión: el porcentaje del coeficiente de variación (%CV) fue el parámetro utilizado para establecer la precisión de las curvas de calibración, que para determinaciones espectrofotométricas es óptimo si es menor al 3%<sup>234</sup>. El %CV fue determinado con la Ecuación 5.

$$\%CV = \frac{\sigma}{\bar{y}} \quad \text{Ecuación 5}$$

En dónde  $\sigma$ , corresponde a la desviación estándar;  $\bar{y}$ , a la media.

- Los intervalos de confianza fueron calculados según el estadístico *t-student*, bajo un nivel de confianza del 95%; calculado a partir de la Ecuación 6.

---

<sup>234</sup> CASTILLO AGUILAR, Beatriz. y GONZALEZ HERNÁNDEZ, Rolando. Protocolo Para La Validación De Métodos Analíticos Para La Cuantificación De Fármacos. En: Revista Cubana de Farmacia. Diciembre, 1996, Vol. 30, No.1

$$\bar{y} - z \frac{s}{\sqrt{n}}, \bar{y} + z \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Ecuación 6

En dónde;  $\bar{y}$  corresponde a la media,  $z$  es el valor correspondiente a 8 grados de libertad con un  $P$  igual al 95%, equivale a 2,31 se lo obtuvo de la tabla de distribución *t-student*;  $s$ , es la desviación estándar;  $n$ , tamaño de la muestra

### 3.5.3 Determinación del tamaño de la muestra: potencia de la prueba

El número de repeticiones o el tamaño de la muestra se determinó con la Ecuación 5, que corresponde al diseño experimental de un solo factor con el modelo de efectos fijos planteado para el análisis estadístico y descrito con la Ecuación 1.

## 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 CONTENIDO DE FENOLES TOTALES-FT

Para determinar el contenido de fenoles se realizó una recta de calibración con ácido gálico como estándar como se indicó en la sección 3.3 revisar este numeral.

#### 4.1.1 Recta de calibración con Ácido Gálico

En la Tabla 9 se muestra los resultados promedio para la evaluación del contenido de FT, mediante el método de Folin-Ciocalteu en 8 soluciones de diferente concentración de ácido gálico. En el Anexo A se indican los resultados de absorbancia de las soluciones de ácido gálico en tres repeticiones, con mínimos cuadrados se obtuvo la recta de calibración promedio correspondiente a la Gráfica 1, que obedece a la absorbancia de la solución proveniente de la reacción de ácido gálico con el reactivo de Folin-Ciocalteu, en función de las diferentes concentraciones conocidas de ácido gálico.

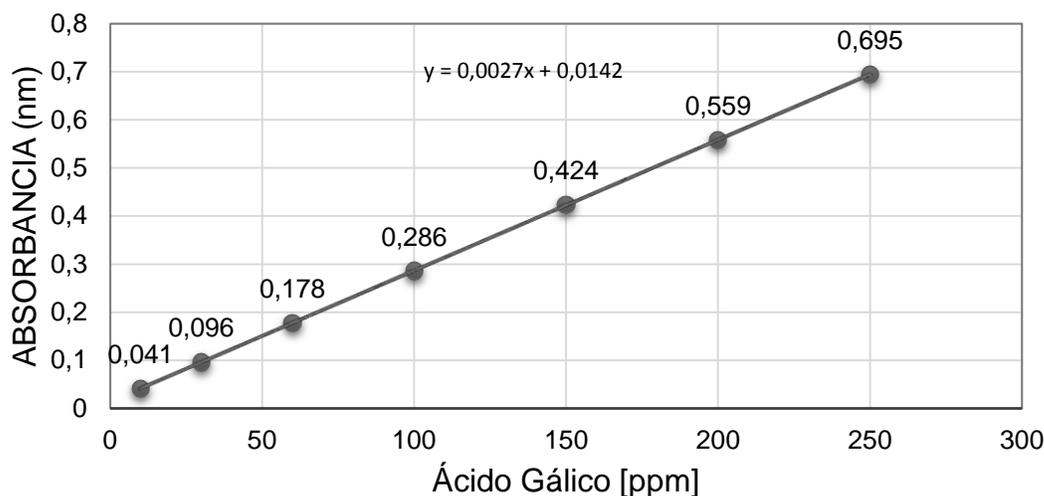
Tabla 9. Absorbancia promedio de las soluciones resultantes de la reacción de ácido gálico con Folin-Ciocalteu.

[ ] Ácido Gálico (ppm)	A Promedio <sup>a</sup>	S <sup>b</sup>	% CV <sup>c</sup>	IC 95% <sup>d</sup>
10	0,041	0,00100	2,459	0,0399-0,0414
30	0,096	0,00069	0,724	0,0953-0,0964
60	0,178	0,00135	0,756	0,1771-0,1791
100	0,286	0,00150	0,526	0,2847-0,2870
150	0,424	0,00139	0,327	0,4228-0,4250
200	0,559	0,00135	0,241	0,5574-0,5595
250	0,695	0,00150	0,216	0,6936-0,6959

<sup>a</sup> Absorbancia promedio de las tres mediciones, <sup>b</sup> desviación estándar, <sup>c</sup> porcentaje coeficiente de variación, <sup>d</sup> intervalos de confianza.

Fuente: esta investigación

Gráfica 1. Recta de calibración promedio para la determinación del contenido de FT método Folin-Ciocalteu; estándar ácido gálico (750nm)



Fuente: esta investigación

La intensidad de la coloración en cada punto de la curva, en función del contenido polifenoles (concentración) del ácido gálico obedece una relación lineal, directamente proporcional. A continuación se muestra la Ecuación 7 correspondiente a la Gráfica 1.

$$\text{Absorbancia(nm)} = 0,0141546 + 0,00272323 * [\text{ppm}]AG \quad \text{Ecuación 7}$$

Tabla 10. Parámetros estadísticos de la regresión simple de las concentraciones de ácido gálico vs absorbancia.

Parámetro	Estimación
Pendiente	0,00272323 ± 0,00000337359
Intercepto	0,0141546 ± 0,000476415
Error estándar	0,00128247
Coefficiente de Correlación (r)	0,999985
Coefficiente de determinación (r <sup>2</sup> )	0,999971
Estadístico Durbin-Watson	2,4649 (P=0,8051)

Fuente: esta investigación

Con los datos consignados en la Tabla 10, se precisan los parámetros estadísticos que prueban que la Ecuación 7 es confiable, para ser usada en la determinación del contenido de FT en los extractos de los cuerpos fructíferos de la seta *P. ostreatus* cultivada en los siete sustratos, donde se determinó:

- Linealidad y rango: La curva de calibración presentó un coeficiente de correlación de los datos (*r*) del 99.99% y un coeficiente de determinación (*r*<sup>2</sup>) 0.999,

mostrando un alto grado de correlación y una buena linealidad del método, en el rango de concentración de 10 a 250ppm.

- Precisión: en la Tabla 9, columna 4 se observa que el porcentaje del coeficiente de variación (%CV) calculado a partir de la Ecuación 5, los resultados obtenidos son menores al 2,5%; el resultado se encuentra por debajo del límite establecido para determinaciones espectrofotométricas el cual es del 3%<sup>235</sup>.
- Exactitud: se determinó con el porcentaje de error relativo (% ER.) en comparación con la solución patrón (ácido gálico) de concentración conocida, los resultados consignados en la Tabla 11, están por encima del 95%, lo que significa que el método presenta una buena exactitud.

Tabla 11. Determinación del porcentaje de error relativo para la recta de calibración método Folin-Ciocalteu

[ ] T. (ppm) <sup>a</sup>	A $\bar{Y}$ <sup>b</sup>	[ ] E. $\bar{Y}$ <sup>c</sup>	% ER. <sup>d</sup>
10	0,041	9,84	98,37
30	0,096	30,03	100,11
60	0,178	60,15	100,24
100	0,286	99,81	99,81
150	0,424	150,36	100,24
200	0,559	199,94	99,97
250	0,695	249,88	99,95

a, concentración teórica ácido gálico (ppm); b, Absorbancia promedio; c, Concentración experimental promedio; d, % Error Relativo.

Fuente: esta investigación

El *Valor-P* del estadístico de Durbin-Watson (DW) registrado en la Tabla 10, es mayor que 0,05, (0,8051>0,05), por tanto que no hay una autocorrelación serial en los residuos, con un nivel de confianza del 95,0%. Cumpliendo con la condición del modelo de mínimos cuadrados (normalidad, homogeneidad de varianzas, independencia de los datos). Finalmente, los parámetros estadísticos consignados en la Tabla 10, demuestran que la curva es confiable y apta para la determinación del contenido de FT en los extractos de los cuerpos fructíferos de la seta *P. ostreatus*.

<sup>235</sup> CASTILLO AGUILAR, Beatriz. Op. Cit., p. 90

#### 4.1.2 Contenido de Fenoles Totales (FT) del extracto seco de *Pleurotus Ostreatus*.

A los compuestos polifenólicos se les atribuye diversas propiedades biológicas incluidas la capacidad antioxidante. Diversos estudios muestran que setas comestibles poseen una gran variedad de compuestos fenólicos incluyendo la seta *Pleurotus ostreatus*, algunos de estos compuestos han sido identificados por técnicas analíticas como HPLC.<sup>236</sup>

En la presente investigación se determinó el contenido de FT en los cuerpos fructíferos en las setas de *Pleurotus ostreatus* cultivado en los siete sustratos, para lo cual se utilizó el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, que es ampliamente referenciado para este tipo de investigaciones.<sup>237, 238</sup> Las mediciones se realizaron por triplicado para cada extracto, como se observa en los resultados consignados en el Anexo B. En la Tabla 12, se muestran los resultados promedio del contenido de FT en las réplicas de cultivo obtenidos de los cuerpos fructíferos cultivados en sustratos “sin enriquecer” (pulpa de café T1, bagazo de fique T3, raquis de palma T5 y granza de avenaT7).

En los resultados de la Tabla 12, con un valor entre  $0,8507 \pm 3,354E-03$  y  $0,8791 \pm 4,063E-03$  mgAG/g BS de cuerpo fructífero, el hongo cultivado en raquis de palma (T5) fue el que obtuvo una mayor cantidad de FT, en las cuatro réplicas de cultivo; el cultivado en pulpa de café (T1) con un valor promedio entre  $0,5433 \pm 7,437E-03$  y  $0,5618 \pm 5,904E-03$  mgAG/g BS de cuerpo fructífero; el cultivado en bagazo de fique (T3) con un valor entre  $0,5066 \pm 1,795E-03$  y  $0,5172 \pm 2,934E-03$  mgAG/g BS de cuerpo fructífero, y finalmente el cultivado en granza de avena (T7) que se considera el sustrato testigo de cultivo en la determinación de eficiencia biológica presentó un contenido de FT entre  $0,4147 \pm 2,156E-03$  y  $0,4296 \pm 5,791E-03$  mgAG/g BS de cuerpo fructífero.

---

<sup>236</sup> ALAM, Nuhu. Óp. cit., p.71

<sup>237</sup> SINGLETON, Vernon y colaboradores. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. En: Methods in Enzymology, 1999, Vol. 299, p. 152–178. Oxidants and Antioxidants Part A

<sup>238</sup> SINGLETON. Óp. cit., p.63

Tabla 12. Contenido de FT promedio de los extractos de cuerpo fructíferos de *Pleurotus ostreatus* cultivado en los sustratos sin enriquecer.

<i>Sustrato de cultivo</i> <sup>a</sup>	<i>Réplica</i> <sup>b</sup>	<i>Contenido de FT</i> ( $\bar{y}$ ) $\pm$ <i>Desv. Estándar</i> <sup>c</sup>
T1	1	0,5433 $\pm$ 7,437E-03
	2	0,5618 $\pm$ 5,904E-03
	3	0,5473 $\pm$ 2,501E-03
	4	0,5505 $\pm$ 2,327E-03
T3	1	0,5172 $\pm$ 2,934E-03
	2	0,5120 $\pm$ 6,076E-03
	3	0,5066 $\pm$ 1,795E-03
	4	0,5099 $\pm$ 2,135E-03
T5	1	0,8791 $\pm$ 4,063E-03
	2	0,8507 $\pm$ 3,354E-03
	3	0,8682 $\pm$ 2,932E-03
	4	0,8619 $\pm$ 1,105E-02
T7	1	0,4217 $\pm$ 3,425E-03
	2	0,4147 $\pm$ 2,156E-03
	3	0,4165 $\pm$ 2,774E-03
	4	0,4296 $\pm$ 5,791E-03

<sup>a</sup> Pulpa de café (T1), Bagazo de fique (T3), Raquis de palma (T5), Granza de avena (T7); <sup>b</sup> réplica de cultivo; <sup>c</sup> contenido promedio de FT expresado en miligramos de ácido gálico por gramo de *P. ostreatus* en base seca (mgAG/g BS) con la respectiva desviación estándar.

Fuente: esta investigación

Por su parte, el contenido de FT determinado en los cuerpos fructíferos de los hongos cultivados en los sustratos enriquecidos, se exponen en la Tabla 13, Se observa que en el sustrato T2 (pulpa de café con granza de avena), el contenido de FT varía con respecto a T1 (pulpa de café) de manera que disminuye, similar comportamiento se observa entre el sustrato T5 (raquis de palma) y T6 (raquis de palma con granza de avena), por el contrario la variación no es significativa en el contenido de FT cultivado en los sustratos T3 (bagazo de fique) y T4 (bagazo de fique con granza de avena).

Tabla 13. Contenido de FT del cuerpo fructífero de *Pleurotus ostreatus* cultivado en los sustratos enriquecidos con granza de avena.

Sustrato de cultivo <sup>a</sup>	Replica	FT ( $\bar{y}$ ) $\pm$ Desv. estándar <sup>b</sup>
T2	1	0,4086 $\pm$ 6,738E-04
	2	0,4052 $\pm$ 3,730E-03
	3	0,4114 $\pm$ 1,794E-03
	4	0,4197 $\pm$ 2,732E-03
T4	1	0,5127 $\pm$ 2,978E-03
	2	0,5204 $\pm$ 5,892E-03
	3	0,5122 $\pm$ 6,197E-03
	4	0,5214 $\pm$ 7,728E-03
T6	1	0,5839 $\pm$ 2,034E-03
	2	0,5939 $\pm$ 6,101E-03
	3	0,5915 $\pm$ 2,687E-03
	4	0,6032 $\pm$ 3,712E-03

a. pulpa de Café con granza de avena (T2), bagazo de Fique con granza avena (T4), Raquis de palma con granza de avena (T6); b. contenido de fenoles totales (FT) expresada en mg AG/g Base Seca de Cuerpo Fructífero de *P. Ostreatus* con la respectiva desviación entandar.

Fuente: esta investigación

Tabla 14. Comparación del contenido de FT de los cuerpos fructíferos cultivados en los sustratos enriquecidos y los no enriquecidos (Estadístico: *Prueba-t*)

Sustrato <sup>a</sup>	FT <sup>b</sup>		Prueba-t Valor -P
	No enriquecido	Enriquecido	
Pulpa de café	0,5507	0,4412	1,47535E-7
Bagazo de fique	0,5114	0,5167	0,162209
Raquis de palma	0,8650	0,5931	2,21573E-8

<sup>a</sup> sustrato de cultivo de los cuerpos fructíferos, <sup>b</sup> mg AG/g base seca de cuerpo fructífero de *P. ostreatus*. Fuente: esta investigación

En las propiedades biológicas en las setas comestibles puede influir una gran variedad de factores como las condiciones de cultivo, el tipo de cepa,<sup>239</sup> sustrato de cultivo<sup>240</sup> entre otras; las propiedades biológicas en el extracto pueden variar con factores como tipo de solvente, temperatura y tiempo durante la extracción.<sup>241</sup> En los resultados obtenidos en esta investigación se observa que el sustrato de cultivo influye significativamente en el contenido de FT del cuerpo fructífero de la seta *P. ostreatus*

<sup>239</sup> ALISPAHIĆ, Amra. Óp. cit., p. 67

<sup>240</sup> SINGH, Vinita. Óp. cit., p. 66

<sup>241</sup> YIM, Hip Seng. Óp. cit., p. 70

No hay estudios del contenido de FT y AAT de *Pleurotus ostreatus* cultivada en los sustratos de interés para esta investigación a excepción de la pulpa de café, que permitan hacer una comparación de los resultados obtenidos, sin embargo, los resultados permiten inferir la influencia que tiene el tipo sustrato de cultivo en el contenido de FT, corroborando lo expuesto por Singh y colaboradores<sup>242</sup> quienes determinaron que sustratos de cultivo como la paja de soya, paja de trigo y paja de garbanzo influye en el contenido de FT de *P. ostreatus*, además el hongo cultivado en paja de soya presenta el mejor contenido de fenoles toles, 6.24 mg GAE/g de extracto seco; seguido de la paja de trigo, 4.17 mg GAE/g de extracto seco y paja de garbanzo con un valor de 3.15 mg GAE/g de extracto seco, que comparados con los resultados obtenidos en esta investigación (Tabla 12) son mayores, el contenido de FT obtenido en la seta cultivada en granza de avena fue de 0,4206 mg AG/g de base seca y es 3,7494 mg AG/g menor que el contenido de FT en paja de trigo obtenido en los estudios realizados por Singh y colaboradores, siendo este sustrato semejante a la granza de avena, por tratarse de residuos de cereales. Por otro lado, en la Tabla 15, se muestran los resultados del contenido de celulosa, lignina y humedad en estudios realizados por Córdoba y Cultid<sup>243</sup> de los sustratos de cultivo de *P. ostreatus*, de donde se obtuvieron las setas para la determinación de contenido de FT y AAT en la presente investigación, el bagazo de fique y la pulpa de café tiene un mayor contenido de lignina y celulosa, no obstante, esto no les impide a los hongos formar cuerpos fructíferos con un contenido de fenoles de 0,5066 ±1,795E-03 para el hongo cultivado en bagazo de fique y de 0,5618 ± 5,904E-03mgGAE/g de base seca para las setas cultivadas en pulpa de café, siendo mayor que el contenido de FT en las setas cultivadas en la granza de avena (T7), que es el sustrato testigo para la determinación de la eficiencia biológica (EB).<sup>244</sup> El hongo *Pleurotus* tiene la capacidad de descomponer cualquier sustrato lignocelulósico, no obstante la lignina como sustrato único no es una fuente aprovechable para el crecimiento de los hongos, ya que este necesita de otros compuestos para obtener los nutrientes para su crecimiento y fructificación,<sup>245</sup> el hongo cultivado en el sustrato T7 (granza de avena) que tiene el menor contenido de lignina, presentó mayor eficiencia biológica 326,41 ± 19,29% en la cosecha 1 con respecto a los cultivos realizados en los 6 sustratos restantes, como lo muestran los resultados de Benavides y colaboradores<sup>246</sup> expuestos en la Tabla 6, opuesto a los

---

<sup>242</sup> SINGH, Vinita. Óp. cit., p. 66

<sup>243</sup> CÓRDOBA BOLAÑOS, Raquel Gabriela y CULTID CHAMORRO, German Ricardo. Estudio Comparativo de la Actividad Enzimática de Lacasa (lac), Lignina Peroxidasa (lip) y Manganese Peroxidasa (mnp) de „*Pleurotus Ostreatus*” Cultivado en Residuos Lignocelulósicos de Raquis de Palma de Aceite, Bagazo de Fique y Pulpa de Café. Trabajo de grado (Químico (a)). Trabajo de grado (Químico). Nariño-Colombia: Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Química, 2015. 118p

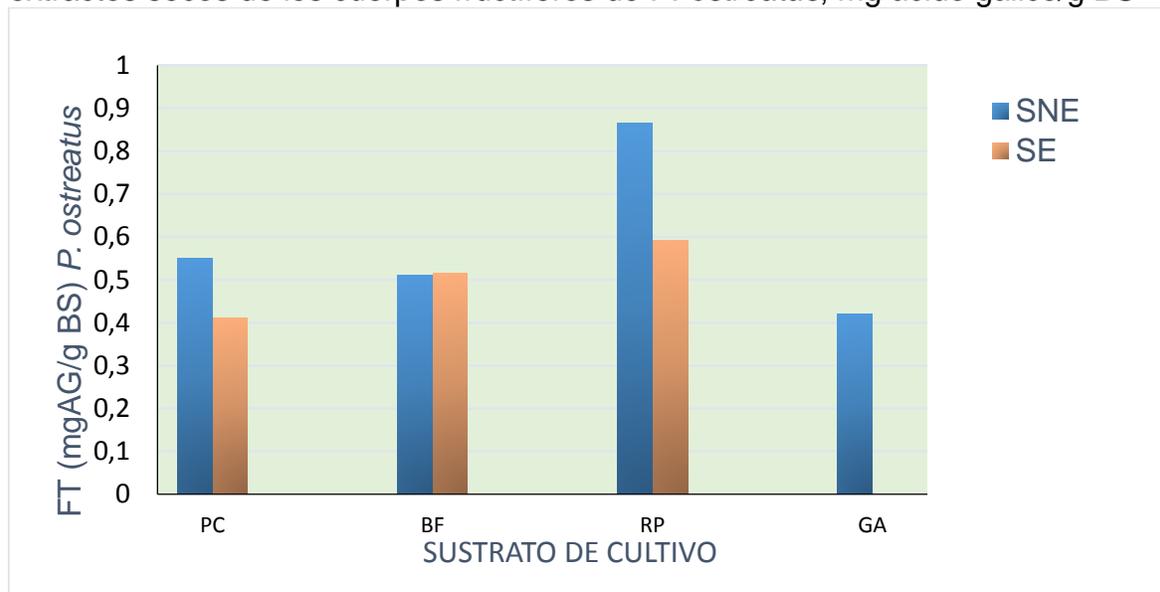
<sup>244</sup> BENAVIDES CALVACHE, Olga y colaboradores. Op. Cit., p. 73

<sup>245</sup> QUINTERO D., Juan C.; FEIJOO C., Gumersindo y LEMA R., Juan M. Producción De Enzimas Ligninolíticas Con Hongos Basidiomicetos Cultivados Sobre Materiales Lignocelulósicos. En: Vitae, revista de la facultad de química farmacéutica. Universidad de Antioquia, Medellín – Colombia, 2006, Vol. 13, No. 2, p. 61-67

<sup>246</sup> BENAVIDES CALVACHE, Olga y colaboradores. Op. Cit., p. 73

resultados de la presente investigación, el cultivo del hongo en la granza de avena se obtuvo el extracto con el menor contenido de FT, como se observa los resultados de la Gráfica 2.

Gráfica 2. Diagrama de barras para el contenido de fenoles totales (FT) en los extractos secos de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*, mg ácido gálico/g BS



SNE, sustrato de cultivo sin enriquecer; SE, sustrato de cultivo enriquecido; PC, pulpa de café; BF, bagazo de fique; RP, raquis de palma aceitera; GA, granza de avena.

Fuente: esta investigación

Los resultados de la Tabla 14, corresponden a la comparación de dos muestras independientes, contenido de FT del cuerpo fructífero de *P. ostreatus* cultivado en el sustrato sin enriquecer y el cultivado en el sustrato enriquecido. Se utilizó el estadístico *Prueba-t* para la comparación del contenido de FT del cuerpo fructífero cultivado en pulpa de café y pulpa de café con granza de avena es menor que 0,05 ( $1,47535E-7 < 0,05$ ), se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa, que establece que hay una diferencia significativa entre las medias de las dos muestras comparadas con nivel de confianza del 95%. El comportamiento es semejante en la comparación entre el raquis de palma, y el respectivo sustrato enriquecido ( $2,21573E-8 < 0,05$ ). Para el bagazo de fique, el *Valor-P* es mayor que 0,05 ( $0,162209 > 0,05$ ), lo que indica que no hay una diferencia estadísticamente significativa del contenido de FT del cuerpo fructífero del hongo cultivado en bagazo de fique sin enriquecer y del cultivado en el sustrato enriquecido con granza de avena. En los resultados se observa que el contenido de FT para los cuerpos fructíferos cultivados en pulpa de café y raquis de palma es mayor que el contenido

de FT de hongos cultivados en sustratos enriquecidos, infiriendo que el enriquecimiento de los sustratos no es favorable con respecto al contenido de FT del cuerpo fructífero de las setas.

Tabla 15. Contenido de humedad, lignina y celulosa de los sustratos en base seca utilizados para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*

<i>Sustratos no enriquecidos</i>				
<i>sustrato</i>	<i>código de sustrato</i>	<i>humedad g/100g</i>	<i>celulosa g/100g</i>	<i>lignina g/100g</i>
pulpa de café	T1	74,9	31,8	21,8
bagazo de fique	T3	37,3	44,5	15,7
raquis de palma	T5	56,3	19,5	10
granza de avena	T7	13,1	23,2	7,26
<i>Sustratos enriquecidos</i>				
Pulpa de café + granza de avena.	T2	55,5	16,9	29,5
Bagazo de fique + granza de avena.	T4	41,1	14	10,3
raquis de palma + granza de avena	T6	35,6	41,6	20,4

Fuente: Córdoba y Cultid, 2015<sup>247</sup>

El mayor contenido de FT se obtuvo en el cuerpo fructífero de la seta cultivada en raquis de palma,  $0,8650 \pm 1,187E-02$ mgAG/g base ( $\approx 86,50$  mgAG/100g) se acerca al reportado por Beltrán y colaboradores<sup>248</sup> quienes reportan un valor de 86,37 mg/100g base seca para el extracto etanólico en cuerpos fructíferos de *Pleurotus* cultivado en pulpa de café. En la literatura se reportan diferentes contenidos de FT para el cuerpo fructífero de *Pleurotus ostreatus*; de Oyetayo & Ariyo<sup>249</sup> cuyos resultados están entre 0.89  $\mu$ g/g y 2.63 $\mu$ g/g de base seca, son más bajos que los obtenidos en esta investigación, incluyendo el contenido de polifenoles en el cuerpo fructífero cultivado en granza de avena, con un promedio de  $0,4206 \pm 6,663E-03$ mgAG/g base seca. Se reportan contenidos de FT para extractos acuosos de cuerpo fructífero de *P. ostreatus* más altos que los obtenidos como por ejemplo el de Singh y colaboradores,<sup>250</sup> con un valor de  $119.9 \pm 3.1$  mg GAE/g, Juárez M.<sup>251</sup>

<sup>247</sup> CORDOBA y CULTID. Óp. Cit., p. 98

<sup>248</sup> BELTRÁN DELGADO, Yaixa. Óp. cit., p. 63

<sup>249</sup> OYETAYO, Victor. Óp. cit., p.68

<sup>250</sup> SINGH, Vinita. Óp. cit., p.66

<sup>251</sup> JUÁREZ LUNA, Miguel Ángel. Propiedades funcionales del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* y su relevancia en la alimentación regional. Trabajo de grado (Maestro en ciencias). Colegio De Postgraduados, Institución De Enseñanza E Investigación En Ciencias Agrícolas. Puebla-Puebla, 2012, 93p

con un contenido de  $277.74 \pm 2.22$  mg GAE/g y el reportado por Seng y colaboradores<sup>252</sup> que es de 798.55 mg GAE/100g tras realizar un tiempo de extracción de 330 min a 50°C *Pleurotus ostreatus*, entre otros reportes.<sup>253</sup>

#### 4.1.3 Análisis estadístico para el contenido de FT en los extractos secos del cuerpo fructífero del hongo *Pleurotus ostreatus*.

Los datos consignados en Anexo B, fueron sometidos al análisis con el fin de determinar si existe una diferencia estadística significativa del contenido de FT en los extractos de cuerpo fructífero, al cultivarlo en diferentes sustratos. El diseño estadístico que aplicó para el análisis de interés es de un solo factor, Ecuación 1; se utiliza ANOVA (análisis de varianza) para determinar estadísticamente si existe o no las diferencias. En el análisis de varianza se plantean dos hipótesis, la  $H_0$  que se denomina hipótesis nula, se la representa mediante la Ecuación 2, establece que no hay diferencias estadísticamente significativas en el contenido de FT en los extractos secos de *P. ostreatus* cultivado en los diferentes sustratos, al aceptar esta hipótesis se admitiría que el sustrato de cultivo no influye significativamente en el factor o variable determinada, que para efectos de la investigación es el contenido de fenoles totales.

La hipótesis alternativa,  $H_1$  definida con la Ecuación 3, establece que no todas las medias (contenido de FT) son iguales, que al menos en un extracto es diferente el contenido de FT. En caso de aceptar esta hipótesis se admite que el sustrato de cultivo si influye en el contenido de FT. Se fija un valor de  $\alpha$  del 0,05, para una probabilidad del 5% de cometer el error de tipo I que hace referencia a rechazar la hipótesis nula cuando esta es verdadera. Si el *valor- P* obtenido en la tabla de ANOVA es menor o igual que 0,05 se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa. Para aplicar ANOVA a los resultados deben cumplir unas condiciones o atributos.

##### 4.1.3.1 Atributos de análisis de varianza (ANOVA) de un factor para contenido de FT.

El diagnóstico de modelo confirma si es razonable asumir la conclusión que da el ANOVA, para lo cual los residuos de los datos deben cumplir unas condiciones o atributos que son una distribución normal, la homocedasticidad y la independencia.<sup>254</sup>

---

<sup>252</sup> YIM, Hip Seng. Óp. cit., p. 70

<sup>253</sup> KORLEY KORTEI, Nii. Óp. cit., p. 69

<sup>254</sup> MONTGOMERY, Douglas C. Óp. cit., p. 63

- Normalidad: los residuos se ajustan a la distribución normal según la Gráfica 3a. Para corroborar se aplica dos pruebas estadísticas, se muestra en la Tabla 16; en el estadístico de W de Shapiro-Wilk, que se basa en la comparación de los cuartiles de la distribución normal ajustada a los datos, se obtiene un *Valor-P* de  $0,794976 > 0,05$ , comprobando que los datos de contenido de FT proviene de una distribución normal con 95% de confianza; también se aplica la prueba de bondad y ajuste de Kolmogorov-Smirnov, obteniendo un *Valor-P* de  $0,871823$  que es  $> 0,05$ .
- Homocedasticidad: Se aplicó dos estadísticos de prueba para determinar si los datos eran homocedásticos;<sup>255</sup> el *Valor-P*, tanto en el estadístico de Bartlett como en el de Levene's es mayor que  $0,05$ , como se presenta en la Tabla 16, indicando que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las varianzas, con un nivel del 95,0% de confianza. En el Gráfica 3b, se observa que los datos no tiene una tendencia sistemática (o en forma de embudo) ratificando la homocedasticidad de los residuos.
- Independencia de los residuos: el Gráfica 3c, corresponde a los residuos en función del número de fila, no se observa una tendencia sistemática (o en forma de embudo), lo que permite deducir que no hay una propagación de los errores e indica la independencia de los residuos.<sup>256</sup>

Tabla 16. Pruebas estadísticas de normalidad y homocedasticidad para aplicar ANOVA, para FT.

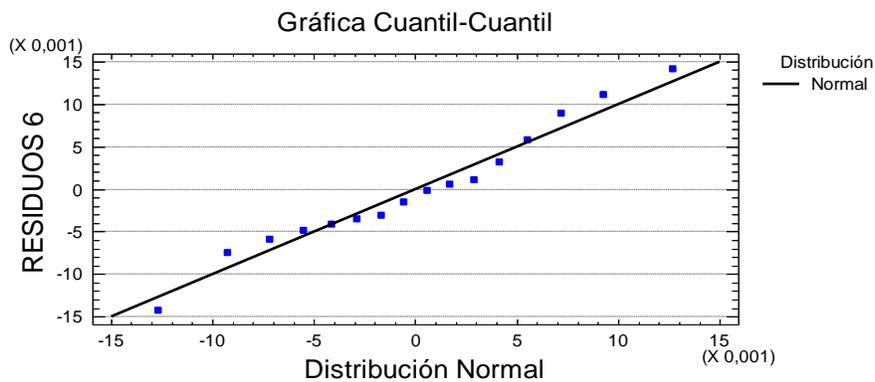
<i>supuesto</i>	<i>Estadístico</i>	<i>Estadístico</i>	<i>Valor-P</i>
Normalidad	W de Shapiro-Wilk	0,977218	0,794976
	Kolmogorov-Smirnov		0,871823
Homocedasticidad	de Bartlett	1,21574	0,725234
	Levene's	0,649747	0,689961

Fuente: esta investigación

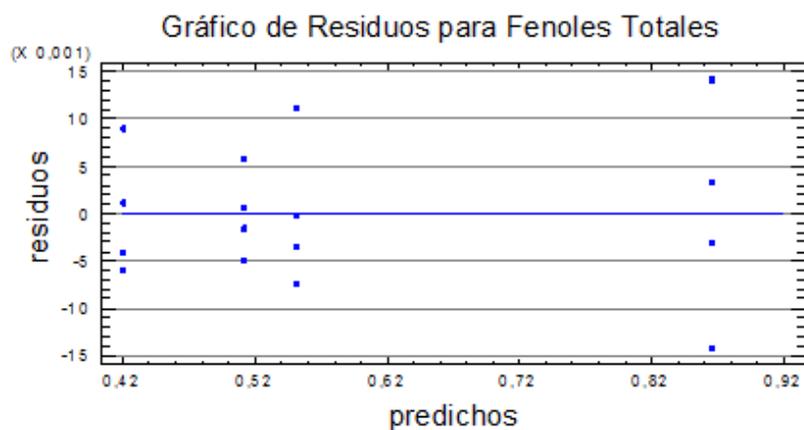
<sup>255</sup> *Ibíd.*, p. 540

<sup>256</sup> *Ibíd.*, p. 543

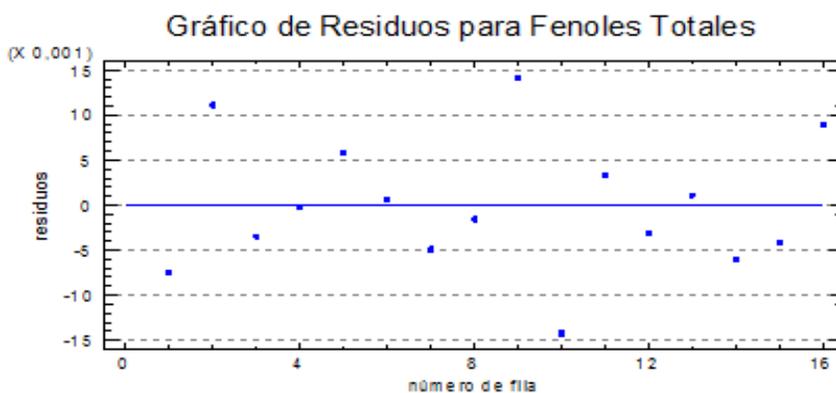
Gráfica 3. Comportamiento de los residuos contenido de FT: atributos de ANOVA para un factor.



a



b



c

Fuente: esta investigación

Efectuado los atributos del diseño, se utiliza ANOVA que es una prueba paramétrica para el análisis estadísticos de los datos.

4.1.3.2 ANOVA para la determinación del contenido de FT en los extractos de cuerpo fructíferos de *P. ostreatus*

Se utilizó el paquete estadístico de STATGRAPHICS centurión XV, para realizar el ANOVA, en la Tabla 17, se observa un resumen estadístico arrojado por el programa

Tabla 17. Resumen Estadístico para contenido de fenoles totales (FT) de *P. ostreatus* desarrollado en sustratos sin enriquecer.

Sustrato <sup>a</sup>	Recuento	Promedio <sup>b</sup>	Mediana	Varianza	Desviación estándar	Coefficiente de variación
T1	4	0,5507	0,5489	6,33E-05	7,958E-03	1,44%
T3	4	0,5114	0,5110	1,98E-05	4,444E-03	0,87%
T5	4	0,8650	0,8651	1,41E-04	1,187E-02	1,37%
T7	4	0,4206	0,4191	4,44E-05	6,663E-03	1,58%

<sup>a</sup> T1 (Pulpa de café), T3 (Bagazo de fique), T3 (Raquis de palma), T7 (Granza de avena). <sup>b</sup> hace referencia al contenido de FT expresado en mgAG por g de base seca de cuerpo fructífero (Statgraphic centurión XV).

Fuente: esta investigación

El coeficiente de variación (%CV) que corresponden a los datos mostrados en la columna 7 de la Tabla 17 es menor al 2%, que es el referenciado para determinaciones espectrofotométricas.

Tabla 18. ANOVA para contenido de FT (mg AG/g base seca de cuerpo fructífero) de *Pleurotus ostreatus* por sustrato de cultivo sin enriquecer.

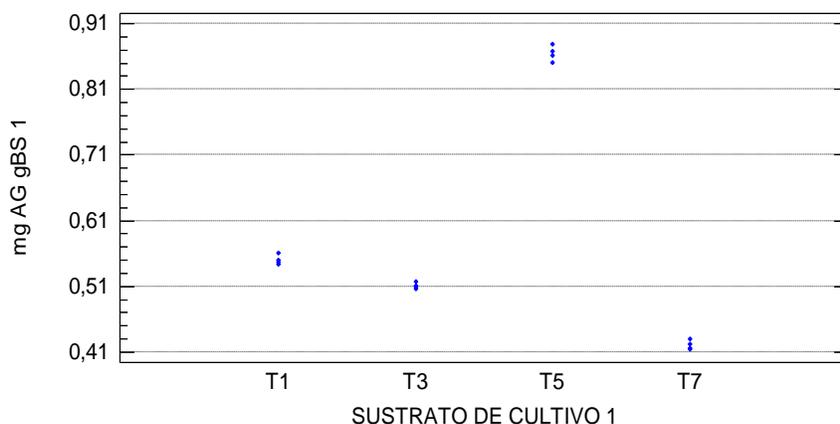
Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0,447966	3	0,149322	2225,82	0,0000
Intra. grupos	0,000805037	12	0,0000670865		
Total (Corr.)	0,448771	15			

Fuente: esta investigación

La razón-F, obtenido en la Tabla 18 es igual a 2225,82 es suficientemente grande, el Valor-P es menor que 0,05, por tanto se rechaza  $H_0$  (hipótesis nula) y se acepta  $H_1$  (hipótesis alternativa) y se admite que al menos una media es distinta ( $\mu_1 \neq \dots \neq \mu_i$ ), existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de mg

AG/g BS entre un nivel de sustrato de cultivo y otro, con un nivel del 95,0% de confianza.

Gráfica 4. Comportamiento de los resultados para el contenido de FT de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* cultivado en los sustratos sin enriquecer, Dispersión por código de nivel.



Fuente: esta investigación.

Para determinar la diferencia significativa entre los niveles (sustrato de cultivo), se realizó las pruebas estadísticas: Pruebas de Múltiple Rangos-95,0 porcentaje Tukey HSD y el estadístico de Kruskal-Wallis, que es una prueba no paramétrica (los residuos no tienen que cumplir el supuesto de normalidad).

Tabla 19. Pruebas de Múltiple Rangos para mg AG/g base seca por sustrato de cultivo no enriquecido (Método: 95,0 porcentajes Tukey HSD).

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos			
T7	4	0,4206	x			
T3	4	0,5114		x		
T1	4	0,5507			x	
T5	4	0,8650				x

Fuente: esta investigación

Los resultados expuestos en la Tabla 19 corroboran la aceptación de la  $H_1$ , expresa que existen diferencias estadísticamente significativas entre los niveles (sustrato de cultivo), ningún nivel comparte (alineación) columna en grupos homogéneos. El contraste de medias, estadístico de Tukey HSD para contenido de FT en cuerpo fructífero por sustrato de cultivo (Tabla 20), en donde el asterisco que se encuentra en la columna 2, muestra que los contrastes realizados tienen diferencias

estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza, como se aprecia en la Gráfica 5.

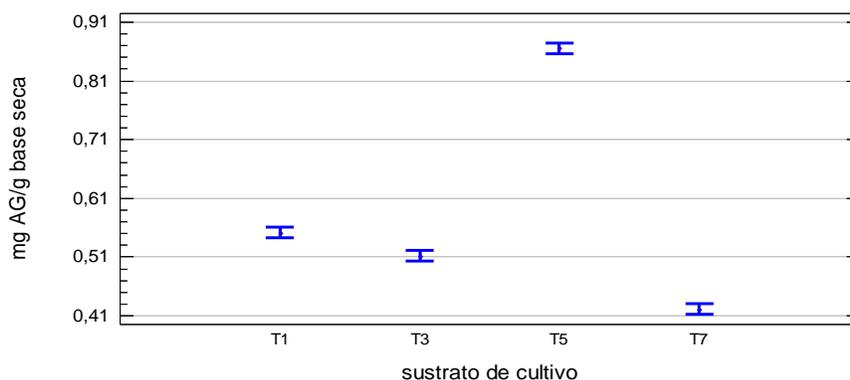
Tabla 20. Contraste de medias estadístico de Tukey HSD para contenido de FT por sustrato de cultivo

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
T1 – T3	*	0,0393	0,01725
T1 – T7	*	0,1301	0,01725
T1 – T5	*	-0,3143	0,01725
T3 – T7	*	0,0908	0,01725
T3 – T5	*	-0,3536	0,01725
T7 – T5	*	-0,4444	0,01725

\* indica una diferencia significativa.

Fuente: esta investigación

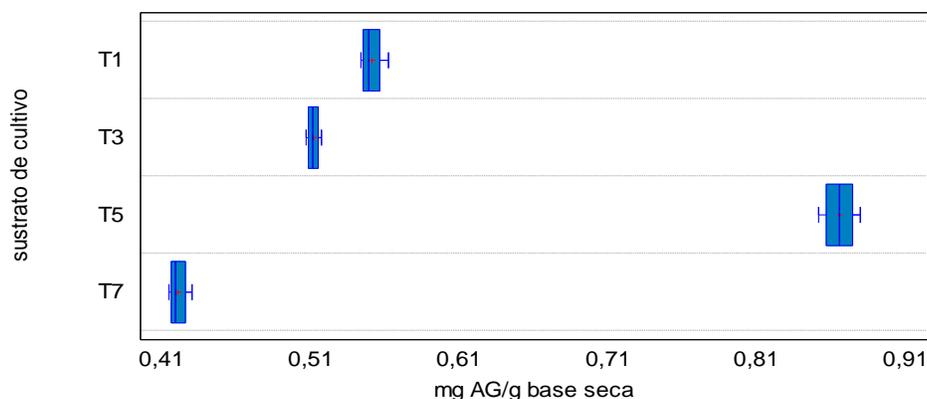
Gráfica 5. Contraste de medias, estadístico de Tukey HSD 95,0%, para contenido de FT de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* cultivado en los sustratos sin enriquecer.



Fuente: esta investigación

El *Valor-P* para la prueba de Kruskal-Wallis es menor que 0,05 ( $0,05 > 0,0027492$ ), por tanto se acepta la hipótesis que las medianas del contenido de FT dentro de cada uno de los 4 niveles (sustrato de cultivo) son diferentes. En la Gráfica 6, se observa que el contenido de fenoles es diferente en cada nivel (sustrato de cultivo); en orden descendente el sustrato T5 genera en el hongo *P. ostreatus* el mayor contenido de fenoles, seguido del sustrato  $T1 > T3 > T7$ . Lo anterior se evidencia en el Gráfica 6 en donde se observa que no hay un traslape para ningún nivel (sustrato).

Gráfica 6. Diagrama Caja y Bigotes para contenido de FT de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* cultivado en sustratos sin enriquecer, mgAG/g base seca por nivel (sustrato).



Fuente: esta investigación

#### 4.1.3.3 Determinación del tamaño de la muestra: potencia de la prueba

En la Tabla 21 se dan los resultados para la prueba de potencia, que determina cuantas réplicas son necesarias para aceptar los resultados de ANOVA.

Tabla 21. Potencia de la prueba para determinar el número de réplicas para análisis contenido de FT

$n^a$	$\phi^2$	$\phi^b$	$N_i(N-1)$	$\beta^c$	Potencia $(1-\beta)$
1	1,86	1,364	0	No opera	-
2	3,72	1,929	7	0,2	0,8
3	5,58	2,362	14	0,06	0,94
4	7,44	2,728	21	0,026	0,976
5	9,30	3,050	28	No opera	-
6	11,16	3,341	35	No opera	-

En donde:  $n$  corresponde al número de réplicas;  $\phi$ , Parámetro de no centralidad;  $\tau_i$ , Efectos de los tratamientos;  $n_i$ , número de réplicas por tratamiento;  $\beta$ , probabilidad de aceptar la hipótesis error tipo II.

Fuente: esta investigación.

El valor para  $\beta$  es obtenido a partir de las curvas de operación característica de potencia de Montgomery & Runger<sup>257</sup> para  $\nu_1=3$  y  $\nu_2=15$  y  $\phi$  ( $\alpha=0,05$ ), mediante extrapolación del valor  $\phi$  que fueron calculados a partir de la Ecuación 4, los resultados expuestos en la columna 3 de la Tabla 21. La columna 6 de la Tabla 21,

<sup>257</sup> MONTGOMERY, Douglas. Óp. cit., p. 63

dan el valor de la potencia de la prueba, con dos réplicas se tiene que  $1-\beta= 0,80$ , por tanto la potencia de la prueba es del 80%, para tres réplicas  $1-\beta= 0,94$ , y para cuatro réplicas  $1-\beta= 0,98$  la potencia de la prueba es del 98%. Este último valor es el que corresponde para esta investigación, debido a que se realizó cuatro replicas. Verificando la potencialidad de la prueba o del análisis realizado se tiene una confiabilidad del 98%.

## 4.2 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL-AAT

El método TEAC o también conocido como ABTS, es ampliamente utilizado en la determinación de la actividad antioxidante de diferentes extractos en diversas especies y géneros.<sup>258</sup> Para aplicar el método mencionado se utilizó como estándar el Trolox y el ácido ascórbico como patrón de referencia.

### 4.2.1 Recta de calibración con Trolox

La longitud de onda adecuada para el método espectrofotométrico se obtuvo de reportes hechos por Yim *y colaboradores*,<sup>259</sup> estudios donde ha sido determinada mediante un barrido de la región ultravioleta y visible (UV-VIS) en rango de señal 190-900nm se evidencia la formación del catión radical ABTS<sup>•+</sup> a través de sus máximas absorciones a longitudes de onda de 645, 734 y 815nm como lo reporta Re *y colaboradores*<sup>260 261</sup>

En la Tabla 22 se muestra los resultados promedio de las absorbancias de los obtenidos a partir del Anexo C, para la construcción de la recta de calibración, para lo cual se realizó la lectura de la absorbancias resultantes de la reacción de 7 soluciones de diferentes concentraciones de Trolox con el catión radical ABTS<sup>•+</sup>. Cada punto de la recta se calculó por triplicado. De los datos de la Tabla 22, resultó la Gráfica 7, que obedece a la Ecuación 8, utilizada para el cálculo la actividad antioxidante total (AAT) en los diferentes extractos de *P. ostreatus*. La inhibición del catión-radical ABTS por parte del Trolox, decoloró la solución de ABT<sup>•+</sup>.

---

<sup>258</sup> RUIZ RODRIGUEZ, Alejandro. Óp. cit., p. 57

<sup>259</sup> YIM, Hip Seng; *et. al.* Antioxidant Activities and Total Phenolic Content of Aqueous Extract of *Pleurotus ostreatus* (Cultivated Oyster Mushroom). En: Malaysian journal of nutrition. August, 2010. Vol. 16, No. 2, p. 281-291.

<sup>260</sup> MEJÍA HERNADEZ, Cristina. Extracción, fraccionamiento y valoración de la actividad Antioxidante *in vitro* del aceite esencial de pulpa de *Carica candamarcensis*. Trabajo de grado (Química). Nariño: Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Química, 2012, p.57

<sup>261</sup> RE, Roberta. Óp. cit., p. 61

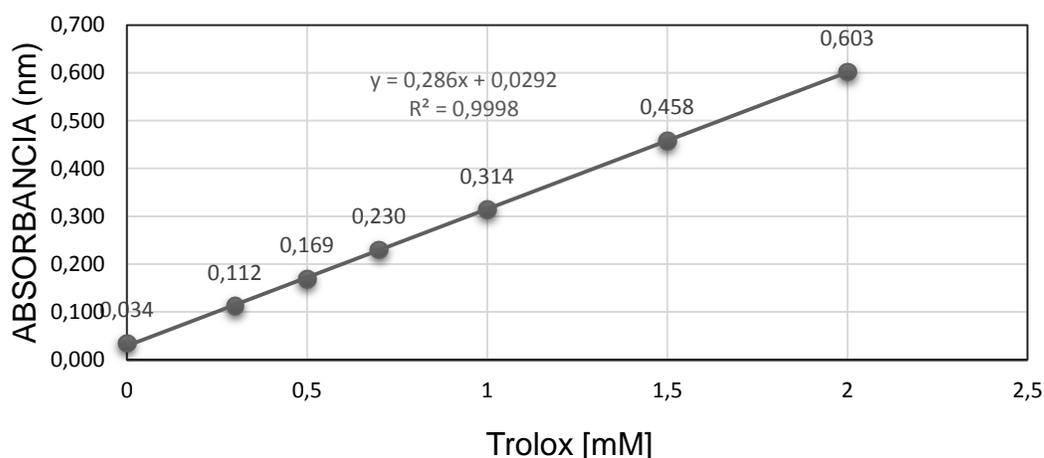
Tabla 22. Absorbancias Promedio de las soluciones de ABTS<sup>•+</sup> con diferentes concentraciones de Trolox.

[ ] Trolox (mM)	A Promedio <sup>a</sup>	S <sup>b</sup>	% CV <sup>c</sup>	IC 95% <sup>d</sup>
0,0	0,034	0,000509	1,493	0,0337-0,0345
0,3	0,112	0,001836	1,642	0,1104-0,1132
0,5	0,169	0,000882	0,522	0,1683-0,1697
0,7	0,230	0,000882	0,383	0,2293-0,2307
1,0	0,314	0,003421	1,089	0,3115-0,3167
1,5	0,458	0,003480	0,759	0,4557-0,4610
2,0	0,603	0,002546	0,422	0,6008-0,6047

<sup>a</sup> absorbancia promedio de las tres replicas <sup>b</sup> desviación estándar <sup>c</sup> porcentaje coeficiente de variación <sup>d</sup> intervalos de confianza.

Fuente: esta investigación

Gráfica 7. Recta de calibración promedio para AAT método ABTS, estándar Trolox (734nm)



Fuente: esta investigación

La ecuación correspondiente a la gráfica es:

$$\text{Absorbancia (nm)}_{734nm} = 0,0292166 + 0,28597 * [\text{mM}] \text{Trolox} \quad \text{Ecuación 8}$$

Los parámetros determinados para concluir la validez y la confiabilidad de la curva se indican en la Tabla 23. Obtenidos a partir del método mínimos cuadrados de los datos consignados en la Tabla 22. Los cuales muestran que la recta de calibrado es apta para ser utilizada en la determinación de la actividad antioxidante total (AAT)

Tabla 23. Parámetros estadísticos de la recta de calibrado, absorbancia vs concentración Trolox

<i>Parámetro</i>	<i>Estimado</i>
Intercepto	0,029037 ± 0,00192799
Pendiente	0,286124 ± 0,00179452
Error estándar	0,00307546
Coefficiente de Correlación (r)	0,999902
Coefficiente de determinación (r <sup>2</sup> )	0, 999803
Estadístico Durbin-Watson	1,77058 (P=0,1771)

Fuente: esta investigación

- Precisión: en la Tabla 22, se consignan los datos correspondientes al porcentaje del coeficiente de variación (%CV), determinado con la Ecuación 5, el cual es menor que el 2%, el intervalo de confianza (IC-95%) determinado con la Ecuación 6 indica que los resultados obtenidos para la recta de calibración son aceptables para la técnica de análisis, con un nivel de confianza del 95%.
- Linealidad y rango: la Gráfica 7, responde a la Ecuación 8, con un coeficiente de correlación (r) de 0,999847 y un coeficiente de determinación (r<sup>2</sup>) de 0,999694, se evidencia un alto grado de correlación entre los datos de absorbancia y las diferentes concentraciones de las soluciones, comprendida en un intervalo entre 0 y 2mM de Trolox. Con una pendiente de 0,28597 se observa una buena linealidad.
- Exactitud: los resultados de la Tabla 24, indican que el porcentaje de error relativo está en un rango entre 96,27-100,34%, mostrando que el método es aceptable.

Tabla 24. Cálculo del porcentaje de error relativo (%ER), recta de calibración para AAT, método ABTS<sup>++</sup>

[ ] T.(mM) <sup>a</sup>	A $\bar{Y}$ <sup>b</sup>	[ ] E. $\bar{Y}$ <sup>c</sup>	% ER. <sup>d</sup>
0	0,034	0,02	-
0,3	0,112	0,29	96,27
0,5	0,169	0,49	97,84
0,7	0,230	0,70	100,34
1	0,314	1,00	99,64
1,5	0,458	1,50	100,03
2	0,603	2,00	100,25

a, concentración teórica Trolox (mM); b, Absorbancia promedio; c, Concentración experimental promedio; d, % Error Relativo.

Fuente: esta investigación

El *valor-P* del estadístico de Durbin-Watson es mayor que 0,05 ( $0,1771 > 0,05$ ), lo que determina que los residuos son independientes, por tanto no hay propagación sistemática de los errores, con un nivel de confianza del 95%. Finalmente la recta de calibración obtenida con Trolox es confiable para la determinación de la AAT en los extractos de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*, cultivado en los siete sustratos.

#### 4.2.2 Actividad antioxidante total (AAT) del extracto seco de *Pleurotus ostreatus*.

Se evaluó en el cuerpo fructífero de *P. ostreatus* la actividad antioxidante mediante la inhibición del radical ABTS<sup>+</sup>. El TEAC (actividad antioxidante equivalente en Trolox) se utiliza para expresar la actividad de sustancias; se realizó el TEAC para el ácido ascórbico que es la sustancia de control, los resultados se muestran en la Tabla 27. Debido a que en los extractos analizados no se determina la actividad antioxidante a una sustancia específica, sino a una mezcla de sustancias, la actividad antioxidante es expresada como actividad antioxidante total (AAT) expresada en mmolTrolox por cada 100g de extracto en base seca.

Tabla 25. Actividad antioxidante total (AAT) del extracto seco del cuerpo fructífero de *P. ostreatus* cultivado en sustratos sin enriquecer.

<i>Sustrato de cultivo</i> <sup>a</sup>	<i>Réplica</i> <sup>b</sup>	<i>AAT</i> <sup>c</sup>
T1	1	0,144 ± 2,00E-03
	2	0,147 ± 2,00E-03
	3	0,146 ± 1,53E-03
	4	0,145 ± 1,53E-03
T3	1	0,121 ± 2,08E-03
	2	0,120 ± 1,53E-03
	3	0,122 ± 1,15E-03
	4	0,121 ± 1,53E-03
T5	1	0,213 ± 2,31E-03
	2	0,209 ± 3,46E-03
	3	0,215 ± 3,00E-03
	4	0,209 ± 2,65E-03
T7	1	0,082 ± 1,00E-03
	2	0,081 ± 1,53E-03
	3	0,084 ± 1,00E-03
	4	0,084 ± 1,53E-03

a, T1, pulpa de café; T3, bagazo de fique; T5 raquis de palma; T7, granza de avena; b replica de cultivo; c, AAT, mmolTrolox/100g de base seca de cuerpo fructífero de *P. ostreatus* ± desviación estándar.

Fuente: esta investigación.

El uso de los antioxidantes sintéticos como el BHA, TBHQ, entre otros ha sido regulado y en muchos países restringido, debido a los problemas de salud que causan,<sup>262</sup> por lo que se ha dirigido el curso de las investigaciones, en la búsqueda e identificación de compuestos naturales con actividad antioxidante, encontrando dentro de las especies investigadas hongos comestibles como *Agaricus bisporus* (champiñón), *Lentinula edodes* (shiitake), *Tuber magnatum* (trufas blancas) y el *Pleurotus ostreatus* (gárgola o champiñón ostra).

Tabla 26. AAT de los extractos de cuerpo fructífero *P. ostreatus* cultivados en sustratos enriquecidos con granza de avena

<i>Sustrato de cultivo</i> <sup>a</sup>	<i>Replica</i>	<i>AAT (ȳ) ± Des. Estándar</i> <sup>b</sup>
T2	1	0,072 ± 1,00E-03
	2	0,074 ± 1,00E-03
	3	0,072 ± 1,00E-03
	4	0,074 ± 1,15E-03
T4	1	0,102 ± 1,53E-03
	2	0,102 ± 2,08E-03
	3	0,101 ± 2,00E-03
	4	0,101 ± 2,08E-03
T6	1	0,115 ± 1,00E-03
	2	0,117 ± 1,53E-03
	3	0,117 ± 1,00E-03
	4	0,118 ± 1,53E-03

<sup>a</sup> pulpa de Café con granza de avena (T2), bagazo de Fique con granza avena (T4), Raquis de palma con granza de avena (T6) <sup>b</sup> AAT: mmolTrolox/100gBS cuerpo. Fruc. *P. ostreatus*

Fuente: esta investigación

Los resultados expresados en la Tabla 27 son el promedio de los resultados consignados en la Tabla 25, el cuerpo fructífero del hongo cultivado en el raquis de palma (T5) presentó una mayor AAT, con un valor entre 0,209 ± 3,46E-03 y 0,215 ± 3,00E-03 mmolTrolox/100g de base seca de cuerpo fructífero, seguido del cultivado en pulpa de café (T1) con una AAT que oscila entre 0,144 ± 2,00E-03 y 0,147 ± 2,00E-03 mmolTrolox/100g de base seca, posteriormente en bagazo de fique (T3) con un valor entre 0,120 ± 1,53E-03 y 0,122 ± 1,15E-03 mmolTrolox/100g de base seca, finalmente en el sustrato testigo que corresponde a la granza de avena (T7) con 0,081 ± 1,53E-03 y 0,081 ± 1,53E-03 mmolTrolox/100g de base seca. La AAT y el contenido de FT en los extractos de los cuerpos fructíferos analizados tienen igual comportamiento, el extracto del cuerpo fructífero cultivado en raquis de palma presentó el que mayor contenido de polifenoles y AAT.

<sup>262</sup> HIROSE, Masao y colaboradores. Combined effects of butylated hydroxyanisole and other antioxidants in induction of forestomach lesions in rats. En: Cancer letters. 1986. Vol. 30, No. 2, p. 169-174.

No hay referencias que permitan hacer una comparación de los resultados obtenidos en cuerpos fructíferos de hongos *Pleurotus ostreatus* con respecto a la capacidad antioxidante. Estudios de González y colaboradores <sup>263</sup> reportan el porcentaje de inhibición del catión-radical ABTS<sup>•+</sup>, en extractos metanólicos y acuosos del cuerpo fructífero seco y fresco de *P. ostreatus*, utilizando como estándar ácido gálico y como compuesto de referencia el ácido ascórbico para quien el TEAC está reportado (Tabla 27).

Tabla 27. TEAC experimental, reportado y AAT de las setas estudiadas

Sustancia	TEAC <sup>a</sup>		AAT <sup>b</sup>
	Experimental <sup>a</sup>	Reportado <sup>a</sup>	
Ácido ascórbico	0,961 ± 0,036	0,99(Re,1999)	5457 ± 207
T1	SR	SR	1,45 ± 0,013
T3	SR	SR	1,21 ± 0,010
T5	SR	SR	2,13 ± 0,021
T7	SR	SR	0,83 ± 0,014

<sup>a</sup>TEAC: mmol Trolox/mmol sustancia, AAT<sup>b</sup>: mmol Trolox/Kg sustancia; SR, sin referencia

Fuente: esta investigación

En la Tabla 28, se reportan los resultados de la AAT de los extractos de cuerpo fructífero de las setas cultivadas en los sustratos enriquecidos con el sustrato testigo, que es la granza de avena. La AAT se ve disminuida cuando la seta es cultivada en el sustrato enriquecido con respecto al sustrato sin enriquecer, en especial para el cuerpo fructífero cultivado en pulpa de café y raquis de palma. Se aplica la *Prueba-t*, resultados que se muestran en la Tabla 28 para corroborar la influencia del enriquecimiento de los sustratos con granza de avena en la AAT de las setas *P. ostreatus* (Gráfica 8).

Tabla 28. Comparación de la AAT de los cuerpos fructíferos cultivados en los sustratos enriquecidos y los no enriquecidos. (Estadístico: prueba-t)

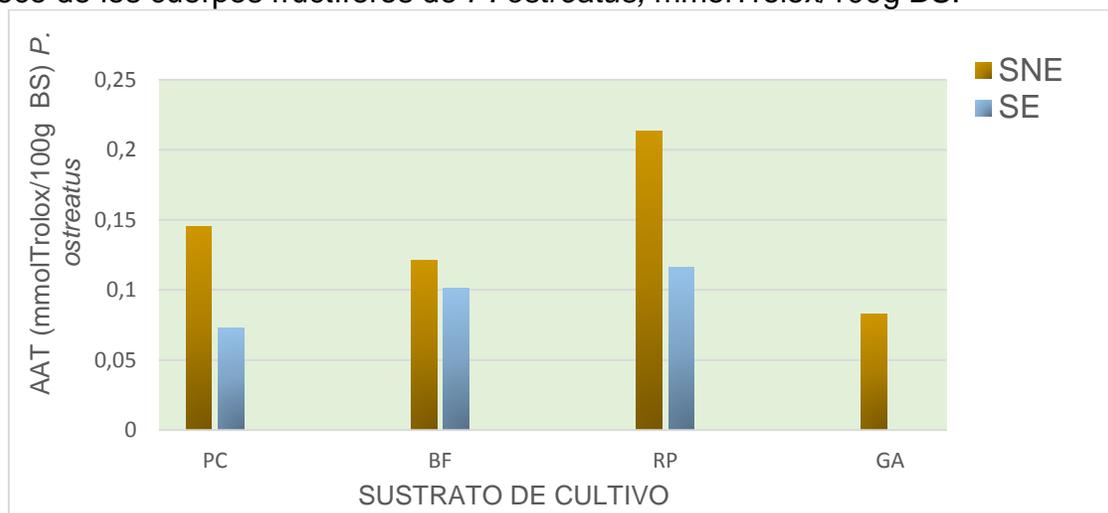
Sustrato <sup>a</sup>	AAT <sup>b</sup>		Prueba-t Valor -P
	Enriquecido	Enriquecido	
Pulpa de café	0,145	0,0730	1,852E-10
Bagazo de fique	0,121	0,1015	1,899E-08
Raquis de palma	0,211	0,1176	1,720E-09

<sup>a</sup> sustrato de cultivo de los cuerpos fructíferos, <sup>b</sup> mmolTrolox/100g base seca de cuerpo fructífero de *P. ostreatus*.

Fuente: esta investigación

<sup>263</sup> GONZÁLEZ PALMA, Ivette. Óp. cit., p.26

Gráfica 8. Diagrama de barras para la actividad antioxidante total (AAT) del extracto seco de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*, mmolTrolox/100g BS.



SNE, sustrato de cultivo sin enriquecer; SE, sustrato de cultivo enriquecido; PC, pulpa de café; BF, bagazo de fique; RP, raquis de palma aceitera; GA, granza de avena. Fuente: esta investigación.

#### 4.2.3 Análisis estadístico para actividad antioxidante total (AAT) de los extractos del cuerpo fructífero de las setas *Pleurotus ostreatus*

ANOVA, parte del supuesto de que los datos provienen de una distribución normal; si la hipótesis de la distribución normal no se cumple la conclusión brindada por ANOVA, y demás pruebas paramétricas no serán confiables, por tanto, se debe asegurar que los datos a analizar provengan de una distribución normal; sean homocedásticos y que además los residuos sean independientes.

##### 4.2.3.1 Atributos de análisis de varianza (ANOVA) unifactorial para AAT.

- Normalidad: se aplica dos pruebas estadísticas, la de W de Shapiro-Wilk obteniéndose un *Valor-P* mayor que 0,05 ( $0,277285 > 0,05$ ); de igual manera el *Valor-P* del estadístico de Kolmogorov-Smirnov es mayor que 0,05 ( $0,927452 > 0,05$ ), con un nivel de confianza del 95%, resultados expuestos en la Tabla 29. Pruebas estadísticas de normalidad y homocedasticidad para aplicar ANOVA, para AAT. Tabla 29. Se corrobora que los residuos correspondientes a los datos de AAT en los extractos de los cuerpos fructíferos se ajustan a una distribución normal. en la Gráfica 9(a) se muestra el ajuste de los residuos a una distribución normal.

- Homocedasticidad: se aplicó dos estadísticos de prueba para determinar si los datos eran homocedásticos, los resultados se observan en la Tabla 29, en donde se observan los resultados del estadístico de Bartlett y el de Levene's; para las dos pruebas el *Valor- P* obtenido  $> 0,05$ . Por tanto, los datos a los cuales se les va a realizar el ANOVA son homocedásticos con un nivel de confianza del 95%; también se observa que en el Gráfico 9b, no hay una tendencia (o en forma de embudo) sistemática.

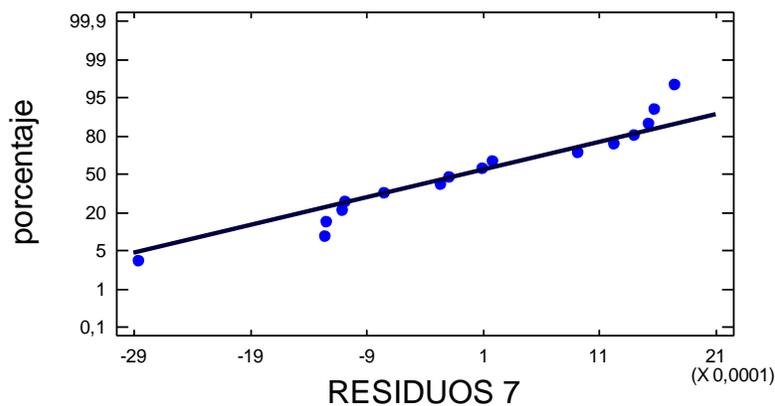
- Independencia de los residuos: es la tercera condición para aplicar ANOVA; para lo cual se analiza el gráfico de residuos en función del número de fila; la Gráfica 9c se observa que no hay una tendencia sistemática (o forma de embudo) corroborando lo expuesto de la independencia.

Tabla 29. Pruebas estadísticas de normalidad y homocedasticidad para aplicar ANOVA, para AAT.

<i>supuesto</i>	<i>Estadístico</i>	<i>Estadístico</i>	<i>Valor-P</i>
Normalidad	W de Shapiro-Wilk	0,933649	0,277285
	Kolmogorov-Smirnov		0,927452
Homocedasticidad	de Bartlett	1,15316	0,681918
	Levene's	0,772099	0,531566

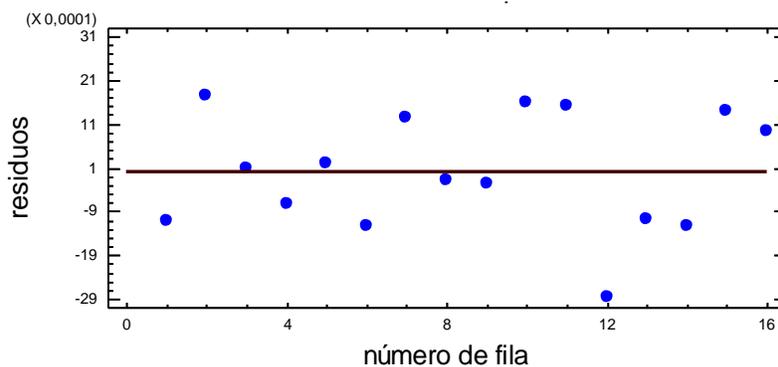
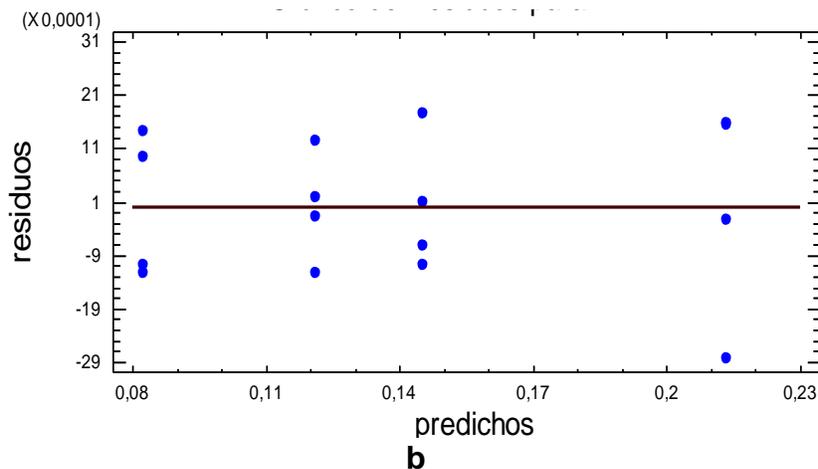
Fuente: esta investigación

Gráfica 9. comportamiento de los residuos para AAT –atributos de ANOVA unifactorial.



a

Gráfica 9. comportamiento de los residuos para AAT –atributos de ANOVA unifactorial



**c**

Fuente: esta investigación

Los resultados de análisis de los residuos indican que cumplen con las condiciones para aplicar una prueba paramétrica como lo es ANOVA, determinar si existen o no diferencias significativas en la AAT de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* en al menos un nivel (sustrato de cultivo).

#### 4.2.3.2 ANOVA para AAT del extracto de cuerpo fructífero de *P. ostreatus* cultivado en los sustratos sin enriquecer.

Se realizó el estadístico ANOVA para la AAT de los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* cultivado en los sustratos “sin enriquecer” que corresponden a la pulpa de café, bagazo de fique, raquis de palma y granza de avena, los resultados se muestran en la Tabla 31 correspondiente al resumen estadístico para AAT en extractos analizados, obtenidos a partir de los datos consignados en Anexo D.

Tabla 30. Resumen Estadístico para AAT

<i>Sustrato de cultivo</i> <sup>a</sup>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i> <sup>b</sup>	<i>Mediana</i>	<i>Varianza</i>	<i>Desviación Estándar</i>	<i>Coficiente de Variación</i>
T1	4	0,14547	0,145	1,610E-06	0,001269	0,87%
T3	4	0,12125	0,121	1,040E-06	0,001020	0,84%
T5	4	0,21360	0,214	4,322E-06	0,002079	0,97%
T7	4	0,08259	0,083	1,845E-06	0,001358	1,64%

<sup>a</sup> T1 (Pulpa de café), T3 (Bagazo de fique), T3 (Raquis de palma), T7 (Granza de avena).y <sup>b</sup> hace referencia a la AAT expresado en mmolTrolox por cada 100g de base seca de cuerpo fructífero (Statgraphic Centurión XV)

Fuente: esta investigación

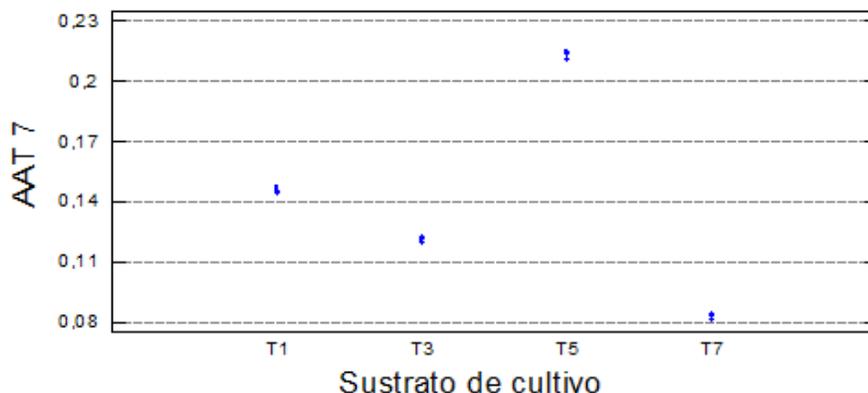
Tabla 31. ANOVA para AAT por Sustrato de cultivo

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,0363681	3	0,0121227	5499,99	0,0000
Intra grupos	0,0000264496	12	0,00000220413		
Total (Corr.)	0,0363945	15			

Fuente: esta investigación

El *Valor-P*, de la prueba-F en los resultados de la Tabla 31 (ANOVA) para AAT, es menor que 0,05, por tanto la AAT de los extractos de *P. ostreatus* en al menos un nivel (Sustrato de cultivo) y otro es diferente, con un nivel de confianza del 95,0%, corroborando lo anterior con la Gráfica 10 en donde se observa que la AAT en los extractos de *P. ostreatus* es diferente para cada sustrato de cultivo. Se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis para AAT por Sustrato de cultivo que es una prueba de comparación de medias, a diferencia del ANOVA no parte del supuesto de normalidad para aceptar las conclusiones. El *Valor-P* del estadístico es menor que 0,05 (Estadístico = 14,1176, *Valor-P* = 0,0027492), por tanto de confirma que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas para AAT en los diferentes niveles (sustratos) con un nivel del 95,0% de confianza.

Gráfica 10. Comportamiento de los resultados para AAT de los extractos de cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* cultivado en los sustratos sin enriquecer, Dispersión por código de nivel.



Fuente: esta investigación

En la Tabla 32 se dan los resultados de Pruebas de Múltiple Rangos para AAT de extracto de *P. ostreatus* por Sustrato de cultivo (Método: 95,0% Tukey HSD), prueba estadística que determina que existen diferencias estadísticamente significativas entre todos los niveles (sustratos), ya que ninguno comparte la columna x's en grupos homogéneos.

Tabla 32. Pruebas de Múltiple Rangos para AAT de extracto por Sustrato de cultivo (Método: 95,0% Tukey HSD)

Nive l	Casos	Media	Grupos Homogéneos			
T7	4	0,0825875	x			
T3	4	0,121245		x		
T1	4	0,145473			x	
T5	4	0,213595				x

Fuente: esta investigación.

El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0. Con el contraste de medias, resultados de la Tabla 33 y la Gráfica 11, se corrobora que la AAT de los extractos del cuerpo fructífero de *P. ostreatus* son estadísticamente diferentes en todos los niveles (sustrato de cultivo), en donde se realizó los contrastes.

Tabla 33. Contraste de medias estadístico de Tukey HSD para AAT de extracto por sustrato de cultivo

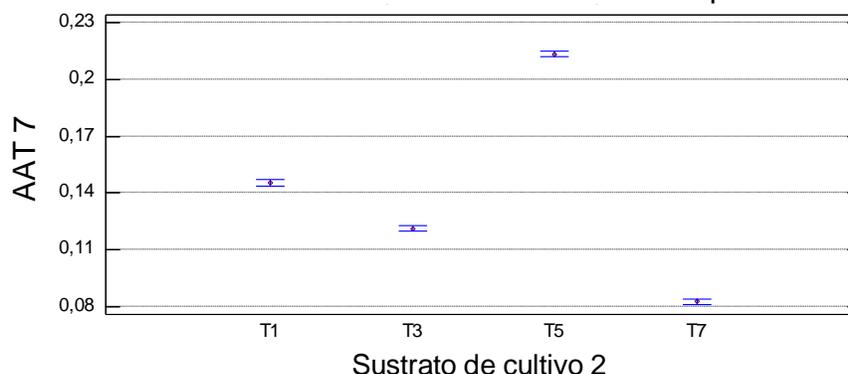
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
T1 - T3	*	0,0242	0,003126
T1 - T5	*	-0,0681	0,003126
T1 - T7	*	0,0629	0,003126
T3 - T5	*	-0,0924	0,003126
T3 - T7	*	0,0387	0,003126
T5 - T7	*	0,1310	0,003126

\* indica una diferencia significativa.

Fuente: esta investigación

La AAT del extracto de cuerpo fructífero cultivado en raquis de palma es 31,90% más que el de pulpa de café, 43, 23% mayor que la AAT del extracto de la seta cultivada en bagazo de fique y con respecto al extracto de la seta cultivada en granza de avena, el raquis de palma es 61,33% mayor, superándolo en más del 50%.

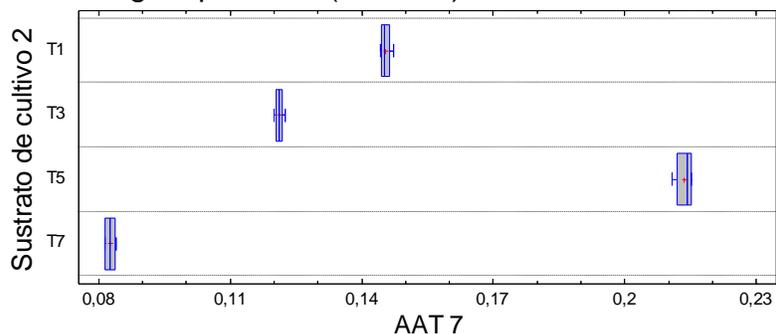
Gráfica 11. Contraste de medias, estadístico de Tukey HSD 95,0%, para AAT en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* cultivado en los sustratos puros.



Fuente: esta investigación

En el diagrama de caja y bigotes, Gráfica 12; ratifica que la AAT en los diferentes niveles es significativamente diferente, no hay un traslape, por tanto los sustratos de cultivo utilizados influyen en las propiedades biológicas como la actividad antioxidante del cuerpo fructífero de la seta comestibles *P. ostreatus*. La AAT del extracto del cuerpo fructífero cultivado en el sustrato T5, es significativamente mayor que la pulpa de café (T1), bagazo de fique (T3), granza de avena (T7), siendo este último el sustrato donde se obtuvo el cuerpo fructífero con la menor AAT.

Gráfica 12. Diagrama Caja y Bigotes para AAT en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*; mmolTrolox/gBS por nivel (sustrato).



Fuente: esta investigación

Se utiliza la *Prueba-t*, como estadístico para comparar la AAT en los extractos de *P. ostreatus* cultivados en los sustratos no enriquecidos, con su respectivo sustrato enriquecido. Los resultados consignados en la Tabla 28 indican que la AAT del extracto cultivado en pulpa de café (T1) y el cultivado en pulpa café enriquecido con granza de avena (T2) son diferentes, El *Valor-P* obtenido para las tres comparaciones realizadas son menor que 0,05; el *Valor-P* para la comparación entre T1 y T2 es  $1,852E-10 < 0,05$ , lo que indica que hay una diferencia estadísticamente significativa de la AAT de cada extracto, conociendo de antemano que son cultivados en diferentes sustratos, la AAT del sustrato puro es por poco el doble de la AAT del cultivado en el sustrato enriquecido. Los resultados son semejantes para la comparación entre T5 y T6, la AAT del extracto cultivado en T5 sustrato sin enriquecer es aproximadamente el doble del cultivado en sustrato enriquecido T6. Respecto al bagazo de fique su AAT también se ve disminuida cuando la seta es cultivada en el sustrato enriquecido, pero no en la misma proporción que los otros sustratos (pulpa de café y raquis de palma). El enriquecimiento de los sustratos con granza de avena no es favorable para la AAT de los cuerpos fructíferos de la seta.

#### 4.2.3.3 Determinación del tamaño de la muestra: potencia de la prueba

Al igual que en el análisis realizado para FT, para AAT se determinó la potencia de la prueba como lo plantea Montgomery & Runger;<sup>264</sup> para un diseño unifactorial está dado por la Ecuación 4, hace referencia a que si la cantidad de réplicas es suficiente, para aceptar las conclusiones o resultados hechos por ANOVA.

<sup>264</sup> MONTGOMERY, Douglas. Óp. cit., p. 63

La estimación de  $1-\beta$  se obtiene mediante la interpolación de los valores de  $\Phi$  que están calculados con la Ecuación 4, en la curva de potencia correspondiente a  $v_1=3$  y  $v_2=15$  y  $\phi$  ( $\alpha=0,05$ ), los resultados del valor de la potencia de la prueba calculados se muestran en la Tabla 34, se observa que para el diseño con tres réplicas se obtiene una potencia de la prueba de 94% y con cuatro réplicas la potencia de la prueba es de 98% confiable. Las réplicas realizadas fueron suficientes para aceptar los resultados entregados por ANOVA en donde se rechazó  $H_0$  (hipótesis nula) y se aceptó  $H_1$  (hipótesis alternativa).

Tabla 34. Potencia de la prueba para determinar el número de réplicas para AAT

$N$	$\phi^2$	$\phi$	$Ni(n-1)$	$\beta$	potencia prueba
1	1,881	1,372	0	no aplica	-----
2	3,763	1,940	4	0,2	0,8
3	5,644	2,376	8	0,06	0,94
4	7,525	2,743	12	0,02	0,98
5	9,406	3,067	16	no aplica	-----

$\Phi$  es el parámetro de no centralidad  $F$  en la tabla ANOVA es el grado de desigualdad de  $\mu_j$  (media). Fuente: esta investigación.

El raquis de palma es el sustrato más favorable para cultivar setas de *P. ostreatus* con un buen contenido de FT y con la mejor actividad antioxidante, en comparación con la pulpa de café y el bagazo de fique. Por el contrario la granza de avena, que se utilizó como sustrato testigo de cultivo para la determinación de EB en los estudios realizados por Benavides y colaboradores,<sup>265</sup> es el sustrato menos favorable. Se obtiene mayor contenido de FT y AAT en cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* cultivados en sustratos sin enriquecer. La actividad enzimática (lacasa, lignina peroxidasa y manganeso peroxidasa) estudiadas por Córdoba y Cultid,<sup>266</sup> indica que el sustrato se esforzó menos para degradar este sustrato, pudo haber favorecido el contenido de FT y la actividad antioxidante de los cuerpos fructíferos de la seta. Debido a que la actividad antioxidante en diferentes etapas (micelio, primordio y cuerpo fructífero) del cultivo varía, se debería analizar si la actividad enzimática obtenida para bagazo de fique, favoreció la AAT y el contenido de FT en otras etapas, especialmente micelio.

Los compuestos de los sustratos ingresan al metabolismo de *P. ostreatus* cuando la seta secreta enzimas (actividad enzimática) para degradar las sustancias como la lignina, celulosa, entre otras presentes en los sustratos de cultivo en moléculas más simples; entre los productos del metabolismo del hongo durante el periodo de

<sup>265</sup> BENAVIDES CALVACHE. Op. Cit. P. 73

<sup>266</sup> CORDOBA y CULTID. Op. Cit., p. 98

invasión y crecimiento del micelio están los compuestos fenólicos y otros nutrientes, que son incorporados en el cuerpo fructífero de la seta. Enzimas como la lacasa, lignina peroxidasa y manganeso peroxidasa participan en procesos como lignificación, morfogénesis (formación de esporas, pigmentación de cuerpos fructíferos, entre otras), patogénesis, eliminación de compuestos tóxicos que surgen durante la degradación de los sustratos.<sup>267</sup> El bagazo de fique es un sustrato muy complejo que tiene un alto contenido de lignina, además de saponinas, que son reconocidas por sus propiedades antifúngicas, en los resultados obtenidos por Córdoba y Cultid,<sup>268</sup> la actividad enzimática de la manganeso peroxidasa en el día 39 (cosecha 1), presenta un incremento en los sustrato T1 (pulpa de café) y T2 (pulpa de café enriquecido con granza de avena) con valores  $61,710 \pm 1,908$  U/L y  $83,873 \pm 1,989$  U/L respectivamente, a diferencia la actividad enzimática de la lignina peroxidasa y lacasa que para el día 39 presenta un incremento marcado en el sustrato T3 (bagazo de fique) con un valor de  $0,705 \pm 0,024$  U/L y  $191,769 \pm 1,958$  U/L respectivamente; el raquis de palma (T5) no presento actividad enzimática de la lignina peroxidasa ( $0,000 \pm 0,000$  U/L), solo en el día 32 fue de  $0,008 \pm 0,001$  U/L. En general la actividad de las tres enzimas analizadas para el raquis de palma aceitera (T5) y el enriquecido con granza de avena (T6), fue menor con respecto a la pulpa de café y bagazo de fique en los días 7, 14, 24, 32, 39 y 46 del cultivo; en los resultados de esta investigación, el raquis de palma aceitera enriquecido (T5) y sin enriquecer (T6) son los sustratos de cultivo donde se obtiene el *P. ostreatus* con la mayor AAT y mayor contenido de fenoles totales, aun cuando la actividad enzimática lignina peroxidasa, manganeso peroxidasa y lacasa es baja para el sustrato T7, fue el sustrato de cultivo en donde la seta presento el menor contenido de FT ( $0,4206 \pm 6,663E-03$  mgAG/gBS) y AAT ( $0,08259 \pm 0,001358$  mmolTrolox/100gBS) como se observa en la Gráfica 2 y Gráfica 8. En el cultivo del hongo *P. ostreatus* se desarrollaron tres investigaciones, la actividad enzimática, La eficiencia biológica (EB)<sup>269</sup> y lo perteneciente a esta investigación que son propiedades biológicas (contenido de FT y AAT); la EB hace referencia a la estimación de la capacidad del hongo de convertir el sustrato en cuerpo fructífero; el cultivo de *P. ostreatus* realizado sobre la granza de avena (T7) presento la mayor EB, con un valor de  $326,41 \pm 19,29\%$  para la cosecha 1; teniendo en cuenta los sustratos sin enriquecer, el raquis de palma aceitera (T5) fue el segundo sustrato de cultivo con mayor EB con un valor de  $250,66 \pm 56,28\%$ , en pulpa de café (T1) la EB fue de  $173,75 \pm 64,82\%$  y finalente el bagazo de fique (T3) fue el sustrato con la menor EB con un valor de  $49,59 \pm 10,48\%$ . El enriquecimiento de los sustrato con T7 no es favorable para las propiedades determinadas en la investigacion (FT y AAT), lo contrario ocurre en la EB donde se ve aumentada; el enriquecimiento con T7, concierne a los sustrato T2, T4 y T6 la EB aumenta  $78,62\%$ ,  $91,35\%$  y

---

<sup>267</sup> MANSUR, Mariana y colaboradores. Identification of a laccase gene family in the new lignin-degrading basidiomycete CECT 20197. En: Applied and Environmental Microbiology, 1997, Vol. 63, p. 2637-2646.

<sup>268</sup> CORDOBA y CULTID. Óp. cit., p.98

<sup>269</sup> BENAVIDES y colaboradores. Óp. cit., p 73

62,33% respectivamente; el comportamiento de la EB del cultivo no es similar al contenido de FT y AAT, debido a que el sustrato T7 es en donde se obtuvo el *P. ostreatus* con el menor contenido de FT y AAT. No obstante la EB en el sustrato T5 es buena y la seta producida tiene el mejor contenido de FT y AAT, por ende sería el sustrato más idóneo para el cultivo de *P. ostreatus*.

La capacidad de la orellana para degradar los sustratos depende de la composición química de los mismos, puesto que estudios de Fan y colaboradores<sup>270</sup> muestran que la orellana degrada parcialmente la cafeína, de modo que una parte la sustrae y la incorpora en diferentes partes del hongo, principalmente en el micelio y cuerpo fructífero, mientras la otra es metabolizada, siendo más tolerante al degradar los taninos que la cafeína, debido a que soporta concentraciones hasta de 500 mg/L, a diferencia de otras especies de hongos como *L. edodes* donde estas concentraciones tienen efectos tóxicos sobre el cultivo. El contenido de ácido linoleico que es un ácido graso esencial y precursor para la biosíntesis de compuestos volátiles<sup>271</sup> como 3-octenal y 1-octen-3-ol (Figura 31) de que contribuye al aroma, sabor y palatabilidad en los hongos,<sup>272</sup> el cual según los resultados expuestos por Benavides y colaboradores,<sup>273</sup> encontrando que el ácido linoleico está en mayor proporción en todos los extractos analizados, pero en mayor proporción, en la seta cultivada en raquis de palma, esto en comparación con el bagazo de fique y pulpa de café, siendo el segundo sustrato de cultivo de esta investigación donde se obtuvo la orellana con mayor contenido de fenoles totales y actividad antioxidante, debido a que se debe considerar que la pulpa de café, es un subproducto con una amplia composición de antioxidantes como la cafeína, ácidos clorogénicos, compuestos fenólicos, melanoidinas entre otros; además de poseer mayor capacidad antioxidante ( $91,49 \pm 1,721 \mu\text{mol Etrolox/ g café}$ ) y contenido de fenoles totales ( $252,2 \pm 4,795 \text{ mg EAG/ g café}$ ) que otros subproductos del café (el pergamino y la cascarilla),<sup>274</sup> que explicaría los resultados obtenidos en esta investigación con respecto al contenido de fenoles totales y actividad antioxidante, corroborando así los resultados obtenidos en los estudios de Salmones y colaboradores,<sup>275</sup> en el cual se obtuvo una orellana con un mayor contenido de fenoles totales cuando se cultivó

---

<sup>270</sup> FAN, Leifa y colaboradores. Effect of caffeine and tannins on cultivation and fructification of pleurotus on coffee husks. En: Brazilian Journal of Microbiology. Mayo, 2006. Vol. 37, p. 420-424.

<sup>271</sup> COMBET, Emilie y colaboradores. Eight-carbon volatiles in mushrooms and fungi: properties, analysis, and biosynthesis. En: Mycoscience. August, 2006. Vol. 47, No. 6, p. 317-326.

<sup>272</sup> TRESSL, Roland y colaboradores. Formation of eight-carbon and ten-carbon components in mushrooms (*Agaricus campestris*). En: Journal Agricultural and Food Chemistry. January, 1982. Vol. 30, No. 1, p.89-93

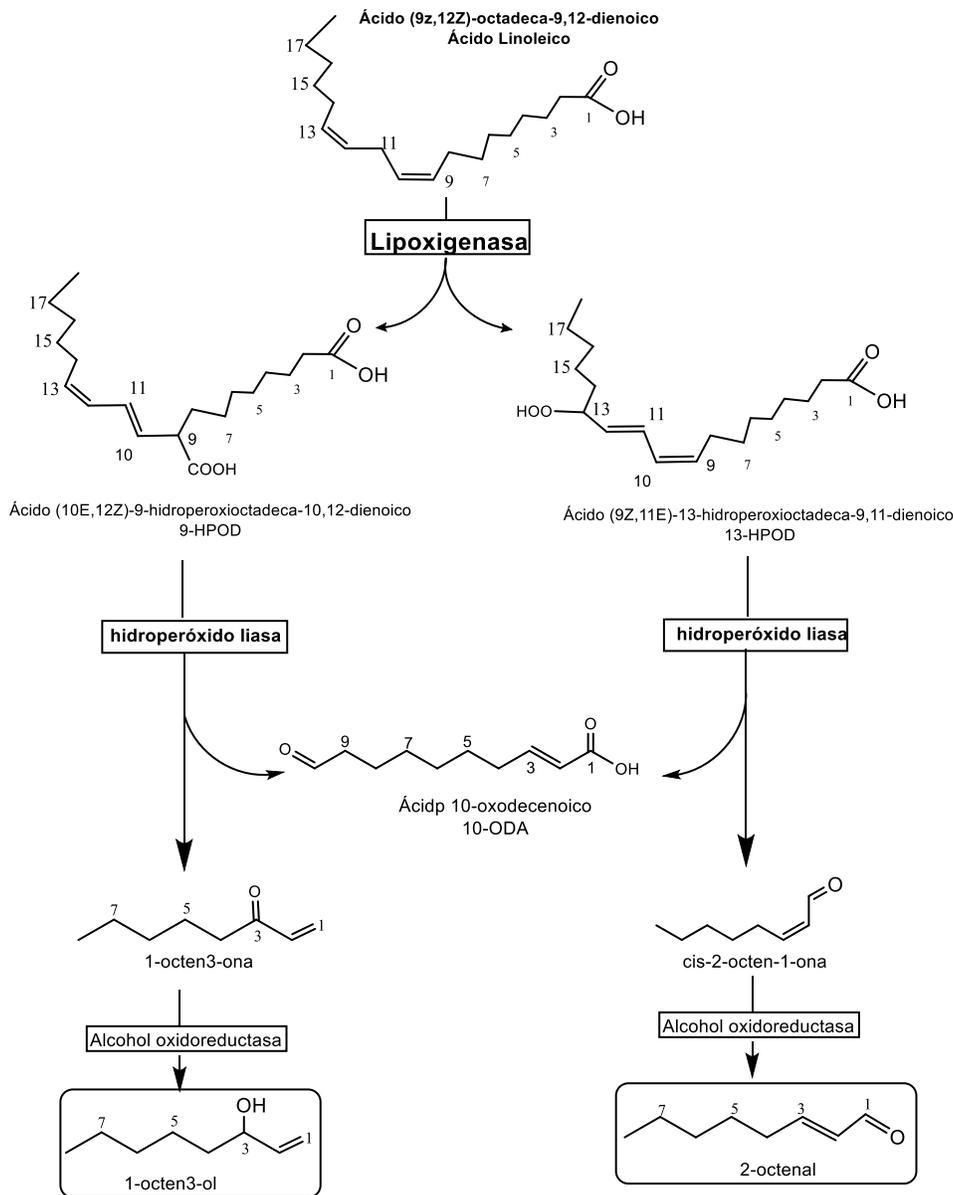
<sup>273</sup> BENAVIDES C. y colaboradores. Óp. cit., p 72

<sup>274</sup> FONSECA GARCÍA, Libia y colaboradores. Capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en café y subproductos del café producido y comercializado en Norte de Santander (Colombia). En: VITAE. Octubre, 2014. Vol. 21, No. 3, p. 228-236.

<sup>275</sup> SALMONES, Dulce y colaboradores. Comparative culturing of Pleurotus spp. on coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation. En: Bioresource Technology. September, 2005. Vol. 96, p. 537-544.

en pulpa de café en comparación con la cultivada en granza de trigo, aun cuando en este último sustrato el cultivo de la orellana tiene una mayor EB, dado a que la cafeína inhibe el crecimiento y la fructificación de la Orellana.

Figura 31. Ruta metabólica de 3-octenal y 1-octen-3-ol a partir de ácido linoleico en basidiomicetes



Fuente: adaptado de Tressl, R.; Bahri, D. & Engel, K. H. (1982)<sup>276</sup>

<sup>276</sup> TRESSL, Roland y colaboradores. Formation of eight-carbon and ten-carbon components in mushrooms (*Agaricus campestris*). Journal Agricultural and Food Chemistry. January, 1982. Vol. 30, No. 1, p.89–93

El contenido de esteroides y lípidos en los cuerpos fructíferos cultivados en el raquis de palma aceitera es mayor que en los carpóforos de *P. ostreatus* cultivados en los otros sustratos, según los estudios realizados por Benavides y colaboradores,<sup>277</sup> lo cual favorecería la biosíntesis de estatinas y polisacáridos en la orellana, que son metabolitos con propiedades biológica.<sup>278</sup>

---

<sup>277</sup> BENAVIDES C. y colaboradores. Óp. cit., p 72

<sup>278</sup> CHEGWIN ANGARITA, Carolina y colaboradores. Las estatinas: Actividad biológica y producción biotecnológica. En: Rev. Colomb. Biotecnol. Diciembre 2012. Vol. 14, N°. 2, p.157-178

## CONCLUSIONES

- Mediante el método Folin-Ciocalteu se determinó el contenido de FT para los extractos de cuerpo fructífero de *P. ostreatus* cultivado en los sustratos sin enriquecer, el cual osciló entre  $0,4206 \pm 6,663E-03$  y  $0,8650 \pm 1,187E-02$  mg AG/g de base seca, presentado el menor contenido de FT el hongo cultivado en granza de avena y el mayor contenido de FT en el raquis de palma; para los sustratos enriquecidos con granza de avena, el contenido de FT estuvo entre  $0,4112 \pm 6,19E-03$  y  $,593125 \pm 7,96E-03$  mg AG/g de base seca.
- La AAT determinada con el método TEAC, en los extractos de cuerpo fructífero de *P. ostreatus* cultivado en los sustratos sin enriquecer, estuvo entre  $0,08259 \pm 1,845E-06$  y  $0,21360 \pm 4,322E-06$  mmolTrolox/100g de base seca, presentado la menor AAT el hongo cultivado en granza de avena y la mayor AAT el hongo cultivado en raquis de palma aceitera; para el *P. ostreatus* cultivado en los sustratos enriquecidos, la AAT estuvo entre  $0,073 \pm 1,15E-03$  y  $0,11675 \pm 1,26E-03$  mmolTrolox/100g de base seca, observándose una disminución de la AAT del hongo cultivado en la pulpa de café enriquecida con granza de avena, respecto al sustrato sin enriquecer.
- Los parámetros determinados, tanto AAT como el contenido de FT en los extractos de cuerpo fructífero de las setas *P. ostreatus* cultivados en pulpa de café, bagazo de fique, raquis de palma y granza de avena presentaron diferencias estadísticamente significativas, resultados confirmados con el análisis estadístico ANOVA de un solo factor, la prueba de Múltiple Rangos-95,0% Tukey HSD y el estadístico de Kruskal-Wallis. Corroborando la influencia del sustrato en el contenido de FT y AAT en el cultivo de *P. ostreatus*.
- El enriquecimiento de los sustratos pulpa de café y raquis de palma aceitera con granza de avena disminuye el contenido de FT y AAT en *P. ostreatus*. El cultivo de la Orellana en bagazo de fique enriquecido con granza de avena tiene mayor contenido de FT y menor AAT con respecto al sustrato sin enriquecer.
- El bagazo de fique no es un sustrato eficiente para el cultivo de *P. ostreatus*, debido a que las propiedades antioxidantes (FT y AAT) y la EB se ven disminuidas con respecto al cultivo en los otros sustratos estudiados (pulpa de café y raquis de palma aceitera). La granza de avena como sustrato testigo de cultivo presenta la

mayor EB ( $326,41 \pm 1,29\%$ ) pero setas con el menor contenido de FT y AAT, no es el más apto para enriquecer sustratos para obtener setas con el mejor contenido de FT y AAT.

- De acuerdo a los resultados obtenidos, el sustrato más idóneo para el cultivo de la seta *P. ostreatus* es el raquis de palma aceitera, se obtiene cuerpos fructíferos con las mejores propiedades antioxidantes (FT y AAT) con respecto a los otros sustratos estudiados, además de presentar una EB mayor al 200%.

## RECOMENDACIONES

Los residuos generados en el sector agrícola del departamento de Nariño, tiene amplia aplicación en el cultivo de setas comestibles como el *Pleurotus ostreatus*, es posible obtener en este tipo de sustratos, cuerpos fructíferos con potenciales propiedades antioxidantes, que pueden ser incluidas en la dieta alimenticia de la población.

- Identificar y cuantificar los compuestos con potencial efecto antioxidantes mediante una caracterización química por HPLC, u otra técnica analítica de los diferentes extractos obtenidos de los cuerpos fructíferos cultivados en los sustratos pulpa de café, bagazo de fique, raquis de palma y granza de avena. Evaluar otras propiedades nutricionales (minerales, vitaminas, carbohidratos, entre otros), propiedades biológicas como la antibacteriana, anticancerígena. La relevancia de estos resultados *In vitro* debe ser apoyada por futuros estudios *in vivo*. Además, deben realizarse estudios *in vivo* en la determinación de la capacidad antioxidante y el nivel de asimilación después del paso a través del tracto gastrointestinal humano. Posteriores investigaciones para el uso potencial de los extracto en campos como el farmacológico.
- Realizar una caracterización química mediante técnicas analíticas ya sea espectroscópicas y/o cromatográficas, de los sustratos utilizados para el cultivos de la orellana como lo son el raquis de palma aceitera, pulpa de café, bagazo de fique y granza de avena; que puedan explicar los resultados el bajo contenido de FT y AAT en los cuerpos fructíferos cultivados en bagazo de fique y granza de avena en comparación con el raquis de palma, el cual incrementó el contenido de FT y la AAT de los cuerpos fructíferos de la seta. Técnicas de análisis químico que permitan identificar y cuantificar compuestos químicos como fenoles, ácidos grasos, entre otros, en los sustratos de cultivo y sustratos agotados que puedan ser responsables de la actividad biológica en el hongo *P. ostreatus*.
- Evaluar las propiedades nutricionales y antioxidantes del hongo *P. ostreatus* en diferentes etapas de cultivos (micelio y primordios), cultivados en los diferentes residuos. Se sugiere la liofilización para la etapa posterior de la extracción, ya que estudios muestran que permite retener la cantidad máxima de compuestos con actividad antioxidante.<sup>279</sup>

---

<sup>279</sup> VAMANU, Emanuel. Óp. cit., p. 66

- Evaluar las propiedades antioxidantes de la seta *P. ostreatus*, cultivada en residuos lignocelulósicos que se destaquen en el departamentos de Nariño como la papa. Otros tipos de residuos con alto potencial contaminante, como los generados en el sector minero, considerando al raquis de palma aceitera como sustrato optimizador.

## BIBLIOGRAFÍA

ABILÉS, Jimena Soledad. Estrés oxidativo y su relación con el aporte de antioxidantes nutricionales en un paciente crítico. Trabajo de grado (doctor). Universidad de Granada, 2007.123p.

ALAM, Nuhu; YOON, Ki Nam; LEE, Kyung Rim; SHIN, Pyung Gyun; CHEONG, Jong Chun; YOO, Young Bok; SHIM, Mi Ja; LEE, Min Woong; LEE, U Youn and LEE, Tae Soo. Antioxidant Activities and Tyrosinase Inhibitory Effects of Different Extracts from *Pleurotus ostreatus* Fruiting Bodies. En: The Korean Society of Mycology, Mycobiology Diciembre, 2010. Vol. 38, No. 4, p.295-301.

ALISPAHIĆ, Amra; ŠAPČANIN, Amir; SALIHOVIĆ, Mirsada; RAMIĆ, Edin; DEDIĆ, Alema; PAZALJA, Mirha. Phenolic content and antioxidant activity of mushroom extracts from Bosnian market. En: Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina. Junio, 2015. Vol.44, p. 5-8.

ANTOLOVICH, Michael y colaboradores. Methods for testing antioxidant activity. En: The Analyst, 2002. Vol. 127, p.183-198. falta competir autores

ARBOLEDA ECHEVARRÍA, Carolina y MEJÍA GALLÓN, Amanda Inés. Induction of lacasa Activity in *Ganoderma sp.* and the antioxidant activity of its biomass. En: Revista Cubana de Farmacia. 2010. Vol. 44, No. 4, p.519-532

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

ASHOK, Badithe T. and ALI, Rashid. The aging paradox: free radical theory of aging. En: Mini-Review. Experimental Gerontology. Junio, 1999. Vol. 34, No. 3, p. 293–303

ASOHOFrucOL. [En línea]. [Citado 7 septiembre 2016]. Disponible en: <http://www.asohofrucol.com.co/>

BELTRÁN DELGADO, Yaixa; MORRIS QUEVEDO, Humberto; AGUIRRE, Rosa; QUEVEDO, Yanelis; TARCIZIA, Armando; VÁZQUEZ, Roberto; LLAURADÓ, Gabriel; BERMÚDEZ, Rosa C.; LEBEQUE, Yamila; MUKHA, Serge; PERRAUD-JAIME, Isabelle; GARCÍA, Nora; COS ISANG, Paul. Phenolic content and *in-vitro* antioxidant activities of fruiting bodies extracts from the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. En: Journal of International Society of Antioxidants in Nutrition and Health. Junio, 2015. Vol. 1, No.1

BELTRÁN DELGADO, Yaixa; MORRIS QUEVEDO, Humberto; QUEVEDO MORALES, Yanelis; BERMÚDEZ SAVÓN, Rosa Catalina; DE LA CRUZ, Enrique Reynaldo. Contenido de fenoles totales en extractos de *Pleurotus* obtenidos con solventes de diferente polaridad. En: Rev. Cubana Invest Bioméd. Junio, 2013, Vol.32, No.2, p.121-129

BENAVIDES CALVACHE, Olga lucia. Aprovechamiento de residuos lignocelulósicos para el cultivo de orellanas (*Pleurotus ostreatus*). Trabajo de Grado (Maestría en Ciencias Agrarias. Énfasis en Producción de cultivos). Universidad de Nariño. San Juan de Pasto, 2013

BENAVIDES CALVACHE, Olga L.; CABRERA HIDALGO, Érika Viviana; VILLOTA MUÑOZ, Andrés Ovidio; ARTURO PERDOMO, David. Ácidos grasos del hongo funcional *Pleurotus ostreatus* cultivado en residuos sólidos agroindustriales. En: Producción + Limpia. Junio, 2015. Vol.10, No.1, p. 73-81

BENAVIDES CALVACHE, Olga; CABRERA HIDALGO, Erika; VILLOTA MUÑOZ, Andrés y ROMO RAMOS, Jesús. Esteroles de *Pleurotus ostreatus* Jacq. ex Fr. cultivado: potencial diferenciador para la industria farmacéutica y alimentaria. En: Agronomía Colombiana, 2016. Vol.34, 1Supl., p. S1121-S1123

BENAVIDES CALVACHE, Olga L.; RUIZ ERASO, Hugo; ARAUJO, Danie. Eficiencia biológica como variable de bioprocesamiento de residuos lignocelulósicos para la producción del hongo comestible y medicinal (*Pleurotus ostreatus*). En: Vitae, 2016. Vol. 23 (Supl. 1), p. 518-521

BERMÚDEZ SAVÓN, Rosa Catalina; MORRIS QUEVEDO, Humberto Joaquín; DONOSO FERNÁNDEZ, Carlos; MARTÍNEZ MANRIQUE, Clara Esther y RAMOS SEVILLA, Edgar Iván. Influencia de la luz en la calidad proteica de *Pleurotus ostreatus* Var. Florida. En: Revista Cubana Investigación Biomédica, 2003, vol. 22, No.4, p.226-231

BEZALEL, L; HADAR, Y.; CERNIGLIA, C. Mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by the white rot fungus *Pleurotus Ostreatus*. En: Applied and Environmental Microbiology. Enero, 1996. Vol. 62, No. 1, p.292-295.

BEZALEL, L.; HADAR, Y.; FU, P.; FREEMAN, J.; CERNIGLIA, C. Initial oxidation products in metabolism of pyrene, anthracene, fluorene and dibenzothophene by the white rot fungus *Pleurotus Ostreatus*. En: Applied and Environmental Microbiology. Julio, 1996, vol. 62, No. 7, p.2554-2559.

BOBEK, P.; OZDIN, O.; KAJABA, I. Dose-dependent hypocholesterolaemic effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in rats. En: Physiological Research. 1997. Vol. 46, No.4, p.327-329.

BOBEK, P.; OZDIN, O.; MIKUS, M. Dietary oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) accelerates plasma cholesterol turnover in hypercholesterolaemic rat. En: *Physiological Research*. 1995. Vol. 44, No.5, p. 287-291.

BOBOVČÁK, M.; KUNIAKOVÁ, R.; GABRIŽ, J.; MAJTÁN, J. Effect of Pleuran ( $\beta$ -glucan from *Pleurotus ostreatus*) supplementation on cellular immune response after intensive exercise in elite athletes. En: *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* December, 2010. Vol. 35, No. 6, p. 755-62.

BOERJESSON, Thomas S.; STOELLMAN, Ulla M. & SCHNUEERER, Johan L. Off-odorous compounds produced by molds on oatmeal agar: Identification and relation to other growth characteristics. En: *J. Agric. Food Chem.* November, 1993. Vol. 1, No. 11, p. 2104–2111

BRAVO, Laura. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. En: *Nutrition Reviews*, 1998. Vol. 56, No. 11, p. 317–333

BUMPUS, J.A.; TIEN, M.; WRIGHT D. and AUST, S.D. Oxidation of persistent environmental pollutants by a white rot fungus. En: *Science*. Junio, 1985. Vol. 228, No. 4706, p.1434-1436

CADEFIQUE [en línea]. Guía ambiental del subsector fiquero. 2 ed. Bogotá D.C., Colombia: Dirección de Desarrollo Sectorial Sostenible. 2006. 121p. Disponible en: [https://www.finagro.com.co/sites/default/files/node/basic-page/files/guia\\_ambiental\\_subsector\\_fiquero.pdf](https://www.finagro.com.co/sites/default/files/node/basic-page/files/guia_ambiental_subsector_fiquero.pdf) [citado, 23 agosto de 2016]

CADEFIQUE. Consejo nacional de fique. Bogotá, D.C.: República de Colombia. Ministerio de agricultura y desarrollo rural. 2004. 38p

CADENAS, Enrique y colaboradores. Production of superoxide radicals and hydrogen peroxide by NADH-ubiquinone reductase and ubiquinol-cytochrome c reductase from beef-heart mitochondria. En: *Arch. Biochem. Biophys.* Abril, 1977. Vol. 180, No. 2, p. 248-257

CAMACHO SÁNCHEZ, Marcelo; CAPPELLO GARCÍA, Silvia; GASTÓN HUERTAS, GUSMÁN. Contribución al Estudio Taxonómico del Género *Pleurotus* (Basidiomycotina, Fungi). En: *Semana de divulgación y video científico*, UJA. México. 2005, p. 106-111

CARDONA URREA, Luis Fernando. Anotaciones acerca de la bromatología y el cultivo del hongo comestible *Pleurotus Ostreatus*. En: *Crónica Forestal del Ambiente*. 2001, No. 16, p. 99-118

CARVAJAL TOCAGÓN, Grace Margoth. Evaluación de la Producción de Hongo *Pleurotus ostreatus* Sobre Cinco Tipos de Sustrato (Tamo de Trigo, Tamo de

Cebada, Tamo de Vicia y Paja de Páramo) Enriquecidos Con Tuza Molida, Afrecho de Cebada y Carbonato de Calcio. Tesis de Grado (Ingeniera Agropecuaria). Pontifica Universidad Católica del Ecuador-Sede Ibarra. Escuela de Ciencias Agrícolas Y Ambientales. 2010. 100p.

CASTAÑO, Natalia Lizette; GOYES, Pedro; ALBARRACÍN, Luis Carlos; LÓPEZ, Fredy Javier. Uso del Bagazo Enriquecido con el Hongo *Pleurotus ostreatus*, en Dietas para Bovinos Estabulados en Ceba. En: Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. Diciembre, 2012. Vol.10, No.2, p. 25-33

CASTELLANOS, Oscar Fernando y colaboradores. Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva de fique en Colombia. Ministerio De Agricultura Y Desarrollo Rural- Universidad Nacional De Colombia. Bogotá D.C., 2009, 222p.

CASTILLO AGUILAR, Beatriz y GONZALEZ HERNÁNDEZ, Rolando. Protocolo Para La Validación De Métodos Analíticos Para La Cuantificación De Fármacos. En: Revista Cubana de Farmacia. Diciembre, 1996, Vol. 30, No.1

CENICAFÉ. Los subproductos del café: fuente de energía renovable. En: Avances técnicos 393. Chinchiná, Caldas, Colombia. Marzo, 2010. 8p.

CHANG, Shu-Ting and PHILIP G. MILES. Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact. 2 ed. Florida, USA: CRC PRESS. 2004, 480p.

CHEGWIN A., Carolina y NIETO R., Ivonne J. Influencia del medio de cultivo en la producción de metabolitos secundarios del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* cultivado por fermentación en estado líquido empleando harinas de cereales como fuente de carbono. En: Revista Mexicana de Micología. 2013. Vol. 37, p. 1-9

CHEGWIN ANGARITA, Carolina; NIETO RAMÍREZ, Ivonne J.; ATEHORTÚA, Lucía; SEPÚLVEDA A., Liuda J. Las estatinas: Actividad biológica y producción biotecnológica. En: Rev. Colomb. Biotecnol. Diciembre 2012. Vol. 14, N°. 2, p.157-178

CHIRINANG, Pornariya and INTARAPICHET, Kanok-Orn. Amino acids and antioxidant properties of the oyster mushrooms, *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. En: ScienceAsia. Octubre, 2009. Vol. 35, p.326–331

CHOWDHURY, H. Mohammed, M.; KUBRA, Khadizatul and RASHEL, A. Sheikh. Screening of antimicrobial, antioxidant properties and bioactive compounds of some edible mushrooms cultivated in Bangladesh. En: Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. Febrero, 2015. Vol. 14, No.8, p.2-6

CIAPPINI, María Cristina; GATTI, Bernardita y LÓPEZ ZAMORA, María Luisa. *Pleurotus ostreatus*, una opción en el menú estudio sobre las gírgolas en la dieta diaria. En: Invenio. Junio, 2004. Vol. 7, No. 12, p. 127-132

COMBET, Emilie; HENDERSON, Janey; EASTWOOD, Daniel C.; BURTON, Kerry S. Eight-carbon volatiles in mushrooms and fungi: properties, analysis, and biosynthesis. En: Mycoscience. August, 2006. Vol. 47, N°. 6, p. 317–326.

CONTANDRIOPOULOS, A.P.; CHAMPAGNE, F.; POTVIN, L.; DENIS, J.L. y BOYLE, P.: Preparar un proyecto de investigación. Barcelona, España: SG Editores, 1991. ISBN 9788487621062

CÓRDOBA BOLAÑOS, Raquel Gabriela y CULTIL CHAMORRO, German Ricardo. Estudio Comparativo de la Actividad Enzimática de Lacasa (lac), Lignina Peroxidasa (lip) y Manganeso Peroxidasa (mnp) de „*Pleurotus Ostreatus*” Cultivado en Residuos Lignocelulósicos de Raquis de Palma de Aceite, Bagazo de Fique y Pulpa de Café. Trabajo de grado (Químico (a)). Trabajo de grado (Químico). Nariño-Colombia: Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Química, 2015. 118p.

CORPOICA. Acuerdo para el fomento de la producción y competitividad del subsector del fique. Bogotá D. C.: República de Colombia. Ministerio de agricultura y desarrollo rural. 2004, 38p.

CORTÉS G., Camilo A.; CAYÓN S., Daniel G.; AGUIRRE, Víctor H.; CHAVES C., Bernardo; Respuestas de palmas de vivero a la aplicación de residuos de la planta extractora. En: PALMAS. Octubre, 2006. Vol. 27 No. 3, p. 23-32

CORTÉS R., Misael; GARCÍA S., Andrea; SUÁREZ M., Héctor. Fortificación De Hongos Comestibles (*Pleurotus ostreatus*) Con Calcio, Selenio Y Vitamina C. En: VITAE, Revista De La Facultad De Química Farmacéutica. Medellín, Colombia, 2007. Vol. 14, No. 1, p. 16-24. ISSN 0121-4004

COS, Paul; DE BRUYNE, Tess; HERMANS, Nina; APERS, S.; BERGHE, D.V.; VLIETINCK, Arnold J. Proanthocyanidins in health care: current and new trends. En: Curr. Med. Chem. Mayo, 2004. Vol. 11, No.10, p. 1345-1359

CULTIVOS HIDROPONICOS [En línea]. El cultivo del Hongo Seta (*Pleurotus ostreatus*). Disponible en: <http://cultivoshidroponicosrj.blogspot.com.co/2010/09/el-cultivo-del-hongo-seta-pleurotus.html> [Citado, 12 de octubre 2016]

DAVIES, Kelvin J.A. Oxidative stress: the paradox of aerobic life Biochem. En: Biochemical Society Symposia. Noviembre, 1995. Vol. 61, p.1–31.

DEPARTAMENTO ECONÓMICO SAC. [En línea]. Balance y perspectivas del sector agropecuario 2012-2013. Disponible en: <http://www.sac.org.co/es/estudios-economicos/balance-sector-agropecuario-colombiano/290-balance-y-perspectivas-del-sector-agropecuario-2012-2013.html> [citado 12 agosto, 2016], 40p.

DEVLIN, Thomas M. Bioquímica: libro de texto con aplicaciones clínicas. 4 ed. New Jersey-USA.: Reverte, S.A. 2004. 1219p.

EVANS, Patricia and HALLIWELL, Barry. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. En: British Journal of Nutrition. Mayo, 2001. Vol. 85, No. 2. p. 67-74. DOI: 10.1049/BJN2000296

FAN, Leifa; SOCCOL, Andréa Thomaz; PANDEY, Ashok; VANDENBERGHE, Luciana P. D. S.; SOCCOL, Carlos Ricardo. Effect of caffeine and tannins on cultivation and fructification of pleurotus on coffee husks. En: Brazilian Journal of Microbiology. Mayo, 2006. Vol. 37, p. 420-424.

FEDEPALMA, (Federación Nacional De Cultivadores De Palma de Aceite). Principales cifras de la agroindustria de la palma de aceite en Colombia. Colombia: Minianuario Estadístico. 2013, 54p.

FEDEPALMA. La Palma de Aceite en Colombia: departamento de Nariño. [Citado, 15 de agosto 2016]. Disponible en: <http://web.fedepalma.org/la-palma-de-aceite-en-colombia-departamentos>

FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS DE COLOMBIA [en línea]. Área cultivada según tecnificación por departamento- anual desde 2007. Disponible en: [http://www.federaciondecafeteros.org/particulares/es/quienes\\_somos/119\\_estadisticas\\_historicas/](http://www.federaciondecafeteros.org/particulares/es/quienes_somos/119_estadisticas_historicas/).

FLOEGEL, Anna; KIM, Dae-Ok; CHUNG, Sang-Jin; KOO, Sung I.; CHUN, Ock K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. En: Journal of Food Composition and Analysis. January, 2011. Vol. 24, p.1043–1048

FRENCH, Eduardo R. & HEBERT, Teddy T. Métodos de investigación fitopatológica. San José Costa Rica: Instituto Interamericano De Ciencias Agrícolas, 1980. 289p.

FOLIN, Otto y CIOCALTEU, Vintila. On tyrosine and triptophane determinations in proteins. En: The Journal Of Biological Chemistry. Abril, 1927. Vol. 73, No. 2, p. 627-650

FONSECA GARCÍA, Libia; CALDERÓN JAIMES, Lilia S; RIVERA, María E. Capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en café y subproductos del

café producido y comercializado en Norte de Santander (Colombia). En: VITAE, REVISTA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA. Octubre, 2014. Vol. 21, No. 3, p. 228-236.

GAITÁN HERNÁNDEZ, Rigoberto; SALMONES, Dulce; PÉREZ MERLO, Rosalía; MATA, Gerardo. Manual práctico del cultivo de setas: aislamiento siembra y producción. 1 ed. Veracruz, México: Instituto de Ecología, A.C. 2002. 74p.

GARCÍA GARIBAY, Mariano; QUINTERO RAMÍREZ, Rodolfo; LÓPEZ-MUNGUÍA CANALES, Agustín. Biotecnología alimentaria. 5 ed. México D.F.: LIMUSA, S.A., 2004. 637p.

GARCÍA RAMÍREZ, Bernardino. Absorción *in vivo* de oligómeros de epicatequina. Trabajo de grado (Doctor en Bioquímica). Tarragona - España: Universitat Rovira I Virgili. Departamento de Bioquímica I Biotecnología, 2005

GARCIA ROLLAN, Mariano [en línea]. Nuevas Técnicas De Cultivo Del *PLeurotus Ostreatus*. México: Hojas divulgadoras No 8, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 1985, [citado 23, septiembre, 2016]. 20p. Disponible en: [http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd\\_1985\\_08.pdf](http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1985_08.pdf)

GARCÍA ROLLÁN, Mariano. Manual Para Buscar Setas.6 ed. Madrid: Mundi-Prensa. 2006. 454p. ISBN: 9788484762829.

GARRIDO, Abel Martin. El peróxido de hidrógeno como mediador en el proceso de contracción-relajación. Estudios *in vitro* e *in vivo*. Trabajo de grado (Doctor). Alcalá de Henares (Madrid): Universidad de Alcalá. Facultad de medicina. Departamento de fisiología, 2007.130p.

GARZÓN GÓMEZ, Juan Pablo & CUERVO ANDRADE, Jairo Leonardo. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. En: NOVA, Publicación Científica En Ciencias Biomédicas. Diciembre, 2008. Vol.6, No. 10, p.126-140. ISSN: 1794-2470

GAVIRIA MONTOYA, Carlos; OCHOA OSPINA, Clara; SÁNCHEZ MESA, Nelly; MEDINA CANO, Clara; LOBO ARIAS, Mario; GALEANO GARCÍA, Paula; MOSQUERA MARTÍNEZ, Ana; TAMAYO TENORIO, Angélica; LOPERA PÉREZ, Yasmin; ROJANO, Benjamín. Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium meridionale* SW). En: Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 2009. Vol. 8, No. 6, p. 519-528

Global names index beta. CHAMP. JURA. VOSG. 1872, VOL. 1, P.112

GOBERNACION DE NARIÑO: División Política Administrativa. [Citado, 30 octubre 2015]. Disponible en: <http://xn--nario-rta.gov.co/inicio/index.php/mi-departamento/mapa>

GÓMEZ, José Hernando y colaboradores. [En línea]. La política comercial del sector agrícola en Colombia. Fedesarrollo, 2011. Disponible en: [http://www.fedesarrollo.org.co/wp-content/uploads/2011/08/Cuaderno-No-38\\_web.pdf](http://www.fedesarrollo.org.co/wp-content/uploads/2011/08/Cuaderno-No-38_web.pdf) [citado, 5 agosto 2016]

GONZÁLEZ AGUILAR, Gustavo A. y colaboradores. Interacción de compuestos fenólicos y fibra dietaria: capacidad antioxidante y biodisponibilidad. En: Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud. BIOTecnia, 2011. Vol. 13, No. 3, p. 3-11

GONZÁLEZ, Ricardo; ROMAY, Cheyla y DÍAZ-LLER, Silvia. Estudios sobre genotoxicidad del ozono. En: Revista Cubana Investigaciones Biomédica. Septiembre, 2004. Vol. 23, No. 3, p.177-8

GONZÁLEZ PALMA, Ivette; ESCALONA-BUENDÍA, Héctor B.; PONCE-ALQUICIRA, Edith, TÉLLEZ TÉLLEZ, Maura; GUPTA, Vijai K.; DÍAZ-GODÍNEZ, Gerardo and SORIANO-SANTOS, Jorge. Evaluation of the antioxidant activity of aqueous and methanol extracts of *Pleurotus ostreatus* in different growth stages. En: Frontiers in Microbiology. Julio, 2016. Vol. 7, No.1099.

GÜLÇİN, İlhami; HUYUT, Zübeyr; ELMASTAŞ, Mahfuz; ABOUL-ENEIN, Hassan Y. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. En: Arabian Journal of Chemistry. Enero, 2010, Vol. 3, No.1, p. 43–53.

HALLIWELL, Barry and GUTTERIDGE, John M. C. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. En: Free Radical Biology and Medicine. Enero, 1995. Vol. 18, No. 1, p.125–126.

HALLIWELL, Barry and WHITEMAN, Matthew. Review: Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and cell culture: ¿how should you do it and what do it and what do the results mean? En: British journal of pharmacology. Mayo, 2004. Vol. 142, No. 2, p. 231-255.

HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, JM and CROSS, C. E. Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? En: The Journal of laboratory and clinical medicine. Junio, 1992. Vol. 119, No. 2, p. 598-620

HAN, So-Ra; KIM, Ki-Hwa; LIM, Kun-Ok and OH, Tae-Jin. Biological Activity Analysis of Different Solvent Extracts from *Pleurotus ostreatus*. En: Indian Journal of Science and Technology. Octubre, 2015. Vol. 8, No.26, p.1056-1057

HERNÁNDEZ CORREDOR, Ricardo Alfredo y LÓPEZ RODRÍGUEZ, Claudia Liliana. 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. 106p.

HERRERA, Teofilo y ULLOA Miguel. El Reino de los Hongos: Micología Básica Aplicada. México D.F.: S.L. Fondo de Cultura Económica de España. 2013, p. 25-28. ISBN: 9789681657376

HINES, William W.; MONTGOMERY, Douglas C.; GOLDSMAN, David M.; BORROR, Connie M. Probabilidad y estadística para ingeniería y administración. 2 Ed. México: Compañía Editorial Continental, 2005. 778p.

HIROSE, Masao; HAGIWARA, Akihiro; MASUI, isuneo; INOUE, Kazuhiko; ITO, Nobuyuki. Combined effects of butylated hydroxyanisole and other antioxidants in induction of forestomach lesions in rats. En: Cancer letters. 1986. Vol. 30, No. 2, p. 169-174.

JAYAKUMAR, T.; RAMESH, E. and GERALDINE, P. Antioxidant activity of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, on CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in rats. En: Food and Chemical toxicology. December, 2006. Vol. 44, No. 12, p.1989-1996.

JAYAKUMAR, T.; THOMAS, P. A. and GERALDINE, P. *In-vitro* antioxidant activities of an ethanolic extract of oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. En: Innovative Food Science and emerging Technologies. Abril, 2009. Vol.10, No. 2, p. 228-234.

JUÁREZ LUNA, Miguel Ángel. Propiedades funcionales del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* y su relevancia en la alimentación regional. Trabajo de grado (Maestro en ciencias). Colegio De Postgraduados, Institución De Enseñanza E Investigación En Ciencias Agrícolas. Puebla-Puebla, 2012, 93p

KANAGASABAPATHY, G.; MALEK, S. N. A.; KUPPUSAMY, U. R. AND VIKINESWARY, S. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Extracts of Fresh Fruiting Bodies of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Febrero, 2011. Vol. 59, p. 2618-2625

KARÁCSONYI, Š. & KUNIAKB L. Polysaccharides of *Pleurotus ostreatus*: Isolation and structure of pleuran, an alkali-insoluble  $\beta$ -d-glucan, En: Carbohydrate Polymers. March, 1994. Vol. 24, No. 2, p.107-111

KONEMAN, E. Micología: Práctica de Laboratorio. 3 ed. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana. 1997. 221p. ISBN: 9789500612296

KORLEY KORTEI, Nii; TAWIA ODAMTTEN, George; OBODAI, Mary; APPIAH, Victoria; AKUAMOA, Felicia; ADU-BOBI, Afua Kobi; YAO ANNAN, Sylvester Nana; OKAI ARMAH, Jonathan Nii and AKWESI ACQUAH, Stanley. Evaluating the Effect of Gamma Radiation on the Total Phenolic Content, Flavonoids, and Antioxidant Activity of Dried *Pleurotus ostreatus* ((Jacq. ex. Fr) Kummer) Stored in Packaging Materials. En: Hindawi Publishing Corporation, Advances in Pharmaceutics. Julio, 2014, Vol. 2014, p.8

KRÄMER, Klaus; HOPPE, Peter Paul and PACKER, Lester. Nutraceuticals in Health and Disease Prevention. 1 Ed. New York- Basel, USA: Marcel Dekker, Inc. 2001, 318p. ISBN 9780824704926

KUSHI, Lawrence H.; FOLSOM, Aaron R.; PRINEAS, Ronald J.; MINK, Pamela J.; WU, Ying; BOSTICK, Roberd M. Dietary Antioxidant Vitamins and Death from Coronary Heart Disease in Postmenopausal Women. En: New England Journal of Medicine. Mayo, 1996, Vol. 334, No. 18, p.1156-1162.

KUSKOSKI, E. Marta; ASUERO, Agustín G.; TRONCOSO, Ana M; MANCINI-FILHO, Jorge; FETT, Roseanne. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. En: Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas, 2005. Vol. 25, No. 4, p.726-732.

LAGANÁ, A; ANGIOLINI, C; LOPPI, S; SALERNI, E; PERINI, C; BARLUZZI, C; DE DOMINICIS, V. Periodicity, fluctuations and successions of macrofungi in fir forests (*Abies alba Miller*) in Tuscany, Italy. En: Forest ecology and management. Octubre, 2002. Vol. 169, No 3, p. 187-202

LEBEN HERNÁNDEZ, Rodolfo [en línea]. Propiedades medicinales y nutrimentales de los hongos comestibles. Disponible en: <http://www.leben.com.mx/?p=38> [citado 2 octubre, 2016]

LENAZ, Giorgio. The Mitochondrial Production of Reactive Oxygen Species: Mechanisms and Implications in Human Pathology. En: IUBMB Life. September, 2001. Vol. 52, No.3-5, p. 159–164

LEONOWICZ, Andrzej; MATUSZEWSKA, Anna; LUTEREK, Jolanta; ZIEGENHAGEN, Dirk; WOJTAŁE-WASILEWSKA, Maria; CHO, Nam-Seok; HOFRICHTER, Martin; ROGALSKI, Jerzy. Biodegradation of lignin by White rot fungi. En: Fungal Genetics and Biology. Julio, 1999. Vol. 27, No. 2-3, p. 175-185

LI, Yan-Feng and LIU, Zai-Qun. Original Contribution Dendritic antioxidants with pyrazole as the core: Ability to scavenge radicals and to protect DNA. En: Free Radical Biology & Medicine. Junio, 2012. Vol. 52, No. 1, p.103–108

LONDOÑO LONDOÑO, Julian. Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. En: métodos para la medición de la actividad antioxidante: Corporación Universitaria Lasallista, marzo 2012. p. 129-162

LÓPEZ CASTILLO, Ana Llancys Y CASTILLO ARAÚ, Bayardo Antonio. Validación del mucílago de café para la producción de etanol y abono orgánico. Trabajo de grado (Ingeniero Agroindustrial). Universidad Nacional De Ingeniería, Sede Regional del Norte, Recinto Universitario Augusto C. Sandin, Estelí-Nicaragua, 2012, 70p.

LÓPEZ MARTÍNEZ, Rubén. Ecología de los hongos patógenos para el hombre. En: Revista Mexicana de Micología. 2005. No 21, p. 85-92

LÓPEZ RAMÍREZ, Armando. El Género *Pleurotus* y su Diversificación Taxonómica en Especies. En: Fungicultura. Instituto de investigaciones Forestales. Veracruz, México. Febrero, 2014. No. 14.

LULEY, Christopher J. Identificación del tipo de pudrición de la madera y hongos xilófagos en árboles urbanos. Traducción (LLORENS, Jacobo). En: Sociedad Internacional De Arboricultura, ISA Hispana. [En línea], abril 2006. [Citado 14, octubre 2016]. Disponible en: <http://www.isahispana.com/treecare/articles/decay-fungi.aspx>

LUNA FONTALVO, Jorge Alberto.; CÓRDOBA LÓPEZ, Laura Sofía; GIL PERTUZ, Karina Isabel; ROMERO BORJA, Isaac Manuel. Efecto de Residuos Agroforestales Parcialmente Biodegradados por *Pleurotus Ostreatus* (Pleurotaceae) Sobre el Desarrollo de Plántulas de Tomate. En: Acta Biol. Colomb. Agosto, 2013. Vol.18, No.2

LUNA LÓPEZ, Armando. Mecanismos endógenos de generación de especies reactivas de oxígeno y respuesta celular antioxidante ante el estrés oxidativo: Envejecimiento humano una visión transdisciplinaria. 1 ed. México: Instituto De Geriatria, 2010. 393p.

MAESTRO DURAN, R. y BORJA PADILLA, R. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. En: Grasas y Aceites, 1993. Vol. 44, No. 2, p.101-106

MALDONADO SAAVEDRA, Octavio; JIMÉNEZ VÁZQUEZ, Eric Nahúm; BERNABÉ GUAPILLO VARGAS, Mario Roberto; CEBALLOS REYES, Guillermo Manuel; MÉNDEZ BOLAINA, Enrique. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. En: Rev Méd UV. Agosto, 2010. Vol. 10, No. 2, p.32-39

MANSUR, Mariana; SUÁREZ, Teresa; FERNÁNDEZ-LARREA, Juan; BRIZUELA MANSUR, A.; GONZÁLEZ, Aldo. Identification of a laccase gene family in the new

lignin-degrading basidiomycete CECT 20197. En: Applied and Environmental Microbiology, 1997, Vol. 63, p. 2637-2646.

MAU, Jeng-Leun; TSAI, Shu-Yao; TSENG, Yu-Hsiu; HUANG, Shih-Jeng. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsuage*. En: Food Chemistry. December, 2005. Vol. 93, No. 4, p.641-9.

MEDINA AGUDO, Laura. Técnicas para la determinación de compuestos antioxidantes en alimentos. En: Autodidacta. 2012, p. 27-34. ISSN: 1989-9041

MEJÍA HERNANDEZ, Cristina. Extracción, fraccionamiento y valoración de la actividad Antioxidante in vitro del aceite esencial de pulpa de *Carica candamarcensis*. Trabajo de grado (Química). Nariño: Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Química, 2012. 110p.

MIGLIORE, Lucia and COPPEDÈ, Fabio. Environmental-induced oxidative stress in neurodegenerative disorders and aging. En: Mutation Research /Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. Marzo, 2009. Vol. 674, No. 1-2, p. 73-84

MILES, Philip G, and CHANG, Shu-Ting. Biología de las setas. Fundamentos básicos y acontecimientos actuales. Singapore, New Jersey: World Scientific. 1 ed. en español. Bogotá: Instituto Zeri para Latinoamérica. 1999, 206p.

MILES, Philip. G. and CHANG, Shu-Ting. Mushrooms: Biology-Concise Basics and Current Developments. Singapore: World Scientific. 1997. 194p

CHANG, Shu-Ting and MILES, Philip. G. Mushrooms: Cultivation, Nutritional value, Medicinal Effect, and Environmental Impact. 2 Ed. Boca Raton: CRC PRESS. 2004. 477p.

MILLER, James N. & MILLER, Jane C. Estadística y quimiometría para química analítica. 4 Ed. Madrid, PEARSON EDUCACIÓN, S.A. 2002, 286p.

MILOVANOVIĆ, Ivan; STAJIĆ, Mirjana; ČILERDŽIĆ, Jasmina; STANOJKOVIĆ, Tatjana; KNEŽEVIĆ, Aleksandar and VUKOJEVIĆ, Jelena. Antioxidant, antifungal and anticancer activities of se-enriched *Pleurotus spp.* Mycelium extracts. En: Arch. Biol. Sci., Belgrade. 2014. Vol. 66, No.4, p.1379-1388

MOHAMED, Eman Mostafa and FARGHALY, Fatma Ali. Bioactive Compounds of Fresh and Dried *Pleurotus ostreatus* Mushroom. En: International Journal of Biotechnology for Wellness Industries. 2014. Vol. 3, No. 1, p. 4-14

MOLYNEUX, Philip. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. En: Songklanakarin Journal of Science and Technology. 2004. Vol. 26, p. 211-219

MONTGOMERY, DOUGLAS C. Diseño y análisis de experimentos. 2 Ed. México, DF: Limusa Wiley. 2004, 850p.

MONTGOMERY, Douglas C. & RUNGER, George C. Probabilidad y estadística aplicadas a la ingeniería. 2 Ed. México: Limusa Wiley. 2002, 817p

MONTERO, María. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. En: Revisión. Ann Fac. Med. 1996. Vol.57, No.4, p.278-81.

NIETO, Ivonne Jeannette; CHEGWIN, Carolina A. Influencia del sustrato utilizado para el crecimiento de hongos comestibles sobre sus características nutraceuticas. En: Rev. Colomb. Biotecnol. 2010. Vol. 12, No. 1, p. 169-178.

NOGUCHI, Noriko and NIKI, Etsuo. Chemistry of active oxygen species and antioxidants. En: PAPAS, Andreas M. Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health. 1 ed. Boca Raton: CRC PRESS. 1999, p. 3-20

NOGUEIRA PAZ, Emilio José. Estudio de la respuesta celular a SOK1 y mecanismos de regulación. Trabajo de grado (Doctor). Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Medicina. Departamento de Fisiología, 2008. 194p.

NUILA COTO, Ramón Wilberto [En línea]. Compost humificado: proceso rentable y amigable con el ambiente usando residuos de la producción de palma africana. Buenos Aires, agosto 2011. Disponible en: <http://www.agromeat.com/15649/compost-humificado-proceso-rentable-y-amigable-con-el-ambiente-usando-residuos-de-la-produccion-de-aceite-de-palma-africana>

OYETAYO, Victor O. and ARIYO, Olatomiwa O. Micro and Macronutrient Properties of *Pleurotus ostreatus* (Jacq: Fries) Cultivated on Different Wood Substrates. En: Jordan Journal of Biological Sciences. Marzo, 2013. Vol. 6, No.3, p.223-226

OYETAYO, Victor and. ARIYO, Olatomiwa O. Antimicrobial and Antioxidant Properties of *Pleurotus ostreatus* (Jacq: Fries) Cultivated on Different Tropical Woody Substrates. En: Journal of Waste Conversion, Bioproducts and Biotechnology Febrero, 2013. Vol. 1, No. 2, p. 28–32

PALACIOS ROMERO, Irene. Extracción y caracterización de polisacáridos y estudio del perfil de compuestos volátiles en hongos comestibles. Trabajo de grado (doctorado). Universidad de Valladolid. Valladolid, 2015.

PAPAS, Andrea M. Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health. Florida: CRC Press, 1999. 656p.

PAPAS, Andrea M. Diet and Antioxidant Status. En: Food and Chemical Toxicology. Octubre, 1999. Vol.37, No. 9-10, p. 999-1007

PARDAVÉ DÍAZ, Lidia Marisela; FLORES PARDAVÉ, Lizbeth; FRANCO RUÍZ ESPARZA, Verónica; CALLEJAS HERNÁNDEZ, Verónica. Distribución de los hongos venenosos conocidos en el estado de Aguascalientes. En: Investigación y Ciencia. 2006, Vol. 35, p. 31-36

PARIHAR, Sanjay; PITHAWALA, E. A.; JAIN, N. K. and MODI, H. A. Total phenolic content and antioxidant activity of *Pleurotus ostreatus*, *Agaricus bisporus*, *Coprinus comatus* and *Volvareilla volvacea* mushrooms collected from mahal forest of dang district, Gujarat. En: Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research. 2014. Vol. 4, No.3, p.20-26

PARIHAR, Sanjay; VIRANI, Kartik D.; PITHAWALA, E. A.; SHUKLA, M. D; LAHIRI S. K.; JAIN, N. K. and MODI, H. A. Phytochemical screening, total, phenolic content, antibacterial and antioxidant activity of wild edible mushroom *Pleurotus ostreatus*. En: International Research Journal Of Pharmacy. Febrero, 2015. Vol. 6, No.1, p.65-69

PATIL, Shyam S.; AHMED, Syed A.; TELANG, Suresh M.; BAIG V., Mirza M. The nutritional value of *Pleurotus ostreatus* (jacq.:fr.) Kumm cultivated on different lignocellulosic agrowastes. En: Innovative Romanian Food Biotechnology, 2010, Vol. 7, p. 66-76

PATRA, Sukesh; PATRA, Pradip; MAITY, Kankan K.; MANDAL, Soumitra; BHUNIA, Sanjay K.; DEY, Biswajit; DEVI P., Sanjana K.; KHATUA, Somanjana; ACHARYA, Krishnendu; MAITI, Tapas K.; ISLAM, Syed S. A heteroglycan from the mycelia of *Pleurotus ostreatus*: structure determination and study of antioxidant properties. En: Carbohydrate Research. Marzo, 2013. Vol. 368, p. 16-21.

PÉREZ GASTELL, Pedro Luis y PÉREZ DE ALEJO, José Luis. Métodos para medir el daño oxidativo. En: Rev Cubana Medicina Militar, 2000, Vol. 29, No. 3, p.192-198

PICORNELL, María Raquel; PARDO, Arturo; DE JUAN, José Arturo; PARDO, J. E. Suplementación de sustratos degradados por el cultivo de *Pleurotus ostreatus* para la utilización en nuevos ciclos de vida. En: Agronomía Colombiana. Junio, 2015. Vol. 33, No.2, p. 261-270. DOI: 10.15446

PIEDRA NARANJO, Ricardo. Manejo Biológico de Nematodos Fitoparásitos con Hongos y Bacterias. En: Tecnología en Marcha. Marzo, 2008 .Vol. 21, No.1, p. 123-132

PRIOR, Ronald L.; WU, Xianli; and SCHAICH, Karen. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. En: Journal of Agricultural and Food Chemistry. Mayo, 2005. Vol. 53, No. 10, p. 4290–4302

QUINTERO DÍAZ, Juan Carlos. Revisión: Degradación de Plaguicidas Mediante Hongos de la Pudrición Blanca de la Madera. En: Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín, Colombia. Febrero, 2011. Vol. 64, No 1, p.5867-5882

QUINTERO D., Juan C.; FEIJOO C., Gumersindo y LEMA R., Juan M. Producción De Enzimas Ligninolíticas Con Hongos Basidiomicetos Cultivados Sobre Materiales Lignocelulósicos. En: Vitae, revista de la facultad de química farmacéutica. Universidad de Antioquia, Medellín – Colombia, 2006, Vol. 13, No. 2, p. 61-67

RE, Roberta; PELLEGRINI, Nicoletta; PROTEGGENTE, Anna; PANNALA, Ananth; YANG, Min; RICE-EVANS, Catherine. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. En: Free Radical Biology & Medicine. Mayo, 1999. Vol. 26, No. 9-10, p.1231–1237

REIS, Filipa S.; MARTINS, Anabela; BARROS, Lillian; FERREIRA, Isabel C.F.R. Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: A comparative study between in vivo and in vitro samples. En: Food and Chemical Toxicology. Mayo, 2012. Vol. 50, No. 5, p. 1201–1207

RINCÓN, Luis E.; CUESTA, Andrea P. y FELI, Erika R. Calculo del cambio en emisiones generadas asociadas a la expansión de cultivos de palma aceitera en Colombia. Manizales- Colombia: FAO, 2013. 3p.

RODRÍGUEZ VALENCIA, N.; GÓMEZ CASTRO, F. Cultivo de hongos comestibles en pulpa de café. En: Avances Técnicos Cenicafé. 2001. Vol. 285, p.1-8

RODRÍGUEZ VALENCIA, Nelson y JARAMILLO LÓPEZ, Carmenza. Cultivo de hongos comestibles del género *Pleurotus* sobre residuos agrícolas de la zona cafetera. CENICAFÉ, Federación nacional de Cafeteros. Chinchiná-Caldas, Colombia. Octubre, 2004. 61p.

RODRIGUEZ VALENCIA, Nelson. Manejo de residuos en la agroindustria cafetera. CENICAFE. Seminario internacional: gestión integral de residuos sólidos y peligrosos. Siglo XXI. Manizales-Colombia, 2012. 10p.

RODRIGUEZ, Gustavo. Cultivo De Hongos Comestibles. En: Fruticultura & Diversificación. Marzo, 2007. No. 52, p. 10-15

ROMERO SUÁREZ. Nelson. La revolución en la toma de decisiones estadísticas: el p-valor. En: Telos. Septiembre-diciembre, 2012. Vol. 14, No. 3, p. 439-446

ROSALES MORALES, Lui Adán. Biorremediación de suelos contaminados con aceite de automóvil con el hongo de la pudrición blanca *Pleurotus ostreatus* (setas) en Durango. Trabajo de grado (maestro en ciencias de gestión ambiental). Durango: Instituto Politécnico Nacional, centro interdisciplinario de investigación para el desarrollo integral regional unidad Durango, 2008. 97p.

RUIZ RODRIGUEZ, Alejandro; SANTOYO, Susana; SOLER RIVAS, Cristina. Antioxidant Properties of Edible Mushrooms. En: Functional Plant Science and Biotechnology-Global Science Books. Marzo, 2009. Vol.3, No. 1, p. 91-102.

SALAS DE LA T., Norma; BAZÁN G, Dora; CORNEJO S., Oscar; OSORIO A., Ana; BRAVO A., Marta; LENGUA C., Rosa; BECERRA B., Elvira; CARHUANCHO A., Hilda y AGUIRRE M., Rosa. Estudio del Valor Nutricional y Propiedades Físicoquímicas y Bioquímicas de *Pleurotus ostreatus*. En: Revista Peruana Química e Ingeniería Química. Diciembre, 2004. Vol. 7, No. 2, p. 40-45

SALDARRIAGA OSORIO, Yamile y PINEDA GUTIÉRREZ, Fabio. Manual de micología aplicada. 1 ed. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia. 2001, 97p.

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

SANDOVAL DUARTE, Héctor. De Nariño a la taza: Campesinos, junto a organizaciones. En: EL ESPECTADOR, Bogotá-Colombia (21, agosto, 2011)

SANTOS RÍOS, Gloria Inés [en línea]. Diagnóstico y propuesta para la gestión de los residuos sólidos generados por el proceso de extracción de aceite crudo de la Palma Africana en palmas oleaginosas BUCARELIA S.A. Bucaramanga, 2007, 84p Trabajo de grado (especialista en química ambiental), Universidad Industrial de Santander. Especialización en química ambiental. Disponible en: <http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/7044/2/123928.pdf>

SCHWARZE, Francis W.; ENGELS, Julia; MATTHECK, Claus. Fundamental aspects. En: Fungal Strategies of Wood Decay in Trees, Springer. 2000, p. 5-31

SEEBOLDT, Sandra Y SALINAS ABDALA, Yamile. Responsabilidad y sostenibilidad de la industria de la palma ¿son factibles los principios y criterios de la RSPO en Colombia? En: Indepaz. Febrero 2010. ISBN: 978-958-8397-07-8. 76p.

SHIREEN, K.F.; PACE, R. D.; MAHBOOB, m.; KHAN, A. T. Effects of dietary vitamin E, C and soybean oil supplementation on antioxidant enzyme activities in liver and

muscles of rats. En: Food and Chemical Toxicology. Octubre, 2008. Vol.46, No. 10, p. 3290–329

SIES, Helmut. Strategies of antioxidant defense. En: Eur. J. Biochem. Reviews. Marzo, 1993. Vol. 215, No. 2, p. 213-219

SINGH, Vinita; PANDEY, Rajshree and VYAS, Deepak. Antioxidant potentiality of *Pleurotus ostreatus* (MTCC142) cultivated on different agro wast. En: Asian Journal of Plant Science and Research. 2015. Vol. 5, No.6, p.22-27

SINGH, B.K. and KUHAD, R.C. Biodegradation of lindane gamma-hexachlorocyclohexane by the white-rot fungus *Trametes hirsutus*. En: Letters in Applied Microbiology. 1999. Vol. 28, No 3, p. 238-241

SINGH, Vinita; PANDEY, Rajshree; VYAS, Deepak and SHEIKH, Imtiyaz Ahmad. *Pleurotus ostreatus* produces antioxidant and anti-arthritic activity in wistar albino rats. En: World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Abril, 2015, Vol. 4, No.05, p.1230-1246.

SINGLETON, Vernon L.; ORTHOFER, Rudolf; LAMUELA-RAVENTÓS, Rosa M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. En: Methods in Enzymology, 1999, Vol. 299, p. 152–178

SINGLETON, V. L. and ROSSI, Joseph A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. En: American Journal of Enology and Viticulture. Enero, 1965. Vol. 16, No. 3, p. 144-158

SOLOMON, Eldra P.; BERG, Linda R.; MARTIN, Diana W. Biología. 9 ed. México D. F.: Cengage Learning. 2013, 1420p.

SOLOMON, Eldra P.; BERG, Linda R.; MARTIN, Diana W.; VILLEE, Claudia A. Biología de Villee. 3 ed. México, D.F.: Interamericana McGraw-Hill. 1996

SORG, Olivier. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? En: Comptes Rendus Biologies. Julio, 2004. Vol. 327, No. 7, p. 649-662

STAMETS, Paul and YAO, Dusty Wu Carolyn. Mycomedicinals: An Informational Booklet on Medicinal Mushrooms. Olympia: MycoMedia Productions. 2002, 46p. ISBN: 0963797190

STEFAN, Roxana I.; VAMANU, Emanuel and ANGELESCU, Gelu Cătălin. Antioxidant Activity of Crude Methanolic Extracts from *Pleurotus Ostreatus*. En: Research Journal of Phytochemistry, 2015, Vol. 9, No.1, p.25-32

SYNYTSYA, Andriy; MÍČKOVÁ, Katerina; SYNYTSYA, Alla; JABLONSKY', Ivan; SPEVÁČEK, Jirí; ERBAN, Vladimír; KOVÁŘÍKOVÁ, Eliška; ČOPÍKOVÁ, Jana.

Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. En: Carbohydrate Polymers, May, 2009. Vol. 76, No. 4, p. 548–556

TORRES, Wilhelm Hansberg. Biología de las Especies reactivas de oxígeno. En: Mensaje Bioquímico. 2002. Vol. 26, p.19-53

TRESSL, Roland; BAHRI, Daound; ENGEL, Karl Heinz. Formation of eight-carbon and ten-carbon components in mushrooms (*Agaricus campestris*). Journal Agricultural and Food Chemistry. January, 1982. Vol. 30, No. 1, p.89–93

TURRENS, Julio F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. En: J.Physiol. Octubre, 2003. Vol. 552, No. 2, p.335-344

UGARTONDO CASADEVALL, Vanessa. Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales. Citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estrés oxidativo en modelos celulares. Trabajo de grado (Doctor). Barcelona: Universidad de Barcelona. Facultad de farmacia. Departamento de Fisiología, 2009. 190p.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA. Análisis de la Varianza. [En línea]. <http://www.fca.proed.unc.edu.ar/mod/book/view.php?id=6305&chapterid=1184> [citado 4 de diciembre 2016]

URBINA BONILLA, Adriana del Pilar. Nuevo papel de los radicales libres de oxígeno en el ejercicio: ¿otra paradoja? En: Colomb Med. 2008. Vol. 39, No. 3, p.266-75

USME, Wilson; ARIAS, Mauricio; RESTREPO, Dora Patricia & CARDONA, Fernando. Utilización de los hongos de pudrición blanca para la biodegradación de contaminantes orgánicos. En: BioTecnología. Vol. 9, No.1. p. 8-17

VAMANU, Emanuel. Antioxidant properties of mushroom mycelia obtained by batch cultivation and tocopherol content affected by extraction procedures. En: Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International. Junio, 2014. Vol. 2014, 8p.

VARNERO, María T.; QUIROZ, Madelaine S. y ÁLVAREZ, Cristian H. Utilización de Residuos Forestales Lignocelulósicos para Producción del Hongo Ostra (*Pleurotus ostreatus*). En: Información Tecnológica. 2010. Vol. 21, No.2, p 13-20

VIEIRA FONTES, Patricia A.; VIEIRA, Breno C.; GONTIJO, Douglas.C.; FONTES, Edimar A. F.; DE ASSUNÇÃO, Laélia Soares; Leite, João Paulo V.; OLIVEIRA, Maria Goreti de A.; KASUYA, Maria Catarina M. Antioxidant Activity and Total Phenolics in *Pleurotus ostreatus* Mushrooms Enriched with Iron, Zinc or Lithium. En: LWT - Food Science and Technology. Julio, 2013. Vol. 54, No.2, p.421-425

WASSER, S. P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. En: Applied Microbiology and Biotechnology. November, 2002. Vol. 60, No. 3, p 258–274.

WRIESSNEGGER, T.; PICHLER, H. Yeast metabolic engineering--targeting sterol metabolism and terpenoid formation. En: Prog. Lipid. Res. July, 2013. Vol.52, N° .3, p. 277-93.

YILMAZ, Ayşenur; YILDIZ, Sibel; TABBOUCHE, Sana; KILIÇ, A. Ceyhun; CAN, Zehra. Total phenolics, flavonoids, tannin contents and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* cultivated on different wastes and sawdust. En: International Journal of Secondary Metabolite. Mayo, 2016. Vol. 4, No.1, p.1-9

YILMAZ, Ayşenur; YILDIZ, Sibel; TABBOUCHE, Sana; KILIÇ, A. Osman; CAN, Zehra. Total Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Properties of *Pleurotus ostreatus* Grown on Lime (*Tilia Tomentosa*) Leaves. En: Hacettepe Journal Biology & Chemistry. Enero, 2016. Vol. 44, No. 2, p.119–12

YIM, Hip Seng; CHYE, Fook Yee; HO, Swee Kheng and HO, Chun Wai. Phenolic profiles of selected edible wild mushrooms as affected by extraction solvent, time and temperatura. En: As. J. Food Ag-Ind. 2009. Vol. 2, No.3, p.392-401

YIM, Hip Seng; CHYE, Fook Yee; TAN, C. T. ; Ng YC and HO, Chun Wai. Antioxidant Activities and Total Phenolic Content of Aqueous Extract of *Pleurotus ostreatus* (Cultivated Oyster Mushroom). En: Malaysian journal of nutrition. Agosto, 2010. Vol. 16, No. 2, p. 281-291

ZHANG, Yunxia; DAI, Ling; KONG, Xiaowei and CHEN, Liangwen. Characterization and *in vitro* antioxidant activities of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus*. En: International Journal of Biological Macromolecules. Octubre, 2012. Vol. 51, p. 259-265

ZULETA, A.; ESTEVE, M.J. and FRÍGOLA, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. En: Food Chem. Mayo, 2009 Vol.114, No. 1, p. 310-316

ZULUAGA, Sandra. Elementos para modificar el fondo de estabilización de precios para el palmiste, el aceite de palma y sus fracciones. Bogotá-Colombia: Fedesarrollo. Marzo, 2011. 133p.

## ANEXOS

Anexo A. Absorbancias de soluciones patrón de ácido gálico a diferentes concentraciones con Folin-Ciocalteu a 750nm

Ácido Gálico [ppm] <sup>a</sup>	Abs. $\bar{y}^b$	$\sigma^c$	%CV <sup>d</sup>	IC 95% <sup>e</sup>
10	0,041	5,77E-04	1,420	0,0399-0,0414
	0,040	5,77E-04	1,456	
	0,042	5,77E-04	1,386	
30	0,097	5,77E-04	0,597	0,0953-0,0964
	0,095	5,77E-04	0,606	
	0,096	1,15E-03	1,207	
60	0,178	5,77E-04	0,324	0,1771-0,1791
	0,177	5,77E-04	0,327	
	0,179	5,77E-04	0,322	
100	0,287	5,77E-04	0,201	0,2847-0,2870
	0,284	5,77E-04	0,203	
	0,286	1,00E-03	0,350	
150	0,425	1,00E-03	0,235	0,4228-0,4250
	0,422	1,53E-03	0,362	
	0,424	5,77E-04	0,136	
200	0,560	5,77E-04	0,103	0,5574-0,5595
	0,557	1,00E-03	0,180	
	0,559	1,53E-03	0,273	
250	0,696	1,53E-03	0,219	0,6936-0,6959
	0,693	5,77E-04	0,083	
	0,695	5,77E-04	0,083	

a, concentración de patrones de ácido gálico; b, absorbancia promedio de la solución; c, desviación estándar; d, porcentaje coeficiente de variación; e, intervalo de confianza (95%). Fuente: Esta investigación

Anexo B. Contenido de fenoles totales en los extractos del cuerpo fructífero de *P. ostreatus* cultivados en los 7 sustratos.

Sustrato de cultivo <sup>a</sup>	RC <sup>b</sup>	Fenoles totales <sup>c</sup>			$\bar{y}^d$	$\sigma^e$	%CV <sup>f</sup>
		R1	R2	R3			
T1	1	0,5378	0,5403	0,5517	0,5433	7,437E-03	1,3688
	2	0,5631	0,5669	0,5553	0,5618	5,904E-03	1,0509
	3	0,5460	0,5457	0,5501	0,5473	2,501E-03	0,4569
	4	0,5532	0,5489	0,5495	0,5505	2,327E-03	0,4227
T2	1	0,4094	0,4082	0,4082	0,4086	6,738E-04	0,1649
	2	0,4072	0,4009	0,4076	0,4052	3,730E-03	0,9204
	3	0,4117	0,4095	0,4130	0,4114	1,794E-03	0,4361
	4	0,4166	0,4217	0,4209	0,4197	2,732E-03	0,6508
T3	1	0,5140	0,5198	0,5177	0,5172	2,934E-03	0,5672
	2	0,5185	0,5111	0,5064	0,5120	6,076E-03	1,1867
	3	0,5048	0,5067	0,5083	0,5066	1,795E-03	0,3543
	4	0,5100	0,5077	0,5120	0,5099	2,135E-03	0,4186
T4	1	0,5096	0,5156	0,5130	0,5127	2,978E-03	0,5808
	2	0,5215	0,5257	0,5140	0,5204	5,892E-03	1,1323
	3	0,5128	0,5057	0,5181	0,5122	6,197E-03	1,2099
	4	0,5130	0,5233	0,5281	0,5214	7,728E-03	1,4820
T5	1	0,8826	0,8801	0,8746	0,8791	4,063E-03	0,4622
	2	0,8542	0,8474	0,8506	0,8507	3,354E-03	0,3942
	3	0,8650	0,8689	0,8708	0,8682	2,932E-03	0,3378
	4	0,8736	0,8605	0,8516	0,8619	1,105E-02	1,2822
T6	1	0,5820	0,5860	0,5836	0,5839	2,034E-03	0,3484
	2	0,5869	0,5974	0,5974	0,5939	6,101E-03	1,0272
	3	0,5894	0,5945	0,5905	0,5915	2,687E-03	0,4543
	4	0,6075	0,6005	0,6017	0,6032	3,712E-03	0,6154
T7	1	0,4205	0,4191	0,4256	0,4217	3,425E-03	0,8121
	2	0,4133	0,4135	0,4172	0,4147	2,156E-03	0,5199
	3	0,4175	0,4186	0,4134	0,4165	2,774E-03	0,6660
	4	0,4358	0,4285	0,4244	0,4296	5,791E-03	1,3481

a: Pulpa de café (T1), pulpa de café con granza de avena (T2), bagazo de fique (T3), bagazo de fique con granza de avena (T4), raquis de palma aceitera (T5), raquis de palma aceitera con granza de avena (T6), granza de avena (T7); b, replica de cultivo; c, contenido de fenoles totales, *mg AG/g base seca de cuerpo fructífero*; c, promedio contenido de fenoles totales; d, desviación estándar; f, porcentaje coeficiente de variación. Fuente: Esta investigación.

Anexo C. Curva de calibración para AAT con Trolox, Absorbancia promedio de soluciones Trolox a diferentes concentraciones con ABTS<sup>+</sup> a 734nm.

<i>Trolox [mM]<sup>a</sup></i>	<i>Abs. <math>\bar{y}</math><sup>b</sup></i>	<i>s<sup>c</sup></i>	<i>%CV<sup>d</sup></i>	<i>IC (95%)<sup>e</sup></i>
0,0	0,034	5,77E-04	1,698	0,0337-0,0345
	0,034	5,77E-04	1,715	
	0,035	5,77E-04	1,665	
0,3	0,112	1,15E-03	1,034	0,1104-0,1132
	0,110	5,77E-04	0,525	
	0,114	5,77E-04	0,508	
0,5	0,169	1,00E-03	0,591	0,1683-0,1697
	0,170	5,77E-04	0,340	
	0,168	5,77E-04	0,344	
0,7	0,230	1,00E-03	0,434	0,2293-0,2307
	0,231	1,53E-03	0,662	
	0,229	5,77E-04	0,252	
1,0	0,315	5,77E-04	0,183	0,3115-0,3167
	0,310	2,65E-03	0,853	
	0,317	1,15E-03	0,364	
1,5	0,462	1,00E-03	0,216	0,4557-0,4610
	0,457	5,77E-04	0,126	
	0,456	5,77E-04	0,127	
2,0	0,603	1,00E-03	0,166	0,6008-0,6047
	0,605	5,77E-04	0,095	
	0,600	5,77E-04	0,096	

a, concentración de patrones Trolox; b, absorbancia promedio de la solución; c, desviación estándar; d, porcentaje coeficiente de variación; e, intervalo de confianza (95%). Fuente: Esta investigación

Anexo D. Actividad Antioxidante Total (AAT) en los extractos del cuerpo fructífero de *P. ostreatus* cultivados en 7 sustratos.

Sustrato De Cultivo <sup>a</sup>	RC <sup>b</sup>	AAT <sup>c</sup>			$\bar{y}^d$	$\sigma^e$	%CV <sup>f</sup>
		R1	R2	R3			
T1	1	0,14244	0,14428	0,14637	0,14437	1,97E-03	1,364
	2	0,14885	0,14551	0,14731	0,14722	1,67E-03	1,135
	3	0,14681	0,14575	0,14415	0,14557	1,34E-03	0,921
	4	0,14464	0,14355	0,14601	0,14473	1,23E-03	0,850
T2	1	0,07158	0,07047	0,07247	0,07151	1,00E-03	1,405
	2	0,07241	0,07414	0,07452	0,07369	1,13E-03	1,530
	3	0,07188	0,07315	0,07082	0,07195	1,17E-03	1,621
	4	0,07429	0,07284	0,07478	0,07397	1,01E-03	1,360
T3	1	0,12191	0,12334	0,11904	0,12143	2,19E-03	1,806
	2	0,12129	0,11852	0,12022	0,12001	1,40E-03	1,164
	3	0,12332	0,12149	0,12263	0,12248	9,22E-04	0,753
	4	0,12058	0,12297	0,11962	0,12106	1,73E-03	1,427
T4	1	0,09992	0,10234	0,10153	0,10126	1,24E-03	1,221
	2	0,10117	0,09969	0,10364	0,10150	1,99E-03	1,963
	3	0,10087	0,10248	0,09926	0,10087	1,61E-03	1,594
	4	0,10005	0,09889	0,10236	0,10043	1,76E-03	1,757
T5	1	0,21214	0,21573	0,21214	0,21334	2,07E-03	0,972
	2	0,21354	0,21731	0,21467	0,21517	1,93E-03	0,898
	3	0,21487	0,21780	0,21267	0,21512	2,57E-03	1,197
	4	0,20779	0,21263	0,21182	0,21075	2,59E-03	1,230
T6	1	0,11581	0,11350	0,11453	0,11461	1,16E-03	1,012
	2	0,11648	0,11512	0,11785	0,11648	1,36E-03	1,170
	3	0,11489	0,11570	0,11977	0,11679	2,62E-03	2,241
	4	0,11601	0,11802	0,11889	0,11764	1,48E-03	1,258
T7	1	0,08047	0,08151	0,08255	0,08151	1,04E-03	1,273
	2	0,07993	0,08089	0,08320	0,08134	1,68E-03	2,067
	3	0,08475	0,08308	0,08413	0,08399	8,45E-04	1,006
	4	0,08519	0,08388	0,08148	0,08351	1,88E-03	2,253

a: Pulpa de café (T1), pulpa de café con granza de avena (T2), bagazo de fique (T3), bagazo de fique con granza de avena (T4), raquis de palma aceitera (T5), raquis de palma aceitera con granza de avena (T6), granza de avena (T7); b, replica de cultivo; c, mmolTrolox/100g base seca de cuerpo fructífero; d, promedio AAT; e, desviación estándar; f, porcentaje coeficiente de variación. Fuente: Esta investigación).

## Anexo E. Preparación de reactivos

- El carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5%): se pesaron aproximadamente 15g de carbonato de sodio grado analítico; se sometió a calentamiento durante 1 hora y 30 minutos, posteriormente se llevó a un desecador por 30 minutos. Se pesó 7,5g de carbonato de sodio previamente secado en un beaker de 50mL; se adicionó 30mL de agua grado HPLC previamente calentada hasta una temperatura promedio de  $60^\circ\text{C}$ , para facilitar la disolución del sólido, se agitó con una varilla de vidrio hasta observar una completa disolución; la solución resultante se transvasó a un balón de aforo de 100mL, se llevó a aforo con agua grado HPLC.
- Solución madre de ácido gálico: aproximadamente 5mg de ácido gálico se sometieron a secado en una estufa a  $60^\circ\text{C}$  durante 2 horas, para eliminar la humedad adquirida con el ambiente; posteriormente se llevó a un desecador durante 30 minutos; del reactivo anterior, se pesó 25mg de ácido gálico, se diluyó en 10mL de metanol grado HPLC, la solución resultante se depositó en un balón de aforo de 25mL; se completó el aforo con metanol grado HPLC.
- Generación del catión-radical  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  (Ácido 2,2'-azino bis(3-etilbencen-tiazolina-6-sulfónico)): La solución madre del catión-radical  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  se obtuvo a partir de la reacción de una solución de ABTS al 7mM con una solución de persulfato de potasio al 2,45mM. Se pesaron 96mg del reactivo de ABTS en un beaker de 50mL; en otro beaker de 50mL se pesaron 16,89mg de persulfato de potasio, a cada beaker se le adicionó aproximadamente 5mL de metanol HPLC, se mezcló con un varilla de vidrio hasta que se observó la disolución completa de los reactivos; se juntaron las dos soluciones resultantes, haciendo lavados con metanol de los beakers correspondientes, para asegurar que no haya quedado reactivo en ellos; la solución resultante se transfirió a un matraz de aforo de 25mL, se adicionó metanol HPLC hasta completar aforo. Se cubrió el matraz de aforo con papel plástico negro y papel aluminio para evitar la descomposición del radical  $\text{ABTS}^{+\cdot}$  debido a la exposición a la luz se dejó a temperatura ambiente durante 16 horas, posteriormente se conservó en refrigeración hasta ser usado en las reacciones
- Solución patrón secundario de ácido ascórbico: Se preparó 10mL de una solución patrón de ácido ascórbico a una concentración 1mM; se pesó en un beaker de 50mL de capacidad 1,76mg de ácido ascórbico grado analítico; se diluyó en 2mL de metanol grado HPLC, se agitó con una varilla de vidrio; la solución resultante se transvasó a un balón de aforo de 10mL, se realizó lavados con metanol que se depositaron en el balón, finalmente se llevó a aforo con metanol grado HPLC; a esta solución se la denominó solución madre de ácido ascórbico.

- Solución madre Trolox (20mM): se pesó 50,1mg de Trolox (Pm: 250,3g/mol) grado analítico en un beaker de 50mL, se adicionó con una micropipeta 2000 $\mu$ L de metanol HPLC, se facilitó la disolución tras agitar la solución con una varilla de vidrio; la solución resultante se depositó en un balón aforado de 10mL y se procedió a hacer el aforo con metanol HPLC.