



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

“CARACTERIZACIÓN PROTEICA DEL HONGO
COMESTIBLE *Pleurotus ostreatus* EN CULTIVO CON
FINES NUTRICIONALES”.

Tesis que para obtener el título de
Licenciatura en Biología

PRESENTA:

MIRIAM VELA HERNÁNDEZ

DIRECTORA DE TESIS:

M. en C. ADRIANA RAMÍREZ VARGAS



PUEBLA, PUE.

NOVIEMBRE 2015

DEDICATORIAS

A Dios:

Por haberme permitido llegar a este momento, porque siempre estuvo conmigo en los momentos más difíciles, por todas las bendiciones y oportunidades que ha dejado en mi camino a lo largo de mi carrera y por darme fuerza para cumplir esta meta.

A mí querida Mamá:

Ernestina Hernández Mones

Quien siempre ha luchado por darme lo mejor, y por todo su amor, apoyo, confianza y comprensión. Y porque siempre ha sido mi pilar fundamental que me ha enseñado principios y valores que me han servido para consolidar mis metas propuestas a lo largo de mi vida.

A mis hermanos:

Karen, Edgar y Marco Antonio

Que siempre me han impulsado a seguir adelante y por el gran cariño y apoyo que me han brindado.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por la vida llena de bendiciones.

A mis padres Higinio y Ernestina por su amor, apoyo, confianza y comprensión.

A la Escuela de Biología por formarme como profesional con ética y valor.

A mi directora de tesis, M. en C. Adriana Ramírez Vargas por aceptar dirigir esta tesis, además de brindarme su apoyo, amistad, por compartir sus conocimientos, sabe que el apoyo y su amistad son bien correspondidos, gracias.

Al profesor M. en C. Héctor García Flores por sus consejos, confianza y apoyo. Que me ha enseñado grandes lecciones de vida y aprender a ser una persona con calidad humana.

A la Sra. Josefa Pérez García por el apoyo brindado para el cultivo de *Pleurotus* spp.

A mis mejores amigas Raquel, Lorena y Leticia, por haber compartido momentos tristes y alegres que son inolvidables. Gracias por su amistad.

IN MEMORIUM

Al Ing. Químico. Sergio Espinosa Morales por su apoyo en la determinación de grasa, y por las facilidades otorgadas en el laboratorio. Su vida fue de trabajo, estudio y compromiso dedicado a la química, tanto en la enseñanza como en la investigación. Muchas gracias por sus consejos y sugerencias.

Q.P.E.D.

A mi abuela, Cristina Cuatzo García quien en el camino de la vida, me cuidó, me guio y me ayudó a ser quien soy, quien siempre estuvo a mi lado en cada momento importante, allí estaba dándome su apoyo y cariño.

Q.P.E.D.

ABREVIATURAS

lb	Libra
min	Minuto
°C	Celsius
L	Litro
Kg	Kilogramos
g	Gramo
cm	Centímetro
ml	Milímetro
r.p.m	Revoluciones por minuto
N	Normalidad
μl	Microlitro
mg	Miligramo
nm	Nanometros
p.p.m	Partes por millón
pH	Potencial hidrogeno

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE	PÁGINAS
1.INTRODUCCIÓN	1
1.1 Características generales de los hongos	4
1.2 Diversidad fúngica	5
1.3 Macromicetos	6
1.4 Hongos comestibles silvestres	7
1.5 El cultivo de hongos comestibles	8
1.5.1 <i>Pleurotus ostreatus</i>	10
1.5.2 Clasificación taxonómica del género <i>Pleurotus</i>	12
1.5.3 Especies cultivadas de <i>Pleurotus</i>	13
1.5.4 Composición nutricional.....	13
1.5.5 Propiedades medicinales de las setas	16
1.5.6 Sustratos utilizados para el cultivo de <i>Pleurotus</i> spp.	18
2.ANTECEDENTES.....	19
3.JUSTIFICACIÓN.....	24
4.OBJETIVOS.....	25
Objetivo general.....	25
Objetivos particulares	25
5.MATERIAL Y MÉTODOS.....	26
5.1 Aislamiento de las cepas <i>P. ostreatus</i> CP-50 y <i>P. ostreatus</i> var. <i>columbinus</i>	26
5.2 Multiplicación del micelio en granos de trigo.	27
5.3 Preparación del sustrato	27
5.4 Inoculación del micelio en el sustrato.....	28
5.5 Fructificación y cosecha.....	28
5.6 Preparación de las muestras para las pruebas bromatológicas	29
5.6.1 Determinación de proteína total por el Método de Lowry	29
5.6.2 Extracción de grasa por el Método de Soxhlet.....	31
5.6.3 Determinación de fósforo por el Método de Bray	33
5.6.4 Determinación de fibra cruda por el Método de Digestión Ácida-Base..	34
5.6.5 Determinación de nitrógeno total por el método de Micro-Kjeldahl.	35
5.6.6 Determinación del perfil lipídico por Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-MS).	37

ÍNDICE GENERAL

5.7 Análisis estadísticos.....	37
5.8 Elaboración de tortillas enriquecidas con harina del hongo <i>P. ostreatus</i>	37
6.RESULTADOS.....	39
6.1 Aislamiento y propagación de las cepas <i>P. ostreatus</i> CP-50 y <i>P. ostreatus</i> var. <i>columbinus</i>	39
6.2 Multiplicación del micelio en granos de trigo.	40
6.3 Fructificación y cosecha.....	41
6.4 Análisis bromatológico.....	42
6.4.1 Proteína total.....	42
6.4.2 Grasa.....	44
6.4.3 Fósforo.....	44
6.4.4 Fibra cruda.....	45
6.4.5 Nitrógeno total.....	46
6.4.6 Perfil lipídico.....	46
6.5 Producto enriquecido con <i>P. ostreatus</i> CP-50.....	47
7.DISCUSIÓN.....	49
7.1 Aislamiento y propagación de las cepas <i>P. ostreatus</i> CP-50 y <i>P. ostreatus</i> var. <i>columbinus</i>	49
7.2 Multiplicación del micelio en granos de trigo.	50
7.3 Fructificación y cosecha.....	51
7.4 Análisis nutricional.....	53
7.4.1 Proteína total.....	53
7.4.2 Grasa.....	54
7.4.3 Fósforo.....	54
7.4.4 Fibra cruda.....	55
7.4.5 Nitrógeno.....	56
7.4.6 Perfil lipídico.....	56
7.5 Producto enriquecido con <i>P. ostreatus</i> CP-50.....	57
8.CONCLUSIONES.....	59
9.BIBLIOGRAFIA.....	60
10. ANEXOS.....	70

ÍNDICE DE FIGURAS	PÁGINAS
Figura 1. Producción comercial de hongos comestibles.....	9
Figura 2. Morfología del hongo comestible <i>Pleurotus ostreatus</i>	11
Figura 3. El ciclo reproductivo de un hongo basidiomiceto	12
Figura 4. Aislamientos y crecimientos de las cepas <i>Pleurotus</i> spp.....	26
Figura 5. Hidratación y tratamiento térmico del sustrato.....	27
Figura 6. Siembra del micelio sobre paja de trigo.....	28
Figura 7. A) Desarrollo de primordios del hongo <i>P. ostreatus</i> CP-50 y <i>P. ostreatus</i> var. <i>columbinus</i> en paja de trigo.	29
Figura 8. Proceso para la obtención del extracto	30
Figura 9. Extracción de grasas presentes en <i>P. ostreatus</i> CP-50 por el método de soxhlet.....	32
Figura 10. Recuperación del éter de petróleo por medio de un rotavapor.	32
Figura 11. Método para cuantificar fósforo.	34
Figura 12. Proceso para cuantificar el contenido de fibra cruda.	35
Figura 13. Oxidación de la materia orgánica y conversión del nitrógeno.	36
Figura 14. Elaboración de tortillas enriquecidas con harina de <i>P. ostreatus</i>	38
Figura 15. Crecimiento del micelio de <i>P. ostreatus</i> en medio de cultivo PDA.	39
Figura 16. Desarrollo del micelio del hongo <i>P. ostreatus</i> var. <i>columbinus</i> en medio de cultivo PDA.	40
Figura 17. Obtención del inóculo-grano para la producción de <i>P. ostreatus</i> CP-50	40
Figura 18. Fructificación del hongo <i>P. ostreatus</i> CP-50 y <i>P. ostreatus</i> var. <i>columbinus</i>	42

ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICAS

ÍNDICE DE TABLAS	PÁGINAS
Tabla 1. Clasificación de los hongos	5
Tabla 2. Clasificación taxonómica de <i>Pleurotus ostreatus</i>	12
Tabla 3. Contenido de proteína cruda, carbohidratos, grasa y fibra en especies cultivadas de hongos comestibles	14
Tabla 4. Contenido de vitaminas y minerales de algunos hongos comestibles cultivados	16
Tabla 5. Componentes activos con efecto medicinal de basidiomicetos	17
Tabla 6. Preparación de curva de albúminan por el Método de Lowry	31
Tabla 7. Concentración de fosfato para realizar la curva patrón de fósforo	33
Tabla 8. Fructificación de las dos variedades de <i>Pleurotus</i> spp. cultivados sobre paja de trigo.....	41
Tabla 9. Concentración y absorbancia del reactivo de BSA.	42
Tabla 10. Concentración y absorbancia de la dilución de fosfatos	44
Tabla 11. Componentes lipídicos detectados en cuerpos fructíferos de <i>Pleurotus ostreatus</i> por análisis CG-MS.	47

ÍNDICE DE GRÁFICAS	PÁGINAS
Gráfica 1. Curva estándar para la determinación de proteína.	43
Gráfica 2. Contenido de proteína en <i>P. ostreatus</i> y <i>P. ostreatus</i> var. <i>columbinus</i>	43
Gráfica 3. Curva de calibración de fósforo.	45
Gráfica 4. Porcentaje de aceptabilidad de las tortillas enriquecidas	48

RESUMEN

En México el cultivo de *Pleurotus ostreatus* constituye una excelente alternativa para obtener un alimento de buena calidad nutricional (Chang y Miles 2004). El hongo *P. ostreatus* se puede producir en grandes cantidades en áreas pequeñas, empleando técnicas sencillas, de bajo costo, en cortos periodos de tiempo, sin la necesidad de fumigarse ni fertilizarse, además de crecer sobre una gran variedad de desechos o subproductos agrícolas, dándoles una utilidad y favoreciendo su reciclaje.

En este trabajo se realizó un análisis bromatológico de *P. ostreatus*, las variables evaluadas fueron proteína, nitrógeno, grasa, perfil lipídico, fósforo y fibra cruda. Se realizó un análisis comparativo de proteína total y nitrógeno total entre las cepas *P. ostreatus* CP-50 y *P. ostreatus* var. *columbinus* cultivados en condiciones similares y usando como sustrato de crecimiento paja de trigo. La parte de aplicación e innovación propone elaborar tortillas de maíz enriquecidas con harina de *P. ostreatus* en forma de prueba piloto, con fines prospectivos.

Los resultados de contenido de proteína y nitrógeno total mostraron diferencias significativas entre las dos variedades de hongos, en donde *P. ostreatus* var. *columbinus* obtuvo el valor más alto con un 42.75% y 4.41% respectivamente. Los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* contienen 1.5% de grasa, 11.75% de fibra cruda, 3.05% de nitrógeno y 4.315 mg/100g de fósforo. En la cromatografía de lípidos de *P. ostreatus* se identificaron los siguientes componentes: ácido 13-trans octadecenoico (30.67%), 9,12-ácido octadecadienoico (24.25%), ácido hexadecanoico (19.52%) y ácido octadecanoico (10.33%). Por lo anterior los hongos del género *Pleurotus* spp. constituyen una magnífica fuente de proteínas y nutrientes de buena calidad, representando un alimento saludable y equilibrado para el consumo humano.

1. INTRODUCCIÓN

En México, los hongos comestibles silvestres son considerados como un recurso forestal no maderable de importancia alimentaria, ecológica, cultural y económica para las comunidades rurales (Garibay-Orijel *et al.*, 2006). El cultivo y producción de hongos comestibles, bajo condiciones controladas es una de las mejores alternativas para producir alimentos de buena calidad nutricional y con propiedades terapéuticas. Estos hongos presentan un elevado contenido de proteína, minerales, vitaminas y fibra en los cuerpos fructíferos, son además bajos en grasas y de fácil digestión. Las especies cultivadas y comercializadas en orden de importancia son los champiñones blancos y cafés (*Agaricus*), las setas (*Pleurotus*), el shiitake (*Lentinula*), el reishi (*Ganoderma*), el maitake (*Grifola*), y el cuitlacoche (*Ustilago*) (Martínez-Carrera *et al.*, 2012).

El hongo comestible *Pleurotus ostreatus* es la tercera seta de mayor comercialización a nivel internacional y la segunda a nivel nacional, el cual ha adquirido gran relevancia social, económica y ecológica. México es el mayor productor de hongos comestibles de Latinoamérica, y se ubica en el décimo octavo a nivel mundial, dado que su cultivo se desarrolla mayoritariamente en paja de trigo y en una amplia variedad de desechos lignocelulósicos (Martínez *et al.* 2000).

La Organización Mundial de la Salud¹ (OMS, 2014) define la nutrición como la ingesta de alimentos en relación con las necesidades dietéticas del organismo. De acuerdo a lo reportado por Pinto y Carbajal (2003, citado por Macías *et al.*, 2009, p.1131) que la nutrición a nivel biológico es el “conjunto de procesos mediante los cuales el hombre ingiere, absorbe, transforma y utiliza las sustancias que se encuentran en los alimentos y que tienen que cumplir cuatro importantes objetivos: 1) suministrar energía para el mantenimiento y procesos metabólicos en el organismo, 2) aportar materiales para la formación, crecimiento, reparación de las

¹ El concepto de nutrición establecido por la Organización Mundial de la Salud y se encuentra disponible en la dirección electrónica <http://www.who.int/topics/nutrition/es/>

estructuras corporales y para la reproducción, 3) suministrar las sustancias necesarias para regular los procesos metabólicos, 4) reducir el riesgo de algunas enfermedades.

Actualmente se considera que la alimentación de los seres humanos es el conjunto de procesos biológicos, psicológicos y sociológicos que se relacionan con la ingestión de alimentos que proveen al organismo de los nutrientes que necesita, así como lograr la satisfacción intelectual, emocional, estética y sociocultural que le es indispensable para tener una vida plena (Birujete-Guzmán *et al.*, 2009).

El Código Alimentario Español² (CAE, 2015) define alimento a todas las sustancias o productos de cualquier naturaleza, sólidos, líquidos, naturales o transformados que por sus características, aplicaciones, componentes, preparación y estado de conservación, sean susceptibles de ser habitual e idóneamente utilizados para la normal nutrición humana. Los nutrientes que se encuentran en los alimentos son proteínas, lípidos, hidratos de carbono, vitaminas, minerales y agua (Verdú, 2013).

La tendencia actual con respecto a la alimentación, indica un marcado interés de los consumidores en ciertos alimentos, que además de nutrir, aporten beneficios al organismo, debido al creciente ritmo de vida han ido en aumento las enfermedades crónicas degenerativas, tales como la diabetes, obesidad, hipertensión arterial, enfermedades cardiovasculares, osteoporosis y cáncer, estas enfermedades han comenzado a aparecer en etapas tempranas de la vida³ (OMS, 2015)

Se han descrito muchísimas propiedades nutraceuticas de los hongos comestibles. Birujete-Guzmán *et al.* (2009) mencionan que los nutraceuticos son sustancias biológicas extraídas de fuentes naturales, que se caracterizan mediante procesos biotecnológicos anti-desnaturalizantes a fin de que conserven sus

² Definición de alimento según El código Alimentario Español y se encuentra disponible en la dirección electrónica <http://pendientedemigracion.ucm.es/info/nutrihum/ResumenCodigoAlimentario.pdf>

³ La organización Mundial de la Salud reporta que las enfermedades crónicas son las principales causas de mortalidad en el mundo, se encuentra disponible en URL http://www.who.int/topics/chronic_diseases/es/

propiedades originales y sin hacer algún tipo de manipulación química. Una vez extraídos de su fuente natural, estas sustancias son estudiadas mediante procesos similares a los que se emplean para identificar las propiedades biológicas de los fármacos usados en animales y humanos; cuando sus propiedades han sido probadas, se comercializan para consumo por humanos como complementos nutricionales, sin sustituir la dieta diaria. En virtud de sus propiedades biológicas, algunos de estos principios activos actúan como medicamentos potenciales y pueden prescribirse como coadyuvantes terapéuticos con fines preventivos o curativos (Birujete-Guzmán *et al.*, 2009)

De los alimentos nutraceuticos más estudiados en los países del lejano oriente, como Japón, China y Corea, se encuentran los hongos comestibles del género *Lentinus*, y *Pleurotus*, de estos basidiomicetos se han aislado sus componentes activos y demostrado su actividad biológica en estudios clínicos. Ejemplo de ello, es la obtención de lovastatina a partir de carpóforos de *Pleurotus ostreatus*; la lovastatina es sintetizada por este hongo y actúa inhibiendo a la enzima 3-hidroxiacetilglutaril-Coenzima A (HMG-CoA) reductasa, la cual se requiere para la síntesis de colesterol, de aquí sus efectos para reducir la concentración de colesterol en sangre. A partir de esta sustancia y su mecanismo de acción, se ha dado la pauta para la obtención de nuevos fármacos hipocolesterolemiantes del grupo de las estatinas. Por otro lado, estos hongos son fuente de vitaminas, fibra, proteínas, hidratos de carbono, lípidos y oligoelementos por lo que ofrecen un excelente aporte nutricional a la dieta (Ramírez, 2009). Otros ejemplos de hongos que han sido utilizados con estos fines son los del género *Auricularia* spp. que han sido tradicionalmente usados para tratar la hemorroides y varios trastornos estomacales, *Tremella fusiformis* para mantener saludables los tejidos pulmonares, *Volvariella volvacea* para disminuir la presión (Chang y Miles, 2004) para el caso de los hongos *Shiitake*, *Pleurotus* spp., *Matsutake*, y *Ganoderma lucidum* se les atribuyen propiedades anticancerígenas, y capacidades para la disminución del colesterol (García, 2003).

Por tal razón la producción de hongos comestibles constituye una excelente alternativa para obtener un alimento para el ser humano, por la posibilidad de

producir grandes cantidades en pequeñas áreas, mediante técnicas sencillas, a bajo costo, en cortos periodos de tiempo y empleando residuos agroindustriales como sustrato para su cultivo. Los hongos del género *Pleurotus* spp. son potentes agentes biológicos que convierten los subproductos orgánicos no comestibles en alimentos para los seres humanos de buen sabor, olor, color y textura. Su eficiencia de conversión de proteína por unidad de área y por unidad de tiempo, es muy superior a las fuentes de proteína animal (Rodríguez y Zuluaga, 1994).

1.1 Características generales de los hongos

Los hongos son organismos, en su mayoría, filamentosos con crecimiento apical, eucarióticos, sin clorofila, heterótrofos por absorción, con reproducción asexual y sexual por medio de esporas, y con pared celular principalmente constituida por quitina o celulosa. Los hongos son un componente vital en el funcionamiento de los ecosistemas ya que contribuyen en el desarrollo de las poblaciones vegetales particularmente de especies arbóreas y animales. Entre sus principales funciones destacan las siguientes: descomponen la materia orgánica, intervienen en los ciclos y transferencia de nutrientes, a través del crecimiento de sus hifas modifican la permeabilidad y estructura del suelo, establecen asociaciones mutualistas con plantas, termitas, hormigas y con algunas especies de algas (Herrera y Ulloa, 1990).

Existen diferentes tipos de hongos, dependiendo de su ecología como son: los parásitos, los cuales requieren de un organismo vivo al que algunas veces matan para cumplir su ciclo biológico; otros son simbióticos (micorrizas), por que viven en asociaciones con plantas, de la cual ambas especies obtienen beneficios mutuos (García, 2003); mientras los saprófitos, son aquellos hongos que viven sobre restos orgánicos en descomposición (Herrera, 1998).

Además de su importancia ecológica, los hongos forman parte del patrimonio de diversas culturas ya que son utilizados con fines alimenticios, ornamentales, industriales y medicinales (Zamora y Martínez, 1999). En este sentido se han

registrado más de 100 especies de hongos macromicetos con uso medicinal, que han sido empleados para el tratamiento de diversas enfermedades (Galván *et al.*, 1997).

1.2 Diversidad fúngica

La micología se ocupa del estudio de los hongos. El término deriva de la palabra griega *mykes* que significa hongo. Durante mucho tiempo los hongos estuvieron ubicados en el reino de las plantas. Es a partir de una serie de argumentos presentados primeramente por Whittaker en 1969 y posteriormente ampliadas por Margulis en 1971 cuando termina por aceptarse la idea de que los hongos son organismos diferentes a las plantas y animales y que deberían formar un grupo aparte, el llamado Reino Fungi (Jay, 2000). Actualmente son considerados como polifiléticos y están referidos a 3 reinos distintos (tabla 1). Según Aguirre *et al.* (2014, p. 76) cita a Ulloa y Hanlin (2012) quienes mencionan la siguiente clasificación:

Tabla 1. Clasificación de los hongos conforme a la propuesta de Ulloa y Hanlin (2012) citados por Aguirre *et al.* (2014, p.76)

Reino Fungi	Phyla Chytridiomycota Phyla Blastocladiomycota, Phyla Neocallimastigomycota Phyla Zygomycota Phyla Glomeromycota Phyla Ascomycota Phyla Basidiomycota Phyla phylum Microsporidia
Reino Chromista	Phyla Oomycota Phyla Hyphochytriomycota Phyla Labyrinthulomycota
Reino Protozoa	Phyla Cercozoa Phyla Percolozoa Phyla Amoebozoa Phyla Choanozoa

A nivel mundial, los hongos son el grupo de organismos más diverso después de los insectos. De acuerdo con las estimaciones de Hawksworth (2001), se han

descrito el 5% de las 1.5 millones de especies de hongos que deben existir en el planeta.

La diversidad de hongos en México es muy alta, tal como lo consideró Guzmán (1998a), quien estimó que en el país hay más de 200,000 especies de hongos, de los cuales se conocen alrededor de 6,000 especies (3.5%): 4,000 macromicetos y 2,000 micromicetos (Mueller *et al.*, 2007). La diversidad biológica presente en México se debe principalmente a la intersección de dos regiones biogeográficas, la Neártica y la Neotropical. Además, la compleja orografía del territorio nacional genera una variedad de climas y hábitats, lo cual da como resultado una diversidad distribuida de forma heterogénea en este territorio (Morrone, 2005). Considerando además un factor de distribución con relación a las asociaciones con el tipo de vegetación ya que la diversidad fúngica mexicana es mayor en los bosques tropicales y subtropicales que en los bosques de encinos y coníferas de zonas templadas y menor en las zonas áridas (Guzmán, 1998a)

1.3 Macromicetos

Los hongos macroscópicos o macromicetos tienen la misma forma de crecimiento en forma de hifas y micelio que los hongos microscópicos, sin embargo tienen la particularidad de formar un cuerpo fructífero visible, aéreo (carpóforo), que es propiamente lo que se suele identificar como “hongo”. El cuerpo fructífero se compone de las siguientes partes: micelio primario, micelio secundario, píleo o sombrero, contexto o carne, estípite o tallo, el himenio y las esporas, que pueden ser sexuales o asexuales (Sánchez y Royse, 2001).

La mayoría de los hongos comestibles son macromicetos, en donde un gran número de éstos pertenecen a los basidiomicetos, los cuales se distinguen por presentar cuerpos fructíferos. Los macromicetos han sido parte de la cultura humana desde hace miles de años y aparecen descritos como alimento humano en las más importantes civilizaciones de la historia. Actualmente se han descrito muchas propiedades nutraceuticas de los macromicetos, como sus propiedades

anticancerígenas, antitumorales, hipocolesterolémicas, antioxidantes, antivirales, antibacterianas e inmunomoduladoras (Arango y Nieto, 2012)

1.4 Hongos comestibles silvestres

Los hongos comestibles silvestres (HCS) son recursos forestales no maderables de importancia ecológica, económica y cultural. En México existe un arraigado conocimiento micológico que proviene de la época prehispánica y se expresa en nuestros días principalmente en comunidades indígenas y mestizas del medio rural (Ruán–Soto *et al.* 2006); en total, en México se consumen de manera tradicional al menos 275 especies de macromicetos silvestres (Garibay–Orijel *et al.*, 2006). Sin embargo, su recolección se destina principalmente para autoconsumo (Villareal y Pérez-Moreno, 1989) y venta en los mercados regionales, los vendedores de setas son principalmente mujeres y una cantidad considerable son indígenas (Ruán-Soto *et al.*, 2006).

En los bosques templados y templados-fríos de México crecen más de 200 especies de hongos comestibles, muchas de las cuales son muy abundantes en la época de lluvias. Estos hongos se encuentran ampliamente distribuidos en los bosques de coníferas, de encinos, de encinos o de pinos, así como llanuras (Guzmán, 1977). Cada tipo de ecosistema tiene sus propias especies fúngicas de importancia cultural, hay especies que se comparten entre ecosistemas, particularmente entre bosques templados y Bosques mesófilos y entre estos últimos con los tropicales (Bautista-Nava *et al.*, 2010).

En México los hongos silvestres comestibles con más demanda y buscados en temporadas de lluvia son: *Amanita caesarea* (yema, tecomate, amarillo), *A. rubescens* (mantecado), *Lactarius deliciosus* (enchilado), *L. indigo* (azul), *Morchella* spp. (Elotito, mazorquita, colmena, chipotle), *Boletus edulis* (pambazo, panadero, cema), *B. erythropus* (hongo de pie rojo), *B. luridus* (hongo de vaca), *Cantharellus cibarius* (duraznillo), *Gomphus floccosus* (corneta, corneta de oyamel), *Lyophyllum*

descastes (clavitos, xolete) y *Ramaria* spp (patitas de pájaro, escobetas), entre otros (Zamora-Martínez, 1999).

Entre los hongos silvestres con mayor demandas se destacan: *Tricholoma magnivelare*, *Amanita caesarea*, *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius*, *Morchella* spp. y *Tuber* estos suelen exportarse a Europa y Asia por medio de compañías extranjeras (Martínez–Carrera *et al.*, 2005).

1.5 El cultivo de hongos comestibles

En la actualidad el cultivo de hongos comestibles es un sistema de producción-consumo, el cual ha adquirido gran relevancia social, económica y ecológica a nivel mundial. La producción comercial de hongos comestibles es una actividad rentable, bastante dinámica y competitiva (Mora y Martínez-Carrera, 2007).

Los hongos comestibles son apetecidos ampliamente por sus excelentes cualidades organolépticas, agradable sabor y fina textura, por lo tanto, la producción de hongos actualmente moviliza cientos de millones de dólares y miles de puestos de trabajo en toda América, particularmente en América Latina ya que esta región tiene un gran potencial para el cultivo de las especies comestibles por la variedad de climas que posee y la gran diversidad de residuos orgánicos que se generan en los diferentes cultivos agrícolas (Torres y Hurtado, 2003).

Su producción no requiere de inversiones iniciales fuertes, para obtener un alimento de buena calidad nutricional y con propiedades medicinales.

El cultivo de los hongos comestibles es una actividad que se desarrolla ampliamente en diversas partes del mundo, como Estados Unidos, Europa y el Sureste de Asia. La República Popular China es el mayor productor de hongos comestibles con 2, 640, 900 toneladas lo que representa el 54% de la producción total mundial (Gea y Tello, 1997). De acuerdo a lo reportado por Martínez-Carrera (2002b) nuestro país es el mayor productor de Latinoamérica, ya que se genera

alrededor del 58.9% de la producción total de esta región y lo ubica como el dieciseisavo productor a nivel mundial. En 1991, la producción anual de setas en México fue de 9,036 toneladas. A partir de este año, la producción comercial se hongos comestibles se incrementó notablemente, alcanzando alrededor de 62,374 toneladas en 2011 (figura 1).

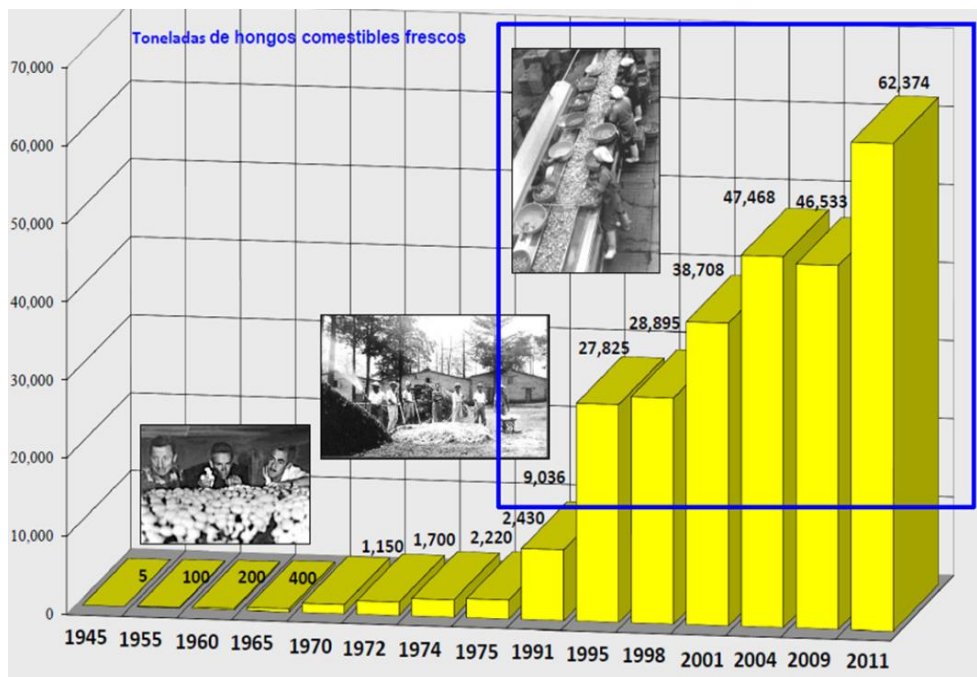


Figura 1. Producción comercial de hongos comestibles, funcionales y medicinales en México (1945-2011). (Martínez-Carrera, 2002b)

El sustrato que queda después de la cosecha del hongo puede tener diversas aplicaciones bastante prometedoras, tales como: 1) Abono orgánico para la industria hortícola y de floricultura, ya sea composteado con otros materiales orgánicos o sin compostear; 2) Sustrato nematicida; y 3) Sustrato para la biorremediación en el suelo. Este sustrato parcialmente degradado contiene una gran variedad de enzimas extracelulares y sustancias nutritivas, las cuales al aplicarse directamente en zonas contaminadas permiten la degradación de compuestos contaminantes y favorecen el desarrollo de otros microorganismos (Miles y Chang, 2004).

1.5.1 *Pleurotus ostreatus*

El nombre científico de *Pleurotus ostreatus* fue asignado debido al parecido que presenta con una ostra y por su forma de concha (Gaitán y Salmones, 2006). Este tipo de hongo crece en el suelo, troncos o sobre desechos agrícolas o agroindustriales, que están constituidos principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina en porcentaje de 40-60, 15-50 y 10-30 respectivamente, alimentándose de estos nutrientes y degradándolos, y donde las condiciones ambientales sean óptimas. En su habitat natural su crecimiento es bueno en la época de lluvia. El micelio de este hongo puede crecer en una temperatura entre 0 y 35 °C, con temperatura óptima de 30 °C, y en un rango de pH entre 5,5 y 6,5 y humedad relativa de 85 a 90% (Zadrazil *et al.*, 1974; Sánchez y Royse, 2001).

El hongo generalmente es más pequeño en madera y más grande en substratos de desecho de algodón y paja. En general, el color será más oscuro en condiciones de luz intensa y clima frío, el color será más claro a luz débil y clima caliente (Miles y Chang, 2004). Esta seta también ha recibido nombres populares como son “hongo ostra”, “hongo ostión”, “oreja blanca”, “hongo de maguey”, “hongo de encino”, “hongo de bagazo”, “oreja de cazahuate”.

Con relación a sus características morfológicas Sánchez y Royse (2001) describe que: el sombrero de esta seta es redondeado, su superficie es lisa, abombada y convexa cuando es joven y se va aplanando conforme a su maduración. Su diámetro oscila entre 5-15 cm según la edad del hongo, el color es muy variable, desde crema, blanco grisáceo o pardo, aunque va alcanzado una coloración más amarillenta con el tiempo. Su margen es suave, delgado, ondulado y ocasionalmente enrollado (Ordóñez y Machuca, 2009). En la parte inferior del sombrero, posee unas laminillas dispuestas radialmente que van desde el pie que lo sostiene hasta el borde. Estas laminillas son anchas, espaciadas unas de otras, blancas o cremas, en ellas se producen las esporas destinadas a la reproducción de la especie. Las esporas son pequeñas, alargadas, casi cilíndricas que en gran número forman masas de polvo de color blanco con cierto tono lila-grisáceo. El pie suele ser corto, algo lateral u oblicuo, ligeramente duro, blanco, con el principio de

las laminillas en la parte de arriba y algo peloso en la base (figura 2). Puede crecer en forma aislada sobre una superficie horizontal o en grupo formando repisas laterales superpuestas sobre un costado de los árboles. El cuerpo fructífero de *P. ostreatus* es blanco, de olor algo fuerte, tierno al principio y después correoso (Agunaga, 2012).

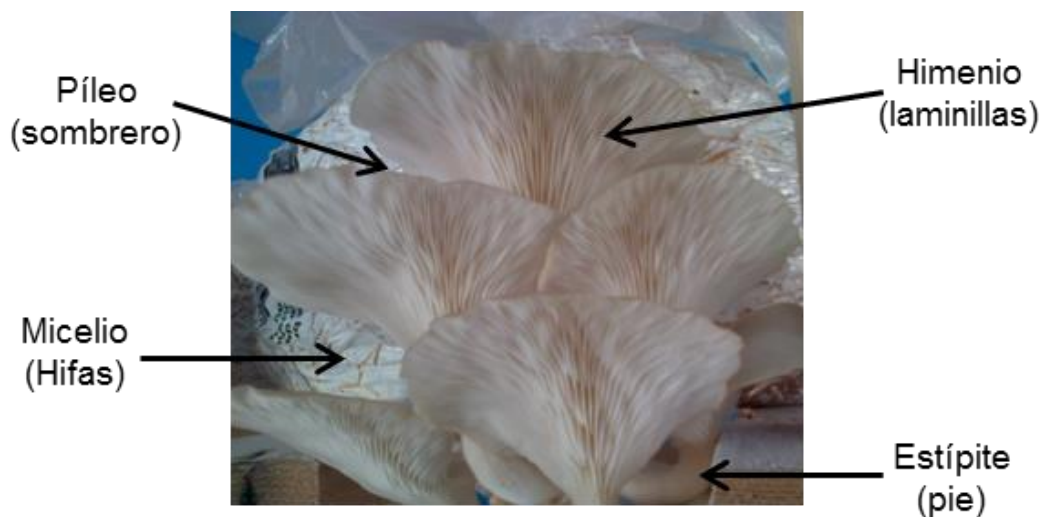


Figura 2. Morfología del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. Foto por (Héctor J. García Flores, 2015)

El ciclo reproductivo del hongo seta implica una sucesión de etapas que van desde la germinación de las esporas hasta la formación de los cuerpos fructíferos. De acuerdo a lo reportado por Romero y Rosales, 1998 el ciclo reproductivo del hongo es de la siguiente manera (figura 3): (A) esporulación de las basidiosporas uninucleadas del hongo, las cuales al presentarse las condiciones adecuadas germinan, iniciándose el desarrollo del micelio vegetativo. Posteriormente, dos hifas de micelios compatibles se fusionan entre sí (B), dando como resultado la formación y crecimiento del micelio reproductivo (C). Este micelio se caracteriza por formar el cuerpo fructífero, el cual es la estructura especializada, diferenciada y diseñada para la producción y dispersión de las esporas (D).

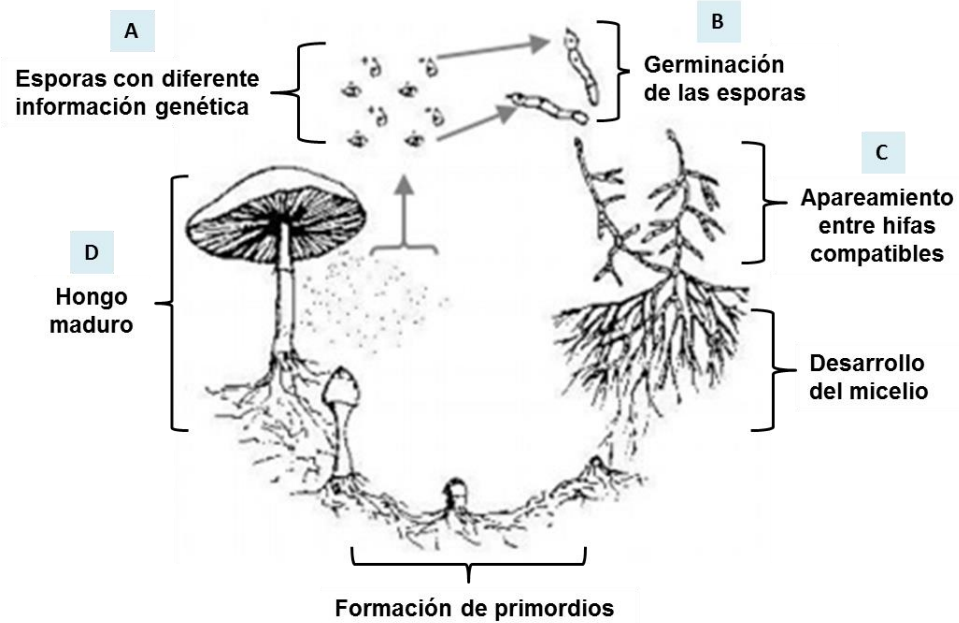


Figura 3. El ciclo reproductivo de un hongo Basidiomiceto (Tomado y modificado de Guzmán *et al.*, 2006).

1.5.2 Clasificación taxonómica del género *Pleurotus*

La clasificación taxonómica de este hongo (tabla 2), de acuerdo con el Centro Internacional para la agricultura y biociencias⁴ (CABI, 2008) es de la siguiente manera:

Tabla 2. Clasificación taxonómica de *Pleurotus ostreatus*.

Reino	Fungi
División	Basidiomycota
Subdivisión	Basidiomycotina
Clase	Basidiomycete
Subclase	Agaricomycetidae
Orden	Agaricales
Familia	Pleurotaceae
Género	<i>Pleurotus</i>
Especie	<i>P. ostreatus</i> (Jacq.)

⁴ El centro Internacional para la agricultura y biociencias establece la clasificación del género *Pleurotus* disponible en <http://www.cabi.org/bookshop/book/9780851995427>

1.5.3 Especies cultivadas de *Pleurotus*

En este género se han reportado un gran número de especies cultivadas, que son populares por sus propiedades nutrimentales y buen sabor. Algunas de estas especies son las siguientes: *P. ostreatus*, *P. djamor*, *P. eryngii*, *P. cornucopiae*, *P. sajor-caju*, *P. pulmonarius*, *P. florida*, *P. salmonea-stramineus*, *P. abalonus*, *P. flabellatus*, *P. citrinopileatus*, *P. sapidus*, *P. smithii*, *P. cystidiosus*, *P. dryinus*, *P. levis* y *P. opuntiae* (Pineda, 2014).

1.5.4 Composición nutricional

Tradicionalmente se ha considerado a los hongos como un alimento de alta calidad, con sabor y textura apreciable y sobre todo de alto valor nutritivo.

En la actualidad, los hongos juegan un papel importante en la alimentación del hombre al igual que la carne, pescado, frutas y vegetales (Chang y Miles, 1989). Los hongos pueden comerse frescos (en pequeñas cantidades) o cocinados, a diferencia de otras fuentes de proteína como la soja y la levadura que deben ser procesadas o enmascaradas de alguna manera para que sean aceptables al paladar. La calidad y cantidad de proteína que poseen los hongos es lo que les da el interés en su valor nutricional. Este varía dependiendo de la especie, edad o estado particular de desarrollo, lapso de tiempo de cosecha y de las diferentes porciones del cuerpo fructífero (Rajarathnam y Bano, 1988).

Proteínas: La proteína es uno de los nutrientes más importantes en la alimentación. Los cuerpos fructíferos de *Pleurotus* son una excelente fuente de proteína de buena calidad esto debido a que en su contenido, están presentes todos los aminoácidos esenciales donde los que predominan son la alanina, el ácido glutámico y la glutamina (Fennema, 2000). Su contenido proteico es de un 10.5 a un 30.4% de su peso seco. En la tabla 3 se muestra con color amarillo el contenido de proteína en las especies de hongos comestibles de mayor importancia en México.

Tabla 3. Contenido de proteína cruda, carbohidratos, grasa y fibra en especies cultivadas de hongos comestibles. (Chang y Miles, 2004).

Especie	Humedad %	Proteína cruda %	Grasa Cruda %	Carbohidratos Totales %	Fibra Cruda %	Ceniza %	Valor Energético Kcal/100 g
<i>Agaricus bisporus</i>	78.3-90.5	23.9-34.8	1.7-8.0	51.3	8.0-10.4	7.7-12.0	328-368
<i>Agaricus campestris</i>	89.7	33.2	1.9	56.9	8.1	8.0	354
<i>Auricularia sp.</i>	89.1	4.2	8.3	82.8	19.8	4.7	351
<i>Boletus edulis</i>	87.3	29.7	3.1	59.7	8.0	7.5	362
<i>Flammulina velutipes</i>	89.2	17.6	1.9	73.1	3.7	7.4	378
<i>Lentinula edodes</i>	90.0-91.8	13.4-17.5	4.9-8.0	67.5-78.0	7.3-8.0	3.7-7.0	387-392
<i>Pleurotus eous</i>	92.2	25.0	1.1	59.2	12.0	9.1	261
<i>Pleurotus "Florida"</i>	91.5	27.0	1.6	58.0	11.5	9.3	265
<i>Pleurotus ostreatus</i>	73.7-90.8	10.5-30.4	1.6-2.2	57.6-81.1	7.5-8.7	6.1-9.8	345-367
<i>Pleurotus sajor- caju</i>	90.1	26.6	2.0	50.7	13.3	6.5	300
<i>Volvariella displasia</i>	90.4	28.5	2.6	57.4	17.4	11.5	304
<i>Volvariella volvacea</i>	89.1	25.9	2.4	-	9.3	8.8	276

La calidad de una proteína de un alimento está dada por la composición de sus aminoácidos. Las setas de las especies de *Pleurotus* contienen de 17 a 18 aminoácidos, entre esenciales y no esenciales (Pulido y Andrade, 1990). De acuerdo a lo reportado por Martínez *et al.* (1993) indican que al consumir hongos comestibles en nuestra dieta diaria, se logra un efecto complementario considerable en aminoácidos esenciales, sobre todo en lo que respecta a triptófano, treonina, lisina y metionina.

Carbohidratos: En lo referente al contenido de carbohidratos, los hongos comestibles presentan un alto nivel de oligosacáridos, y sólo un bajo nivel de azúcares solubles como arabitol, glucosa, manitol, inositol y trehalosa, dentro de los carbohidratos que contienen los carpóforos de *P. ostreatus*, se encuentran manitol y trehalosa (Miles y Chang, 1989).

Lípidos: El hongo *Pleurotus ostreatus* contiene del 3 al 5% de lípidos en peso seco. La grasa cruda contenida en este tipo de hongos es mayor en el estípite que en el píleo y contiene todo tipo de lípidos, desde mono, di y triglicéridos, esteroides, esterolésteres y fosfolípidos (Crisan y Sands, 1978). Por otro lado, este hongo tiene una buena cantidad de esteroides, ergosterol es el más importante en alrededor de un 70% del total. (Breene, 1990). La fracción de lípidos en *Pleurotus* es poco significativa debido a su poca cantidad, sin embargo, hay que mencionar que los ácidos grasos son predominantemente insaturados, de fácil digestión y de naturaleza hipolipidémica.

Vitaminas y minerales: Los hongos contienen un amplio rango de vitaminas tales como la tiamina (vitamina B1), riboflavina (vitamina B2), niacina, ácido pantoténico y ácido fólico, necesarias para el desarrollo del hombre, así como vitamina C y D (Martínez et al., 1993). Los hongos absorben todos los minerales que contiene el substrato donde son cultivados, por lo general contienen buena cantidad de fósforo y potasio, y calcio en menor cantidad. En el caso de *Pleurotus*, se han encontrado, además de los ya mencionados, buenas cantidades de zinc, cobre y magnesio y fósforo (tabla 4). Una proporción media de hierro, manganeso y potasio. El calcio, aluminio y sodio se ha encontrado en pequeñas cantidades. También se han encontrado trazas de fósforo, arsénico y mercurio (Breene, 1990).

Por otro lado, el alto contenido de ergosterol, es transformado en vitamina D por acción de los rayos de luz UV al ser deshidratados al sol. Por lo que las setas deshidratadas de esta forma, son una buena fuente de esta vitamina, muy importante para la absorción de calcio, sobretodo del fosfato de calcio fundamental para el buen desarrollo de huesos y dientes (Miles y Chang, 1989).

Tabla 4. Contenido de vitaminas y minerales de algunos hongos comestibles cultivados

Especie	Tiamina	Rivoflavina	Niacina	Ác. ascórbico	Ca	P	K	Fe	Na
<i>Agaricus bisporus</i>	1.1-8.9	3.7-5.0	42.5-51.0	26.5-81.9	23-71	790-1425	2849-4762	0.2-19.0	106-156
<i>Flammulina velutipes</i>	6.1	5.2	106.5	46.3	19	278	2981	11.1	278
<i>Lentinula edodes</i>	7.8	4.9	54.9	0	98	476	Nd	8.5	8.5
<i>Pleurotus ostreatus</i>	4.8	4.7	108.7	0	33	1348	3793	15.2	837
<i>Volvariella volvacea</i>	0.3-1.2	1.6-3.3	47.6-91.9	20.2	35-347	978-1337	2005-6144	6.0	151-347

Los valores son presentados como % del peso seco, excepto los valores energéticos los cuales se presentan como mg/100g de peso seco (Miles y Chang, 1989).

1.5.5 Propiedades medicinales de las setas

Los hongos además de ser un alimento de excelente valor nutricional, poseen cualidades medicinales. Se han utilizado para mantener la salud, preservar la juventud y aumentar la longevidad. Como se muestra en la tabla 5, los organismos pertenecientes al género *Pleurotus* spp, al igual que otros basidiomicetos producen una serie de compuestos bioactivos útiles en el desarrollo de medicinas naturales por su valor nutracéutico esto fue reportado por Cohen *et al.*, (2002), citado por Maldonado (2009, p. 9). A partir de los cuerpos fructíferos de los hongos comestibles se pueden obtener suplementos alimenticios, cápsulas, tabletas y bebidas tonificantes con extractos fúngicos purificados. Muchos hongos comestibles presentan propiedades medicinales conferidas por sus metabolitos secundarios dentro de los que se encuentran enzimas, glucanos, flavonoides y triterpenos, estos últimos componentes del perfil lipídico. Los ácidos grasos presentes en los hongos constituyen una marcada acción biológica, hasta el punto de que son considerados como reguladores del metabolismo lipídico (Yilmaz *et al.*, 2006), así como poseedores de actividad antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena,

antibacteriana, antiviral, antidiabética y anticonvulsionante (Castaño *et al.*, 2007; Chang y Miles, 1989).

Tabla 5. Componentes activos con efecto medicinal de basidiomicetos

Efecto Medicinal	Componentes bioactivos
Antibiótico	Micelio Polisacáridos
Antibacterial	D-glucanos
Antiviral	Polisacáridos Proteínas
Inmunomodulación	Polisacáridos Proteínas-polisacáridos
Antitumoral	D-glucanos Lectinas
Hipocolesterolémico	Cuerpo fructífero Lovastatina
Hematológico	Lectinas
Antioxidantes	D-glucanos
Antialérgico	Extractos etanólicos
Antiinflamatorios	Extractos metanólicos

Cohen *et al.*, 2002; Miles y Chang, 2004.

Recientes investigaciones han demostrado que *Pleurotus ostreatus* contiene cantidades importantes de polisacáridos de estructura molecular compleja, a los cuales se les ha encontrado una importante capacidad antitumoral, estos polisacáridos actúan como potenciadores de las células de defensa que posteriormente destruyen las células cancerosas (Miles y Chang, 2004).

Por su parte López *et al.* (2002), argumenta sobre el efecto antioxidante: los *Pleurotus*, poseen sustancias con propiedades antioxidantes como la vitamina C, cuya utilidad es retrasar el proceso de envejecimiento combatiendo la degeneración y muerte de células que provocan los radicales libres.

1.5.6 Sustratos utilizados para el cultivo de *Pleurotus* spp.

El hongo *Pleurotus* spp, es uno de los géneros más importantes que prosperan con éxito en los residuos agroindustriales de México (Chang y Hayes, 1978). El sustrato debe de contener todos los nutrientes necesarios para el crecimiento del hongo. Entre ellos deben de estar la celulosa, hemicelulosa y la lignina, esta última es de los compuestos más difíciles de digerir debido a su complejidad, ambas funcionan como fuentes principales de carbono y nitrógeno. Gracias a las enzimas lignolíticas que produce *Pleurotus* spp., cada año más residuos agrícolas pueden ser convertidos en productos alimenticios con alto contenido de proteínas Sánchez y Royse (2001). Es recomendable además que el sustrato esté libre de sustancias antifisiológicas que afectan, el crecimiento del micelio, como son los taninos, fenoles, ácidos, resinas, compuestos aromáticos etc., provenientes de fumigaciones (Donoso, 1999).

Los materiales más comúnmente utilizados como fuente de carbono incluyen la paja de trigo, avena, centeno, sorgo, arroz y de algodón, virutas de madera y de corteza, subproductos de algodón, heno, tallos de planta de maíz, plantas y desperdicios de café, hoja de elote, hoja de té, cáscara de cacahuate, harina de soya, cáscaras de semillas de girasol, hojas de plátano, cactus, yuca, fibra de coco, hojas de limón, tallos de pimienta, bagazo de caña, entre otros (Stamets *et al.*, 2002). Estos residuos agroindustriales, en la mayoría de los casos no son reutilizados, sino, simplemente quemados o arrojados a los basureros y ríos sin ningún tratamiento previo. Todo esto genera un impacto negativo al medio ambiente (Oei, 2003). Las especies de *P. ostreatus* ayudan a acelerar la biodegradación y reciclaje de los residuos agrícolas, transformándoles en un alimento de alta calidad proteica para el consumo humano.

2. ANTECEDENTES

El contenido nutricional de los alimentos cobra cada día mayor importancia, no sólo porque el consumidor tiene derecho a saber que contienen los alimentos que compra, sino que también porque esta información permite realizar elecciones correctas y seguir una dieta saludable y equilibrada. Por esta razón se han realizado varios estudios que demuestran la calidad nutricional del género *Pleurotus* spp. Con respecto al contenido de proteína en los cuerpos fructíferos cultivados sobre pajas Khanna y Garcha (1984) reportaron diferencias significativas entre las distintas especies cultivadas sobre paja de trigo, *P. florida* presentó 19.1%, *P. sajor caju* 18.9% y *P. ostreatus* 15.7%. Así mismo, Martínez (1990) realizó un estudio de la composición química de los carpóforos de *P. ostreatoroseus* Cepa 70 cultivados sobre cuatro sustratos. El mayor porcentaje de proteína se obtuvo en los carpóforos cosechados en paja de trigo con un valor de 26.5%, en segundo lugar se obtuvo un 23.9% de los que se cultivaron sobre el bagazo de agave tequilero. En tercer lugar correspondió a los cuerpos fructíferos cosechados del bagazo de caña de azúcar con 23.3% y por último los colectados en rastrojo de lirio acuático con 22.5%.

Cabe señalar que Rodríguez en 1996, realizó un análisis de proteínas en diferentes sustratos forrajeros, encontrando el mayor porcentaje de proteína en rastrojo de pasto (13.25%) seguido por el rastrojo de sorgo (4.6%) y por último el rastrojo de maíz con 3.7% de proteína.

Sin embargo Bautista (1997) realizó un estudio bromatológico de tres cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus* cultivadas sobre paja de trigo. La concentración de proteína se encontró en un rango de 24.64% a 28.7%.

Por otro lado, Rodríguez *et al.* (2006) realizaron un análisis a los carpóforos de *P. ostreatus* IBUG-8 al emplear tres sustratos diferentes, el valor más alto de proteína la presentó la cepa cultivada en rastrojo de sorgo con 27.56%, seguido por

la cultivada en rastrojo de pasto bermuda con 26.7% y por último la que se cultivó en rastrojo de hojas de mazorca de maíz con 20.76% de proteína.

De acuerdo con Dunder *et al.* (2008) realizaron un estudio para determinar el valor nutritivo de tres tipos de hongo ostra cultivados en tallos de trigo. El contenido de proteína en *P. eryngii* fue de 11.95%, *P. ostreatus* 17.12% y *P. sajor caju* 16.75%.

Por otra parte Patil *et al.* (2010) obtuvieron valores de 21, 23.40 y 24.66% de proteína cruda para *P. ostreatus* cultivado en paja de trigo, paja de arroz y paja de soya respectivamente. Estos resultados mostraron que el contenido de proteína fue significativamente mayor en la paja de soya.

Así mismo Varnero *et al.* (2010) reportan en los cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* 25.6% de proteína total en peso seco, cultivado sobre paja de trigo, astillas de eucalipto (25.4%), mezcla de paja de trigo y eucalipto (24.4%) y astillas de álamo (22.9%) mostrando diferencias significativas.

Mientras que Magnaleno (2013) realizó un análisis de calidad nutricional del hongo *Pleurotus ostreatus* obteniendo 15.85% de proteína cultivado sobre paja de pasto, y 16.41% cultivado sobre paja de sorgo.

Es importante mencionar que *P. ostreatus* también se puede cultivar sobre diferentes residuos o pulpas. De acuerdo con Ortega *et al.* (1992) encontraron que el nivel de proteína cruda en *P. ostreatus* cultivado sobre residuos de caña de azúcar, fueron entre 23% al 33%, este valor es mayor a lo que contienen otros hongos comestibles como *Agaricus bisporus* (24%), *Lentinula edodes* (13%) y *Volvariella volvacea* (21%).

Por su parte Bermúdez *et al.* (2001) realizaron una caracterización química del hongo comestible *P. ostreatus* var. *florida* cultivado sobre pulpa de café. El resultado obtenido en el análisis de proteína bruta por el método de Biuret fue de 26%. De igual manera, Mendivil *et al.* (2001) llevaron a cabo un análisis proximal de los basidiocarpos cultivados sobre residuos vitivinícolas de *P. ostreatus* y *P.*

ANTECEDENTES

pulmonarius, los valores obtenidos para proteína se encontraron en el rango de 16.42-17.63%.

Según Savón *et al.* (2003), mencionan que la concentración de proteínas totales en cultivos de *Pleurotus ostreatus* var. *florida* sobre residuos de cacao expuestos a 4, 8 y 12 horas de exposición de luz durante el periodo de fructificación, los valores obtenidos de proteína fueron los siguientes: 28.37, 28.68 y 28,89 %. En este estudio no se apreciaron diferencias significativas. Sin embargo para *Agaricus bisporus*, los niveles de proteína fueron de 26.3% cultivado sobre pulpa de café.

Por otra parte, García (2008) investigó los valores de proteína cruda en base seca de los cuerpos fructíferos obtenidos con diferentes cepas de *Pleurotus ostreatus* cultivadas sobre pulpa de café. La proteína oscilo entre 22 a 38 %. Posteriormente Cruz *et al.* (2011) realizaron un análisis bromatológico a los cuerpos de fructificación de *P. ostreatus* cultivados sobre bagazos de azúcar, los resultados indicaron un contenido de 23.20% de proteína bruta.

Estas investigaciones permiten conocer la cantidad de proteína presente en los carpóforos de *P. ostreatus* cultivados sobre distintos residuos agrícolas, sin embargo se está experimentando el enriquecimiento de sustratos para el cultivo y al mismo tiempo garantice una buena fructificación y composición química de los cuerpo fructíferos especialmente en el contenido de proteínas.

Estudios recientes en este campo demuestran que el contenido de proteína en *P. ostreatus* es de 13.25 % al adicionar 3% de cáscaras de pitaya sin espinas a la paja de trigo, 16.04% al incorporar 10% de cáscara y 8.58% en paja de trigo obteniendo tiempos de cosecha más cortos y una mayor eficiencia biológica (Aguilar, 2003).

También Flores (2012) adicionó diferentes porcentajes de residuos de *Yucca spp.* a paja de trigo donde cultivó tres cepas diferentes de *Pleurotus spp.* reportó que los tratamientos con mayor cantidad de bagazo de yuca presentaron los cuerpos fructíferos con mayor concentración de proteínas, los valores reportados van de 17.09 a 18.96%. Algo semejante ocurrió en un estudio realizado por

ANTECEDENTES

Zamorano (2013) donde evaluó el efecto del ácido salicílico (AS) en el rendimiento y calidad nutritiva de *P. ostreatus*. Los mejores resultados se obtuvieron de los hongos cultivados en paja de frijol utilizando la dosis AS 10^{-6} , en donde se encontró 12.67% de proteína, en cuanto a la paja de trigo se halló 12.21%.

En lo que respecta al contenido de grasa, Martínez (1990) reportó el porcentaje de grasa presente en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatoroseus* fue de 0.9 a 1.2 %. Sin embargo, en paja de trigo los hongos presentaron 1% de composición lipídica.

El contenido de grasa presente en *P. ostreatus* para las cepas INIREB-8, CDBB-H-896 Y CDBB-H-897 cultivados sobre paja de trigo fue de 1.10, 1.55 y 1.85 % respectivamente (Bautista, 1997)

Por otra parte, Mendivil *et al.* (2001) realizaron un extracto etéreo en tres cepas de *Pleurotus*, presentando la mayor concentración la cepa *P. pulmonarius* 3.23%.

Akindahunsi y Oyetayo (2005) realizaron un estudio en *P. tuber regium* y encontraron mayor cantidad de lípidos en el píleo (1.1%) que el estípite (0.7%).

Según Gaitán (2006) mencionó que el contenido de grasas es de 0.9 a 1.8 % con base en su valor seco. De igual manera, Dundar *et al.* (2008) cuantificaron el contenido de grasa encontrando 1.15%, 2.60%, 7.50% para *P. sajor caju*, *P. ostreatus* y *P. eryngii* respectivamente.

Sin embargo Patil *et al.* (2010) cuantificaron el contenido de grasa con base al peso seco para *P. ostreatus*. Reportaron en los cuerpos fructíferos cultivados sobre paja de trigo 2.60% de grasa.

El contenido de fibra es importante en la nutrición humana, han sido demostrado que los hongos son eficaces en la regulación intestinal debido a que ayuda al organismo en la digestión de los alimentos (Silva *et al.*, 2002; Baena, 2005). Según Martínez (1990) obtuvo que el mayor porcentaje de fibra cruda

presente en *P. ostreatus* fue de 18.2% de los carpóforos cosechados en bagazo de caña, mientras que el menor fue de 11.9% en los hongos crecidos en paja de trigo.

La fibra cruda presente en los cuerpos fructíferos de las tres cepas *P. ostreatus* cultivado sobre paja de trigo osciló entre 11.22 a 11.85% encontrando diferencias significativas entre ellas (Bautista, 1997).

Por otra parte Bermúdez *et al.* (2001) obtuvieron 7.82% de fibra cruda en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* var. *florida* cultivado sobre pulpa de café *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* var. *robusta*. Al respecto Gaitán *et al.* (2006) reportó un contenido de fibra de 11.9%.

Mientras que Cruz *et al.* (2011) encontraron para *P. ostreatus* cultivado sobre residuales azucareros un 14.70% de fibra bruta.

En México, las tortillas de maíz son la principal fuente primaria de energía y proteína en la dieta de todos los estratos sociales de los mexicanos. En un estudio realizado por Bressani *et al.* (1900) reportaron que el contenido de proteína presente en las tortillas de maíz oscila entre 9.7 a 11%. Adicional a esto García (2004) menciona que el contenido de proteína cruda en tortillas de maíz nixtamalizado fue de 9.21%. Como podemos observar en los ejemplos anteriores este cereal no es muy rico en proteínas. Por esta razón se decidió adicionar harina de *P. ostreatus* CP-50 a las tortillas de maíz para incrementar su valor nutricional y de esta manera obtener un alimento enriquecido.

En este sentido, este trabajo pretende contribuir con nueva información respecto al valor nutritivo de la cepa *P. ostreatus* var. *columbinus* cultivado sobre paja de trigo, y de esta manera promover la producción y el consumo en la dieta diaria.

3. JUSTIFICACIÓN

Actualmente en México el panorama alimenticio y nutricional es complicado, tiene muchas deficiencias en cuanto a contenido proteico, los alimentos que proveen de proteína de buena calidad normalmente vienen acompañados de un alto contenido de grasas saturadas porque son de origen animal.

La desnutrición y la pobreza prevalecen en México, afectando cada vez más a las personas de bajos ingresos económicos, la gente pobre adquiere mucho menos alimento con suficiente cantidad y calidad nutricional. Con referencia a lo anterior Puebla ocupa el tercer lugar nacional, con mayor índice de pobreza infantil y adolescente, esto trae consigo hambre y desnutrición.

Otra realidad que se vive en el campo, es respecto a la decisión que toma el agricultor con los residuos de sus cosechas, donde no se ha valorado la potencialidad ecológica y económica de muchos subproductos agrícolas. Ante esta situación surge la necesidad de buscar otra fuente alimenticia como alternativa para la población.

4. OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar y comparar el contenido de proteína y nitrógeno total de dos variedades de setas, *Pleurotus ostreatus* CP-50 y *Pleurotus ostreatus* var. *columbinus* cultivados sobre paja de trigo para fines nutracéuticos.

Objetivos particulares

- I. Cuantificar el contenido de proteína y nitrógeno total del hongo *P. ostreatus* CP-50 y el hongo *P. ostreatus* var. *columbinus*, en peso seco utilizando diferentes métodos.
- II. Cuantificar el contenido de grasa, fósforo, fibra cruda y perfil lipídico de los cuerpos fructíferos secos y pulverizados de *P. ostreatus* CP-50.
- III. Estandarizar la técnica de aislamiento del micelio, preparación de inóculo, siembra del micelio en paja de trigo, fructificación y cosecha acorde con las condiciones propias del sitio de trabajo.
- IV. Elaborar un producto innovador hecho con harina de hongo *Pleurotus ostreatus* que aporte proteínas y aminoácidos esenciales en la dieta.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó el cultivo y análisis bromatológico de los hongos comestibles *Pleurotus ostreatus* CP-50 y *Pleurotus ostreatus* var. *columbinus*.

Cepas originales

Para el desarrollo del presente trabajo se utilizaron las cepas de *P. ostreatus* CP-50 y *P. ostreatus* var. *columbinus* provenientes del Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, campus Puebla. Siguiendo la metodología propuesta por Gaitán y otros autores (2006) el cultivo del hongo comestible *Pleurotus* se llevó a cabo de la siguiente manera:

5.1 Aislamiento vegetativo de las cepas *P. ostreatus* CP-50 y *P. ostreatus* var. *columbinus*

Para el aislamiento se realizó un corte longitudinal a cada cuerpo fructífero (*P. ostreatus* CP-50 y *P. ostreatus* var. *columbinus*) se tomaron fragmentos del micelio y posteriormente se colocaron en cajas petri con medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), las cajas se incubaron a una temperatura de 30°C en oscuridad durante dos semanas para favorecer el crecimiento micelial (figura 4).

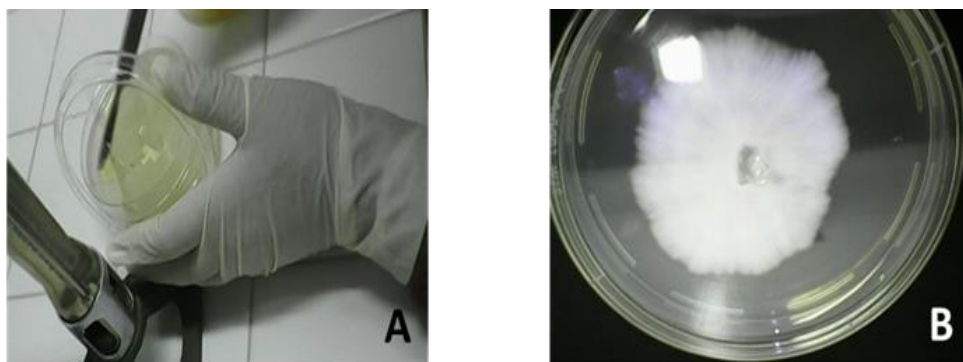


Figura 4. Aislamientos de las cepas *Pleurotus* spp. B) Crecimiento del micelio en medio de cultivo PDA

5.2 Multiplicación del micelio en granos de trigo.

Para propagar el micelio de cada cepa obtenida se utilizó granos de trigo previamente lavadas e hidratadas con agua corriente por 18 horas. El trigo se colocó en frascos de vidrio $\frac{3}{4}$ partes del mismo, se taparon con tela porosa y una liga, éste se esterilizó en autoclave a 15 lb de presión por 15 min. A las 24 horas en un ambiente estéril se cortaron en fragmentos el micelio desarrollado en medio PDA y se colocaron sobre los granos de trigo. El trigo inoculado se incubó a una temperatura de 25°C entre 15-20 días hasta que el micelio cubrió totalmente los granos.

5.3 Preparación del sustrato

El sustrato es muy importante para la producción de hongos comestibles ya que es el material donde crecerán y le aportara nutrientes, por esta razón se utilizó paja de trigo. Este sustrato se sometió a un proceso de hidratación durante 1 día con agua corriente, se agregó 1 kg de hidróxido de calcio por cada 100 L de agua. A las 24 horas se escurrió y posteriormente se pasteurizó mediante la cocción de la paja por inmersión en agua caliente durante 45 minutos, con el fin de eliminar microorganismos nocivos (figura 5).



Figura 5. A) Hidratación del sustrato. B) Tratamiento térmico durante 45 minutos

5.4 Inoculación del micelio en el sustrato

Se depositó la paja pasteurizada sobre una superficie desinfectada y se mezcló con 200 g de cal. Para la siembra se utilizó 400 g de inóculo/10 kg de paja, se colocó en una bolsa de plástico una capa de paja de trigo y se esparció granos de trigo inoculados con el micelio del hongo sobre el sustrato, se continuó intercalando capas alternas de sustrato e inóculo (figura 6). Finalmente se selló la bolsa y al tercer día se realizó pequeñas perforaciones de 10x10 cm con un objeto punzocortante limpio y se colocó tela porosa en estas perforaciones para favorecer la oxigenación del hongo. Estas bolsas inoculadas se colocaron en estantes de madera en un cuarto de incubación a una temperatura de 25-28°C y una humedad relativa entre 50-70% durante 1 mes.



Figura 6. Siembra del micelio sobre paja de trigo

5.5 Fructificación y cosecha

Posterior a la siembra en el sustrato y transcurrido el tiempo de incubación (3 a 5 semanas) se observó la aparición de los primordios (figura 7). Esta fase se dio por terminada cuando los primordios se convirtieron en hongos adultos, los cuerpos fructíferos se cortaron desde la base del estípite con una navaja limpia para evitar algún daño tanto al sustrato como al hongo.

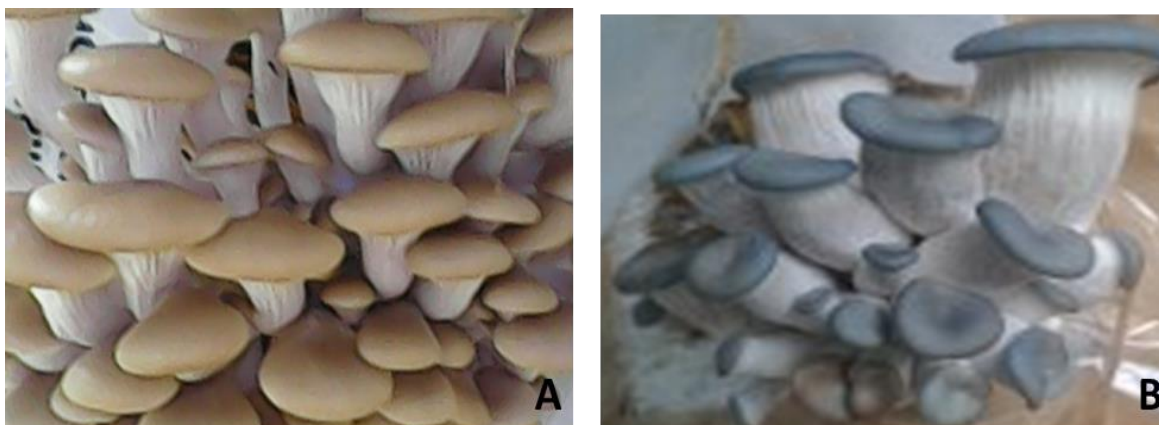


Figura 7. A) Desarrollo de primordios de *P. ostreatus* CP-50. B) Formación de primordios de *P. ostreatus* var. *columbinus* en paja de trigo.

5.6 Preparación de las muestras para las pruebas bromatológicas

Deshidratación: Los hongos frescos se colocaron en una estufa de secado marca Genlab por cuatro días a una temperatura de 40°C hasta obtener un peso constante. Posteriormente se guardaron en bolsas de papel estraza y de polietileno, en un sitio libre de humedad y luz.

Molienda: Con ayuda de un triturador de alimentos se obtuvo la harina de los hongos, finalmente esta harina se guardó nuevamente en bolsas de papel y polietileno.

5.6.1 Determinación de proteína total por el Método de Lowry (Lowry *et al.*, 1951)

Antes de realizar la determinación de proteína en *P. ostreatus* CP-50 se obtuvo un extracto como se explica a continuación: Se colocó 0.5 g de harina del hongo con 0.5 g de arena de mar en un tubo Falcón, y se agregó 9 ml de solución salina 0.9%, esta mezcla se agitó durante 5 minutos. Posteriormente se centrifugó a 2000 rpm durante 2 minutos y se recuperó el sobrenadante. Se añadió 5 ml de solución salina al sobrenadante y se centrifugó a 8000 rpm por 5 minutos, se decantó el sobrenadante y solo se dejó el precipitado (botón); este proceso se repitió

Material y métodos

3 veces. Finalmente se agregó 5 ml de solución salina y 1.5 ml de hidróxido de sodio 0.1 N (figura 8). Los extractos se guardaron en refrigeración.



Figura 8. Proceso de obtención del extracto. A) Muestra con arena de mar y solución salina, B) Agitación durante 5 min, C) Centrifugación a 8000 rpm, D) Recuperación del precipitado.

Para determinar la concentración de proteínas de la muestra problema se construyó una curva estándar con 10, 20, 30 μ l a partir de una concentración de albumina sérica bovina stock (2.56 mg/L). Al mismo tiempo se preparó la solución de cobre-tartratos-carbonatos de la siguiente manera: se colocó en una probeta 0.5 ml de la solución de sulfato de cobre al 1% y 0.5 ml de la solución de tartrato de sodio y potasio al 2% y se aforó a 50 ml con la solución de carbonato de sodio al 2% en NaOH 0.1 N. Se procedió a llenar los tubos Falcón como se indica en la tabla 6. Posteriormente se agitaron y se dejó reposar. Una vez transcurrido 10 minutos se añadió 250 μ l de la dilución del reactivo de Folin-Ciocalteu con agua 1:1 se agitaron y se mantuvo la reacción en reposo por 30 minutos a temperatura ambiente. Se efectuó la lectura en un espectrofotómetro a una longitud de onda 560 nm. Este procedimiento se repitió para las muestras *P. ostreatus* CP-50 y *P. ostreatus* var. *columbinus*.

Tabla 6. Preparación de curva de albúmina y cuantificación por el Método de Lowry

Tubo	Extracto (µl) <i>P. ostreatus</i> CP-50 (o) <i>P. ostreatus</i> var. <i>columbinus</i> (c)	Albúmina sérica bovina (µl)	Agua destilada (µl)	Mezcla de cobre-tartratos carbonatos (ml)
1	0	0	400	2.5
2	0	10	390	2.5
3	0	10	390	2.5
4	0	20	380	2.5
5	0	20	380	2.5
6	0	30	370	2.5
7	0	30	370	2.5
8	0	50	350	2.5
9	0	50	350	2.5
10	10(o)	0	390	2.5
11	10(o)	0	390	2.5
12	20(o)	0	380	2.5
13	20(o)	0	380	2.5
14	10(c)	0	390	2.5
15	10(c)	0	390	2.5
16	20(c)	0	380	2.5
17	20(c)	0	380	2.5

5.6.2 Extracción de grasa por el Método de Soxhlet

Se llevó a cabo la extracción utilizando 50 g de harina del hongo *P. ostreatus* CP-50, esta muestra se colocó en un equipo de Soxhlet, con 750 ml de éter de petróleo. Se dejó hervir durante 5 horas hasta que se obtuvo el extracto de ácidos grasos (figura 9). Una vez terminada la extracción, se eliminó el solvente por evaporación en un rotavapor marca Rotadest (figura 10). Este proceso se realizó por duplicado.

Material y métodos

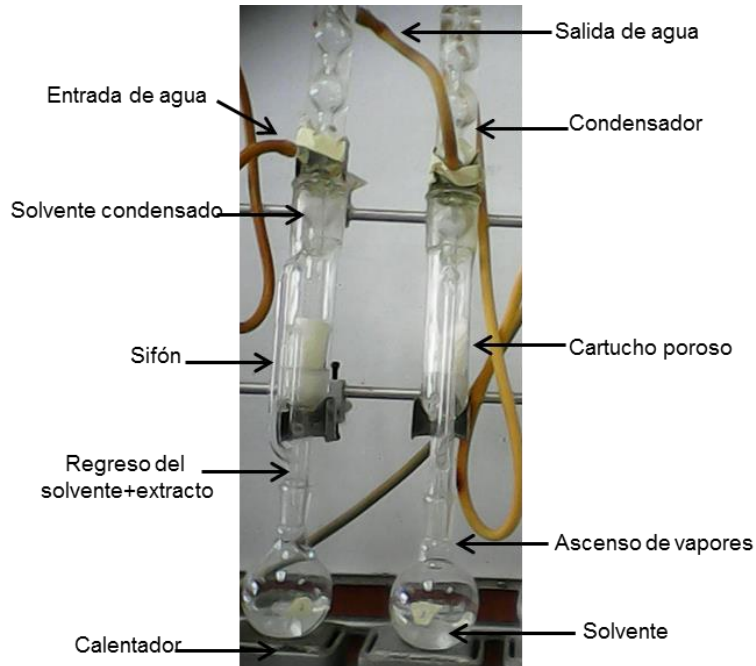


Figura 9. Extracción de lípidos grasos presentes en *P. ostreatus* CP-50 por el método de Soxhlet

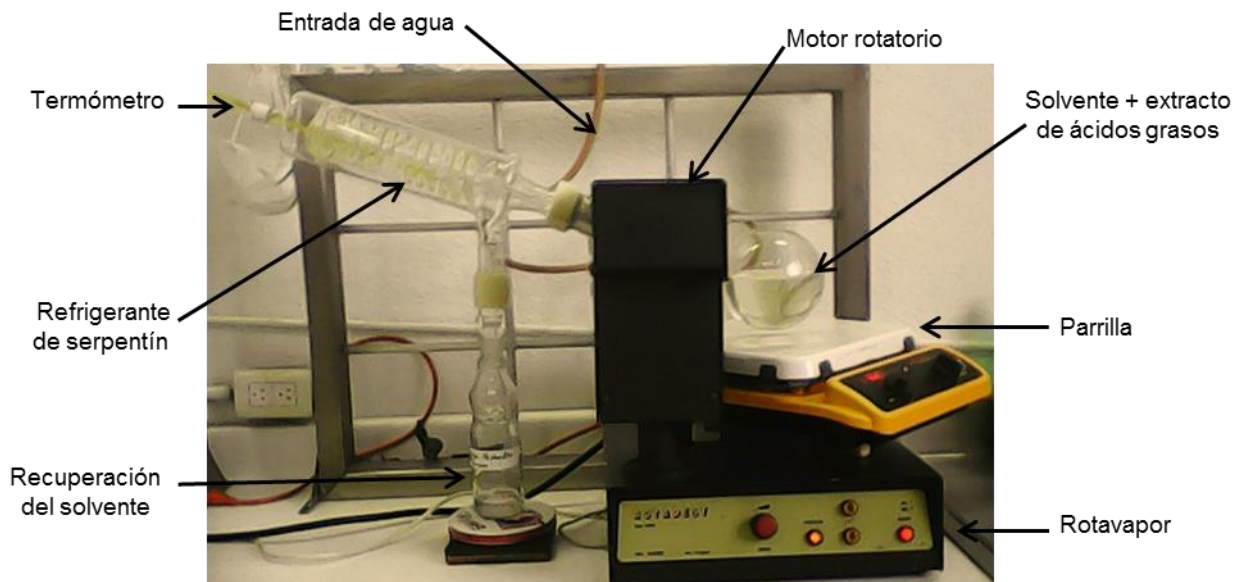


Figura 10. Recuperación del éter de petróleo por medio de un rotavapor.

5.6.3 Determinación de Fósforo soluble por el Método de Bray (Bray y Kurtz, 1945)

Para la cuantificación de fósforo soluble se construyó una curva patrón con solución tipo fosfato, conforme el siguiente patrón de concentraciones, los cuales se anotan en la tabla 7. Esta tabla muestra cómo se construyó la curva patrón con solución tipo fosfato en concentraciones: 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 40 ppm. Se tomó 1 ml de cada dilución y se colocó en unos tubos de ensayo. A cada tubo se le agrego 1 ml de solución extractora, 5 ml de agua destilada, 2 ml de solución de molibdato de amonio y 1 ml de solución de cloruro estañoso diluido. Se mezcló bien y se leyó en el espectro a 640 nm.

Tabla 7. Concentración de fosfato para realizar la curva patrón de fósforo

Tubo	Solución tipo fosfatos (ml)	Agua destilada (ml)	Concentración final (ppm)
1	0	10	0
2	0.1	9.9	1
3	0.5	9.5	5
4	1	9.0	10
5	1.5	8.5	15
6	2	8.0	20
7	2.5	7.5	25
8	3	7	30
9	4	6	40

En el caso de la muestra, se pesó 1 g de harina de *P. ostreatus* CP-50 y se colocó en un tubo Falcón. Se agregó 7 ml de solución extractora, esto se agitó y se centrifugó a 6000 rpm durante 10 minutos. Del sobrenadante se tomó 1 ml y se colocó en un tubo de vidrio, se agregó 6 ml de agua destilada y 2 ml de solución de molibdato. Al final se agregó 1 ml de solución de cloruro estañoso diluido. Después de 10 minutos se realizaron las lecturas en un espectrofotómetro a la longitud de onda 640 nm. Esto se realizó por duplicado (figura 11).

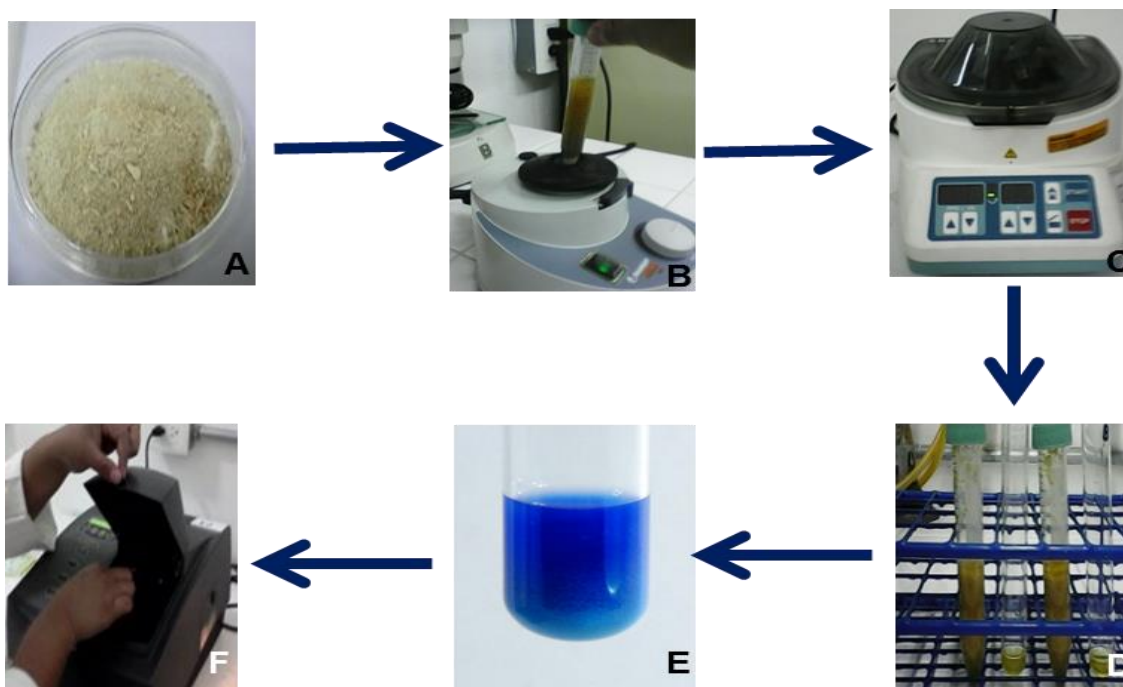


Figura 11. Método para cuantificar fósforo. A) Pesar 1 g de harina de los cuerpos fructíferos del hongo *P. ostreatus* CP-50. B) Agitación de la muestra con solución extractora. C) Centrifugación a 6000 rpm. D) Obtención del sobrenadante. E) Sobrenadante con agua destilada, solución de molibdato y solución de cloruro estañoso. F) Medición en espectrofotómetro a 640 nm.

5.6.4 Determinación de fibra cruda por el Método de Digestión Ácida-Base (Norma Mexicana NMX-F-090-S-1978)

La determinación de fibra cruda se realizó de la siguiente manera: En un vaso de precipitados se agregó 100 ml de ácido sulfúrico 1.25% con 3 g de harina previamente desengrasada de *P. ostreatus* CP-50, este se colocó sobre una parrilla de calentamiento y se dejó hervir durante 30 minutos; después de este tiempo se realizó el primer lavado con 150 ml de agua caliente y se recuperó la muestra. Nuevamente se montó el sistema con 100 ml de hidróxido de sodio al 1.25%, se dejó hervir durante 30 minutos y finalmente se enjuagó con 150 ml de agua caliente y 50 ml de alcohol. La muestra se recuperó en un crisol y se colocó en una estufa de secado a 60°C durante 24 horas, transcurrido este tiempo se enfrió el crisol en un desecador durante 30 minutos, se pesó y se llevó a una mufla a 550° C por 2

horas y nuevamente se transfirió a un desecador, donde se mantuvo 30 minutos y finalmente se pesó (figura 12).

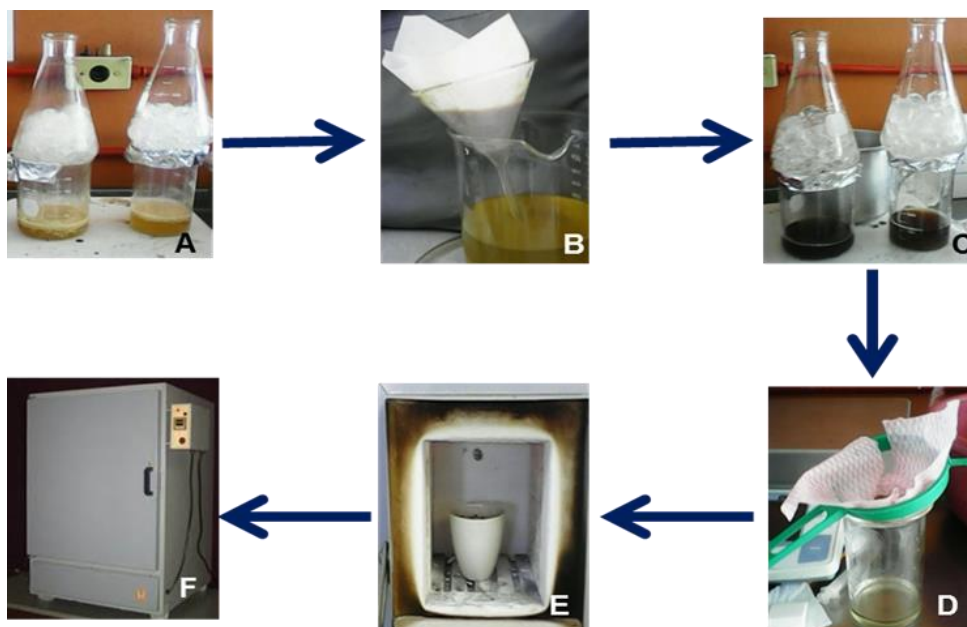


Figura 12. Cuantificación del contenido de fibra cruda. A) Ebullición con ácido sulfúrico al 1.25%, B) Lavado con agua caliente, C) Ebullición con 100 ml de hidróxido de sodio al 1.25%, D) Lavado con agua caliente y alcohol, E) Secado de la muestra, F) Calcinación en mufla.

5.6.5 Determinación de nitrógeno total por el método de Micro-Kjeldahl (Modificado por Bremner, 1965).

Este método se realizó en 3 etapas: digestión, destilación y valoración.

1) Digestión

Se pesó 0.122 g de cada muestra (*P. ostreatus* CP-50 y *P. ostreatus* var. *columbinus*) y se colocó en un matraz kjeldahl. Después se adicionó 0.5 g de la mezcla de catalizadores y se agregó 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Posteriormente se calentó por 4 horas en un digestor a una temperatura media, hasta que la muestra adquirió un color verde esmeralda claro (figura 13). La

digestión se llevó a cabo bajo una campana de extracción. Este proceso se realizó por duplicado para cada muestra y se efectuó un ensayo en blanco usando almidón.



Figura 13. Oxidación de la materia orgánica y conversión del nitrógeno (proveniente de proteínas) en ion amonio mediante el calentamiento del ácido sulfúrico y catalizadores.

2) Destilación

Se dejaron enfriar los matraces kjeldahl hasta temperatura ambiente, transcurrido este tiempo a cada matraz se le adicionó 30 ml de agua destilada y se mezcló vigorosamente. Se procedió a montar el sistema de destilación, a este equipo se le añadió 20 ml de hidróxido de sodio al 50% y la muestra disuelta en agua.

Para recuperar el destilado se colocó en la salida del aparato de destilación un matraz de Erlenmeyer que contenía 7.5 ml de la solución de ácido bórico al 2% más dos gotas del indicador Wesslow. Se conectó el flujo de agua y se inició la destilación. Una vez recuperado 50 ml de destilado se retiró el matraz y se apagó el equipo.

3) Valoración

Se tituló el nitrógeno amoniacal recuperado en el matraz con la solución de ácido clorhídrico 0.1 N hasta que se observó el viraje de verde a rosado fuerte. Se realizó los cálculos necesarios para obtener el porcentaje de nitrógeno.

5.6.6 Determinación del perfil lipídico por Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-MS).

La fracción lipídica del hongo *P. ostreatus* CP-50 fue analizada por CG-MS en el laboratorio de absorción y catálisis de la facultad de ciencias químicas BUAP.

5.7 Análisis estadísticos

Para evaluar el contenido de proteína bruta y fósforo en este estudio se ajustaron las lecturas de la absorbancias a una línea recta y posteriormente se hizo una regresión lineal utilizando el paquete Microsoft Excel. En el caso de proteína se analizaron los datos obtenidos y posteriormente se realizó una comparación entre los porcentajes de las dos variedades.

5.8 Elaboración de tortillas enriquecidas con harina del hongo *P. ostreatus* CP-50.

Para preparar las tortillas se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

- Obtención de la harina de *P. ostreatus* CP-50

Los cuerpos fructíferos del hongo se colocaron en charolas de papel y fueron deshidratadas en una estufa de secado marca Genlab a una temperatura de 40 °C durante 3 días. Los fragmentos deshidratados se molieron en un triturador de alimentos para la obtención de harina, después se realizó el tostado de esta harina durante 1 minuto a fuego lento.

- Obtención de la masa de maíz (*Zea mays*)

Se realizó la limpieza del maíz con la finalidad de eliminar el grano dañado o podrido, o de cualquier tipo de contaminación física. La nixtamalización se llevó a cabo cocinando a fuego directo durante 50 min, en una olla de aluminio, utilizando 10 L de agua/ 4 kg de maíz y 20 g de cal. Se dejó reposar durante 15 horas y luego se lavó con agua corriente hasta eliminar el exceso de cal en los granos y se molió en un molino de piedras. Se mezcló 500 g de masa obtenida con 40 g de harina tostada del hongo hasta obtener un amasado homogéneo y suave. Se elaboraron tortillas

Material y métodos

de 13 cm de diámetro en una prensa. Luego estas tortillas fueron cocidas en un comal de acero hasta lograr el inflado (figura 14).

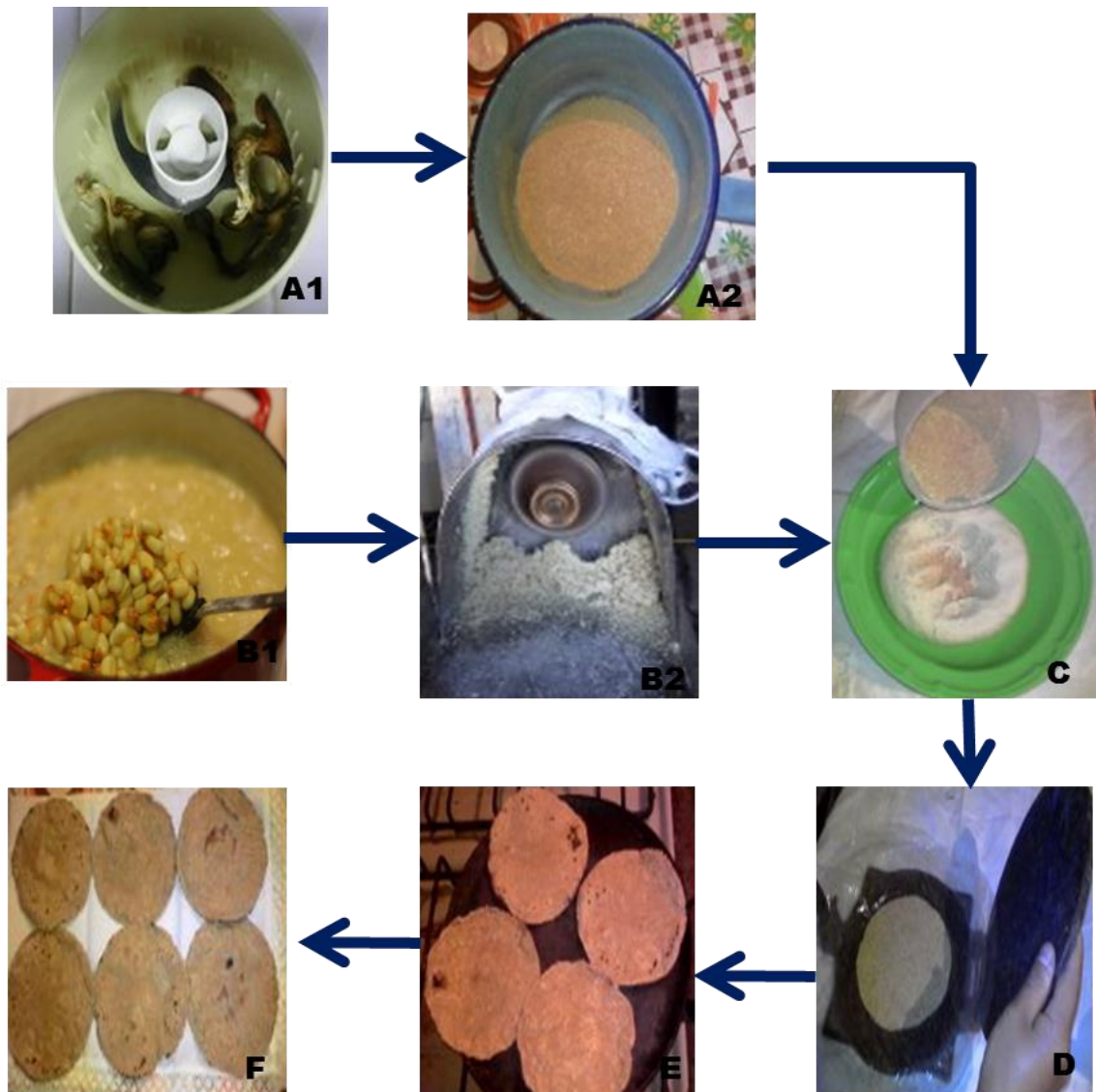


Figura 14. Elaboración de tortillas enriquecidas con harina de *P. ostreatus* CP-50. A) Obtención de la harina del hongo a partir de carpóforos, B) Tostado de la harina durante 1 min, Aa) Nixtamalización del maíz durante 50 min. Bb) Molienda de los granos de maíz para obtener la masa, C) Mezclado de la harina del hongo con la masa, D) Aplanado de las tortillas, E) Cocción de las tortillas, F) Obtención de las tortillas enriquecidas.

6. RESULTADOS

6.1 Aislamiento y propagación de las cepas *P. ostreatus* CP-50 y *P. ostreatus* var. *columbinus*.

Este procedimiento se llevó a cabo en el laboratorio de Genética de la Escuela de Biología de la BUAP y siguiendo los protocolos de Gaitán y otros autores (2006) y adaptando la metodología a las nuevas condiciones del laboratorio; se logró aislar las cepas *P. ostreatus* CP-50 y *P. ostreatus* var. *columbinus* a partir de los carpóforos maduros y mediante la técnica de aislamiento por medio de tejido en placas de cultivo con PDA, siendo confluentes a los 12-15 días para *P. ostreatus* CP-50 y de 17 a 23 días para *P. ostreatus* var. *columbinus*. Para mantener y preservar las cepas se realizaron periódicamente resiembras sucesivas en placas de cultivo con PDA.

Con relación a la morfología colonial observada en las cepas aisladas, se observaron las siguientes características:

Para la cepa *P. ostreatus* CP-50 se obtuvo un micelio en relieve, aéreo algodonoso de color blanco y con una densidad regular (figura 15).



Figura 15. Crecimiento del micelio de la cepa *P. ostreatus* en medio PDA.

Resultados

Con relación a la morfología colonial observada en las cepas aisladas, *P. ostreatus* var. *columbinus* se observaron las siguientes características: un crecimiento micelial radial, borde irregular y con una textura algodonosa de color blanco (figura 16). Además se observó un crecimiento muy lento en las placas de cultivo con PDA, comparado con *P. ostreatus* CP-50.



Figura 16. Desarrollo del micelio del hongo *P. ostreatus* var. *columbinus* en medio PDA.

6.2 Multiplicación del micelio en granos de trigo.

Una vez que el micelio del hongo creció en placas con PDA, se trasladó a granos de trigo estéril. El tiempo de invasión total para *P. ostreatus* CP-50 fue de 15-20 días (figura 17). Sin embargo para *P. ostreatus* var. *columbinus* tardó entre 17-25 días.



Figura 17. Obtención del inóculo-grano para la producción de *P. ostreatus* CP-50.

6.3 Fructificación y cosecha

Después de haber realizado la siembra en la paja de trigo y haber transcurrido el tiempo necesario de invasión en el sustrato. Se pudo observar que el micelio del hongo *P. ostreatus* CP-50 formó primordios más rápidamente a diferencia del micelio *P. ostreatus* var. *columbinus* (tabla 8).

La aparición de los primordios del hongo *P. ostreatus* CP-50 se dio en un lapso de 20-24 días después de la siembra, y se obtuvo la cosecha de los cuerpos fructíferos en un intervalo de 24-30 días. De modo similar se encontró que el número de días para la aparición de primordios en *P. ostreatus* var. *columbinus* se dió en un periodo de tiempo de 27-35 después de la siembra y se cosechó en intervalo de 29-40 días.

Tabla 8. Fructificación de las dos variedades de *Pleurotus* spp. cultivados sobre paja de trigo.

Variedad	Fructificación	Color de primordios
<i>P. ostreatus</i> CP-50	24-30 días	Crema
<i>P. ostreatus</i> var. <i>columbinus</i>	29-40 días	Gris oscuro

Cabe mencionar, que las dos especies de hongos comestibles presentaron diferencias en su morfología, se observó que *P. ostreatus* var. *columbinus* presentó un estípote más largo y ancho, la forma del carpóforo fue redondo y de mayor tamaño, presentó un color más oscuro. Mientras que *P. ostreatus* CP-50 mostró un estípote pequeño y delgado, el sombrero fue pequeño y su color fue más claro (figura 18).



Figura 18. A) Fructificación del hongo *P. ostreatus* CP-50. B) Cuerpo fructífero de *P. ostreatus* var. *Columbinus*.

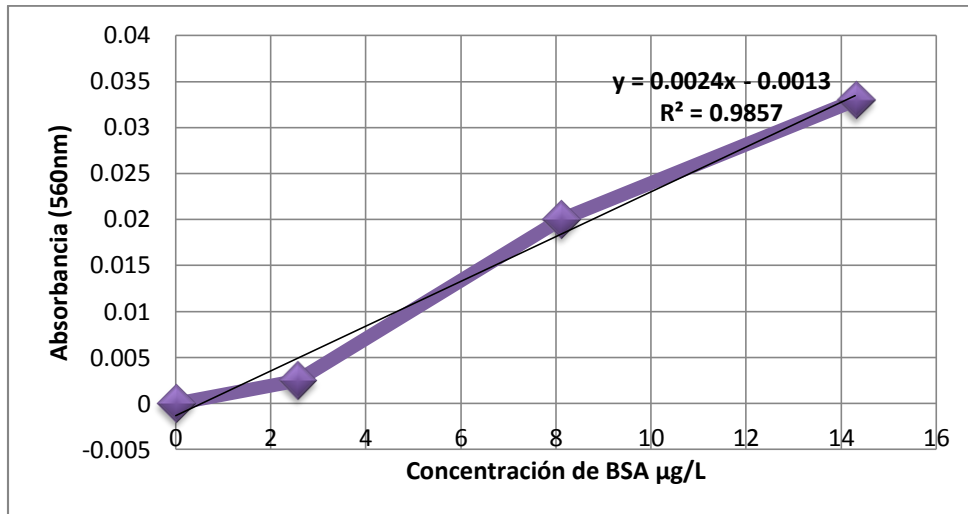
6.4 Análisis bromatológico

6.4.1 Proteína total

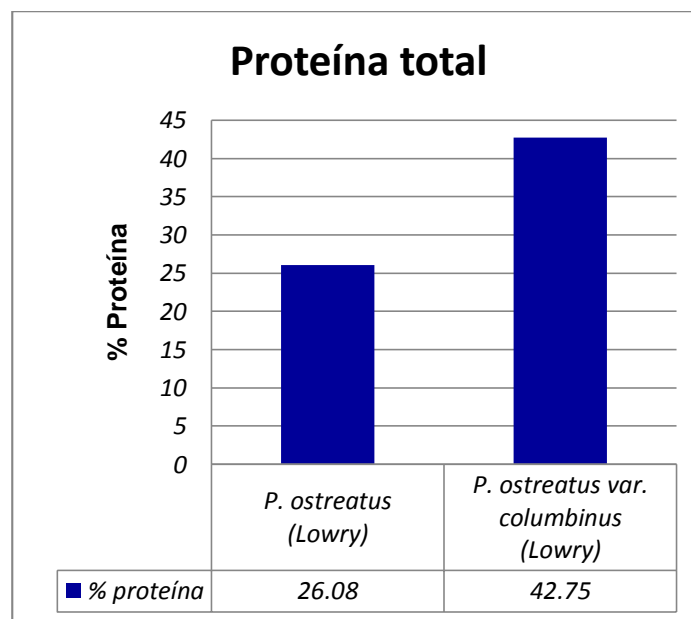
El método de Lowry nos permitió evaluar el contenido de proteína, en la tabla 9 se muestran los datos obtenidos de las lecturas de absorbancia, estos datos se ajustaron a una línea recta y de esta manera se obtuvo la curva estándar de proteína, donde las abscisas (x) representa la concentración de proteína ($\mu\text{l/L}$) y las ordenadas (y) los valores de la absorbancia (gráfica 1). Posteriormente, se realizó una regresión lineal de mínimos cuadrados. Los resultados de contenido de proteína mostraron diferencias entre las dos variedades de hongos, *P. ostreatus* var. *columbinus* obtuvo el valor más alto. En la gráfica 2 se observa el porcentaje de proteínas en los carpóforos de *Pleurotus*.

Tabla 9. Concentración y absorbancia del reactivo de BSA.

Concentración BSA ($\mu\text{l/L}$)	Absorbancia a 560 nm
0	0
2.56	0.0025
8.1	0.02
14.3	0.033



Gráfica 1. Curva estándar para la determinación de proteína para las dos variedades de hongos comestibles.



Gráfica 2. Contenido de proteína en los cuerpos fructíferos de las dos variedades por diferentes métodos.

6.4.2 Grasa

El porcentaje de grasa cruda se calculó por la siguiente formula:

$$\% \text{ Grasa cruda} = \frac{m2 - m1}{m} \times 100$$

Donde:

m= peso de la muestra

m1= peso matraz solo

m2= peso matraz con grasa

Se encontró que el contenido de grasa en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* CP-50 fue de 1.5%.

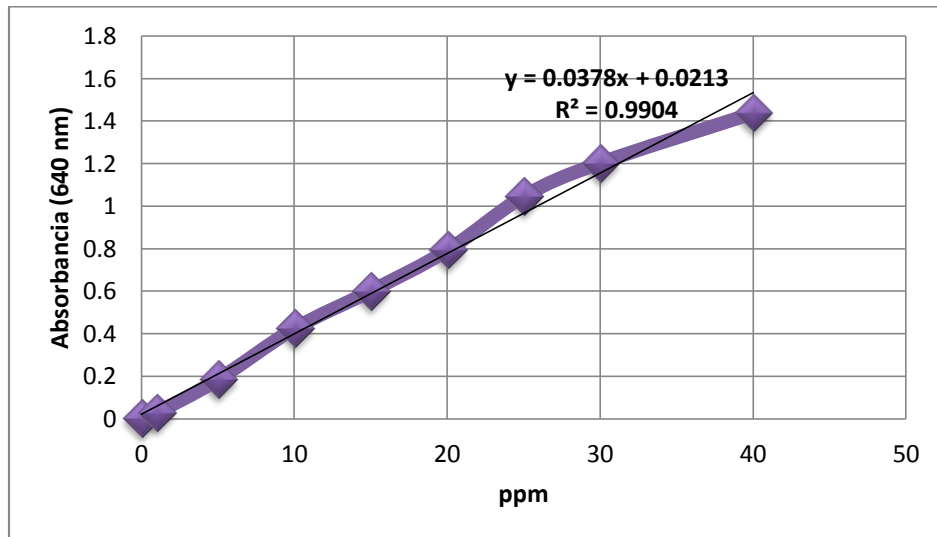
6.4.3 Fósforo

En la tabla 10 se observa los valores de absorbancia de las diferentes concentraciones de fosfatos obtenidos de la curva de calibración, estos datos se ajustaron a una línea recta, y posteriormente realizó una regresión lineal. Una vez obtenidos los valores de la pendiente y la ordenada al origen se pudo interpolar los resultados de absorbancia de las muestras para calcular el contenido de fósforo soluble presente en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* CP-50. En la gráfica 3 se muestra la curva de calibración de las diferentes concentraciones de fosfatos.

Los resultados de contenido de fósforo presente en los carpóforos de *P. ostreatus* CP-50 fue de 46.6 ppm.

Tabla 10. Concentración y absorbancia de la dilución de fosfatos

Concentración Final (ppm)	Absorbancia a 640 nm
0	0
1	0.029
5	0.184
10	0.424
15	0.601
20	0.792
25	1.046
30	1.203
40	1.437



Gráfica 3. Curva de calibración de fósforo.

6.4.4 Fibra cruda

El valor nutricional de fibra cruda del hongo comestible *P. ostreatus* CP-50 se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ Fibra cruda} = \frac{\text{Peso crisol después de la estufa} - \text{Peso crisol después de la mufla}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

El contenido de fibra en la muestra fue de 11.75%.

6.4.5 Nitrógeno total

El porcentaje de nitrógeno total presente en las dos variedades de hongos comestibles fue calculado por la siguiente formula:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{V \times N \times \text{meq} \times 100}{M}$$

En donde:

V= Volumen de ácido clorhídrico empleado en la titulación

N= Normalidad del ácido clorhídrico

M= Masa de la muestra en g.

meq= mili equivalente de nitrógeno 0.014 g

Los resultados de contenido de nitrógeno obtenidos mediante el método micro-kjelhal mostró que *P. ostreatus* var. *columbinus* presentó 4.41%, mientras para *P. ostreatus* CP-50 solo tuvo 3.05%. De acuerdo con los datos obtenidos se encontraron diferencias entre ambas variedades.

6.4.6 Perfil lipídico

Una vez que se obtuvo el extracto lipídico del hongo *P. ostreatus* CP-50 por medio del método de Soxhlet, se realizó la identificación de los ácidos grasos mediante el análisis de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-MS).

Los resultados del perfil lipídico permitió identificar los siguientes componentes: ácido 13-trans octadecenoico (30.67%), 9-12-ácido octadecadienoico (24.25%), ácido hexadecanoico (19.52%) y ácido octadecanoico (10.33%). Siendo el componente ácido 13-trans octadecenoico el que tuvo mayor porcentaje en esta prueba. En la tabla 11 se puede apreciar el porcentaje de ácidos grasos obtenidos.

Tabla 11. Componentes lipídicos detectados en cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* por análisis CG-MS.

Pico	RT	Componente	Fórmula molecular	Masa Molecular	Concentración Relativa (%)
1	2.604	Benceno, 1,3-dimetil	C8H10	106	5.6
2	4.793	Ácido Benzoico	C7H6O2	122	1.89
3	5.012	Nonanodiamida, N, N'-di-benzoiloxi	C23H26N2O6	426	0.25
4	7.126	1- fenil- 1,2,3- butanetrione 2- oxima,	C10H9NO3	191	1.96
5	13.224	ácido pentadecanoico (ácido pentadecílico)	C15H30O2	242	1.4
6	14.713	Ácido hexadecanoico (ácido palmítico)	C16H32O2	256	19.52
7	14.899	Estra-1,3,5 (10) trien-176-ol	C18H24O	256	1.7
8	17.264	Metil 9-cis, 11-trans- octadecadienoato	C19H34O2	294	0.49
9	18.227	9,12- ácido octadecadienoico (ácido linoleico)	C18H32O2	280	24.25
10	18.326	Ácido 13- trans octadecenoico	C18H34O2	282	30.67
11	18.808	Ácido octadecanoico (ácido estéreo)	C18H36O2	284	10.33
12	27.764	Ácido hexanodioico, éster bis (2-etilhexil)	C22H42O4	370	1.94

6.5 Producto enriquecido con *P. ostreatus* CP-50

Para evaluar el grado de aceptación de las tortillas enriquecidas con harina de *P. ostreatus*, se llevó a cabo una degustación gastronómica en la Escuela de Biología donde participaron 50 comensales. En la gráfica 4 se muestra el porcentaje de participantes que les gusto el sabor de las tortillas. Los resultados de este parámetro indican que el 88% de los participantes les gusto la tortilla.



Gráfica 4. Porcentaje de aceptabilidad de las tortillas enriquecidas

Respecto al color de la tortilla el 75% opino que fue agradable, 15% indiferente y el 10% desagradable. Las tortillas obtenidas fueron de color café oscuro, debido al tostado de la harina de *P. ostreatus*.

Los resultados obtenidos del parámetro olor, el 80% menciono que fue agradable, 15% indiferente y el 10% desagradable.

En cuanto a la textura un 60% opinó que la tortilla tenía una textura suave y el 40% mencionaron que era muy dura.

Cabe mencionar que el aporte proteico de cada tortilla fue de 2.28 g de proteína de cada tortilla. Esta cantidad de proteínas es un buen complemento en nuestra dieta.

7. DISCUSIÓN

7.1 Aislamiento y propagación de las cepas *P. ostreatus* CP-50 y *P. ostreatus* var. *columbinus*.

De acuerdo a lo reportado por Suárez y Holguín (2011), demostraron que el mejor medio para el crecimiento de micelio *P. ostreatus* fue el medio de cultivo PDA a los 10 días después del aislamiento por tejido, asimismo León-Avendaño *et al.* (2013) evaluaron el aislamiento y velocidad de crecimiento micelial, los resultados obtenidos demuestran que el medio de cultivo PDA obtuvo la mayor velocidad de crecimiento micelial para la cepa *P. djamor*. Como también hemos podido comprobar a través de esta investigación que los mejores resultados de aislamiento y crecimiento micelial se obtuvieron en *P. ostreatus* CP-50 a los 12-15 días, mientras que *P. ostreatus* var. *columbinus* tardó 17-23 días. Con relación a la morfología de los micelios observados en las cepas aisladas, *P. ostreatus* CP-50 presentó características similares a lo reportado por Stamets (1993), donde menciona que el micelio fue blanco, radial, algodonoso y con una densidad regular.

En este estudio se seleccionó el medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) para el aislamiento y crecimiento micelial de las dos variedades de *Pleurotus* dado que este medio es muy eficiente para el cultivo de hongos.

La temperatura es un factor muy importante que interviene en la capacidad enzimática del organismo, como en la fluidez de los lípidos de la membrana celular. El micelio del género *Pleurotus* puede crecer en un intervalo amplio de temperaturas. Se encontró que las especies *P. ostreatus*, *P. eryngii* y *P. cornucopiae* (Zadrazil, 1974, citado por Sánchez y Royse, 2001), crecen en un rango entre 0 y 35°C con temperaturas óptimas de 30°C para la primera y de 25°C para las dos últimas. Asimismo, Zanón *et al.* (2005) reportaron que el mejor crecimiento del micelio *P. ostreatus* en medio Agar Extracto de Malta (MEA) se obtuvo a una temperatura de 24°C, sin embargo se observa que el crecimiento radial diario

disminuye a medida que aumenta la temperatura. En nuestro caso, la temperatura de incubación utilizada en esta investigación fue de 30°C, donde se observó un crecimiento micelial óptimo para cada variedad de *Pleurotus*.

También el pH del medio de cultivo donde crece un hongo tiene una influencia directa sobre éste, porque incide sobre el carácter iónico del medio e influye directamente sobre las proteínas de la membrana y sobre la actividad de las enzimas ligadas a la pared celular, es decir que afecta su metabolismo. Para el crecimiento de *Pleurotus* se han citado rangos de pH entre 4 y 7, con un óptimo entre 5 y 6, el cual suele variar entre cepas y especies (Sánchez y Royse, 2001). Si el pH del sustrato donde crece un hongo no es adecuado, aunque las condiciones de temperatura y nutrientes sean óptimos, el crecimiento se verá afectado. Con base a información anterior se decidió trabajar con medio de cultivo PDA a un pH de 5.6, logrando obtener un crecimiento y preservación óptima de las cepas estudiadas.

7.2 Multiplicación del micelio en granos de trigo.

La elección del grano para propagar el micelio del hongo representa un éxito para obtener una rápida colonización del sustrato pasteurizado y de esta manera evitar la posible aparición de mohos antagonistas que compiten por el espacio y nutrientes. Mata *et al.* (2011) cita a Guzmán *et al.* (1993) quienes mencionan que los ataques de estos mohos, pueden inhibir el crecimiento del micelio de *Pleurotus* y reducir o anular la producción de los cuerpos fructíferos.

Estudios recientes demuestran que los granos de trigo es el mejor cereal para la producción de inóculo en *Pleurotus*, Suárez y Holguín (2011) reportaron que en dos semanas, los granos de trigo fueron completamente infectados, seguidos por los granos de cebada aunque el crecimiento se obtuvo en 3 semanas.

Estos datos son similares a lo reportado por Stamets (1993) quien menciona que los mejores cereales son el trigo, cebada y el sorgo. Aunque el inóculo de *Pleurotus* también se puede preparar sobre granos de mijo y otros materiales de fácil acceso (Chang y Miles, 1989). En otro estudio realizado por Ríos *et al.* (2010)

emplearon semillas de cebada hidratadas durante 1 hora, estas fueron inoculadas con micelio de *P. ostreatus* y se incubaron a 25 °C, el tiempo de colonización completa fue de 20 días. Con base en los ejemplos mencionados, el tiempo de hidratación de los granos es muy importante para que las paredes del grano se ablanden y el micelio del hongo infecte (Suárez y Holguín, 2011).

En este estudio se utilizaron semillas de trigo previamente hidratadas durante 18 horas y esterilizadas a 15 lb durante 15 minutos, el tiempo de invasión total para *P. ostreatus* CP-50 fue de 15-20 días, sin embargo el micelio de *P. ostreatus* var. *columbinus* tardó entre 17-25 días para infectar completamente a las semillas.

El pH en las semillas se regula por adición de carbonato de calcio, el valor recomendado es de 5.5 (Stamets, 1993), esto es ideal para el crecimiento del micelio y la inhibición de bacterias.

7.3 Fructificación y cosecha

Se ha reportado que la producción de carpóforos de *P. ostreatus* depende de los factores físicos (temperatura, velocidad de colonización, humedad relativa, concentración de oxígeno y cantidad de luz), químicos (tipo de sustrato) y biológicos (contaminación bacteriana y viral) (Rajarathman y Bano, 1988; Sánchez y Royse, 2011).

De acuerdo con Martínez (1990) realizó un estudio para medir el crecimiento y aparición de primordios de *P. ostreatoroseus* cultivado sobre paja de trigo, encontró que el sustrato fue cubierto completamente por el micelio al tercer día después de la siembra y la aparición de los primordios se dio a los 15 días.

Por otro lado, Bautista (1997) menciona que el tiempo de fructificación de los cuerpos fructíferos en un cuarto de incubación a una temperatura de 25°C y humedad relativa de 80%, se dio entre los 20 y 24 días para *P. ostreatus* cepa INIREB-8, entre 17 y 25 días *P. ostreatus* cepa CDBB-H-897 y para la *P. ostreatus* cepa CDBB-H-896 entre los 32 y 40 días a partir de la inoculación de la paja de trigo.

En el presente estudio la aparición de los primordios del hongo *P. ostreatus* CP-50 se dio en un lapso de 20-24 días después de la siembra, y se obtuvo la cosecha de los cuerpos fructíferos en un intervalo de 24-30 días. De modo similar se encontró que el número de días para la aparición de primordios en *P. ostreatus* var. *columbinus* se dio en un periodo de tiempo de 27-35 después de la siembra y se cosecho en intervalo de 29-40 días. Estos resultados son similares a los reportados en la literatura a pesar de que nuestros valores de humedad relativa fueron de 50% en promedio. La humedad relativa debe mantenerse entre un 85 y 90%, una humedad menor provocaría que los primordios se deshidrataran y no produjeran un carpóforo maduro (Sánchez y Royse, 2001).

Otro factor que influye en la etapa de fructificación es el tiempo de hidratación y pasteurización del sustrato. Para lograr una óptima pasteurización, el sustrato debe sumergirse durante 40 minutos en agua a una temperatura de 85°C, este método es muy efectivo para eliminar organismos patógenos (Sánchez y Royse, 2001). Se ha reportado que el género *Pleurotus* requiere de 20% de oxígeno y menos 700 ppm de bióxido de carbono en el ambiente para el crecimiento de cuerpos fructíferos.

De acuerdo a las características morfológicas de los carpóforos descritos en este estudio, *P. ostreatus* var. *columbinus* presentó un estípote más largo y ancho, la forma del carpóforo fue redondo y de mayor tamaño, presentó un color más oscuro. Mientras que *P. ostreatus* CP-50 presentó un estípote pequeño y delgado, el sombrero fue pequeño y su color fue más claro, estos datos son similares a lo reportado por Stamets (1993) y Matta *et al.* (2011).

7.4 Análisis nutricional

7.4.1 Proteína total

La importancia nutricional de los hongos radica en la calidad y cantidad de nutrientes, los cuerpos fructíferos de *Pleurotus* son una excelente fuente de proteína ya que presentan todos los aminoácidos esenciales (Fennema, 2000). En un estudio realizado por (Naraian *et al.* 2011, citado por Flores (2012) afirman que la disponibilidad de los nutrientes en el sustrato puede afectar la composición y, especialmente, el contenido de proteínas de los cuerpos fructíferos de los hongos ostra.

Nuestros resultados muestran que la cepa *P. ostreatus* var. *columbinus* cultivada sobre paja de trigo fue la que obtuvo la mayor cantidad de proteína total en los carpóforos cosechados. El contenido de proteína presente *P. ostreatus* var. *columbinus* fue de 42.75%. Estos resultados no concuerdan con lo reportado con Soto *et al.* (2005) quienes reportan 29.93% de proteína cruda en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* var. *columbinus* cultivados sobre paja de trigo. Por otro lado, Akyüz y Kirbağ (2010) realizaron una comparación de proteína cruda a los carpóforos de *P. eryngii* var. *ferulae* cultivados sobre distintos sustratos (paja de trigo, salvado de arroz y tallos de algodón) encontrando un rango de proteína de 12.9 a 19.7%.

Con respecto al contenido de proteína en los carpóforos de *P. ostreatus* CP-50 se obtuvo un porcentaje de 26.08%. Estos valores son similares a lo reportado por Martínez (1990) quien menciona un valor de 26.5% en los cuerpos fructíferos cosechados en paja de trigo. Sin embargo Bautista (1997) realizó un estudio bromatológico de tres cepas mexicanas de *P. ostreatus* cultivadas sobre paja de trigo. La concentración de proteína se encontró en un rango de 24.64% a 28.7%. Adicional a lo anterior Varnero *et al.* (2010) reportan en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* 25.6% de proteína total en peso seco, cultivado sobre paja de trigo. A pesar de no tener variaciones en contenido de proteína, las metodologías utilizadas en las diferentes investigaciones fueron diferentes, para el caso de Martínez (1990)

y Bautista (1997) utilizaron el método de micro-kjeldahl con un factor de conversión de 4.38 y 6.25 respectivamente, para obtener el porcentaje de proteína.

Por otra parte, el cultivo de *P. ostreatus* sobre residuos y pulpas (caña de azúcar, café, cacao, etc.) son un éxito ya que producen cuerpos fructíferos de mayor tamaño y mejor calidad nutricional. Esto ha sido demostrado en varios estudios, García (2008) investigó los valores de proteína cruda en base seca de los cuerpos fructíferos obtenidos con diferentes cepas de *P. ostreatus* cultivadas sobre pulpa de café, la proteína osciló entre 22 a 38%.

7.4.2 Grasa

En la actualidad existe una creciente demanda por consumir alimentos bajos en grasas saturadas. En un informe reportado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) sugiere consumir entre el 15% y el 30% de grasas en la dieta diaria, y tan solo el 10% de grasas saturadas. En la presente investigación se encontró que el contenido de grasa en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* CP-50 fue de 1.5%.

Estos datos se encuentran dentro de lo reportado en literatura por diversos autores, tal como lo reporta Bautista (1997) en un estudio realizado en tres cepas mexicanas de *P. ostreatus* cultivado sobre paja de trigo, quien reportó 1.10, 1.55 y 1.85% respectivamente de contenido de grasa. En otros estudios realizados por Dunder *et al.* (2008) y Patil *et al.* (2010) indicaron que tan solo cuantificaron 2.60% de grasa en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus*. Sin embargo, Liu *et al.* (2005) mencionan que la variación del contenido de grasa cruda no obedece al tipo de sustrato, aunque si puede intervenir la procedencia de la cepa, por ejemplo Akyüz y Kirbağ (2010b) encontraron para *Pleurotus* spp. que la grasa total de los carpóforos va de 0.9 a 1.3% para hongos silvestres y de 0.5 a 1.0% para hongos cultivados.

7.4.3 Fósforo

El fósforo es un mineral muy importante en la estructura de los huesos y en asociación con ciertos lípidos, da lugar a los fosfolípidos que son componentes

indispensables de las membranas celulares y del tejido nervioso. El aporte mínimo recomendado por la OMS es de 700 mg por día. Se ha demostrado en diversas investigaciones que *P. ostreatus* cultivados sobre paja de trigo presentó 810 mg/100 g de fósforo total (Patil *et al.*, 2010). En lo que respecta a la cepa *P. djamor* Vega y Franco (2012) reportan un rango de fósforo total de 880-1454 mg/100 g cultivados sobre paja de arroz, hoja y rastrojo de maíz.

Los valores medidos de fósforo en el presente estudio no pueden ser comparados con la literatura, ya que en los estudios reportados evaluaron el contenido de fósforo total mediante el método de cenizas totales, logrando cuantificar el contenido de fósforo presente en los ácidos nucleicos y fosfolípidos de la muestra. Sin embargo, en nuestro caso se utilizó el método de Bray que determina sólo el fósforo soluble extraído por medio de una solución acuosa, principalmente fosfatos de calcio y una fracción de los fosfatos de aluminio y fierro, con la combinación de ácido clorhídrico y fluoruro de amonio.

Sin embargo, con base a los ejemplos mencionados se puede comentar que existe un alto contenido de fósforo en diferentes cepas de *Pleurotus*.

7.4.4 Fibra cruda

El consumo de fibra tiene una gran importancia en la alimentación de las personas, ya que contribuye a acelerar el paso de los alimentos a través del sistema digestivo y ayudar a disminuir los niveles de colesterol y niveles de glucosa en la sangre. En esta investigación se encontró 11.7% de fibra cruda en los basidiocarpos de *P. ostreatus* CP-50. Este valor se encuentra dentro de lo reportado en la literatura. En estudios realizados por Guzmán *et al.* (2006) y Martínez (1990) reportaron 11.9% de fibra cruda en carpóforos cultivados sobre paja de trigo. Sin embargo, Bautista (1997) indicó un rango de 11.22-11.85% de fibra en los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* cultivados sobre paja de trigo. Los resultados de las diferentes investigaciones son similares ya que en todos los casos utilizaron la misma técnica de digestión ácido-base y el mismo sustrato.

7.4.5 Nitrógeno

Los resultados de contenido de nitrógeno obtenidos en este estudio mostró que *P. ostreatus* var. *columbinus* presentó 4.41%, mientras para *P. ostreatus* CP-50 solo obtuvo 3.05%. Nuestros resultados se encuentran por debajo de lo reportado en la literatura. De acuerdo a lo reportado por Varnero *et al.* (2010) encontraron 5.85, 5.80, 5.57 y 5.22% de nitrógeno total en basidiocarpos de *P. ostreatus* cultivados sobre paja de trigo, eucalipto, combinación paja de trigo con eucalipto y álamo. Sin embargo, Bonatti *et al.* (2004), mencionaron que *P. ostreatus* presentó 3.85% de nitrógeno total cultivado sobre hoja de plátano deshidratado.

7.4.6 Perfil lipídico

Los resultados obtenidos del perfil lipídico en el presente trabajo coinciden con lo reportado por Bautista (1997) y Benavides *et al.* (2015) quienes reportaron tres componentes principales: ácido linoleico, ácido palmítico, y ácido estéreo. Siendo el ácido linoleico el mayor componente lipídico en los basidiocarpos de *P. ostreatus*.

Sin embargo, en esta investigación se encontró un nuevo componente que es el ácido 13-trans octadecenoico, con un porcentaje de 30.6. Este componente pertenece a los ácidos grasos trans. En una revisión bibliográfica realizada por Griguol *et al.* (2007) reportaron que los ácidos grasos trans están presentes en la mayoría de los alimentos procesados, congelados, enlatados y horneados. Ejemplo de ello son las investigaciones que han demostrado que el contenido de ácidos grasos trans en la carne de cerdo es de 1.2 %, carne de res 9.5 %, carne de pollo 2.47 %, leche 3.35 %, helados 4.35 %, mantequilla 7.9 % y galletas cremosas 37 %. En el presente trabajo se cuantificó el contenido de grasas trans en *P. ostreatus* CP-50 obteniendo un valor de 0.46 %, este porcentaje está por debajo de los alimentos anteriormente mencionados.

El sustrato también influye sobre la concentración de lípidos, esto lo demuestra Benavides *et al.* 2015, quienes reportaron una concentración de 75.65, 71.05 y 71.68 % de ácido linoleico en carpóforos cultivados sobre pulpa de café, raquis de aceite de palma y bagazo de agave.

7.5 Producto enriquecido con *P. ostreatus* CP-50.

El maíz es uno de los cereales que juega un papel muy importante para elaborar alimentos en la población mexicana. Su principal forma de consumo es la tortilla, desafortunadamente este alimento carece de buena calidad proteica y de bajos niveles de aminoácidos esenciales entre ellos la lisina y el triptófano (Waliszewski *et al.*, 2003).

Según Figueroa *et al.* (2001) mencionan que la tortilla de maíz elaborada con maíz nixtamalizado generalmente presenta bajos valores en el análisis nutricional, debido a un excesivo de lavado del nixtamal para retirar la cal y el pericarpio de los granos de maíz.

A pesar de las pérdidas de nutrientes mediante el proceso de nixtamalización, también hay algo favorable, Figueroa *et al.* (1994) reportan que el contenido de calcio aumenta debido a la absorción de cal por los granos de maíz, este hecho es muy importante ya que aquellas personas que consumen poca leche o nada de ella, pueden adquirirlo mediante el consumo de la tortilla y de esta manera evitar el desarrollo de osteoporosis.

También se han realizado varias investigaciones donde ha demostrado que las tortillas enriquecidas con otros alimentos incrementan la calidad proteica. Gran parte de estas investigaciones han buscado enriquecer las tortillas con algunas leguminosas ricas en proteínas, una de las leguminosas de más amplio consumo en México es el frijol. Por ejemplo, Treviño (2013) realizó un análisis nutricional, reportando el porcentaje de proteína en las tortillas fortificadas de frijol con un 10, 20 y 30% de harina de frijol fueron de 10.47, 10.89 y 11.71% respectivamente.

Asimismo, Vázquez (2013) realizó una investigación donde reporto el contenido de proteína en tortillas fortificadas con harina de frijol y amaranto. Los mejores resultados se obtuvieron en el tratamiento (90% maíz, 5% frijol y 5% amaranto) obteniendo 10.59% de proteína en las tortillas fortificadas. Por otra parte, Serna *et al.* (1988) adicionaron 75% de maíz, 25% sorgo y 8% de soya desengrasada para elaborar tortillas enriquecidas. El contenido de proteína total fue de 12.5%.

Estos resultados de contenido de proteína son mayores comparados con otros estudios que solo utilizaron maíz nixtamalizado. Bressani *et al.* (1990) reportaron un rango de 9.7 a 11%; el reportado por García (2004) fue de 9.21% y Treviño (2013) menciona un valor de 9.47% de proteína en tortillas de maíz.

Con base a los ejemplos mencionados, se decidió aprovechar las propiedades nutricionales de *P. ostreatus* CP-50, para la elaboración de tortillas enriquecidas con harina del hongo, para el consumo humano.

Según lo reportado por Treviño (2013) una tortilla elaborada con 28-30 g de masa contiene 9.43% de proteína. En este trabajo se enriqueció con 1.98% de proteína proveniente de la harina del hongo, si súmanos este porcentaje de proteína con lo reportado en las tortillas de maíz obtendremos un total de proteína de 11.41% en cada tortilla. Este producto innovador es una buena alternativa para obtener un alimento de alto contenido proteico y cubrir la cantidad que sugiere la OMS ya que aportaría 2.28 g de proteína. La OMS recomienda consumir 0.6 a 0.8 g de proteína diaria por kilogramo de peso.

De acuerdo a los resultados obtenidos en los parámetros de degustación en una prueba piloto se puede observar que el producto innovador fue aceptado por sus características organolépticas en cuanto a sabor, olor, color y textura.

8. CONCLUSIONES

- En este trabajo se estandarizó la técnica de aislamiento del micelio, preparación de inóculo, siembra en paja de trigo, fructificación y cosecha de *P. ostreatus* CP-50 y *P. ostreatus* var. *columbinus*.
- En la etapa de aislamiento y crecimiento micelial en medio de cultivo PDA, *P. ostreatus* var. *columbinus* fue más rápido respecto a *P. ostreatus* CP-50. En la segunda etapa, la velocidad de invasión en granos de trigo fue mayor en la cepa *P. ostreatus* CP-50 respecto a *P. ostreatus* var. *columbinus*. En la etapa de fructificación, los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* var. *columbinus* cultivados sobre paja de trigo presentaron las mejores características morfológicas en tamaño y color.
- La cepa *P. ostreatus* var. *columbinus* cultivada sobre paja de trigo fue la que obtuvo la mayor cantidad de proteína y nitrógeno total en los carpóforos cosechados. Además el bajo contenido de grasa convierte a *P. ostreatus* CP-50 en un alimento saludable.
- El hongo *P. ostreatus* CP-50 presentó un elevado contenido de fibra cruda.
- Con respecto al perfil lipídico el ácido 13-trans octadecenoico identificado, no ha sido reportado en otros estudios.
- Si bien *P. ostreatus* var. *columbinus* presentó un alto valor proteico, delicioso sabor, y mayor tamaño del carpóforo, es la cepa menos cultivada en México, debido a su lento crecimiento micelial y tiempo de producción de carpóforos respecto a otras variedades de *Pleurotus* spp.
- Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que las tortillas enriquecidas con harina de *P. ostreatus* CP-50 fueron muy bien aceptadas por la mayoría de los comensales, logrando de esta manera contribuir con un alimento orgánico, económico, y con propiedades nutricionales a nuestra dieta diaria

9. BIBLIOGRAFIA

Aguilar, M. (2003). Aprovechamiento de cáscaras de pitaya para el Crecimiento de setas (*Pleurotus ostreatus*) en condiciones de laboratorio. Tesis Ing. en Alimentos. Universidad Tecnológica de la Mixteca, Huajuapán de León, Oaxaca, México. 92p.

Aguinaga Bósquez, P. N. (2012). Evaluación de cuatro sustratos para la producción del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*) en tres ciclos de producción en la zona de Tambillo, provincia de Pichincha. Tesis Ing. en Química y Agroindustria. Escuela Politécnica Nacional. Quito, Ecuador. 150 p.

Aguirre-Acosta, E., Ulloa, M., Aguilar, S., Cifuentes, J., y Valenzuela, R. (2014). Biodiversidad de hongos en México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 85, 76-81.

Akindahunsi, A. A., y Oyetayo, F. L. (2005). Nutrient and antinutrient distribution of edible mushroom, *Pleurotus tuber-regium* (fries) singer. *LWT-Food Science and Technology*, 39(5), 548-553.

Akyüz, M., y Kirbağ, S. (2010). Effect of various Agro-residues on nutritive value of *Pleurotus eryngii* (DC. ex Fr.) Quel. var. ferulae Lanzi. *Journal of Agricultural Sciences*, 16, 83-88.

Arango, C. S., y Nieto, I. J. (2012). Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: una alternativa en la obtención de nutraceuticos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 30(1), 1-8.

Baena, A. (2005). Aprovechamiento del bagazo del maguey verde (Agave salmiana) de la agroindustria del mezcal en San Luis Potosí para la producción de hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*). Trabajo de maestría. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, San Luis Potosí, México, 116 p.

Bautista Justo, M. (1997). Valor nutritivo de tres cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus*. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey. N.L México. 156 p.

Bautista-Nava, E., Moreno-Fuentes, A., Pulido, M. T., Valadez-Azúa, R., y Ávila, R. (2010). Bases bioculturales para el aprovechamiento y conservación de los hongos silvestres comestibles en el municipio de Tenango de Doria, Hidalgo, México. 226-231.

- Benavides Calvache, O. L., Cabrera Hidalgo, É. V., Villota Muñoz, A. O., y Perdomo, D. A. (2015).** Ácidos grasos del hongo funcional *Pleurotus ostreatus* cultivado en residuos sólidos agroindustriales, *Producción más limpia*, 10(1), 73-81.
- Bermúdez, R. C., Pérez, R. M., García, N., Verdecia, M., y Marañón, A. (2001).** Biodegradación de la pulpa de café *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* var. *Robusta* por *Pleurotus ostreatus* var *Florida*. *Revista Cubana de Química*, 13(3), 66-70.
- Birute Guzmán, A., Juárez Hernández, E., Sieiro Ortega, E., Romero Viruegas, R., y Silencio Barrita, J. L. (2009).** Los nutraceuticos. Lo que es conveniente saber. *Revista Mexicana de pediatría*, 76(3), 136-145.
- Bonatti, M., Karnopp, P., Soares, H. M., y Furlan, S. A. (2004).** Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chemistry*, 88(3), 425-428.
- Breene, W. M. (1990).** Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms. *Journal of Food Protection*, 53(10), 883-899.
- Bressani, R., Benavides, V., Acevedo, E., y Ortiz, M. A. (1990).** Changes in selected nutrient contents and in protein quality of common and quality protein maize during rural tortilla preparation. *Cereal Chem*, 67(6), 515-518.
- Centro Internacional para la agricultura y biociencias (2008).** Recuperado el 5 noviembre de 2015, de: <http://www.innocua.net/web/cat-536/cabi-centro-internacional-para-la-agricultura-y-las-biociencias>
- Castaño, D., Valencia, P., Murillo, E., Eras, J., y Méndez, J. (2007).** Ácidos grasos sustituidos en especies vegetales tropicales y su relación con la actividad antioxidante. *Scientia et Técnica* 13(33), 343-344.
- Chang, S. T., y Hayes, W. A. (1978).** *The biology and cultivation of edible mushrooms. Nutritional Value*, 137-168.
- Chang, S. T., y Miles, P. G. (1989).** *The nutritional attributes and medicinal value of edible mushrooms. Edible mushrooms and their cultivation*, 27-40.
- Crisan, E. V. y A. Sands. (1978).** *Nutritional Value. En: The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms*. Chang, S. T. y W. A Hayes, (Eds.). Academic Press. New York. pp. 137-167.
- Cruz, L. E., Martínez, A. E., y Silvera, G. S. (2014).** Inoculación de una mezcla de residuales azucareros con una cepa de *Pleurotus ostreatus*. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 17(33), 1-8.

Código Alimentario Español. Alimentación. (2015). Recuperado el 30 octubre de 2015, de http://www.elika.eus/datos/formacion_documentos/Archivo.pdf

Donoso, C. R. (1999). Influencia de la luz en la composición lipídica y proteica del *Pleurotus ostreatus* var. *florida*. Tesis doctoral. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador, 150 p.

Dundar, A., Acay, H., y Yildiz, A. (2008). Yield performances and nutritional contents of three oyster mushroom species cultivated on wheat stalk. *African Journal of Biotechnology*, 7(19), 3497-3501.

Fennema, O. R. (2000). *Química de los Alimentos*. 2da. Edición Ed. Acribia Zaragoza, 350 p.

Figueroa Cárdenas, J. D., Godinez, M. G. A., Méndez, N. L. V., Guzmán, A. L., Acosta, L. M. F., y González-Hernández, J. (2001). Fortificación y evaluación de tortillas de nixtamal. *Arch. latinoam. nutr*, 51(3), 293-302.

Figueroa, J. D., Martínez, B. F., González, H. J., Sánchez, S. F., Martínez, J. L., y Ruiz, M. T. (1994). Modernización tecnológica del proceso de nixtamalización. *Avance y perspectiva*, 13(1), 323-329.

Flores Ramírez, G. (2012). Aprovechamiento del bagazo residual de *Yucca* spp. como sustrato para la producción de *Pleurotus* spp. Tesis doctoral. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F. 124 p.

Gaitán, R., Salmones, D., Pérez, R. y Mata, G. (2006). *Manual práctico del cultivo de setas. Aislamiento, siembra y producción*. Instituto de Ecología; A.C. Veracruz, México. 37 p.

Galván, E., L. Pérez-Ramírez y J. Cifuentes. (1997). Los hongos macroscópicos en la medicina. Memorias del IX congreso Nacional de Micología. Tapachula, Chiapas 36-59 p.

Garcha, H. S., Khanna, P. K., y Soni, G. L. (1984). Nutritional importance of mushrooms. *Lipids*, 3(4), 227-237.

García Méndez. S. (2004). Estudio nutricional comparativo y evaluación biológica de tortillas de maíz elaboradas por diferentes métodos de procesamiento. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional. Querétaro, México, 63 p.

García Oduardo N. (2008). Producción de setas comestibles y enzimas lacasas por fermentación en estado sólido de la pulpa de café con *Pleurotus* spp. Tesis doctoral. Universidad de Oriente, Santiago, Cuba, 212 p.

García, S. C. (2014). ¿Son los hongos macroscópicos un peligro o un beneficio para la salud?. *Horizonte sanitario*, 2(3), 45-51

Garibay–Orijel, R., J. Cifuentes, A. Estrada–Torres, y J. Caballero. (2006). People using macro–fungal diversity in Oaxaca, Mexico. *Fungal Diversity* 21:41–67

Garzón J. P y Cuervo J.L. (2008). Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. *NOVA Publicación en Ciencias Biomédicas*, 6(10),126-140.

Gea, F. y J. Tello (1997). *Micosis del cultivo del champiñón*. Madrid, España. Mundiprensa. 120 p.

Griguol, V., León Camacho, M., y Vicario, I. M. (2007). Revisión de los niveles de ácidos grasos trans encontrados en distintos tipos de alimentos. *Grasas y aceites*, 58(1), 97-98.

Guzmán, G. (1977). *Identificación de los hongos comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera*. Ed. Limusa. México, D.F. 60 p.

Guzmán. G. (1998a). Análisis cualitativo y cuantitativo de la diversidad de los hongos en México (Ensayo sobre el inventario fúngico del país). In La diversidad biológica de Iberoamérica II, G. Halffter (ed). *Acta Zoológica Mexicana*, nueva serie vol. Especial. CYTED e Instituto de Ecología Xalapa. 111-175 p.

Hawksworth, D.L. (2001). The magnitude of fungal diversity: 1.5 million species estimate revisited. *Mycological Research* 105:1422-1432.

Herrera, T., y M. Ulloa. (1990). *El Reino de los Hongos. Micología Básica y aplicada*. UNAM y Fondo de Cultura Económica, México, D.F 850 p.

Herrera T., (1998). *El Reino de los hongos: micología básica y aplicada*. 2a ed. FCE-IB-UNAM, México, D.F. 1150 p.

Jay, M. J. (2000). *Microbiología moderna de los alimentos*. Zaragoza: Acribia. España. 491 p.

León-Avendaño, H., Martínez-García, R., Caballero Gutiérrez, P., y Martínez-Carrera, D. (2013). Caracterización de dos cepas de *Pleurotus djamor* nativas de Oaxaca, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1285-1291.

Liu J., Vijayakumar C., Hall-ii C. A., Hadley M. y Wolf-Hall C. E. (2005). Sensory and Chemical Analyses of Oyster Mushrooms (*Pleurotus sajor-caju*) Harvested from Different Substrates. *Journal of Food Science*. 70(9): 586-592.

López E. (2002). Hongos comestibles. Orellanas: deliciosa medicina. Visión Chamánica Bogotá- Colombia. Consultado 22 de abril de 2014. Disponible en: http://www.visionchamanica.com/antigua/alimentacion_sana/Orellanas.html

Macías, A. I., Quintero, M. L., Camacho, E. J., y Sánchez, J. M. (2009). La tridimensionalidad del concepto de nutrición: su relación con la educación para la salud. *Revista chilena de nutrición*, 36(4), 1129-1135.

Magnaleno López C. (2013). Efecto de dos sustratos en la productividad y calidad nutricional del hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm. Tesis Ing. Agrobiología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México, 70 p.

Maldonado (2007). Obtención de cepas híbridas de *Pleurotus* spp. por apareamiento de neohaplontes compatibles. Instituto Politécnico Nacional. Tesis de maestría. México, D.F. 142 p.

Martínez M. M. (1990). Cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatoroseus* Sing. en cuatro sustratos lignocelulosicos y la influencia sobre su composición química proximal. Tesis de licenciatura. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México, 65 p.

Martínez-Carrera, D., Larqué-Saavedra, A., Morales, P., Sobal, M., Martínez, W., y Aguilar, A. (1993). Los hongos comestibles en México: biotecnología de su reproducción. *Ciencia y desarrollo*, 108, 41-49.

Martínez-Carrera, D., Larqué-Saavedra, A., Aliphat, M., Aguilar, A., Bonilla, M., y Martínez, W. (2000). La biotecnología de hongos comestibles en la seguridad y soberanía alimentaria de México. *Memorias II foro nacional sobre seguridad y soberanía alimentaria*, 193-207.

Martínez-Carrera, D., P. Morales, E. Pellicer-González, H. León, A. Aguilar, P. Ramírez, P. Ortega, A. Largo, M. Bonilla y M. Gómez. (2002b). Studies on the traditional management, and processing of matsutake mushrooms in Oaxaca, Mexico. *Micología Aplicada Internacional* 14, 25-42.

Martínez-Carrera, D., Morales, P., Sobal, M., Bonilla, M., Martínez, W., Mayett, Y (2012). Los hongos comestibles, funcionales y medicinales: su contribución al desarrollo de las cadenas agroalimentarias y la seguridad alimentaria en México. *Memorias Reunión General de la Academia Mexicana de Ciencias: Ciencia y Humanismo (Agrociencias)*, 449-474.

Martínez-Carrera, D., Nava, D., Sobal, M., Bonilla, M., y Mayett, Y. (2005). Marketing channels for wild and cultivated edible mushrooms in developing countries: the case of Mexico. *Micología Aplicada Internacional*, 17(2), 9-20.

- Mata, G., Ortega Sánchez, C., y Pérez Merlo, R. (2011).** Inóculo suplementado: Evaluación de un método para optimizar la producción de inóculo para el cultivo de *Pleurotus* en pulpa de café. *Revista mexicana de micología*, 34, 53-61.
- Mendívil-Salmón, C., Sánchez, A., Grijalva, I., y Esqueda, M. (2001).** Composición química de *Pleurotus* cultivado sobre residuos vitivinícolas. *Rev Iber Technol Postcosecha*, 3(2), 207-214.
- Miles, P. G., y S. T. Chang. (1997).** *Mushroom biology: concise basics and current developments*. World Scientific Publishing Co Singapore. 197 p.
- Miles, P. G., y Chang, S. T. (2004).** *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact*. CRC press. 315 p.
- Mora, V. M., y Martínez-Carrera, D. (2007).** Investigaciones básicas, aplicadas y socioeconómicas sobre el cultivo de setas (*Pleurotus*) en México. El cultivo de setas *Pleurotus* spp. en México, 2(1), 1-17.
- Morrone, J. J. (2005).** Hacia una síntesis biogeográfica de México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 76(2), 207-252.
- Mueller, G. M., Schmit, J. P., Leacock, P. R., Buyck, B., Cifuentes, J., Desjardin, D. E., y Wu, Q. (2007).** Global diversity and distribution of macrofungi. *Biodiversity and conservation*, 16(1), 37-48.
- Oei, P. (2003).** *Mushroom Cultivation. Techniques. Species and Opportunities for Commercial Application in Developing Countries. Third edition*. Backhuys Publishers. Leiden, The Netherlands. 429 p.
- Ordóñez, M. M. C., y Machuca, J. C. (2009).** Estudio comparativo del crecimiento micelial del hongo (*Pleurotus ostreatus*) en acícula de pino, Bagazo de caña y Bagazo de maíz Tesis Ing. Agropecuaria. Universidad del Azuay, Cuenca, Ecuador, 58p.
- Organización Mundial de la Salud. Nutrición. (2014).** Recuperado el 10 noviembre de 2014, de: <http://www.who.int/topics/nutrition/es/>.
- Organización Mundial de la Salud. Enfermedades degenerativas. (2015).** Recuperado el 5 julio de 2015, de: http://www.who.int/topics/chronic_diseases/es/
- Ortega G. M., Martínez E. O., Betancourt O., González A. E. y Otero M. A. (1992).** Bioconversion of sugar cane crop residues with white-rot fungi *Pleurotus* sp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 8: 402-405.

Patil, S. S., Ahmed, S. A., Telang, S. M., y Baig, M. M. V. (2010). The nutritional value of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm cultivated on different lignocellulosic agrowastes. *Innovative Romanian food biotechnology*, 7, 66-76.

Pineda Insuasti, J. A. (2014). Desarrollo de una tecnología para la producción a pequeña escala de la biomasa del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*). Tesis doctoral. Universidad de Camagüey. República de Cuba. 203 p.

Pulido, G. y Andrade E. (1990). *Tecnología del cultivo de Pleurotus ostreatus, nutritivo hongo para la dieta mexicana (II)*. En Hortalizas, Frutas y Flores. Ed. Año Dos Mil, marzo; México, pp. 28-30.

Rajarithnam, S., Bano, Z., y Miles, P. G. (1988). *Pleurotus* mushrooms. Part IB. Pathology, in vitro and in vivo growth requirements, and world status. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 26(3), 243-311.

Ramírez, X. S. (2009). Alimentos funcionales, etnobotánica y nutrición. *CONCYTEG*, 49(2), 787-791.

Ríos, M. D. P., Hoyos, J. L., y Mosquera, S. A. (2010). Evaluación de los parámetros productivos de la semilla de *Pleurotus ostreatus* propagada en diferentes medios de cultivo. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8(2), 86-94.

Robledo D. T., Saavedra, M. Á. D. R., Villalba, C. V., y Pérez-Farinós, N. (2015). Contenido de ácidos grasos trans en los alimentos en España. *Nutrición Hospitalaria*, 32(3), 1329-1333.

Rodríguez-Valencia, N., y Zuluaga-Vasco, J. (1994). Cultivo de *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél. en pulpa de café. *CENICAFE* 45(3), 81-92.

Rodríguez Macías R. (1996). Caracterización de cepas del hongo comestible *Pleurotus* spp. en medios de cultivo y su evaluación en substratos lignocelulosicos forrajeros para la producción de carpóforos. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León. N. L, México, 90 p.

Rodríguez, M. R., González, G. R., Ruiz, L. M. A., García, L. P. M., Ruiz, J., Zamora, J. F., y Salcedo, E. (2006). Perspectivas de producción de hongos comestibles (*Pleurotus* spp.) en la región nordeste del Estado de Nuevo León. *Scientia-CUCBA*, 8(2), 162-2006.

Romero, B.L. y Rosales, G.M. (1998). *Manual práctico para el cultivo de setas (Pleurotus spp.)*. Edit: Universidad Autónoma de Hidalgo y Macrofungi de México. Pachuca, Hidalgo, México. p.41

- Salmones, D., Mata, G., y Waliszewski, K. N. (2005).** Comparative culturing of *Pleurotus* spp. on coffee pulp and wheat straw: biomass production and substrate biodegradation. *Bioresource technology*, 96(5), 537-544.
- Sánchez, J., Royse, D. (2001).** *La biología y el cultivo de Pleurotus spp. III Crecimiento y Fructificación.* El Colegio de la Frontera Sur, Chiapas México 293 p.
- Savón, R. C. B., Quevedo, H. J. M., Fernández, C. D., Manrique, C. E. M., y Sevilla, E. I. R. (2003).** Influencia de la luz en la calidad proteica de *Pleurotus ostreatus* var. *florida*. *Rev Cubana Invest Biomed*, 22(4), 226-31.
- Serna, S.O., Canett, R., Vargas, J., Gonzalez, M., Bedolla, S., y Medina, C. (1988).** Effect of soybean and sesame addition on the nutritional value of maize and decorticated sorghum tortillas produced by extrusion cooking. *Cereal Chemistry*. 65(1):44-48
- Silva, S. O., Costa, S. M. G. D., y Clemente, E. (2002).** Chemical composition of *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél., substrates and residue after cultivation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45(4), 531-535.
- Soto-Velazco, C., Serratos, J. C., López, M. R., y López, P. G. (2005).** Análisis proximal y de aminoácidos de los residuos de cosecha del hongo *Pleurotus* spp. *Revista Mexicana de Micología*, (21), 49-53.
- Stamets, P. (1993).** *Growing gourmet and medicinal mushrooms.* Berkeley: Ten Speed Press. 586 p.
- Stamets, P. (2000).** *Growing gourmet and medicinal mushrooms.* 3rd ed. Berkeley, CA: Ten Speed Press. 574 pp. Zadrzil, F. 1974. *Cultivation of Pleurotus.* En: *The biology and cultivation of edible mushroom*, Academic press, New York; pp. 521 - 555.
- Stamets, P., y Yao, C. D. W. (2002).** *Mycomedicinals: An informational treatise on mushrooms.* MycoMedia. 75 p.
- Suárez, C., y Holguín, M. S. (2011).** Evaluación de medios de cultivo sintéticos y cereales para la producción de semilla de setas comestibles. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 5(1), 130-140.
- Torres, M. G., y Hurtado, A. R. (2003).** Potencial de la microbiota nativa comestible y medicinal en el municipio de Quibdó. Tesis de licenciatura. Universidad Tecnológica del Chocó. Quibdó, Colombia. 116p.

- Treviño Mejía, D. (2015).** Desarrollo y evaluación nutrimental y nutracéutica de tortillas a base de harina de maíz nixtamalizado y frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Querétaro, México, 123 p.
- Varnero, M. T., Quiroz, M. S., y Álvarez, C. H. (2010).** Utilización de residuos forestales lignocelulósicos para producción del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*). *Información tecnológica*, 21(2), 13-20.
- Vázquez Rodríguez, J. A. (2013).** Desarrollo de tortillas de maíz fortificadas con fuentes de proteína y fibra y su efecto biológico en un modelo animal. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Nuevo León, México, 147 p.
- Vega, A., y Franco, H. (2012).** Análisis de cenizas y minerales de hongos comestibles *Pleurotus* spp., cultivados sobre paja de arroz (*Oryza sativa*), tuza y rastrojo de maíz (*Zea mays*), 8(2), 1-9.
- Verdú, J. M. (2013).** *Nutrición para educadores*. Ediciones Díaz de Santos. 150 p.
- Villarreal, L., y Pérez-Moreno, J. (1989).** Los hongos comestibles silvestres de México, un enfoque integral. *Micología Neotropical Aplicada*, 2, 77-114.
- Waliszewski, K. N., Estrada, Y., y Pardo, V. (2003).** Recovery of lysine and tryptophan from fortified nixtamalized cornflour and tortillas. *International journal of food science and technology*, 38(1), 73-75.
- Yilmaz, N, Solmaz, M., Turkekul I., y Elmastag, M. (2006).** Fatty acids composition in some wild mushrooms growing in the middle Black Sea region of Turkey. *Food Chemistry* 99(1), 168-174.
- Zadrazil, F. (1974).** *Cultivation of Pleurotus. En: The biology and cultivation of edible mushroom*, Academic press, New York; 521 -555 p.
- Zamora-Martínez, M. C., L. I. Zamora-Martínez, G. Alvarado, L. y J. M. Domínguez, G. (1998).** Base de datos relacional para 48 especies y 21 variedades de hongos comestibles silvestres. *In Memorias del 1er Simposio Nacional de Hongos Comestibles Silvestres*. INIFAP, UAEH. Pachuca, Hgo. pp. 69-70.
- Zamora-Martínez, M. C. (1999).** Hongos comestibles de México. Memorias del Ciclo de Conferencias" *La Investigación y la Educación Forestal En México*". SEMARNAP, 87-104.
- Zamorano Moreno L. A. (2013).** Efecto del ácido salicílico en la productividad y calidad nutritiva de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kummer cultivado en diferentes sustratos. Tesis Ing. Agrobiología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México, 66 p.

Bibliografía

Zanón, M. J., Vilaseca, J. C., Armengol, J., y Gutiérrez, C. J. (2005). Estudio del síndrome de decaimiento en el cultivo de "*Pleurotus ostreatus*"(Jack.: Fr.) P. Kumm. *Boletín de sanidad vegetal. Plagas*, 31(3), 431-442.

10.- ANEXOS

Preparación de soluciones

Determinación de proteína por el método de Lowry

Solución A: Carbonato sódico al 2% en NaOH 0.1 N.

Solución B: Sulfato de cobre al 1%

Solución C: Tartrato de sodio y potasio al 2%

Reactivo de Lowry: Mezclar 0.5 ml de B + 0.5 ml de C aforar a 50 ml con la solución A.

Reactivo de Folin-Ciocalteu en dilución 1:1 en agua destilada (se prepara inmediatamente) antes de su aplicación.

Dilución patrón: disolver en 1 litro de agua destilada 0.1g de proteína seroalbúmina bovina (BSA).

Determinación de fósforo por el método de Bray

1) Mezcla crómica: Pesar 100g de dicromato de potasio ($2\text{Cr}_2\text{O}_7$) y disolver en 1 litro de agua destilada. Calentar hasta la completa disolución del reactivo. Dejar enfriar la solución y agregar gota a gota 100 ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4).

2) Solución madre de fluoruro de amonio (NH_4F) 1 N: Pesar 37 g de fluoruro de amonio, disolver en agua destilada y aforar a 1L. Guardar en un recipiente de polipropileno.

3) Ácido clorhídrico (HCl) 0.5 N: Diluir 20.2 ml HCl concentrado hasta completar un volumen de 500 ml con agua destilada.

4) Solución extractora: Agregar 460 ml de agua destilada a 15 ml de solución madre de fluoruro de amonio y 25 ml de solución de ácido clorhídrico 0.5 N.

5) Solución de ácido clorhídrico (HCl) 10 N: En un matraz aforado de 500 ml colocar 80 ml de agua destilada y adicionar lentamente y por las paredes del matraz 404 ml

de ácido clorhídrico concentrado (HCl), al final completar un volumen de 500 ml con agua destilado.

6) Solución de molibdato de amonio-ácido clorhídrico: Pesar 15 g de molibdato de amonio tetrahidratado y disolver en 350 ml de agua destilada. Añadir lentamente y con agitación constante 300 ml de ácido clorhídrico 10 N.

7) Solución madre de cloruro estañoso: Pesar 5 g de cloruro estañoso dihidratado y disolver en 12.5 ml de ácido clorhídrico concentrado (HCl). Calentar a baño maría hasta que se disuelve bien.

8) Solución de cloruro estañoso diluida: Agregar 33 ml de agua destilada a 0.1 ml de solución madre de cloruro estañoso. Esta solución debe ser preparada cuatro horas antes de su uso.

9) Solución tipo de fosfato (100mg/ml): Pesar 0.4389 g de fosfato de potasio monobásico, disolver en agua destilada y aforar a 1 litro. Un mililitro de esta solución contiene 100 ppm de fósforo.

Determinación de fibra cruda método de Digestión Ácida-Base

1) Solución de ácido sulfúrico al 1.25%: disolver 1.25 g de H_2SO_4 en 100 ml de agua.

2) Solución de hidróxido de sodio al 1.25%: disolver 1.25 g de NaOH en 100 ml de agua.

Determinación de nitrógeno por el método de Micro-kjeldahl

1) Solución de ácido bórico al 2%

2) Solución de hidróxido de sodio 50%

3) Ácido sulfúrico concentrado

4) Ácido clorhídrico 0.1N

5) Mezcla catalizadores: mezclar 2.5 a 4.0 g de sulfato de potasio y 0.1 a 0.3 de sulfato de cobre, homogeneizar perfectamente.

6) Indicador de wesslow: Mezclar una parte de rojo de metilo al 2% de etanol con una parte de azul de metileno al 0.1% en agua.