

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCIÓN I.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

**“EXTRACCIÓN DE β -GLUCANO DE *Pleurotus pulmonarius*
DESHIDRATADO PARA LA FORMULACIÓN DE
HARINAS ENRIQUECIDAS”.**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA QUÍMICA**

PRESENTA:

I.Q. Laura Mendez Carpio

DIRECTOR DE TESIS:

Dra. Rosalía Cerecero Enríquez

CODIRECTOR DE TESIS:

Dra. Dulce María G. Salmones Blásquez



"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

FECHA: 12/12/2017
DEPENDENCIA: POSGRADO
ASUNTO: Autorización de Impresión
OPCIÓN: I


C. LAURA MENDEZ CARPIO
CANDIDATO A GRADO DE MAESTRO EN:
CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros de Enseñanza Técnica Superior, dependiente de la Dirección General de Institutos Tecnológicos de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su Trabajo Profesional titulado:

"EXTRACCION DE B-GLUCANO DE PLEUROTUS PULMONARIUS DESHIDRATADO PARA LA FORMULACION DE HARINAS ENRIQUECIDAS".

Comunico a Usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

A T E N T A M E N T E


RUBEN POSADA GOMEZ
JEFE DE LA DIV. DE ESTUDIOS DE POSGRADO

C.A. TITULACIÓN



**SECRETARIA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA
INSTITUTO
TECNOLÓGICO
DE ORIZABA**

ggc



"Año del Centenario de la Promulgación de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos"

FECHA : 05/12/2017

ASUNTO: Revisión de Trabajo Escrito

C. RUBEN POSADA GOMEZ
JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACION.
P R E S E N T E

Los que suscriben, miembros del jurado, han realizado la revisión de la Tesis del (la) C. :

LAURA MENDEZ CARPIO

la cual lleva el título de:

"EXTRACCION DE B-GLUCANO DE PLEUROTUS PULMONARIUS DESHIDRATADO PARA LA FORMULACION DE HARINAS ENRIQUECIDAS".

Y concluyen que se acepta.

A T E N T A M E N T E

PRESIDENTE : **DRA. ROSALIA CERECERO ENRIQUEZ**



FIRMA

SECRETARIO : **M. C. DULCE MARIA G. SALMONES BLASQUEZ**



FIRMA

VOCAL : **DRA. GUADALUPE LUNA SOLANO**



FIRMA

VOCAL SUP. : **DR. ALEJANDRO ALVARADO LASSMAN**



FIRMA

EGRESADO (A) DE LA MAESTRIA EN **CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA**

OPCION: **I Tesis**



Agradecimientos

Dra. Rosalía Cerecero Enríquez

Le agradezco el haber confiado en mí, por darme la oportunidad de trabajar con usted, por motivarme a través de sus experiencias y compartirme su conocimiento. Por haber sido una asesora estricta porque hoy en día puedo asegurar que soy una persona más preparada no solo en el ámbito profesional sino también en lo personal. Gracias por brindarme su amistad, mostrarme su calidez humana y su apoyo incondicional.

Dra. Dulce María G. Salmones Blázquez

Le agradezco por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, por las valiosas aportaciones a este trabajo de tesis. Gracias porque siempre mostró confianza, amabilidad y disponibilidad para trabajar.

Dra. Guadalupe Luna Solano

Le agradezco las aportaciones realizadas para la elaboración del trabajo de tesis, por las enseñanzas dentro del aula de clases y por prestarme sus equipos de laboratorio.

Dr. Alejandro Alvarado Lassman

Le agradezco por las aportaciones para la elaboración del trabajo de tesis y por el seguimiento de mi formación académica.

A el personal de Red Manejo Biotecnológico de Recursos del INECOL

Dr. Mata, Carlos, Maru, Elena y Homero por brindarme la oportunidad de aprender de cada uno ustedes, por la amabilidad, enseñanzas y confianza brindada durante mi estancia.

A CONACYT

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada con número de registro 70966.

Dedicatorias

A Dios

No temí porque estabas conmigo, me fortaleciste y siempre fuiste fiel. Te agradezco por tu inmensa misericordia.

Porque todas las cosas proceden de él, y existen por él y para él. ¡A él sea la gloria por siempre! Amén.

Rm 11,36.

A mis padres:

Gracias por siempre cuidar de mí, por su amor incondicional, por enseñarme que la vida no es fácil, pero con perseverancia todo se puede lograr. Estoy muy orgullosa de ustedes y son los mejores padres que Dios me pudo dar.

A mis hermanos:

Mago, Lupe y Pepe, sé que esta travesía ha sido difícil les agradezco por ser mis cómplices, por darme consejos, por aguantar mi mal humor, por consentirme tanto desde pequeña. Son los mejores hermanos del mundo y los cuatro tenemos un ángel que nos cuida.

A mis sobrinos:

Borre, Luis, Alan, Lulu, Pepe y Ricar, gracias por toda la alegría que le dan a mí vida, por siempre hacerme reír con sus ocurrencias, por sus abrazos. Son los amores de mi vida.

A mis amigos de laboratorio

Verito, Adán y Emmanuel gracias por todo, son los mejores.

A mis tíos:

Tío Pablo y Estela les agradezco de todo corazón todo el amor y apoyo que han dado.

A mis amigos:

Are, Elsa y Jorge ustedes son parte esencial de este logro, gracias por siempre rezar por mí, por darme ánimos en todo momento, por las risas y las tristezas, de verdad que son increíbles

Miriam, Ana, Iván y Jaime, gracias por siempre estar conmigo, por creer en mí, por su amistad incondicional. Por que los verdaderos amigos jamás se olvidaran.

Javier y Luis ustedes son muy importantes en mi vida, gracias por regalarme bonitos momentos llenos de risas, de enojos y de tristeza, ustedes han sido de lo mejor de este camino

Mo gracias por todo, siempre serás alguien muy importante en mi vida.

Extracción de β -glucano de *Pleurotus pulmonarius* deshidratado para la formulación de harinas enriquecidas

Realizado por: I.Q. Laura Mendez Carpio

Dirigido por: Dra. Rosalía Cerecero Enríquez

Dra. Dulce María G. Salmones Blásquez

En el mundo se conocen más de 2000 especies de hongos comestibles, sin embargo, la mayoría se consume de manera silvestre, debido a que sólo se cultivan alrededor de 20 especies, siendo las más importantes comercialmente: *Lentinus edodes*, *Pleurotus spp*, *Agarius bisporus* y *Auricularia spp*. En México el cultivo de hongos comestibles es una agroindustria en pleno desarrollo debido a que constituyen una fuente de alimento a bajo costo con alto valor nutricional y medicinal. El propósito de este trabajo fue evaluar procesos de deshidratación que permitan conservar las propiedades nutricionales del *Pleurotus*. Para ello, una cepa comercial de *Pleurotus pulmonarius* fue cultivada en paja de cebada, evaluando eficiencia biológica y tamaño de los cuerpos fructíferos, posteriormente evaluar las condiciones de secado para prolongar su vida de anaquel en las siguientes condiciones: (1) secado por bandejas a 55 y 65 °C y (2) liofilización a -20 y -20/-80 °C (temperaturas de congelación). En las muestras deshidratadas en los diferentes tratamientos se cuantificó la bioactividad del β -glucano, contenido bromatológico (humedad, actividad de agua, proteínas), su apariencia física (talla, diferencia de color y capacidad de rehidratación), así como su actividad enzimática (antioxidantes, poder reductor, fenoles, lacasas y polifenol oxidasas). Los resultados mostraron la menor diferencia de color (ΔE) en el liofilizado a -20 °C, en tanto que, en retención de proteínas, antioxidantes, poder reductor, polifenol oxidasas, lacasas y rehidratación no se observaron diferencias significativas entre el secado por bandejas a 55 °C y liofilizado a -20 °C, por lo que el secado por bandejas a 55 °C fue el tratamiento óptimo para la deshidratación del hongo y seleccionado para la suplementación de harina de trigo y arroz con 10, 30 y 50 % ,para la elaboración de pan de miga y galletas, respectivamente. Las formulaciones contenido 10 % de harina de *P. pulmonarius* presentaron una mayor aceptación entre el panel de consumidores.

ABSTRACT

Extraction of β -glucans from dehydrated *Pleurotus pulmonarius* for the formulation of enriched flours

By: I.Q. Laura Mendez Carpio

Advisors: Dra. Rosalía Cerecero Enríquez

Dra. Dulce María G. Salmones Blásquez

More than 2000 species of edible fungi are known throughout the world, however, most are consumed in a wild way, since only about 20 species are cultivated, being the most important commercially: *Lentinus edodes*, *Pleurotus spp*, *Agarius bisporus* and *Auricularia spp*. In Mexico, the cultivation of edible fungi is an agribusiness in full development because they are a source of food at low cost with high nutritional and medicinal value. The purpose of this work was to evaluate dehydration processes that allow to preserve the nutritional properties of the *Pleurotus*. For this, a commercial strain of *Pleurotus pulmonarius* was cultivated in barley straw, evaluating the biological efficiency and the size of the fruit bodies, then evaluating drying conditions to prolong its shelf life under the following conditions: (1) drying by trays at 55 and 65 °C and (2) lyophilization at -20 and -20/-80 °C (freezing temperatures). In the samples dehydrated in the different treatments, the bioactivity of β -glucan, bromatological content (moisture, water activity, proteins), physical appearance (size, color difference and rehydration capacity), as well as its enzymatic activity (antioxidants, reducing power, phenols, laccases and polyphenol oxidases). The results showed the least color difference (ΔE) in the lyophilisate at -20 °C, while in retention of proteins, antioxidants, reducing power, polyphenol oxidases, laccases and rehydration no significant differences were observed between drying by trays at 55 °C and lyophilized at -20 °C, so drying by trays at 55 °C was the optimal treatment for the dehydration of the fungus and selected for the supplementation of wheat flour and rice with 10, 30 and 50 %, for the elaboration of crumb bread and cookies, respectively. The formulations containing 10% flour of *P. pulmonarius* showed greater acceptance among the consumer panel.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABLAS	vi
INTRODUCCIÓN	vii
OBJETIVOS	ix
JUSTIFICACIÓN	x
CAPITULO I FUNDAMENTOS TEORICOS	
1.1 Fermentación en medio sólido	2
1.2 <i>Pleurotus pulmonarius</i>	4
1.2.1 Taxonomía	5
1.2.2 Ciclo de vida	6
1.2.3 Valor nutricional	7
1.2.4 Propiedades medicinales	9
1.2.5 Etapas de cultivo	10
1.2.5.1 Elaboración del inóculo	10
1.2.5.2 Sustrato	11
1.2.5.3 Producción	12
1.2.5.4 Rendimiento	12
1.3 Proceso de secado	13
1.3.1 Curva de secado	14
1.4 Secado por bandejas	16
1.5 Liofilización	17
1.5.1 Etapas de sublimación	18
1.5.2 Secado primario	18
1.5.3 Secado secundario	20
1.6 Propiedades bromatológicas de los alimentos	20
1.6.1 Actividad de agua	20
1.6.2 Humedad	22

1.6.3	Color	23
1.6.4	Proteínas	24
1.6.5	Antioxidantes	24
1.6.6	Fenoles	25
1.6.7	Enzimas	25
1.7	β -glucanos	26
1.8	Antecedentes	28
CAPITULO II MATERIALES Y METODOS		
2.1	Metodología general	31
2.2	Producción del <i>Pleurotus pulmonarius</i>	32
2.2.1	Evaluación de la calidad del <i>P. pulmonarius</i>	33
2.2.2	Tensión-deformación	34
2.3	Caracterización bromatológica del <i>P. pulmonarius</i>	34
2.3.1	Actividad de agua	34
2.3.2	Determinación de porcentaje de humedad	35
2.3.3	Determinación de cenizas	35
2.3.4	Extracto etéreo (lípidos)	35
2.3.5	Determinación de proteínas	35
2.3.4	Análisis de color	35
2.4	Actividad enzimática	36
2.4.1	Extracto enzimático metanólico	36
2.4.2	Extracto enzimático acuoso	36
2.4.3	Actividad antioxidante	36
2.4.4	Poder reductor	37
2.4.5	Fenoles	38
2.4.6	Lacasas	38
2.4.7	Polifenol oxidasa	39
2.5	Métodos de secado	40
2.5.1	Secado por liofilización	40
2.5.2	Secado por bandejas	40

2.5.3	Rehidratación	40
2.5.4	Micrografías	41
2.6	Determinación de β -glucano	41
2.6.1	Extracción de glucanos totales	41
2.6.1	Extracción de α -glucanos	42
2.7	Elaboración de harina enriquecida con <i>P. pulmonarius</i>	43
2.7.1	Análisis microbiológico de la harina	43
2.7.2	Aplicación en pan de miga y galletas de la harina enriquecida	44
2.7.3	Análisis sensorial	44
CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN		
3.1	Fermentación en medio sólido	46
3.1.1	Evaluación de talla de píleo del <i>Pleurotus pulmonarius</i>	46
3.1.2	Eficiencia biológica	47
3.1.3	Tensión-deformación	48
3.2	Análisis bromatológico de <i>Pleurotus pulmonarius</i>	49
3.3	Secado de <i>Pleurotus pulmonarius</i>	51
3.4	Análisis de color	52
3.5	Proteínas totales	51
3.6	Actividad antioxidante	54
3.6.1	Poder reductor	55
3.6.2	Fenoles	56
3.7	Polifenol oxidasa	55
3.8	Lacasas	58
3.9	Rehidratación	57
3.10	Micrografías	59
3.11	β -glucanos	60
3.12	Harinas enriquecidas	62
3.12.1	Carga microbiana	62

3.12.2 Análisis sensorial	62
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	65
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	67

LISTA DE FIGURAS

Figura.		Pág.
1.1	Fases dentro de un sistema de fermentación de medio sólido	2
1.2	Descripción general del <i>Pleurotus</i>	5
1.3	Ciclo de vida de <i>Pleurotus pulmonarius</i>	7
1.4	Curvas de secado	15
1.5	Curva de secado con respecto al tiempo	15
1.6	Etapas de proceso de liofilización	17
1.7	Diagrama temperatura- concentración del agua y una solución acuosa en el proceso de liofilización	19
1.8	Mecanismos de secado durante la liofilización	19
1.9	Historia térmica de un proceso de liofilización	20
1.10	Estabilidad de los alimentos por la a_w	21
1.11	Modelo de color CIE	24
1.12	Estructura molecular de los enlaces β -(1→3)- (1→6)- <i>D</i> -glucanos	27
2.1	Extracción de β -glucano de <i>Pleurotus pulmonarius</i> deshidratado para la formulación de harinas enriquecidas.	31
2.2	Crecimiento del hongo	33
2.3	Clasificación de zonas de <i>P.pulmonarius</i>	34
3.1	Cuerpos fructíferos de <i>Pleurotus pulmonarius</i>	47
3.2	Tensión-deformación de <i>Pleurotus pulmonarius</i>	49
3.3	<i>Pleurotus pulmonarius</i> después del proceso de secado	53
3.4	Actividad enzimática por lacasas	58
3.5	Evolución de la rehidratación	58
3.6	SEM de <i>Pleurotus pulmonarius</i> fresco y deshidratado a 500x	60
3.7	Grado de aceptación de las formulaciones aplicadas a pan y galletas	63

LISTA DE TABLAS

Tabla		Pág.
1.1	Clasificación taxonómica de la especie	6
1.2	Comparativo del valor nutricional de <i>Pleurotus</i> con otros alimentos	9
1.3	Efectos medicinales del <i>Pleurotus</i>	10
1.4	Subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales disponibles en México, que han sido empleados como sustrato para el cultivo de <i>Pleurotus pulmonarius</i>	12
1.5	Actividad de agua mínima requerida para el crecimiento de microorganismos	21
1.6	Aplicación de los β -glucanos	27
2.1	Normas aplicadas en pruebas microbiológicas	43
3.1	Clasificación de talla de <i>P. pulmonarius</i>	47
3.2	Evaluación de la eficiencia biológica del <i>Pleurotus pulmonarius</i>	48
3.3.	Caracterización bromatológica del <i>Pleurotus pulmonarius</i> fresco	50
3.4.	Resultados del análisis de color después del proceso de secado	52
3.5	Resultados del contenido de proteínas totales en muestras deshidratadas	53
3.6	Evaluación de actividad antioxidante	55
3.7	ANOVA de efectos en la variable de antioxidantes	55
3.8	Evaluación de poder reductor	56
3.9	Evaluación de fenoles	57
3.10	Resultados de la actividad residual	56
3.11	Evaluación de β -glucanos	61
3.12	ANOVA de efectos en la variable de β -glucanos	61

INTRODUCCIÓN

Actualmente se conocen 2000 especies de hongos comestibles, solo 80 especies han sido cultivadas experimentalmente, 10 a escala industrial y 22 de manera comercial (Paredes-López *et al.*, 2006). La producción comercial de hongos comestibles ofrece notables ventajas sociales, económicas y ecológicas; la importancia está, en la actividad económica que radica en el uso subproductos agroindustriales y forestales (Martínez-Carrera *et al.*, 2006). Los géneros de mayor producción a nivel mundial son *Lentinula*, *Pleurotus* y *Agaricus*.

La producción de *Pleurotus ssp.* en México durante 2002 se estimó en 4,380 T (Lahman y Rinker, 2004), con un incremento gradual a más de 5,000 T para el 2005 (Gaitán-Hernández *et al.*, 2007) y cerca de 7,000 T en la actualidad. Este género tiene varias especies con importancia económica, entre ellas *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quéll., la cual se cultiva comúnmente en regiones templadas y subtropicales (Petersen y Hughes, 1993) y junto con el *P. ostreatus* son las especies del género más conocidas a nivel comercial (Guzmán, 2000). El *P. pulmonarius* se caracteriza por tener buen sabor y su valor nutricional debido a que contiene altos niveles de proteínas, aminoácidos esenciales incluyendo leucina y lisina, minerales, vitaminas además es bajo en grasa, lo cual lo hace un alimento competitivamente comparable con la carne y el pescado, sin embargo, presenta más del 90 % de humedad lo cual lo convierte un alimento altamente perecedero.

Existen métodos de preservación para este tipo de alimentos uno de ellos es la tecnología de secado que induce la inactivación de los microorganismos presentes en el material fresco cuando el contenido de agua se reduce por debajo del 10 % en peso seco (Fito Maupoey *et al.*, 2016). Bajo estas condiciones se pueden preservar el sabor y valor nutritivo, si el proceso de secado se efectúa bajo temperaturas moderadas y condiciones controladas de pérdida de agua, debido que a

temperaturas altas se desnaturalizan proteínas, se pierden micronutrientes y se modifican las propiedades fisicoquímicas del alimento (Salas de la Torre *et al.*, 2003).

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el contenido de β -glucano extraídos de fructificaciones frescas y deshidratadas del hongo comestible *Pleurotus pulmonarius*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la productividad de una cepa de *Pleurotus pulmonarius* en paja de cebada.
2. Evaluar el efecto del secado por liofilizado y bandejas del *Pleurotus pulmonarius*.
3. Analizar las propiedades bromatológicas del *Pleurotus pulmonarius* fresco y deshidratado.
4. Analizar el contenido de β -glucano de *Pleurotus pulmonarius* fresco y deshidratado.

JUSTIFICACIÓN

El cultivo de *Pleurotus pulmonarius* (setas) es una agroindustria de gran importancia económica y en creciente desarrollo en el mundo, debido que representa una eficiente conversión de materiales agroindustriales en un alimento con alto valor nutricional y medicinal. Los hongos se consideran un alimento altamente perecedero por su alto contenido de agua, el cual le atribuye las características de textura, apariencia y sabor. Sus aplicaciones farmacéuticas han sido respaldadas por su contenido de β -glucano el cual ha demostrado tener propiedades antibacterianas, antivirales, inmunomoduladoras, antimutagénicas y antitumorales. Los hongos del género *Pleurotus* se comercializan frescos debido a su corta vida de anaquel, existe la necesidad de explorar sus posibilidades como suplemento alimenticio. Dado lo anterior se buscan técnicas de preservación conservando las propiedades organolépticas, físicas y químicas de hongo, para el enriquecimiento de harinas convencionales con harina del hongo *Pleurotus pulmonarius* elaborando pan de miga y galletas.

CAPÍTULO 1
FUNDAMENTOS TEÓRICOS

CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.1 Fermentación en medio sólido

La fermentación medio sólido (SSF) se define como el proceso de fermentación que ocurre en ausencia o casi ausencia de agua libre, empleando un sustrato natural que actúa como fuente de carbono o energía, el cual debe poseer suficiente humedad para apoyar el crecimiento y metabolismo del microorganismo (Pandey *et al.*, 2000).

En la Figura 1.1 se observan las fases de un sistema de fermentación en medio sólido (Mitchell *et al.*, 2002) donde: (a) es la apariencia del sistema en la macroescala; a esta escala es posible discernir el lecho de sustrato, el espacio de cabeza sobre el lecho y la pared del biorreactor. (b) Es el aspecto de sustrato no inoculado en la microescala; a esta escala es posible observar las partículas individuales y los espacios de gas entre ellas. (c) Es el Crecimiento de una biopelícula de organismos unicelulares (bacterias o levaduras) sobre las superficies de las partículas, como se indica por la capa negra gruesa en la superficie de la partícula. (d) Es el Crecimiento de una red de hifas fúngicas; esta red crece a través de la superficie mientras que algunas hifas penetran en el sustrato y otras se extienden en los espacios entre la partícula.

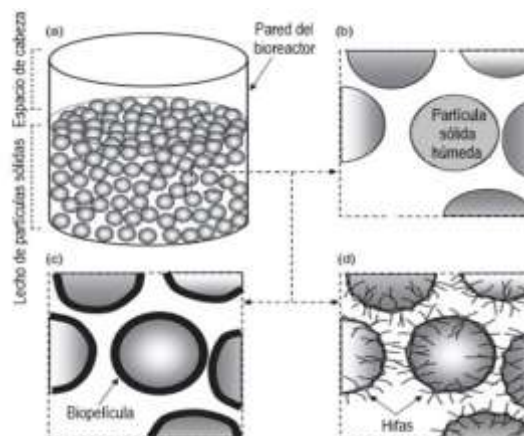


Figura 1.1 Fases dentro de un sistema de fermentación de medio sólido

La SSF ofrece ventajas económicas sobre los procesos convencionales de fermentación sumergida para la obtención de productos de alto valor agregado, como etanol, enzimas, antibióticos, hongos comestibles, ácidos orgánicos, aminoácidos, pigmentos, metabolitos secundarios (Ruíz-Leza *et al.*, 2007), además de oportunidades en el tratamiento de los residuos agroindustriales debido a que los procesos de estado sólido tienen menores requerimientos de energía, producen menor cantidad de aguas residuales y son amigables con el medio ambiente.

Sin embargo, existen factores que influyen y se deben controlar en la SSF los cuales son, humedad, actividad del agua (a_w), pH, temperatura, aireación, tamaño de partículas, la forma de inoculación, concentración y sustrato. La variación de estos factores incide significativamente en el crecimiento y la formación de productos.

La humedad del medio puede variar entre 30 y 80 % en dependencia del sólido utilizado, del microorganismo y el objetivo del proceso (Oriol *et al.*, 1988), en cambio la actividad del agua no sólo va a afectar el crecimiento del microorganismo que el sistema desarrolle, sino también los productos de interés obtenidos a partir del metabolismo de dicho microorganismo.

El pH se puede ver afectado por la secreción de ácidos, o algunos otros metabolitos durante el proceso (Mitchell *et al.*, 2002).

La temperatura puede ser considerado como una variable crítica, debido a la alta concentración de sustrato por unidad de volumen y a la baja conductividad térmica del sistema heterogéneo, favorece la acumulación del calor metabólico lo que provoca un aumento de la temperatura en el cultivo. Con el aumento de la temperatura se van a favorecer tres situaciones: la actividad microbiana se desacelera o se detiene, el medio sólido se deshidrata y el metabolismo se desvía como un mecanismo de defensa ante el calor o la deshidratación (Gutiérrez, 1995).

La aireación se utiliza para suministrar el oxígeno necesario, extraer el dióxido de carbono formado y el calor metabólico, de manera que el flujo óptimo de aire debe tomar en consideración la naturaleza del microorganismo utilizado.

El sustrato debe tener todos los nutrientes necesarios de forma balanceada y con concentraciones adecuadas de carbono-nitrógeno y fósforo-oxígeno para favorecer el crecimiento del microorganismo niveles adecuados. El tipo de inóculo en las fermentaciones en medio sólido puede ser de dos tipos fundamentales tanto a nivel laboratorio y a nivel industrial: esporas o micelio.

1.2 *Pleurotus pulmonarius*

Los hongos comestibles son un grupo de organismos muy variable y polimórfico difícil de caracterizar, sin embargo, cuando se hace referencia a ellos se habla de organismos que nacen de esporas, carecen de clorofila, se reproducen sexual o asexualmente y tienen un cuerpo generalmente formado por filamentos muy ramificados llamados hifas, los cuales en conjunto forman el micelio. El crecimiento del micelio sólo se da en las puntas, por lo que forman masas algodonosas o afelpadas de forma radial (Sánchez y Royse, 2001).

El nombre *Pleurotus* se deriva del griego pleura o pleurón, costado o lado y del latín *otus*, oreja, son conocidos popularmente como hongo ostra, setas, orejas blancas, orejas de palo, orejas de patancán, orejas de cazahuate y orejas de izote. Son heterotróficos, es decir obtienen su alimento por medio de la secreción de enzimas que les permiten absorber los nutrientes del medio en que se encuentran (troncos, madera en descomposición, desechos agrícolas o agroindustriales). La pared rígida (compuesta en mayor proporción por quitina y otros polisacáridos estructurales) les impide fagocitar su alimento por ello deben absorber nutrientes simples y solubles que obtienen mediante la degradación de biopolímeros (celulosa, hemicelulosa y lignina), por acción de un complejo sistema de enzimas hidrolíticas que liberan al

medio. Generalmente presentan crecimiento apical (a partir de las puntas de los filamentos).

En el cuerpo fructífero de los hongos macroscópicos, el estípe o pie y el característico píleo o sombrero están conformados por el micelio ramificado; en la parte inferior del píleo se encuentran las laminillas, mismas que constituyen el himenio, lugar donde se forman y se liberan las esporas una vez que el cuerpo fructífero ha madurado, en la Figura 1.2 se muestra las partes del *Pleurotus pulmonarius*.

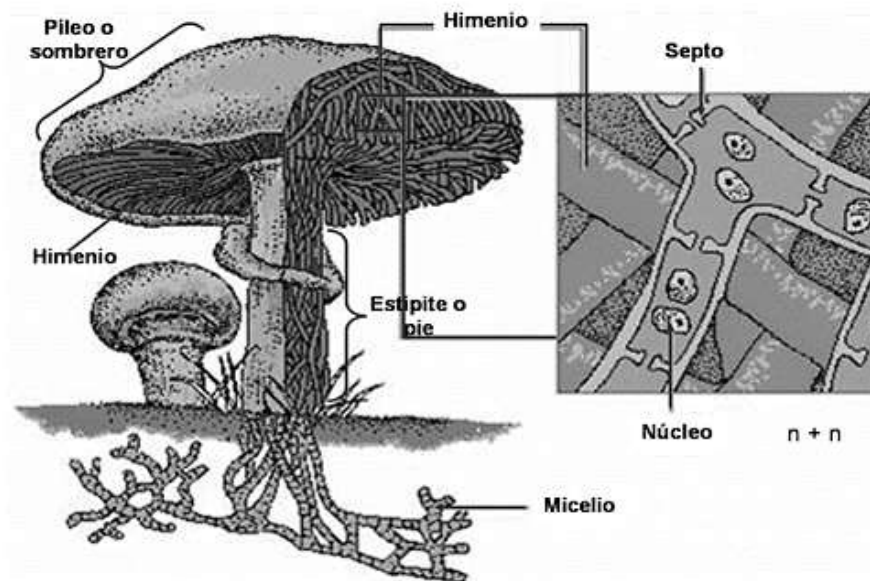


Figura 1.2 Descripción general del *Pleurotus*
López-Nava 2014.

1.2.1 Taxonomía

Los taxónomos han encontrado problemas al clasificar a las especies del género *Pleurotus*, inicialmente se basaron en las características morfológicas de sus cuerpos fructíferos (color, forma, tamaño, etc.), sin embargo, la influencia que ejercen los factores ambientales hicieron que estas características fenotípicas, fueran parámetros insuficientes para su determinación taxonómica (Zervakis *et al.*, 2001).

Por lo anterior, actualmente la clasificación no sólo se basa en criterios morfológicos, sino también en caracteres fisiológicos, bioquímicos y genéticos. De acuerdo a Guzmán (2000) se realizó la siguiente clasificación taxonómica de la especie (Tabla 1.1).

Tabla 1.1 Clasificación taxonómica de la especie

Reino	Fungí
División	Eumycota
Subdivisión	Basidiomycotina
Clase	Holobasidiomycetes
Orden	Agaricales
Género	<i>Pleurotus</i>
Especie	<i>Pulmonarius. pulmonarius</i> (Fr.) Qué!

1.2.2 Ciclo de vida

Presentan un patrón de sexualidad heterotálico, es decir; no son autofértiles, ya que para su reproducción requieren de la unión de dos micelios monocarióticos compatibles; por lo cual el micelio producido por la germinación de una basidiospora no puede dar origen al desarrollo de los cuerpos fructíferos. Además, es tetrapolar (también conocido como bifactorial) debido a que forman 4 esporas, cada una con un juego de caracteres genéticos o dos pares de factores A y B; de modo que al fusionarse por el proceso de plasmogamia (unión de dos micelios) los micelios que se producen forman un cigoto tetrafactorial, dando las posibles combinaciones para cada gen (A1B1, A2B2, A1B2 y A2B1). El ciclo de vida del hongo inicia cuando las basidiosporas son liberadas, éstas germinan y dan origen a un micelio monocariótico (también llamado primario u homocariótico) haploide, que al encontrarse con otro micelio compatible ocurre la plasmogamia o fusión de dos micelios monocariones compatibles, para dar origen a un micelio dicarion (llamado también secundario o heterocariótico), con dos núcleos haploides sexualmente compatibles. Bajo

condiciones ambientales óptimas, el dicarión produce el primordio; posteriormente se desarrolla el cuerpo fructífero para formar el píleo, el estípite y el himenio el cual está formado por las láminas. En el himenio se lleva a cabo la cariogamia y la meiosis para la formación de los basidios y las basidiosporas y cuando las basidiosporas son liberadas y encuentran las condiciones adecuadas para su germinación, el ciclo de vida se reinicia (Raper, 1978), como se muestra en la Figura 1.3

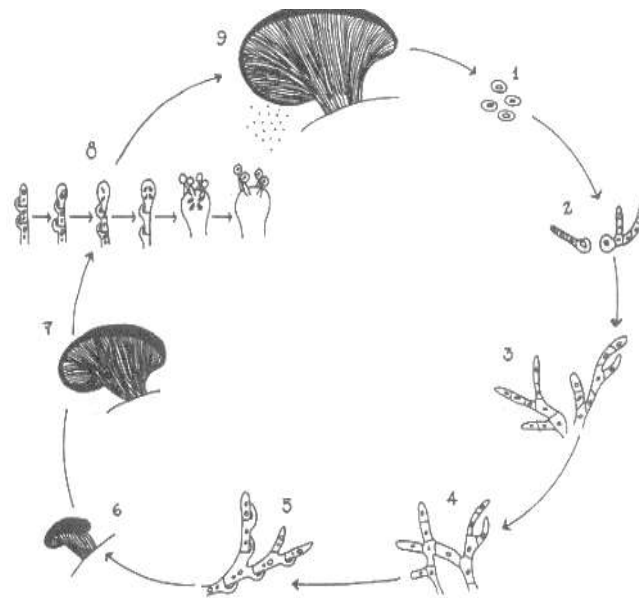


Figura 1.3 Ciclo de vida de *Pleurotus pulmonarius*. 1. Basidiosporas, 2. Germinación de basidiosporas, 3. Micelio monocarión, 4. Plasmogamia, 5. Dicarión, 6-7. Cuerpo fructífero. 8. Cariogamia y meiosis y 9. Liberación de basidiosporas. (Mestizo-Valdés, 1997)

1.2.3 Valor nutricional

El valor nutricional ha sido reportado por diferentes autores, en algunas ocasiones difieren los valores reportados debido a las técnicas utilizadas. En promedio los hongos cultivados se consideran un alimento con aceptable contenido de proteínas, carbohidratos, fibra, minerales y vitaminas (Salmones y Durán-Barradas, 2001). Aunque resulta ser que la composición proximal de *Pleurotus* puede variar por la

cepa y sustrato en que se cultiva y/o madurez de las fructificaciones (Garcha *et al.*, 1993).

En términos generales su contenido de humedad varía entre 87 y 94 % según las condiciones de manejo al momento de la cosecha. Sus proteínas están conformadas por aminoácidos esenciales (40 % del contenido total de aminoácidos) como Leucina y Lisina que son ausentes en la mayoría de los cereales (Manzi *et al.*, 2004; Barros *et al.*, 2007). Del 19 al 35 % peso seco, de su contenido proteico es aprovechable en, en comparación con la mayoría de las frutas y hortalizas que contienen entre 7.3 al 13.2 % (Aguilar, 2003). En cuanto al contenido de fibra cruda fluctúan entre (3 a 32 %) y las vitaminas se encuentran en los siguientes valores: tiamina (4.8 mg), riboflavina (4.7 mg), niacina (108.7 mg) y ácido ascórbico (144 mg) por cada 100 g de sustancia seca (Akindahunsi y Oyetayo, 2006). Los minerales más abundantes son el calcio (33 mg), hierro (15 mg), fósforo (1.384 mg) y sodio (837 mg) (Aguilar, 2003; Benavides y Herrera, 2009). Presentan entre 3 a 28 % de carbohidratos por lo que este bajo contenido es recomendable en personas diabéticas. En la Tabla 1.2 se muestra la comparación del valor nutricional del *Pleurotus* con otros alimentos comunes en la dieta.

Tabla 1.2 Comparativo del valor nutricional de *Pleurotus* con otros alimentos
(Romero *et al.*, 2010)

Alimentos %	Leche	Carne	Pez	Frijol	Soya	<i>Pleurotus</i>
Calorías	60.00	150.00	101.00	313.00	366.00	350.00
Agua	88.00	71.00	78.04	11.09	9.50	12.60
Proteínas	3.40	21.50	17.90	22.80	34.00	32.30
Grasas	3.30	6.50	2.70	1.50	16.10	0.30
Carbohidratos	4.60	0.00	0.00	54.40	27.90	3.28
Fibra	0.00	0.00	0.00	6.00	7.30	0.50
Calcio	120.00	6.00	6.00	175.00	210.00	10.00
Fosforo	95.00	215.00	215.00	424.00	500.00	120.00
Hierro	0.20	2.70	2.70	4.70	8.90	1.35
Tiamina	0.04	0.08	0.08	0.46	0.77	0.60
Niacina	0.10	5.10	3.00	20.00	2.20	2.90

1.2.4 Propiedades medicinales

Pleurotus spp. son considerados alimentos con valor medicinal y se encuentran en la lista de las 37 especies utilizadas en la medicina tradicional de Mesoamérica y México (Guzmán, 1997), En las últimas décadas se le han atribuido propiedades antiinflamatorias, antiviral, anticolesterol, antihipertensión, hematológica y antitumoral (Zhang *et al.*, 2007), todo esto por sus compuestos bioactivos en los cuales se encuentran los β -glucanos, péptidos, lectinas y terpenoides.

En países desarrollados como China, Japón, Corea, Rusia, Estados Unidos y Canadá se han realizado estudios que demuestran su utilidad contra el cáncer de estómago, esófago, pulmonar, etc., (Wasser y Weis, 1999).

En la Tabla 1.3 se resume varios ejemplos de efectos medicinales de *Pleurotus*.

Tabla 1.3 Efectos medicinales del *Pleurotus*
(Cohen *et al.*, 2002)

Efecto medicinal	Sustancia
Antibiótico	Micelio
	Polisacárido
Antibacterial	β -glucano
	Polisacárido
Antiviral	Proteína ubiquitina
	Glucanos
	Glicopéptidos
Inmulador antitumoral	Lectina
	β -glucano
Antiinflamatorio	Lovastatina
Anticolesterol	Lectina

1.2.5 Etapas del cultivo

1.2.5.1 Elaboración de inóculo

La propagación o desarrollo masivo del micelio del hongo se hace en granos de gramíneas, que pueden ser semillas de sorgo, trigo, centeno, cebada, avena, mijo, arroz, entre otros. Según Gaitán-Hernández *et al.*, (2006), la elaboración de inóculo se realiza en dos etapas:

- Inóculo primario es la propagación del micelio en semillas a partir de una cepa crecida en medio de cultivo.
- Inóculo secundario es la propagación del micelio en semillas a partir del inóculo primario, es decir, es la multiplicación del micelio para disponer de una

mayor cantidad para su siembra en el sustrato elegido para la producción de hongos.

1.2.5.2 Sustrato

Algunos sustratos empleados para la propagación del hongo deben someterse a una SSF aeróbica previa que favorezca la estructura química y física de los mismos, así como un tratamiento de pasteurización para disminuir la flora microbiana nociva presente, esto con la finalidad de evitar que los microorganismos compitan por espacio y nutrientes con el micelio de *Pleurotus*.

Los sustratos que requieren una SSF son generalmente aquellos ricos en compuestos antifisiológicos y tóxicos para el hongo. Un ejemplo es la pulpa de café, un sustrato altamente recomendado para el cultivo de los hongos, pero que es recomendable aplicarles una fermentación aerobia previa, para proporcionarles una microflora capaz de proteger al micelio de otros microorganismos competidores (Cabrera, 2014).

El tiempo de fermentación depende de la composición química y física del sustrato, los sustratos más utilizados se muestran en la Tabla 1 .4.

Tabla 1.4. Subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales disponibles en México, que han sido empleados como sustrato para el cultivo de *Pleurotus pulmonarius* (Mora-Martínez., 2007).

Sustrato	Tratamiento	Eficiencia biológica (%)
Bagazo de caña de azúcar	P	90.66, 69.77, 122.72, 142.77, 104.39, 110.11
Bagazo de caña tratado con NaOH	P	128.30
Bagazo de maguey tequilero	P	78.29
Hoja de caña de azúcar	P	89.4
Hojarasca	P	37.6
Lirio acuático	P	41.6, 58.7, 110.5
Paja de arroz	P	131.5
Paja de cebada	P	NR
Paja de trigo	P	NR
Rastrojo de jícama	P	44.8, 60.58, 78.4, 49.89
Rastrojo de maíz	P	154
Residuos de granos en producción de cerveza	P	68.3
Viruta de pino	E	NR

P: pasteurización; E: esterilización; NR: no registro

1.2.5.3 Producción

La producción se da en intervalos, al momento de producción se le conoce como “oleadas” o “cosechas” (Fernández, 2004). Desde el momento en que se siembra el micelio en el sustrato hasta cuando aparecen los primeros basidiocarpos pasan aproximadamente 3-4 semanas. En general, las condiciones ambientales durante el cultivo deben ser de temperaturas de 20-25 °C, humedad relativa del 90 al 95 %, con una humedad del sustrato de 70-75 %.

1.2.5.4 Rendimiento

Generalmente el parámetro de producción en el cultivo de los hongos comestibles se denomina como eficiencia biológica, el cual se calcula como la relación entre el peso fresco total de hongo producido de una bolsa de sustrato y el peso seco del mismo sustrato. Este parámetro se expresa en porcentaje.

1.3 Proceso de secado

El proceso de secado consiste en la eliminación de agua de materiales (cerámicos, productos farmacéuticos, maderas, pulpas, etc.) y de alimentos, el agua de los materiales sólidos puede ser eliminada por medios mecánicos, utilizando prensas, centrifugas, en la mayoría de los casos el agua siempre se elimina en forma de vapor con aire. En la industria alimenticia es importante la eliminación de agua y se considera un alimento seco si contiene más de 2.5 % de agua y deshidratado si este contiene menos de 2.5 % de agua (Mujumdar, 2015).

El secado es la tecnología más antigua utilizada en la conservación de los alimentos debido a que los microorganismos dejan de ser activos cuando el contenido de agua se reduce por debajo del 10 % en peso seco (Fito Maupoey *et al.*, 2016), sin embargo durante el proceso se experimentan cambios físicos, químicos y biológicos que afectan algunas de las características como textura, color, sabor, y valor nutricional (Ibartz y Barbosa-Cánovas, 2010) por lo que el proceso debe efectuarse a temperaturas moderadas con el fin de una buena calidad en el alimentos (Salas de la Torre *et al.*, 2003).

Los factores que afectan la velocidad de secado son los siguientes (Perry y Green, 2010):

- Área de la superficie del producto, generalmente se subdivide con el fin de aumentar el área de transferencia de masa, calor y acelerar el proceso.

- Velocidad de flujo de aire donde el aire en movimiento absorbe vapor de agua de la superficie del alimento, limitando la saturación.
- Relación de temperatura - tiempo, la rapidez de secado aumenta al aumentar la temperatura y el tiempo de secado disminuye.
- Humedad del aire, entre más seco esté, mayor será la velocidad de deshidratación, este factor incrementa la fuerza impulsora para el transporte de masa.
- Influencia del tejido vegetal es un factor determinante en el proceso de deshidratación.

El secado es un proceso que mejora la eficiencia en la preservación, el empaque, reduce los costos de almacenamiento y transporte debido a la reducción de la masa y el volumen del producto.

1.3.1 Curva de secado

Las curvas de secado se obtienen llevando sobre un diagrama en función del tiempo, el contenido en agua del producto o bien la velocidad de secado. También se puede representar la velocidad de secado en función del contenido de agua (Cheftel y Cheftel, 1992) ésta depende de la transmisión de calor y transferencia de masa.

En la Figura 1.4a se muestra que la velocidad de secado está sujeta a la variación en función del tiempo y del contenido de humedad. En la Figura 1.4b se caracteriza por una velocidad variable a lo largo del ciclo de secado. En la Figura 1.4c demuestra que el secado no es un proceso suave y continuo, en el cual solo un mecanismo ejerce el control a lo largo de toda su duración.

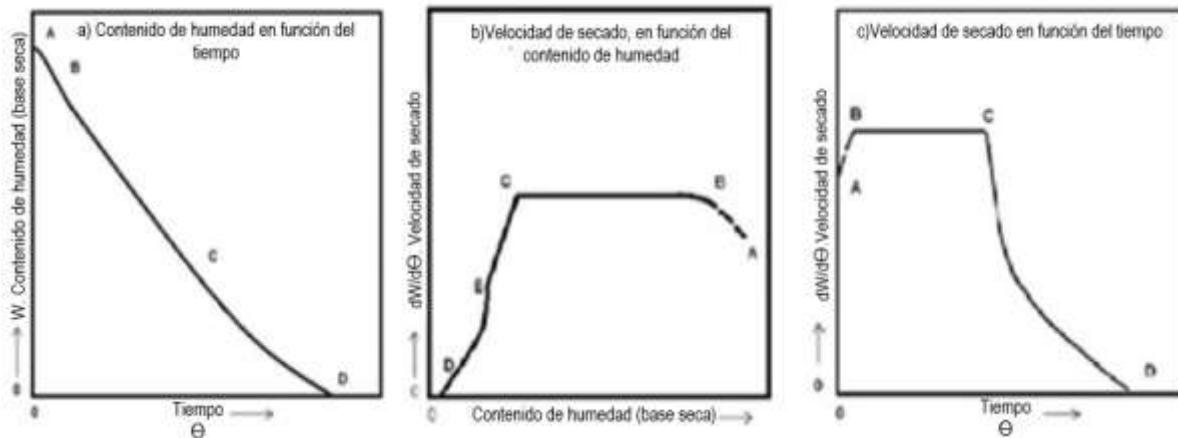


Figura 1.4 a, 1.4 b y 1.4 c Curvas de secado. (Perry y Green 2010)

La sección AB de cada curva representa un periodo de calentamiento de los sólidos, la sección BC representa el periodo de la velocidad constante, el punto C finaliza la velocidad constante y comienza a descender el índice de secado a este punto se le conoce como contenido crítico de humedad.

En la curva de humedad-tiempo es preciso obtener datos que expresen el contenido de humedad en función del tiempo transcurrido y tales resultados se representan gráficamente en la Figura 1.5 (Perry y Green, 2010).

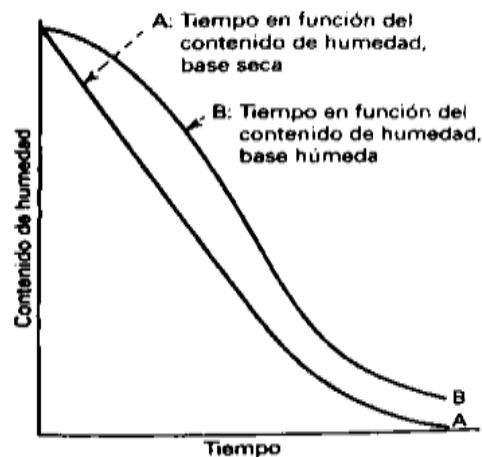


Figura 1.5 Curva de secado con respecto al tiempo (Perry y Green, 2010)

1.4 Secado por bandejas

En el secado por bandejas el calor se transfiere al alimento mediante una corriente de aire caliente, es frecuentemente un proceso lento, que requiere altas temperaturas externas para generar las diferencias de concentración requeridas. Como consecuencia, los mecanismos de transferencia de calor y masa durante el proceso dependerán de variables inherentes al aire de secado como la temperatura, velocidad de flujo y humedad.

En el secador de bandejas la transferencia de calor puede ser directa del gas a los sólidos utilizando la circulación de grandes volúmenes de gas caliente, o indirecta utilizando repisas o bases calentadas, serpentines de calefacción o paredes refractarias en el interior de la cubierta.

Alrededor del 10 al 20 % del aire que pasa sobre las bandejas es nuevo, y el resto es aire recirculado (Geankoplis, 1998). El funcionamiento satisfactorio de los secadores de bandejas depende de la conservación de una temperatura constante y una velocidad de aire uniforme sobre todo el material que se esté secando. Conviene tener una circulación de aire con velocidades de 1 a 10 m/s para mejorar el coeficiente de transferencia de calor en la superficie y con el propósito de eliminar bolsas de aire estancado. La corriente de aire no uniforme es uno de los problemas más graves que se presentan en el funcionamiento de los secadores de bandejas.

Este tipo de secador puede ser de carretillas o de bandejas estacionarias, en el primer caso las bandejas se cargan sobre carretillas, que se empujan hasta el interior del secador y en el segundo las bandejas cargan directamente en bastidores fijos dentro del secador. Las carretillas esta provistas de ruedas con pestañas que corren sobre los carriles o sobre ruedas planas giratorias.

Las bandejas pueden ser de cualquier material que sea compatible con las condiciones de corrosión y temperaturas prevalecientes, en general se utilizan las bandejas metálicas debido a que conducen el calor con mayor facilidad.

1.5 Liofilización

La liofilización ó criodeshidratación es un proceso de secado que se basa en sublimar el hielo de un producto congelado. El agua del producto pasa, por tanto, directamente de estado sólido a vapor sin pasar por el estado líquido, para lo cual se debe trabajar por debajo del punto triple del agua. En este proceso el encogimiento del alimento es mínimo, el aspecto, la textura, el sabor, el aroma y se intensifican y se mantienen sus características nutricionales (Orrego, 2008). El secado por liofilización se caracteriza por tres fases en la primera se inicia la etapa conductiva, por el calentamiento de la muestra, la velocidad de sublimación crece rápidamente hasta llegar a un máximo. El tiempo para agotar esta fase es relativamente corto; en ella se lleva a cabo la mayor parte de remoción de agua del producto (entre 75-90 %), siendo el mecanismo preponderante la transferencia de calor por conducción; la segunda es la primera etapa difusiva, en esta se muestra un descenso importante de la velocidad de sublimación debido a la formación de una capa porosa de material; y por último la segunda etapa difusiva, la velocidad de sublimación continúa decreciendo de forma que se aproxima a cero. Esto debido a que el calor necesario para retirar el agua ligada es más alto que el calor de sublimación. Este proceso se esquematiza en la Figura 1.6.



Figura 1.6 Etapas de proceso de liofilización (Rothmayr, 1974)

1.5.1 Etapas de sublimación

Cuando en el proceso de liofilización inicia el calentamiento del producto comienza a formarse una interfase en la capa seca y la capa congelada de la muestra, la transferencia de masa ocurre por la migración de vapores a través de la capa seca de la muestra bajo la acción de una diferencia de presión. Las etapas en que se clasifica el proceso son:

- Etapa conductiva, inicia por el calentamiento de la muestra la velocidad de sublimación y crece rápidamente hasta llegar a un máximo.
- Etapa difusiva, muestra un descenso importante de la velocidad de sublimación debido a la formación de una capa porosa de material seco que opone resistencia creciente al flujo de calor y a vapor a medida que procede el secado.
- Secado secundario, la velocidad de sublimación continúa decreciendo de forma que se aproxima a cero.

A las etapas 1 y 2 se les conoce como secado primario, en ella se lleva a cabo la mayor parte de remoción de agua (75-90 %).

1.5.2 Secado primario

En el secado primario el hielo se retira de la muestra mediante sublimación desde la fase sólido a la gaseosa como se muestra en la Figura 1.7; Mientras se disponga de un sistema que constantemente retire este vapor, el proceso de secado continuará hasta que se agote el hielo presente.

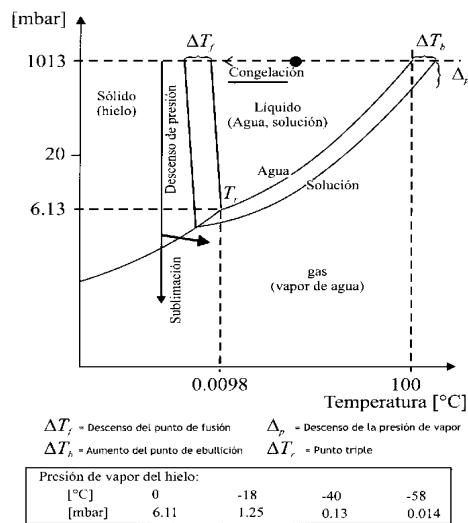


Figura 1.7 Diagrama temperatura- concentración del agua y una solución acuosa en el proceso de liofilización (Kramer, 1999)

Para suministrar el calor requerido para la sublimación se dispone de los mecanismos de transferencia de calor esto es calor por radiación desde la placa calefactora superior, conducción desde la placa inferior por la delgada película de aire que se forma entre el recipiente de la muestra y la placa y/o desde el fondo de la bandeja y la pared de este recipiente. El vapor de agua se retira de la matriz de diferentes formas Figura 1.8,

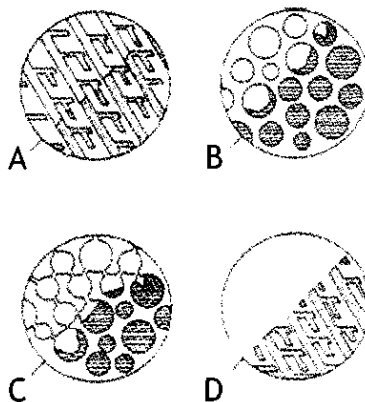


Figura 1.8 Mecanismos de secado durante la liofilización: A) sublimación del hielo con el vapor de agua retirándose por canales de la estructura. B) Difusión de moléculas de agua hasta el frente de secado de la matriz. C) Vapor de agua escapándose por fracturas de la matriz, desarrolladas durante el proceso de secado D) Pérdida de la estructura en el frente de secado por colapso (Mackenzie, 1966).

1.5.3 Secado secundario

Las porciones remanentes de agua no congelada, que no sublima en la primera etapa del secado, lo hacen por evaporación en la segunda etapa al incrementarse la temperatura de la matriz del alimento. Las partes secas de la muestra que se liofiliza pueden comenzar su secado secundario.

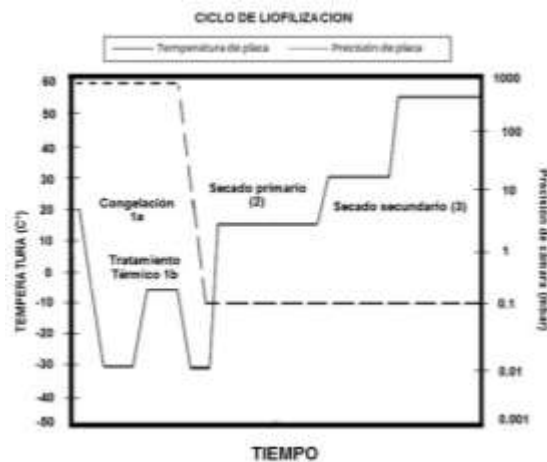


Figura 1.9 Historia térmica de un proceso de liofilización (Kramer, 1999)

1.6 Propiedades bromatológicas de los alimentos

Durante el proceso de secado existen distintas propiedades bromatológicas de los alimentos, los cuales reflejan la calidad y la vida útil del producto alimenticio.

1.6.1 Actividad de agua

La actividad (a_w) es la relación que existe entre la presión parcial de vapor de agua contenida en el alimento (p) con respecto a la presión parcial de vapor de agua pura (p_0) a la misma temperatura y se expresa mediante la ecuación 1.1.

$$a_w = \frac{P}{P_0} = \frac{HR}{100} \quad (1.1)$$

La a_w representa la humedad relativa (HR) ambiental que se encuentra en equilibrio termodinámico con el agua presente en el alimento (Barreiro y Sandoval, 2006).

El estudio del efecto de la a_w indica la fracción del contenido de agua libre es la disponible para el crecimiento de microorganismos y desarrollo de reacciones bioquímicas que afectan a su estabilidad del producto (Figura 1.10). Por lo que, es el factor individual que más influyente en la estabilidad de los alimentos (Welty-Chanes y Vergara, 1997).

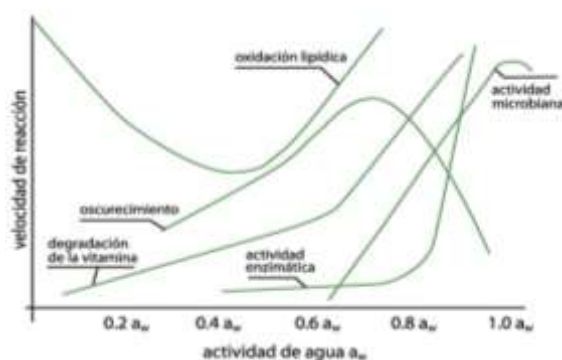


Figura 1.10 Estabilidad de los alimentos por la a_w

En la Tabla 1.15 se muestra la a_w mínima para el desarrollo de microorganismos

Tabla 1.5 Actividad de agua mínima requerida para el crecimiento de microorganismos

Microorganismo	a_w
Bacterias	0.91
Levaduras	0.88
Mohos	0.80
Bacterias halófilas	0.75
Mohos xerófilos	0.65
Levaduras osmófilas	0.60

1.6.2 Humedad

La humedad indica la cantidad de agua presente en una muestra; en alimentos el contenido de agua varía entre 60 y 98 %, la cual está presente como agua libre, agua ligada y agua constitucional.

La humedad es una estimación durante y después del procesamiento de alimentos por lo que se convierte en una parte esencial y control de calidad (Hart y Fisher, 1991). El contenido de humedad de un sólido se puede expresar en base seca o base húmeda.

La humedad en base seca se refiere al contenido de humedad con relación a la masa totalmente seca del sólido y se expresa mediante la ecuación (1.2).

$$X_{b.S} = \frac{\text{masa de agua}}{\text{masa de la muestra seca}} \quad (1.2)$$

La humedad en base húmeda es la cantidad de agua por unidad de masa de la muestra humedad y se expresa mediante la ecuación (1.2).

$$X_{b.H} = \frac{\text{masa de agua}}{\text{masa de la muestra húmeda}} \quad (1.3)$$

El contenido de humedad de los alimentos no elaborados o frescos se expresa generalmente en base humedad, sin embargo, los productos que son sometidos a un proceso de secado su contenido de humedad se expresa en base seca, debido a que permanece constante durante el proceso de secado (Bhuyan, 2007).

1.6.3 Color

El color es una cualidad organoléptica de los alimentos y es percibida por los órganos visuales. También suele ser considerado un factor psicológico de apreciación y un criterio para elegir un producto alimenticio; incluso en los productos de origen vegetal se relaciona con la posibilidad de elegir la maduración y su idoneidad. Sin embargo, no siempre es válida la correlación entre color y calidad (Bello- Gutiérrez, 2010).

La percepción por el ser humano es sensible a un rango limitado de longitud de onda llamado espectro de luz visible; se produce por los rayos luminosos y depende de la longitud de onda (380 a 770 nm) y de las características del órgano receptor (Ohta y Robertson, 2005).

Los colores de los alimentos se deben principalmente a compuestos orgánicos, algunos se producen por pigmentos naturales, durante el manejo y procesamiento

La Comisión Internacional de Iluminación (CIE) creó un modelo que ubica el color mediante coordenadas equivalentes a X, Y, Z, con la finalidad de que los cambios sean iguales con respecto a la percepción, por lo que se combinó un espacio en coordenadas rectangulares (L^* , a^* y b^*) con otro en coordenadas cilíndricas (L^* , H^* y C^*), (Westland, 2001). En el sistema CIE, (Figura 1.11); L^* es la luminosidad, a^* es la saturación y b^* es el ángulo de tono, C^* es el croma (equivalente a la saturación, es la distancia del punto de color con respecto al punto blanco) y H^* el matiz (que proporciona información sobre la longitud dominante); el parámetro colorimétrico a^* define al componente rojo-verde, mientras que el parámetro b^* define el componente amarillo-azul (Ranganna, 1986; Westland, 2001).

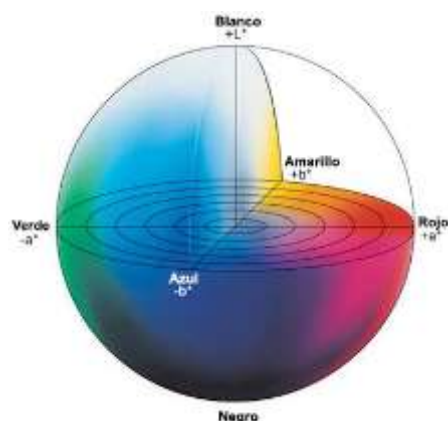


Figura 1.11 Modelo de color CIE

1.6.4 Proteínas

Las proteínas son macromoléculas formadas por cadenas de alrededor de 20 diferentes aminoácidos, unidos entre sí por medio de enlaces peptídicos y se encuentran como mezclas complejas en los tejidos orgánicos, poseen propiedades y características que las diferencian unas de otras y por medio de ellas pueden ser separadas y aisladas de sus fuentes (Herrera *et al.*, 2003).

Entre las propiedades mas importantes estan la solubilidad, hidratación, densidad, punto isoeléctrico y desnaturación.

1.6.5 Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas mediante propagación de reacciones en cadena oxidativas, actúan principalmente en reacciones de terminación de cadenas de radicales libres, impidiendo la oxidación de lípidos y otras moléculas cediendo átomos de hidrógeno (Rivero y Betancort, 2006). Pueden eliminar o bloquear los radicales libres e inhibir la peroxidación lipídica.

La actividad de los compuestos antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de su estructura química (Royse y May, 2003); existen antioxidantes sintéticos y naturales. Los antioxidantes sintéticos son compuestos fenólicos con estructuras de varios grados de la sustitución de alquilo, mientras que los antioxidantes naturales pueden ser compuestos fenólicos (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, los aminoácidos y aminos), carotenoides y el ácido ascórbico. (Velioglu *et al.*, 1998).

1.6.6 Fenoles

Los fenoles son metabolitos secundarios, participan de diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática. Además, están asociados al color y las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza) (Robbins, 2003). Químicamente pueden ser definidos como sustancias que poseen un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo, incluyendo a sus derivados.

Los compuestos más importantes de grupo fenólico son los flavonoides, ácidos fenólicos y polifenoles.

1.6.7 Enzimas

Una enzima es una proteína que actúa como catalizador biológico, llevando a cabo reacciones bioquímicas a gran rapidez, en general presenta un elevado grado de especificidad (Badui, 2006). Las enzimas y substratos se encuentran normalmente en alimentos, localizados en compartimentos tisulares o celulares distintos, separados por membranas (Cheftel y Cheftel, 1992). Su estudio en el campo de los alimentos es de interés debido a que son responsables de cambios químicos que pueden resultar benéficas (maduración de frutas) o desfavorables (oxidación de

ácidos grasos y oscurecimiento enzimático) (Badui, 2006). Estas reacciones enzimáticas implican pérdida de nutrientes y calidad, en general dan origen a compuestos de color oscuro (AID, 1968.). Tal reacción ocurre ante la presencia de tres componentes oxígeno, enzima y substrato oxidables (tirosina, catecol, ác. clorogénico, ác. cafeico, ác. gálico, hidroquinonas antocianos, flavonoides entre otros).

1.7 β -glucanos

Los β -glucanos son polisacáridos no celulósicos constituidos de monómeros de D-glucosa unidos por enlaces β -glucosídicos; son un tipo de fibra dietética, pueden encontrarse en fuentes naturales como levaduras, algas, bacterias, cereales y hongos comestibles. Tiene diferentes pesos moleculares (alto y bajo) de los cuáles depende la determinación de actividades físicas de los polímeros resultantes como solubilidad, viscosidad y la capacidad de emulsificación (Skendi *et al.*, 2003); presentan principalmente los enlaces β -(1 \rightarrow 3), β -(1 \rightarrow 4), y β -(1 \rightarrow 6) (Ruthes *et al.*, 2015), donde el tipo específico de enlace viene determinado por el número de moléculas de glucosa que se ramifican de la estructura básica (Roberts *et al.*, 2003).

Aproximadamente la tercera parte de los polisacáridos consisten de β -(1 \rightarrow 3)-D-Glucanos, que contienen ramificaciones β -(1 \rightarrow 6)-D-glucosiladas. Los cuales son los enlaces de interés (Figura 1.12), debido a que poseen actividades inmunoestimuladoras, anticancerígenas, antiviral, antiinflamatoria, antioxidante, hipoglucémicas, hipocolesterolémicas y analgésicas (Smiderle *et al.*, 2012).

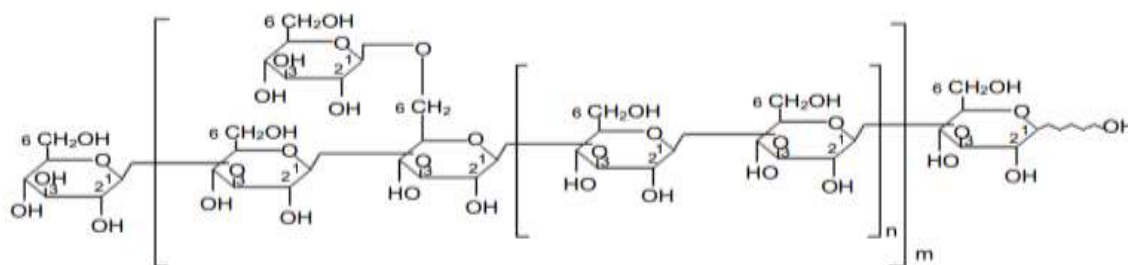


Figura 1.12 Estructura molecular de los enlaces β -(1 \rightarrow 3)-(1 \rightarrow 6)-D-glucanos (Hung et al.,2008)

En los últimos años se han realizado investigaciones en torno a los β -glucanos obtenidos de hongo y sus aplicaciones en la industria de alimentos, en la medicina, en farmacología, en cosmetología y en la industria química. En la tabla 1.5 se muestran algunas de las aplicaciones de los β -glucanos.

Tabla 1.6 Aplicación de los β -glucanos

Área de aplicación	Producto	Funcionalidad
	Elaboración de salchicha probiótica con β -glucano	Alimento funcional
	Pan libre de gluten adicionado con β -glucano	Alimento funcional
Comida	Productos lácteos con β -glucano	Reducción de calorías y colesterol
	Yogurt con β -glucano	Alimento funcional
	Pasteles	Alimento funcional
	Bebidas adicionadas con β -glucano	Reducción del apetito
	Material de vendaje interno y externo	Mejor calidad y aceptación en el cuerpo humano
Medicina	Poli-membranas	Acelerar el proceso de cicatrización
	Sustituto oseo	Adaptación a la forma y dimensiones, incluso de los grandes defectos óseos

1.8 Antecedentes

Algunos antecedentes que respaldan la investigación se describen a continuación:

Ronda *et al.*, (2012) estudiaron el efecto de la adición de (1-3), (1-6) β -glucano de *Pleurotus ostreatus* sobre la calidad de pan elaborado con harina de arroz de forma aislada y combinado con HidroxiPropilMetilCelulosa (HPMC). Después de realizar un estudio de superficie respuesta para evaluar el efecto del β -glucano y del HPMC sobre la textura, humedad y color en el pan, concluyeron que el β -glucano puede ser añadido al pan sin modificar negativamente las principales propiedades físicas de calidad del pan ni su vida útil.

Okafor *et al.* (2012) evaluaron el efecto de la suplementación de polvo de *Pleurotus pulmonarius* (MP) en la fabricación de pan, realizaron formulaciones de harina de trigo (WF) con 0, 5, 10, 15, 20 y 25 % de MP. Se encontró que la suplementación de WF con MP de 0-25 % aumentó el contenido de proteína cruda significativamente de 7.96-14.62 %, mientras que la evaluación sensorial (textura, sabor, color, miga) mostró que no había diferencia entre el pan fortificado con al 5 % de MP y la muestra de pan control (100 % WF) manteniendo el pan suplementando todos los parámetros evaluados. Por lo anterior concluyeron que se puede añadir MP a la harina de trigo hasta el 10 % sin ningún efecto perjudicial sobre las propiedades sensoriales de pan, sino al contrario, favoreciendo su calidad nutricional.

Jesenak *et al.* (2013) estudiaron el efecto del β -glucano extraído del *Pleurotus ostreatus* en un grupo de 175 niños (5 ± 2 años) con infecciones respiratorias crónicas, los cuales se dividieron en dos grupos el primero fue tratado con Imunoglukan (β -glucano de *Pleurotus ostreatus* adicionado de vitamina C) y el segundo grupo con placebo (solo vitamina C), durante 12 meses tuvieron tres chequeos médicos y como resultado obtuvieron que el 36 % de niños del primer grupo presentó mejoría y en el segundo grupo el 21%.

Ravi *et al.* (2013) estudiaron la actividad antidiabética de *Pleurotus ostreatus* en ratones diabéticos y ratones inducidos por alloxan, los animales se dividieron en cuatro grupos, ratones de control (sin algún tipo de enfermedad), ratones diabéticos, ratones diabéticos con post tratamiento de glibenclamida de medicamentos estándar y los ratones diabéticos tratados con extracto etanólico de *P. ostreatus*. A todos los animales se les midieron el nivel de glucosa y parámetros bioquímicos específicos. Como resultado obtuvieron que el consumo del extracto etanólico de *P. ostreatus* produjo un efecto hipoglucemiante significativo en ratones diabéticos y fue capaz de mejorar las funciones de la hiperlipidemia y insuficiencia renal en ratones diabéticos inducidos por alloxan. Por lo que concluyeron que el extracto etanólico de *P. ostreatus* se podría añadir en la lista de preparaciones medicinales beneficiosas para los pacientes con *diabetes mellitus*.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO 2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Metodología general

El desarrollo experimental del proyecto se muestra en la Figura 2.1, consistió en: 1) Fermentación en medio sólido de la cepa del *Pleurotus pulmonarius*; 2) Clasificación y selección de talla de los hongos cosechados de acuerdo al tamaño de sombrero G₁ (± 5 cm); 3) Secado por liofilización y charolas; y 4) formulación de la harina.

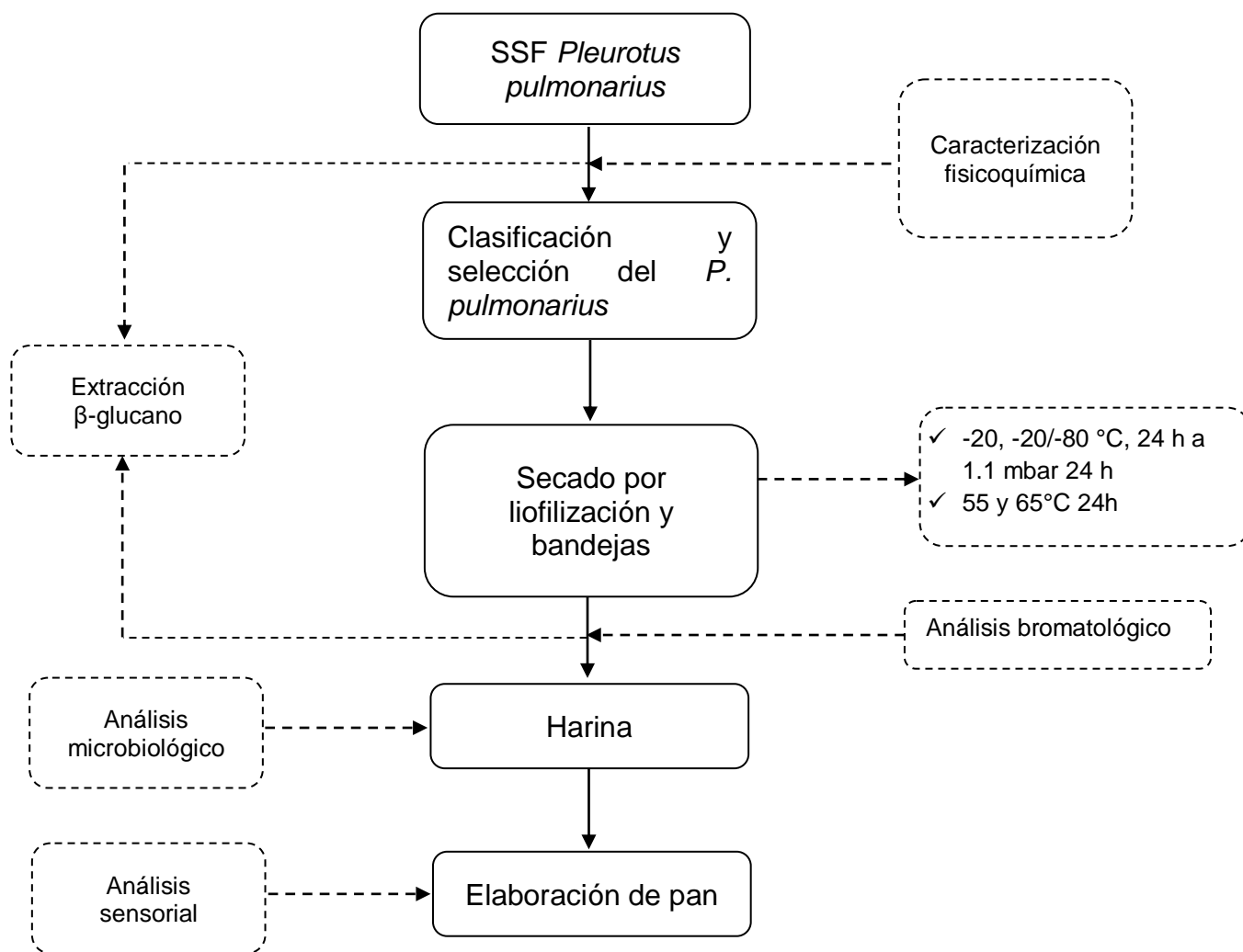


Figura 2.1 Extracción de β -glucano de *Pleurotus pulmonarius* deshidratado para la formulación de harinas enriquecidas.

2.2 Producción del *Pleurotus pulmonarius*

La fermentación en medio sólido se realizó en cuatro etapas que consistieron en: elaboración de inóculo, preparación del sustrato, invasión del micelio en el sustrato y desarrollo de fructificaciones. En la primera etapa se utilizó el inóculo de la cepa IE-115 del *Pleurotus pulmonarius* perteneciente al Cepario de Hongos del INECOL, la cual se propagó en bolsas de polietileno en una relación 1:15 (p/p) con semilla de sorgo (*Sorghum*) estériles e hidratadas que actuaron como vectores para propagar masivamente el micelio del hongo.

La segunda etapa consistió en definir el sustrato, el cual fue paja de cebada (*Hordeum vulgare L.*), éste es un residuo que presenta en su estructura lignina, hemicelulosa y celulosa, que favorecen la implantación de microorganismos o macroorganismos capaces de biodegradarlos, convirtiéndose en un material atractivo para la obtención de productos de valor agregado. Este residuo fue obtenido en la ciudad de Xalapa, Veracruz, trasladado a las instalaciones del INECOL, dónde se tritura para definir un tamaño de partícula (6 ± 1 cm), en una picadora eléctrica para forraje modelo HML M-200. Después se empacaron las muestras de paja picada en sacos de rafia de polipropileno de 30 x 60 cm y, se llevaron a hidratación por inmersión en agua durante 24 h. Fue necesario someter al sustrato a un tratamiento térmico para eliminar cualquier tipo de actividad microbiana, este proceso consistió en introducir los sacos en una cámara de inyección de vapor a 65 °C durante 12 h, la temperatura fue monitoreada por 6 termopares conectados a un dispositivo electrónico.

En la tercera etapa la paja fue mezclada con el inóculo preparado en sorgo en relación 1:0.05 (p/p) en bolsas de polietileno transparentes de 40 x 20 x 80 cm, este procedimiento se repitió hasta alcanzar ± 4 Kg en peso húmedo, se realizó una homogenización con el fin de asegurar una invasión rápida y total del micelio en el sustrato, se selló el paquete y a cada bolsa se le hicieron 12 perforaciones de 1 cm

de diámetro para permitir el intercambio gaseoso y favorecer el crecimiento del micelio. Las muestras fueron dejadas en un cuarto oscuro, con la finalidad de favorecer la invasión del micelio sobre el sustrato.

La cuarta etapa es el periodo de desarrollo de las fructificaciones, consistió en colocar las bolsas en estantes y en un cuarto aséptico con condiciones favorables de luz natural (12 h luz/12 h oscuridad), a 26 ± 1 °C con sistema de riego cada 2.5 h durante 2 min y de flujo de aire cada 90 min. A partir de la aparición de los primordios se observó el crecimiento del hongo hasta el estado adulto ± 7 días (Figura 2.2), se obtuvieron 4 oleadas (cosechas), en cada fermentación. Se realizaron 10 fermentaciones en igualdad de condiciones, antes descritas.



Figura 2.2 Crecimiento del hongo

2.2.1 Evaluación de la calidad del *P. pulmonarius*

Un parámetro importante de la calidad del hongo, es la talla o tamaño del píleo (sombrero) en su estado maduro, para medir este parámetro se realizó una clasificación del hongo de acuerdo a la talla, clasificadas como **G₁** (1-5 cm), **G₂** (5.1 a 10 cm), **G₃** (10.1 a 15 cm) y **G₄** (15.1 a 20 cm). En tanto que, la eficiencia biológica es la medida estimada de producción, es la capacidad de los hongos de convertir un sustrato en cuerpos fructíferos, calculado con la ecuación 2.1 y puede ser mayor del 100 %.

$$EB = \frac{\text{Peso de hongo fresco}}{\text{peso seco del sustrato}} \times 100 \quad (2.1)$$

2.2.2 Tensión-deformación.

Esta prueba consistió en medir la dureza del hongo en tres tallas (G_1 , G_2 , G_3) en tres zonas (1, 2, 3), como se muestra en la Figura 2.3, con un penetrómetro marca PCE-PTR 200.



Figura 2.3 Clasificación de zonas de *P.pulmonarius*

2.3 Caracterización bromatológica del *Pleurotus pulmonarius*

Se realizó la caracterización bromatológica del *Pleurotus pulmonarius* antes y después del proceso de secado de acuerdo a procedimientos establecidos y siguiendo normas oficiales mexicanas para alimentos. Cada determinación se realizó por triplicado.

2.3.1 Actividad de agua

Determinación de actividad de agua (a_w) se realizó en un equipo marca *AquaLab serie 3*, colocando en un recipiente de polietileno aproximadamente 1 g de muestra.

2.3.2 Determinación de porcentaje de humedad

Esta determinación se realizó en una Termobalanza Ohaus MB35 Halogen a 65 °C, el cual consistió en colocar aproximadamente 1 g de muestra sobre una charola de aluminio.

2.3.3 Determinación de cenizas

La determinación se realizó bajo la norma oficial NMX-F-066-S-1978 se utilizó una mufla marca Thermo Scientific a una temperatura de 630 °C.

2.3.4 Extracto etéreo (lípidos)

La determinación se realizó bajo la norma oficial NMX-F-545-1992 con equipo Soxhlet y hexano como agente de arrastre.

2.3.5 Determinación Proteínas

La determinación de proteínas se realizó bajo la norma NMX-F-068-S-1980 (método MicroKjeldahl), utilizando el factor de proteína $N \times 4.38$.

2.3.6 Análisis de color

La determinación de color se realizó en un colorímetro MiniScan XE plus Hunterlab. Colocando en la cámara del equipo una cantidad suficiente de muestra hasta cubrir el centro de medición, el software del equipo muestra los valores para L (luminosidad), a, b (parámetros de cromaticidad) para obtener ΔE (diferencia de color entre la muestra inicial y final) se empleó la ecuación 2.2.

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad (2.2)$$

Donde:

$$\Delta L = L_{\text{final}} - L_{\text{inicial}} \quad (2.3)$$

$$\Delta a = a_{\text{final}} - a_{\text{inicial}} \quad (2.4)$$

$$\Delta b = b_{\text{final}} - b_{\text{inicial}} \quad (2.5)$$

2.4 Actividad enzimática

2.4.1 Extracto enzimático metanólico

Se realizó en una relación 1:10 hongo-metanol absoluto y se colocó en un frasco de vidrio de 80 mL, la suspensión fue agitada en un roto-torque Cole Parmer 7637-75 a 60 rpm durante 24 h. La suspensión obtenida fue filtrada con papel Whatman no. 1 y, resguardada a 4 °C, el residuo fue colocado nuevamente en frasco de vidrio inicial, se adiciono la misma cantidad de metanol que al inicio y, se repitió el procedimiento hasta alcanzar el 3^{er} día.

2.4.2 Extracto enzimático acuoso

Se realizó en una relación 1:10 hongo-agua destilada estéril y se colocó en un frasco de vidrio de 80 ml, la suspensión fue agitada en un roto-torque Cole Parmer 7637-75 a 45 rpm durante 30 min. La suspensión obtenida fue filtrada con tela inerte de celulosa y colocada en tubos de polietileno para ser centrifugados dos veces a 8500 rpm durante 20 min a 4°C en un equipo Heraeus modelo Biofuge primo. El sobrenadante fue considerado el extracto crudo enzimático.

2.4.3 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante por 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), se atribuye a la deslocalización del electrón desapareado, esta deslocalización también le otorga una

coloración violeta caracterizada por una banda de absorción en solución metanólica. Cuando una disolución de DPPH entra en contacto con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno o con otra especie radical (R) se produce la forma reducida DPPH-H ó DPPH-R con la consecuente pérdida del color y por lo tanto la pérdida de la absorbancia. La determinación consistió adicionar en una celda de polietileno de 3 mL, 1 mL de extracto enzimático metanólico (siguiendo las instrucciones del apartado 2.4.8) y 1 mL de DPPH 0.2 mM, teniendo como testigo 1 ml de metanol más 1 mL de DPPH 0.2 mM, (la celdas fueron cubiertas con parafilm para realizar una homogenización) se colocaron al abrigo de la luz durante 30 min y se realizó la lectura de la absorbancia en un espectrofotómetro Thermo Scientific Evolution 201 a 517 nm teniendo como blanco agua destilada y como referencia una curva de calibración. El cálculo del porcentaje de actividad antioxidante (% AAO) se determinó con la ecuación 2.6.

$$\% \text{ AAO} = \frac{\text{absorbancia del testigo} - \text{absorbancia de la muestra}}{\text{absorbancia del testigo}} \cdot 100 \quad (2.6)$$

2.4.4 Poder Reductor

La determinación se basa en la reducción del ferrocianuro de potasio, la cual consistió en adicionar en un tubo de polipropileno de 5 mL, 0.25 mL de extracto enzimático metanólico (siguiendo las instrucciones del apartado 2.4.8), 0.75 mL de buffer de fosfato de sodio 0.02 M pH 6.5 y 0.5 mL de ferrocianuro de potasio al 1 %, en el testigo se sustituyó el extracto enzimático por metanol, se incubaron a 50 °C durante 20 min transcurrido el tiempo se adicionó 1 mL de ácido tricloroacético, y se centrifugaron a 300 rpm durante 10 min, en una celda de polipropileno de 3 mL se colocó una alícuota del supernadante, 1 mL de agua destilada estéril y 0.2 mL de cloruro férrico al 0.1% y se realizó la lectura de la absorbancia en un espectrofotómetro Thermo Scientific Evolution 201 a 700 nm teniendo como blanco

agua destilada y como referencia una curva de calibración. El cálculo del porcentaje de poder reductor (% PR) se realizó con la fórmula 2.7.

$$\%PR = \frac{\text{abs de la muestra}}{\text{abs del testigo}} \cdot \text{concentración del testigo} \cdot \frac{\text{Volumen del extracto}}{\text{peso del extracto}} \cdot 100 \quad (2.7)$$

2.4.5 Fenoles

La determinación se realizó de acuerdo al método propuesto por Box (1983) adaptado por Mata (1997) y Salmones (2005) la cual consistió en adicionar en una cubeta de polipropileno 2.4 mL de agua destilada estéril, 0.375 ml de carbonato de sodio al 10 %, 0.125 mL de reactivo Folin Ciocalteu y 0.25 ml de extracto enzimático acuoso (siguiendo las instrucciones del apartado 2.7.8), se incubaron 1 h a temperatura ambiente y se realizó la lectura a 750 nm teniendo como blanco agua destilada y como referencia una curva de calibración. Los resultados se multiplicaron por 10 para obtener las concentraciones en mMol de fenol por litro de solución.

2.4.6 Lacasas

La cuantificación de actividad enzimática se realizó de acuerdo a lo propuesto por Petrosky *et al.*, (1980) modificado por Velázquez-Cedeño *et al.*, (2002) la cual consistió en lo siguiente, en una celda de polipropileno se adicionó 2 ml de buffer fosfato-citrato 0.1 M pH5, 0.05 ml de siringaldazina 0.45 mM y 1 ml de extracto y se realizó la lectura de absorbancia a 526 nm leyendo la formación de quinonas cada 10s durante 2 min. Los resultados fueron expresados en unidades de actividad enzimática (UAE), cantidad de mmol de siringaldazina oxidados por el micelio contenido en 1g de sustrato por minuto (mmol/g/min) calculados con la ecuación 2.8.

$$UAE = \frac{DO}{CAM} \cdot VTC \cdot \frac{10}{VEEU} \quad (2.8)$$

Donde:

DO: absorbancia de la muestra

CAM = coeficiente de absorción molar de siringaldzina $65\ 000\ \text{mol}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$

VTC = volumen total contenido en la cubeta

VEEU = volumen de extracto enzimático utilizado

2.4.7 Polifenol oxidasa

La determinación se realizó basado en lo propuesto por Jiang (1999) con algunas modificaciones, la cual consistió en añadir en una celda de polipropileno 0.5 mL de catecol 0.5 M, 2 mL de buffer McIlvaine 0.1 M pH 6.5 y 0.5 del extracto enzimático siguiente las instrucciones del apartado, el blanco consistió en sustituir el extracto enzimático por agua destilada, la lectura se llevó a cabo a 420 nm. Los resultados se expresaron como el cambio de absorbancia a 420nm/min de 1 ml de extracto enzimático. La tasa inicial de reacción se calculó a partir de la porción lineal de la curva trazada. La actividad residual (AR) se determinó con la fórmula:

$$AR = 100 \frac{A}{A_0} \quad (2.9)$$

Donde

A= actividad de la PPO en un tiempo dado (Abs/min)

A₀= actividad inicial de la PPO (Abs/min)

Se obtuvieron los porcentajes de inhibición de la PPO con las pendientes trazadas, aplicando la ecuación (Muñoz et al., 2007):

$$\%inh = 100 \cdot \left(1 - \frac{mx}{mb}\right) \quad (2.10)$$

Donde:

Mx= pendiente de la recta trazada para cada muestra

Mb=pendiente de la recta trazada al inicio

2.5 Métodos de Secado

Se realizaron dos tipos de secado: liofilización (L) y, secado por bandejas (C), para una muestra de 500 g de talla G₁ (± 5 cm), sin sanitizar debido a las condiciones de inocuidad observadas en la SSF. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

2.5.1 Secado por liofilización

Consistió en congelar a -20 °C equipo de marca convencional durante 24 h y -20 °C como pre-congelamiento durante 4 h y, después a -80°C en un ultracongelador Thermo Scientific durante 20 h, después de esto, se introdujeron en un liofilizador Labconco a 1.1 mbar a -40 °C en la cámara de condensación durante 24 h.

2.5.2 Secado por bandejas

Consistió en mantener las muestras a temperatura constante de 55 y 65 °C durante 24 h en un horno Riossa HCF-62, donde el hongo se colocó en una sola charola de acero inoxidable para una transferencia de calor uniforme.

2.5.3 Rehidratación

La determinación se realizó por el método propuesto por Wang *et al.* (2014) con algunas modificaciones basadas en Tian *et al.* (2012) el cual consistió en pesar 3 g de muestra y colocarlos en agua destilada a 65 °C durante 30 min el porcentaje se calculó con la ecuación 2.11.

$$\% \text{ Rehidratación} = \frac{\text{Peso final de la muestra}}{\text{Peso inicial de la muestra}} \cdot 100 \quad (2.11)$$

2.5.4 Micrografías

Las muestras fueron sombreadas con oro paladio en un equipo Denton Vacuum, para ser introducidas en un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-5600LV.

2.6 Determinación de β -glucano

La determinación se realizó usando el Megazyme assay kit (K-YBGL) la cual consistió de dos etapas la primera la extracción de glucanos totales y la segunda la extracción de α -glucano, cada determinación contó con un agente blanco el cual consistió en 200 μ L de buffer de acetato de sodio 200 mM pH 5 y, 3 mL de Glucosa oxidasa plus peroxidasa y 4-aminoantipyrine (GOPOD) y un estándar de D-glucosa el cual consistió de 100 μ L de estándar de D-glucosa (1 mg/mL), 100 μ L de buffer de acetato de sodio 200 mM pH y 3 ml de GOPOD. El cálculo de β -glucanos se realizó con la formula.

$$\beta\text{-glucanos} = \text{glucanos totales} - \alpha\text{-glucanos} \quad (2.12)$$

2.6.1 Extracción de glucanos totales

Se pesaron 0.09 g de muestra de un tamaño de partícula de 1mm, se colocaron en un tubo de vidrio de 50 ml y se adicionó 2 ml de H₂SO₄ 12 M frío se mezcló en un vórtex por 5 s y se colocó en un baño frío durante 2 h con mezclas intermitentes durante 15 s en un vórtex, transcurrido este tiempo se adicionaron 4 mL de agua destilada y se mezcló en un vórtex durante 10 s, se adicionaron 6 mL de agua destilada más y se volvió a mezclar durante el mismo tiempo, entonces los tubos con la tapa semi puesta fueron colocados en un baño térmico a 100 °C transcurridos 5 min las tapas fueron selladas y se continuó la incubación durante 2 h. Enseguida los tubos fueron enfriados a temperatura ambiente, el contenido fue transferido a matraces de 150 mL, entonces se añadieron 6 mL de KOH 10M y se aforó a 100 mL

con buffer de acetato de sodio 200mM pH 5. El contenido fue colocado en tubos de polipropileno y centrifugado a 8500 rpm durante 10 min a 25 °C, se tomaron alícuotas de 100 µL de la parte inferior del centrifugado y se colocaron en tubos de 10 mL, se adicionó 100 µL de 1,3-β-glucanasa (20 U/mL) más β-glucosidasa (4 U/mL) en buffer de acetato de sodio 200mM pH 5, la solución fue mezclada en un vórtex e incubada a 40 °C durante 1 h, transcurrido el tiempo de incubación se adicionaron 3 mL de GOPOD se incubaron a 40 °C durante 20 min, parte del contenido fue transferido a celdas de polietileno de 3 mL y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro Thermo Scientific Evolution a 201 a 510 nm contra el blanco. El contenido de glucanos totales se calculó con la ecuación 2.13.

$$\% \text{ Glucanos totales} = \Delta E \cdot \frac{F}{W} \cdot 90 \quad (2.13)$$

Donde:

ΔE = absorbancia de la reacción – absorbancia del blanco

F = factor de conversión en µg de D- glucosa

W = peso de la muestra analizada

2.6.2 Extracción de α-glucanos

Se pesó 0.1 g de muestra de un tamaño de partícula de 1mm, se colocó en un tubo de vidrio de 20 mL con un agitador magnético, se adicionó 2 mL de KOH 2M, se introdujo en un baño frío con agitación magnética durante 20 min, transcurrido el tiempo se adicionaron 8 mL de buffer de acetato de sodio 1.2M pH 3.8 inmediatamente se agregó 200 µL de amiloglucosidasa (1630 U/mL) más inversa (500 U/mL) se mezclaron en un vórtex y se colocaron en incubación durante 30 min con mezcla intermitente, el contenido de esta solución fue transferido a tubos de polipropileno y centrifugado a 8500 rpm durante 10 min, se tomó una alícuota de 100 µL se colocó en un tubo de vidrio y se adicionó 100 µl de buffer de acetato de

sodio 200mM pH 5 más 3 mL de GOPOD, esta solución fue llevada a incubación a 40 °C durante 20 min y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro Thermo Scientific Evolution a 201 a 510 nm contra el blanco. El contenido de α -glucanos se calculó con la ecuación 2.14.

$$\alpha\text{-glucanos} = \Delta E \cdot \frac{F}{W} \cdot 9.27 \quad (2.14)$$

2.7 Elaboración de harina enriquecida con *P. pulmonarius*

La harina de *Pleurotus pulmonarius* se realizó triturando el hongo deshidratado a un tamaño de partícula de 1 mm, se consideraron especificaciones estipuladas en la NOM-247-SSA1-2008.

2.7.1 Análisis microbiológico de la harina

El análisis microbiológico se realizó después de la formulación de la harina para garantizar la inocuidad de la muestra. Las pruebas microbiológicas se determinaron bajo lo establecido en las normas enlistadas en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1 Normas aplicadas en pruebas microbiológicas

Prueba	Norma
Preparación de la muestra	NOM-110-SSA1-1994, Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico
Hongos y levaduras	NOM-111-SSA1-1994, método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
Coliformes totales	NOM-113-SSA1-1994, Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa

2.7.2 Aplicación en pan de miga y galletas de la harina enriquecida

Se complementaron dos tipos de harina (arroz y trigo) en composiciones de 10, 30 y 50 %. Con la formulación harina de trigo y harina de *Pleurotus pulmonarius* se elaboró pan casero de la siguiente manera, se mezcló la combinación de harinas con levadura en una relación 5:0.1 (p/p), se le adicionó agua y sal en una relación 1:0.01 (p/p), se amasó durante 5 min, a la masa se le realizó la forma del pan y se introdujo en un horno convencional a 70 °C durante 10 min; con la combinación de harina de arroz y harina de *P. pulmonarius.*, se elaboraron galletas, la pasta se elaboró con las harinas, agregándole mantequilla en una relación 1:0.1 (p/p), la pasta, se dividió en pequeñas porciones que se introdujeron en un horno convencional a 55 °C durante 10 min para su cocción.

2.7.3 Análisis sensorial

El análisis sensorial se llevó a cabo con una prueba de escalar de control en un panel de 25 personas no entrenadas, las cuales evaluaron el pan y las galletas con las diferentes mezclas de harina (10,30 y 50 %).

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Fermentación en medio sólido

3.1.1 Evaluación de talla del píleo del *Pleurotus pulmonarius*

A fin de homogenizar el tamaño del hongo de los cuerpos fructíferos utilizados para la elaboración de la harina, se realizó la clasificación de acuerdo a la talla, presentadas durante 4 oleadas o cortes de 10 fermentaciones: obteniendo 47 % de G₁, 45 % de G₂, 7 % de G₃ y, 1 % de G₄. Franco y Vega (2013) utilizaron como sustratos paja de arroz, rastrojo de maíz y tuza de maíz (también llamado olote) obtuvieron una mayor talla G₂ con 55±0.4 %.

En la Tabla 3.1 se clasifican las 10 fermentaciones realizadas en función del número de lote (F₁...F₁₀) y según la talla. Donde observa que solo la F₃ presentó talla G₄ con 1.01 %, en la F₅ se mostró la mayor producción de talla G₁, en tanto que, la menor en la F₂ con 3.17 %, sin embargo, esta misma fermentación produjo mayor talla G₂ y G₃ con 5.77 y 1.81 % respectivamente, esto se atribuye a las condiciones propias de la cepa que en un solo lote de experimentación puede variar el tamaño de sus fructificaciones dependiendo de la respuesta del medio ambiente, la capacidad enzimática, el desarrollo para obtener los nutrientes necesarios del sustrato de la forma más eficiente (Chang y Miles, 2004) y del crecimiento competitivo que presentan, debido a que las fructificaciones se presentan en forma de racimos lo que implica la obtención de diferentes tallas como se muestra en la Figura 3.1.



Figura 3.1 Cuerpos fructíferos de *Pleurotus pulmonarius*

Fernández (2012), utilizó cáscara de *J. curcas* y paja de *D. decumbens* como sustrato obteniendo mayor cantidad de talla G₁ y G₂ respectivamente, resultados similares a los de este trabajo, por su parte Nerves *et al.*(2014) para *Pleurotus florida* y *ostreatus* utilizaron cascarilla de arroz obteniendo en su mayoría talla G₂, en cambio, Gaitán- Hernández *et al.*(2009) para paja de cebada fermentada y no fermentada obtuvieron mayor cantidad en talla G₂ y G₃ en cambio Ashraf *et al.* (2013) reportaron para *Pleurotus spp.*, en diferentes sustratos tallas G₁. Sin embargo, para comercialización los adecuados son talla G₁ y G₂.

Tabla 3.1 Clasificación de talla de *P. pulmonarius*

Fermentación	Talla (%)			
	G ₁	G ₂	G ₃	G ₄
F ₁	4.38	4.47	0.80	N/P
F ₂	3.17	5.77	1.85	N/P
F ₃	4.79	4.4	0.36	1.01
F ₄	5.95	4.28	0.30	N/P
F ₅	6.22	4.71	0.89	N/P
F ₆	2.74	4.85	1.00	N/P
F ₇	4.80	4.43	0.44	N/P
F ₈	4.13	4.31	0.61	N/P
F ₉	4.96	4.25	0.73	N/P
F ₁₀	5.51	3.71	0.18	N/P

N/P: No presentó

3.1.2 Eficiencia biológica

Con el fin de conocer el rendimiento del sustrato en función de la cepa utilizada, se evaluó la Eficiencia Biológica (EB). En la Tabla 3.2 se muestra el porcentaje de EB de cada fermentación evaluada. Se observó una variación en EB a pesar de utilizar el mismo sustrato y cepa, alcanzando F₅ el mayor valor de 92.45 %, en tanto que, corresponde a F₆ el menor de 67.28 %, esto se debe a que, en las condiciones aplicadas, la cepa en las diferentes muestras cultivadas pudo haber

aprovechado de manera diferente los niveles de C: N presentes en el sustrato (Oei ,2003). El uso de un sustrato selectivo favorece una alta eficiencia biológica, para el caso del *Pleurotus pulmonarius* la paja de cebada es un sustrato adecuado debido a que su alto contenido de nitrógeno, lignina y ceniza lo hace óptimo para el desarrollo de los cuerpos fructíferos. (Koutrotsios *et al.*,2014).

Algunos autores han utilizado diferentes sustratos con la misma especie alcanzando EB menor a la de este trabajo (78.24 %). Entre ellos, Vega y Franco (2013) utilizaron paja de arroz, rastrojo de maíz y tuza obteniendo porcentajes de 75.65, 62.22 y 69.31 % respectivamente, en tanto Gaitán-Hernández *et al.*, (2009) reportaron en paja de cebada fermentada 55.7 % y no fermentada 77.2 %.

Tabla 3.2 Evaluación de la eficiencia biológica del *Pleurotus pulmonarius*

Fermentación	EB %
1	75.43
2	84.43
3	82.68
4	82.37
5	92.45
6	67.28
7	75.72
8	70.87
9	77.74
10	73.46

3.1.3 Tensión-deformación

De las propiedades organolépticas, la dureza (tensión-deformación, la cual es la fuerza requerida de aplicación, para obtener una deformación en el alimento) es el atributo correspondiente a la textura y es uno de los parámetros más importantes para un producto alimenticio. El *Pleurotus pulmonarius* mostró valores similares en los tres tipos de tallas utilizados (G_1 , G_2 y G_3) en las zonas 2 y 3, sin embargo, en la zona 1 (unión de estípite con sombrero) se observa una mayor dureza en tallas más grandes como se muestra en la Figura 3.2, lo cual atribuye que el tamaño del hongo no influye significativamente en la dureza. El cambio en la dureza puede ser atribuido al contenido de la pared celular del hongo y el soporte que provee.

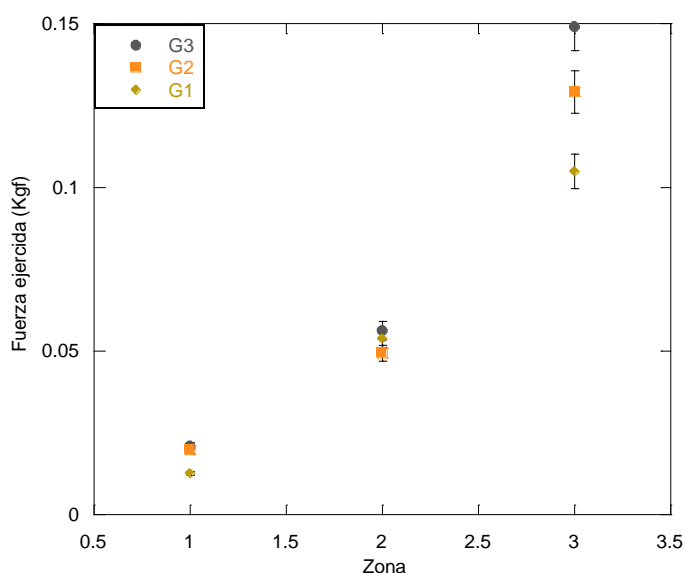


Figura 3.2 Tensión-deformación de *Pleurotus pulmonarius*

3.2 Análisis bromatológico de *Pleurotus pulmonarius*

En el desarrollo de presente investigación se utilizaron los hongos producidos por la SSF y fueron caracterizados bromatológicamente un día después del corte. En

la Tabla 3.3 se muestran la media de réplicas del estudio en la caracterización bromatológica de las muestras de *Pleurotus pulmonarius*.

Registro en trámite

Los resultados obtenidos muestran una presencia mínima de minerales e inferior a lo reportado por García *et al.* (2014), de 8.50 %. Debido al crecimiento en diferente sustrato, con humedad en un alto porcentaje que lo convierte en un alimento altamente perecedero, sin embargo, este porcentaje varía de acuerdo a las condiciones al momento del corte. Smiderle *et al.* (2012) reportan 88.4 % de humedad en post-cosecha, en tanto que, otros reportan valores entre 90-98 %.

Los parámetros de color basados en el espacio de color Hunter *Lab*, para una luminosidad *L*, cromaticidad *a* que representa la tonalidad rojo-verde y, *b* la

tonalidad amarilla-azul. El *Pleurotus pulmonarius* presentó tonalidades blancas-amarillas estas tonalidades son propias de la especie, bajo ciertas condiciones de cultivo influenciadas por la humedad y luz ambiental de las áreas de cultivo, los hongos pueden presentar diferentes tonalidades de color. Los resultados obtenidos de proteína muestran un porcentaje alto de acuerdo a los reportados por Yang *et al.* (2001) 13.30 %, y bajo por Manzi *et al.* (2004) 23.90 %, esto se debe al diferente tipo de sustrato utilizado.

En cuanto a la actividad antioxidante se obtuvo un alto CI50, que corresponde principalmente a la presencia de fenoles 2 % y, un menor poder reductor 0.0860 %. El contenido de β -glucano es ligeramente más alto a lo reportado por Sari *et al.* (2017), de 17.466 (g /100 g). Para Syntytsya *et al.* (2008), el mayor contenido está presente en el estípite, que normalmente es desechado antes de la comercialización. En tanto que, Kalac (2013), afirma que este parámetro no se ve afectado por el tipo de sustrato, si no, por el tiempo post-cosecha. Los resultados son bajos comparados a otras especies de hongos, esto es, McCleary y Draga (2016), en *Lentinula edodes* obtuvieron 25.31 (g/ 100 g) y Kalac (2009) para *Cantharellus cibarius* 26.93 (g/ 100 g). Sin embargo, hay que considerar que *L. edodes* es una especie con propiedades medicinales, reconocida a nivel clínico especialmente en pruebas con pacientes con SIDA y diferentes tipos de cáncer (Xu *et al.*, 2012).

3.3 Secado de *Pleurotus pulmonarius*

Los métodos de secado permitieron alcanzar valores de humedad $X \leq 2.5$ % y, con una actividad de agua $a_w \leq 0.5$, por lo que es considerado un hongo comestible microbiológicamente estable. Se realizó la caracterización bromatológica y enzimática en los dos tipos de secado en sus diferentes condiciones, la cual validó la efectividad del tipo de secado.

3.4 Análisis de color

En la Tabla 3.4 se reportan los valores del análisis de color en muestras deshidratadas de *Pleurotus pulmonarius* para los parámetros L (luminosidad), a y b (cromaticidad) y, la diferencia de color (ΔE). **Registro en trámite**

Como se puede observar en el liofilizado L_2 corresponde al que presentó mayor intensidad en luminosidad, seguido del secado por bandeja a $55\text{ }^\circ\text{C}$ (C_1), en tanto, el secado por bandejas a $65\text{ }^\circ\text{C}$ (C_2), muestra tendencia hacia los componentes oscuros. En cuanto a la cromaticidad en rojo-verde, el C_1 y C_2 mostraron una tendencia hacia los componentes rojos. Ambas condiciones de liofilización L_1 y L_2 presentan una disminución en el componente a , inclinándose hacia los componentes verdes. En tanto que, el parámetro b en todos los procesos tienden a incrementarse hacia los componentes amarillos y mostrando mayor intensidad en C_1 por lo que la menor ΔE se presentó en el L_1 y la mayor en el C_1 . En la Figura 3.3 se muestran los hongos después de someterse a ambos procesos de secado.

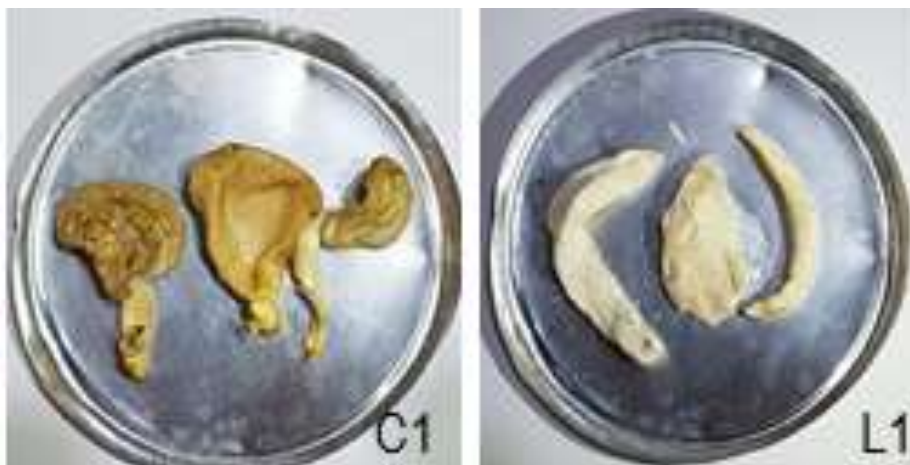


Figura 3.3 *Pleurotus pulmonarius* después del proceso de secado.
C₁: secado por bandejas a 55°C; L₁: liofilizado a -20°C

3.5 Proteínas totales

El contenido total de proteína de los hongos varía constantemente, dependiendo de la etapa de desarrollo, sustrato, cosecha período y especie. En la Tabla 3.5 se muestran los resultados del contenido de proteína del *Pleurotus pulmonarius* deshidratado, donde el porcentaje de proteínas se reduce significativamente para L₂, esto se atribuye a una doble formación de cristales debido al precongelmiento. Caso contrario L₁ permitió una mayor concentración de estas.

L₁: liofilizado a -20 °C; L₂: liofilizado a -20/-80 °C; C₁: secado por bandejas a 55 °C; C₂: secado por bandejas a 65 °C.

García *et al.* (2014), reportan 14.30 %, en tanto que, Akindahunsi y Oyetayo (2006), reportan 13.80 %. Estos valores son menores que las tres condiciones (L₁, C₁ y C₂), ensayadas en este trabajo. Sin embargo, Jaramillo *et al.* (2011) reportan 30.90% un contenido mayor a los antes reportados.

Por lo anterior se puede suponer que temperaturas moderadas permiten una mayor retención de proteínas, debido a que evitan la desnaturalización y, de igual manera al eliminar el agua se observa una mayor concentración, aunque esto no se ve influenciado por el método de secado empleado.

3.6 Actividad antioxidante

En la Tabla 3.6 se muestran los resultados del análisis del *Pleurotus pulmonarius* después del proceso de secado donde se observa que el porcentaje de antioxidantes aumenta significativamente dependiendo del proceso de secado empleado, especialmente las muestras secadas por C₁ son las que presentaron una mayor concentración de antioxidantes, Smolskaite *et al.* (2014) evaluaron la actividad antioxidante en *Pleurotus spp.* reportando concentraciones de 0.14 y 0.15 mg/mL, valores menores a los registrados en el presente estudio. El incremento de la actividad antioxidante podría asociarse al aumento observado en el contenido de flavonoides como rutina, morina y resveratrol (Akyüz *et al.*, 2012) y al de polifenoles, debido a que la actividad antioxidante está en función de la cantidad y el tipo de fitoquímicos presentes en el tejido. La mayor parte de su potencial antioxidante es el resultado de las propiedades redox de los compuestos fenólicos que les permiten actuar como agentes reductores, donantes de hidrógeno y de oxígeno singulete.

Registro en trámite

En la Tabla 3.7 se muestra el ANOVA de efectos de los diferentes tratamientos, el cual indicó, que el tipo de secado no influyó en la concentración de antioxidantes, no así, la temperatura, debido a que este parámetro influyó en la obtención de una mayor concentración de antioxidantes, como se observa en la Tabla 3.6. Es decir, los tratamientos L₁ y C₁ son los que tienen mayor CA50, en los que se utilizaron mayor temperatura de congelación y menor temperatura de secado respectivamente.

Tabla 3.7 ANOVA de efectos en la variable de antioxidantes

Source Term	DF	Sum of squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level
Tipo_de_secado	1	4.408333E-03	4.408333E-03	0.03	0.872718
B(A): Temperatura	2	0.267699	0.1338495	22.34	0.000532*
S	8	4.793267E-02	5.991583E-03		
Total (Adjusted)	11	0.32004			
Total	12				

* Term significant at alpha = 0.05

3.6.1 Poder reductor

En la Tabla 3.8 se reportan los resultados del poder reductor, defensas antioxidantes no enzimáticas. De acuerdo a los valores obtenidos, en el

tratamiento, C₁ seguido de C₂ se encontraron los mayores valores, debido probablemente a que a temperaturas entre 40 y 70 °C se presenta el mayor porcentaje de retención (Tsai *et al.*, 2008).

3.6.2 Fenoles

Los fenoles totales son los principales antioxidantes en los hongos comestibles, entre los cuales, se incluyen polifenoles, p-hidroxibenzoico, protocatéutico, gálico, gentístico, vanílico, siríngico y fenilamina. En la Tabla 3.9 se muestran los resultados obtenidos después del proceso de secado del hongo. Se puede observar que en ambos métodos se lograron incrementar las concentraciones de fenoles totales, no así en las condiciones C₁ y C₂ cuyas muestras presentaron las mismas concentraciones. Lo anterior podría, atribuirse a que la eliminación de agua a temperaturas altas (secado por bandejas), favorece la retención de dichos compuestos, con respecto al secado por liofilización

3.7 Polifenol oxidasa

En la cepa de *Pleurotus pulmonarius* estudiada se cuantificó la actividad enzimática de la polifenol oxidasa (PPO) la cual fue determinada por su cinética de actividad. Esta prueba permitió evaluar la disminución o inhibición del pardeamiento enzimático.

En la Tabla 3.10 se muestran los resultados obtenidos de actividad residual y del porcentaje de inhibición después del proceso de secado, en los cuales se logró inhibir la PPO, así evitando la degradación de compuestos antioxidantes. De acuerdo a los resultados obtenidos, la condición C₁ presentó la mayor inhibición, seguida de L₁. Por lo contrario, el tratamiento L₂ mostró menor inhibición.

3.8 Lacasas

Las lacasas en hongos comestibles son proteínas monoméricas (Rajarithnam *et al.*, 1998), se producen y responden a inhibidores o promotores según el tipo de sustrato donde se cultivan (Chun y Cui, 2002). En la Figura 3.5 se muestra la actividad enzimática por lacasas en el hongo fresco y después del proceso de deshidratado. Se puede observar que en hongo fresco la enzima siempre está activa, en tanto que, en C₂ y L₂ se aprecia menor UAE debido a las temperaturas efectuadas en el proceso, sin embargo, en el C₁ y L₁ a pesar de tener mayor UAE presentan estabilización a partir del primer minuto.

3.9 Rehidratación

Las muestras rehidratadas para evaluar la capacidad de absorción, está relacionada indirectamente con daño estructural por la desnaturalización proteínas bajo el efecto calor, concentración de sales, desorción de agua, destrucción de pectinas y membranas celulares (Sanjuán *et al.*, 2001). En la figura 3.6 se observa una absorción más rápidamente al inicio del proceso y, va disminuyendo

gradualmente hasta que el contenido de humedad alcanza un equilibrio, es decir, que todos los espacios inter o intracelulares están saturados con la solución hidratante (agua). El menor porcentaje de rehidratación se presentó en el L₂ esto se atribuye a un mayor daño estructural, en tanto que L₁ y C₁ muestra valores similares, por lo que indirectamente tienen menor daño estructural.

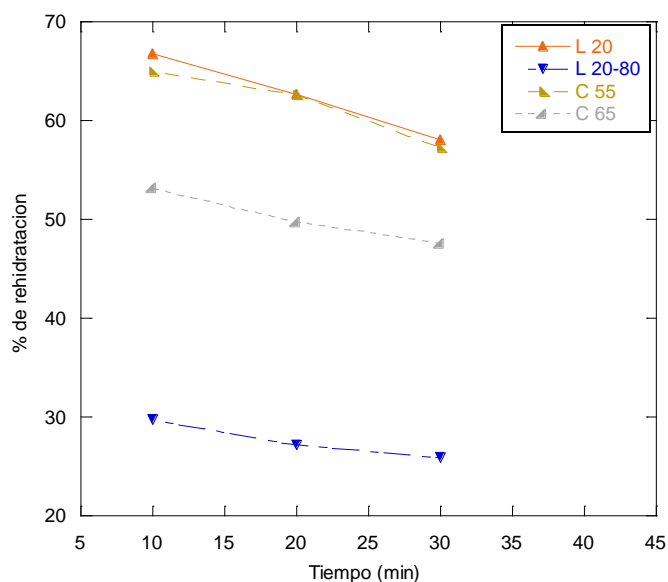


Figura 3.5 Evolución de la rehidratación

3.10 Micrografías

Para el daño estructural del *Pleurotus pulmonarius* después del secado se realizaron SEM, las cuales, se muestran en la figura 3.7. En la imagen C se observa el mayor daño estructural provocado al someter a los hongos a un proceso de precongelamiento, al ingresar los hongos a -20°C inicia la aparición de cristales y al cambiarlo de temperatura (-80°C) incitó a una formación de cristales sobre los ya existentes, por lo que se presentó una segunda cristalización y, esto ocasionó la ruptura de las hifas. En tanto, las imágenes B y D se aprecia menor daño estructural comparado con el hongo fresco, por lo cual a lo largo de este trabajo han presentado valores más altos con respecto a las otras dos muestras analizadas, lo cual está relacionado directamente con el daño estructural.

Registro en trámite (Tabla)**3.1 β -glucanos**

En la tabla 3.11 donde L₁ y C₁ presentan mayor retención, sin embargo, a pesar de ser los más altos se muestra una reducción de más del 50% debido a la termosensibilidad de este componente, que presentan una desnaturalización convirtiéndose en glucosa. Los valores obtenidos son mayores a los reportados por Suri *et al.*, (2017) 1.91 (g / 100 g) para *Pleurotus pulmonarius*. Sin embargo, en comparación con otras especies es bajo, según lo reportado por McCleary y Draga (2016) para *Agarius bisporus* de 12.00 (g / 100 g) y 19.77 (g / 100 g) para *Letinus edodes* (Bak *et al.*, 2014). A pesar de esta diferencia el que presenta mayor extracción es *Pleurotus* debido a su facilidad y al bajo costo de adquisición.

En la tabla 3.12 se muestra en ANOVA de efectos, el cual indicó, que el tipo de secado no influyen en la concentración de β -glucanos, sin embargo, la temperatura es la que presenta significancia para la obtención de mayor concentración.

Tabla 3.12 ANOVA de efectos en la variable de β -glucanos

Source Term	DF	Sum of squares	Mean Square	F-Ratio	Prob Level
Tipo_de_secado	1	1.162519	1.162519	0.65	0.567520
B(A): Temperatura	2	116.6569	116.6569	1330.59	0.000065*
S	8	1.782552	1.782552	20.33	0.001978
Total (Adjusted)	11	0.7013834	8.767292E-02		
Total	12	120.3033			

* Term significant at alpha = 0.05

3.12 Harinas enriquecidas

Se elaboró la harina en base a los resultados obtenidos, analizando la diferencia entre L₁ y C₁, entre estos no existe diferencia significativa de acuerdo a los componentes principales, sin embargo, en el costo de cada uno de los métodos influyo que la harina se realizara con el *Pleurotus pulmonarius* deshidratado por bandejas a 55°C.

3.12.1 Carga microbiana

Para garantizar la inocuidad de la harina se realizó la determinación de la carga microbiana.

En la prueba de hongos y levaduras y coliformes totales se observó que no existió crecimiento microbiano en ninguna de las diluciones por lo cual indicó que los procedimientos de la SSF, de deshidratación, moliendo y tamizado fueron los óptimos para garantizar la inocuidad, Garcia *et al.*, (2014) obtuvieron 160 UFC de coliformes totales debido a las condiciones de corte.

3.12.2 Análisis sensorial

Con el objetivo evaluar el cambio en las propiedades organolépticas sobre las harinas convencionales adicionadas con el suplemento de harina de *P. pulmonarius* se realizó un análisis sensorial en las 6 formulaciones aplicadas en pan y galletas.

El panel definió las concentraciones de 10% para ambas harinas (arroz y trigo) son la de mayor aceptación (Figura 3.8), Okafor (2012) obtuvo que al añadir 10% de *Pleurotus* a harina de trigo hace que las propiedades organolépticas se intensifiquen. En cuanto a los parámetros evaluados durante el análisis: color, sabor, textura y olor

el panel indicó diferencias significativas para cada formulación siendo la mayoría en harina de trigo.

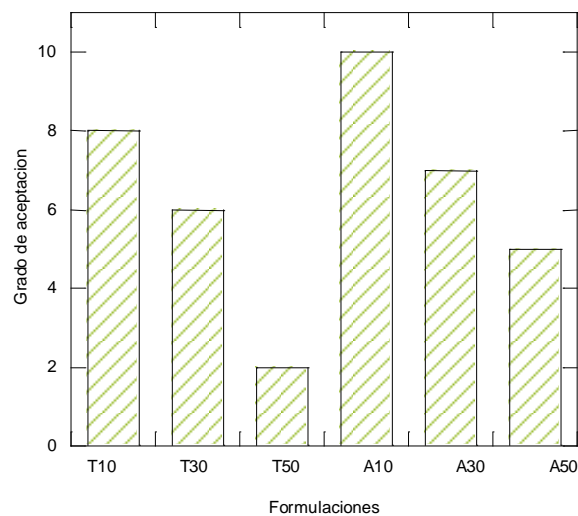


Figura 3.7 Grado de aceptación de las formulaciones aplicadas a pan y galletas

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

El uso de residuos agroindustriales en la fermentación en estado sólido permitió tener los *Pleurotus pulmonarius* a bajo costo y con un alto valor nutricional.

La comparación de dos métodos de secado, permitió tener noción sobre la agresividad de cada uno de estos sobre los cuerpos fructíferos en cuanto las propiedades sensoriales, físicas y químicas.

La precongelación en el *Pleurotus pulmonarius* no es viable debido a que formó una doble cristalización, la cual inicio con la formación de cristales grandes y al cambiar el rango de temperatura sobre estos cristales se formaron cristales pequeños los cuales ocasionaron daño estructural severo por la destrucción de las hifas, por lo que perdió gran cantidad de sus propiedades físicas y químicas.

El tipo de secado no influyo significativamente en las propiedades químicas, sin embargo, el factor de impacto fue la temperatura de -20. En tanto que, a 55°C se presentó mayor retención de proteínas, antioxidantes e inhibición de PPO. La actividad antioxidante presentó mayor concentración en L₁ y C₁. La mayor retención fue de fenoles totales en C₁ y C₂ (5 mMol para ambos), por lo cual, temperaturas mayores concentran esta propiedad, lo contrario del poder reductor que presentó sensibilidad mostrando un ligero incremento comparado al fresco

La concentración de β -glucanos mostró pérdida después del proceso de secado de más del 50% comparado con el fresco (17.50 g/100g) por lo que es un compuesto altamente termosensible.

Bajas concentraciones de Harina de *Pleurotus pulmonarius* presentaron mínimas modificaciones en textura, sabor, olor y color siendo las de mayor aceptación.

RECOMENDACIONES

Realizar una cinética del deterioro del hongo versus tiempo después del corte a diferentes temperaturas.

Aplicar otros tipos de tecnología de preservación del hongo con la finalidad de reducir los cambios fisicoquímicos, enzimáticos que permitan reducir la pérdida de β -glucano.

Evaluar la vida útil de anaquel del hongo deshidratado, pan de miga y galletas con la finalidad de conocer el tiempo en días máximo de consumo.

Realizar diferentes tipos de alimentos suplementados con la finalidad de conocer la aceptación de producto alimenticio enriquecido.

**REFERENCIAS
BIBLIOGRÁFICAS**

Aguilar G., M. 2003. Aprovechamiento de cascara de pitaya para el crecimiento de setas (*Pleurotus ostreatus*) en condiciones de laboratorio. Tesis de licenciatura. Universidad Tecnológica de la Mixteca. México.

AID. 1968. Cómo proteger nuestros alimentos. CENTRO REGIONAL DE AYUDA TÉCNICA. UTEHA. México.

Akindahunsi, A., Oyetayo, F. 2006. Nutrient and antinutrient distribution of edible mushroom, *Pleurotus tuberregium* (fries) singer. LWT- Food Science and Technology Journal. **39**(5): 548-553.

Akyüz, M., Onganer, A. N., Erecevit, P., y Kirbag, S. 2012. Flavonoid contents and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity of some edible mushrooms from turkey: a. *Bisporus* and *Pleurotus* spp. *Current Topics in Nutraceuticals Research*. **10**(2): 133-136.

Ashraf, J., Ali, M., Ahmad, W., Ayyub, C., y Shafi, J. 2013. Effect of Different Substrate Supplements on Oyster Mushroom (*Pleurotus* spp.) Production. Food Science and Technology. **1**(3): 44-51.

Badui, S., 2006. Química de los alimentos. 4 edición. Pearson educación, México, D.F.

Bak, W. C., Park, J. H., Park, Y. A., y Ka, K. H. 2014. Determination of glucan in the fruiting bodies and mycelia of *Lentinula edodes* cultivars. *Mycobiology*. **42**(3): 301-304.

Barreiro, M.J.A., Sandoval, B.A.J. 2006. Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Ed Equinoccio. Caracas, Venezuela.

Barros, L., Ferreira, M.-J., Queiro's, B., Ferreira, I. C. F. R. y Baptista, P. 2007. Total phenols, ascorbic acid, b-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. **103**(2): 413-419.

Bello-Gutiérrez, J. 2000. Ciencia bromatológica: Principios general de los alimentos. Diaz de Santos S.A. España.

Benavides, J. y Herrera, J. 2009. Reconocimiento de las características del género *Pleurotus Spp.* y sus aplicaciones. Manizales, Colegio Seminario Redentorista San Clemente Maria Hofbauer. Colombia.

Bhuyan, M. 2007. *Measurement and control in food processing*. CRC Press. Raton, FL. 105-122. Londres.

Box, J. D. 1983. Investigation of the Folin Ciocalteau reagent for the determination of polyphenolic substances in natural waters. *Waters Research*. **17**: 511-525.

Cabrera, E.S. 2014. *Biodegradación de pañales desechables usados mezclados con residuos de jardinería por acción de dos hongos*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de México. México.

Chang, S.T., y Miles. P.G. 2004. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. CRC Press, Boca Ratón.

Cheftel, J.C y Cheftel H. 1992. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Vol 2. Editorial Acribia, Zaragoza, España.

Chun, L. R., y Cui, F. X. 2002. Analysis of POD and EST isozyme of three *Agaricus* species. *Edible Fungi of China*. **21**: 34-36.

Cohen, R., Persky, L., y Hadar Y. 2002. Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. *Microbiol Biotechnol*. **58**: 582-594.

Fernández, L.G., 2012. Evaluación de las cascarras de *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) como sustrato para el cultivo de tres especies de hongos ostra: *Pleurottus spp.*, *P. ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kummer y *P. pulmonarius* (Fr.) Qué., Pleurotaceae. Tesis licenciatura. Universidad de Costa Rica. Costa Rica.

Fernández, M. F. 2004. Guía Práctica de Producción de Setas de *Pleurotus*. Fungitec Asesorías. Jalisco. México.

Fito-Maupoy, Martínez, P., Navarrete, N., Grau A., y Chiralt B. A. A. 2016. Termodinámica y cinética de sistemas de alimento entorno. Universidad Politécnica de Valencia

Gaitán-Hernández, R., Salmones, D., Pérez Melo, R., y Mata, G. 2006. Manual práctico del cultivo de setas: aislamiento, siembra y producción. Instituto de Ecología, Xalapa.

Gaitán-Hernández, R., Salmones D., y Mata G. 2007. Como llegar a la certificación de la calidad del inóculo para la producción de *Pleurotus spp.* In: Sánchez, J.E., D. Martínez-Carrera, G. Mata, H. Leal. El cultivo de setas *Pleurotus spp.* en México. El Colegio de la Frontera Sur, Tapachula.

Gaitán-Hernández, R., Salmones, D., Pérez Melo, R., y Mata, G. 2009. Biological Efficiency evaluation of *Pleurotus pulmonarius* strains on fermented barley Straw. *Revista mexicana de micología*. **30**: 63-71.

García, P.A., Rodríguez, W., Gómez, E.K., y Andrade A. 2014. Microbiologic and physicochemical study of fresh and dehydrated edible fungus (*Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus pulmonarius*). **7**(1): 41-47.

Garcha, H. S., Khana, P.K., y Soni, G. L., 1993. Nutritional importance of mushrooms. Proceedings of the second conference on Mushroom Biology and Mushroom Products. The Chinese University Press. Hong Kong. 227-236.

- Geankopolis, G. C., 1998. Procesos de transporte y operaciones unitarias. CECSA, México.
- Gutiérrez M. 1995. Escalamiento de Procesos con Fermentación Sólida. Curso avanzado sobre procesos Biotecnológico. Itto. de Biotecnología UNAM, México.
- Guzmán, G., 2000. Genus *Pleurotus* (Jacq: Fr.) P. Kumm (Agaricomycetidae): Diversity, taxonomic problems, and cultural and traditional medicinal uses. *International Journal of Medicinal Mushroom*. **2**: 95-123.
- Guzmán, G. 1997. Los nombres de los hongos y lo relacionado con ello en América Latina. Instituto de Ecología- Comisión nacional de la biodiversidad, Xalapa.
- Hart, F. L. y Fisher, H.J 1991. Análisis moderno de los alimentos. Acribia. España.
- Herrera, R, C.H., Bolaños, V. N., y Lutz C.G. 2003. Química de alimentos. Universidad de Costa Rica. Costa Rica.
- Hung W.T, Wang. S.H., Chen, C.H., y Yang, W.B. 2008. Structure determination of β -glucans from *Ganoderma lucidum* with matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) mass spectrometry. *Molecules*. **13**:1538-50.
- Ibarz, A. y Barbosa.Cánovas, G.V.2010. Unit operations in food engineering. CRC Press. USA.
- Jesenak M., Majtan J., Rennerova Z., Kyselovic J., Banovcin P.y Hrubisko M. 2013. Immunomodulatory effect of pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) in children with recurrent respiratory tract infections. *International Immunopharmacology*. **15**: 395–399.
- Kalac, P. 2009. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chemistry*. **113**(1) 9-16.

Kalac, P. 2013. A review of chemical composition and nutritional value of wildgrowing and cultivated mushrooms. *Journal of Science and Food Agriculture*. **93** (2): 209-218.

Kramer, M. 1999. *Innovatives Eirfrierverfshren zur Minimierung der Prozbzeit*. Universität Erlangen. Alemania.

Koutrotsios, G., Mountzouris, K. C., Chatzipavlidis, J., y Zervakis G. I. 2014. Bioconversion of lignocellulosic residues by *Agrocybe cylindracea* and *Pleurotus ostreatus* mushroom fungi – Assessment of their effect on the final product and spent substrate properties. *Food Chemistry*. **161**: 127-135.

Lahman, O., y D.L. Rinker. 2004. Mushroom practices and production in Latin America: 1994-2002. En: *Science and cultivation of edible and medicinal fungi*. The Pennsylvania State University.

López-Nava, J.A. 2014. Desarrollo de biomateriales alternativos al poliestireno expandido a partir de hongos y cubiertas comestibles. Tesis de maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México.

McCleary, B. V., y Draga, A. 2016. Measurement of b-glucan in mushrooms and mycelial products. *Journal of AOAC International*. **99**(2): 364-373.

Mackenzie, A.P. 1966. Basic principles of freeze drying for pharmaceuticals .*Bulletin of the parental drug association*. **20**: 101.

Manzi, P., Marconi, S., Guzzi, A., y Pizzoferrato L. 2004. Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. *Food Chemistry*. **84**(2): 201-206.

Martínez- Carrera, D., Morales, P., Sobal, M., Bonilla, M. y Martínez, W. 2006. México ante la globalización del siglo XXI: el sistema de producción de los hongos comestibles. Ecosur, México.

Mata, G. 1997. Culture du champignon parfume, shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) sur paille de ble: etudes sur les mecanismes d'adaption nutritive et antagonisme avec *Trichoderma* sp. Tesis de doctorado. I.N.P.T. Toulouse, Francia.

Mestizo Valdés, L.G. 1997. Entrecruzamiento y evaluación de la producción de las variedades de *Pleurotus djamor* (Fr.) Boedijn. Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana. México.

Mitchell, D, A., Berovič, M., y Krieger, N. 2002. Overview of solid state bioprocessing. *Biotechnology annual Review*, **8**(1): 183-200

Mora. V., y Martínez-Carrera, D., 2007. Investigaciones básicas, aplicadas y socioeconómicas sobre el cultivo de setas (*Pleurotus*) en México. Ecosur. México. 7-26.

Mujumdar, A.S. 2015. Principles, Classification and Selection of dryers, En: Handbook of industrial drying. 4th Edition. CRC. Press. Boca Raton, FL. 3-30.

Muñoz, K., Bravo, K., Zapata, P., y Londoño, J. 2007. Caracterización preliminar de la enzima polifenol oxidasa en frutas tropicales: implementaciones de un proceso de industrialización. *Scientia et Technica*, **33**: 694-1701.

NOM.1978. Determinación de cenizas en alimentos (NMX-F-066-S-1978). <http://www.cofepris.gob.mx>. (Consultada mayo, 2017).

NOM. 1980. Alimentos. Determinación de proteínas. (NMX-F-068-S-1980). <http://www.cofepris.gob.mx>. (Consultada mayo, 2017).

NOM.1992. Alimentos. Método de prueba para la determinación de extracto etéreo (método soxhlet) en productos cárnicos (NMX-F-545-1992). <http://www.cofepris.gob.mx>. (Consultada mayo, 2017).

NOM. 1994. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico (NOM-110-SSA1-1994). <http://www.cofepris.gob.mx>. (Consultada mayo, 2017).

NOM. 1994. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. (NOM-111-ssa1-1994). <http://www.cofepris.gob.mx>. (Consultada mayo, 2017).

NOM. 1994. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa (NOM-113-SSA1-1994). <http://www.cofepris.gob.mx>. (Consultada mayo, 2017).

NOM. 2008. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, de harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales (NOM-247-SSA1-2008). <http://www.cofepris.gob.mx>. (Consultada mayo, 2017).

Oei, P. 2003. Mushroom cultivation 3rd edition. Appropriate technology for mushroom growers. Backhuys Publishers Leiden.

Okafor, J.N.C., Okafor, G.I., Ozumba, A.U. y Elemo G.N. 2012. Quality Characteristics of Bread Made from Wheat and Nigerian Oyster Mushroom (*Pleurotus plumonarius*) Powder. Pakistan Journal of Nutrition. **11** (1): 5-10,

Ohta, N., y Robertson, A. R. 2005. Colorimetry: Fundamentals and Applications. John Wiley & Sons, LTD. Inglaterra.

Oriol E., Raimbault M., Roussos S., y Viniegra G. 1988. Water and water activity in the solid state fermentation of cassava starch by *Aspergillus niger*. Appl. Microbiol. Biotechnol., **27**: 498-503

Orrego, A.C.E. 2008. Congelación y Liofilización de Alimentos. Diaz de santos S.A. Manizales, Caldas, Colombia.

Pandey, A., Soccol, C. R., y Mitchell, D. 2000. New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products. *Process Biochemistry*, **35**(20): 1153-1169.

Paredes-López O., Guevara Lara F., y Bello Pérez L.A. 2016. Los alimentos mágicos de las culturas indígenas mesoamericanas. CFE, México.

Perry, R. H., Green, D.W. 2010. Manual de Ingeniero Químico. McGraw. Madrid.

Petersen, R.H., y Hughes, K.W. 1993. Intercontinental interbreeding collections of *Pleurotus pulmonarius*, with notes on *P. ostreatus* and other species. *Sydowia*. **45** (1): 139–152.

Petrosky, R.J., Peczynska-Czoch, W., y Rosazza, J.P. 1980. Analysis production and isolation of an extracellular laccase from *Polyporus anceps*. *Applied and Environmental Microbiology*. **4**: 1003-1006.

Ranganna, S. 1986. Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products. 2 ed. McGraw Hill Publishing Co. New Dehli.

Raper, C. A. 1978. sexuality and breeding. In the biology and cultivation of edible mushrooms. Academic Press. New York.

Ravi B., Renitta R. E., Prabha M. L., Reya I., y Naidu S. 2013. Evaluation of antidiabetic potential of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in alloxan-induced diabetic mice. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. **35**(1): 101–109

Rivero, R. A., y Betancort R., J. R. 2006. Evaluación de la actividad antioxidante de polifenoles de algas marinas. España.

Robbins, R. 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 2866-2887

Romero, J. Rodríguez, M., y Pérez, R. 2010. *Pleurotus ostreatus*. Importancia y tecnología de cultivo. Universidad Carlos Rafael Rodríguez. Cienfuegos, Cuba.

Ronda, F., Rodríguez de la Calle, M., y Pando, V. 2012. Enriquecimiento de pan sin gluten con β -glucanos extraídos del hongo *Pleurotus ostreatus*. VII Congreso Español de Ingeniería de Alimentos. España.

Rothmayr, W. W. 1974. Basic knowlwdge of freeze drying. Heat and mass Transfer. En: Freeze drying and advanced. Londres.

Royse, D. J., B..2003. Multilocus enzyme electrophoresis for the genetic analysis of edible mushrooms. En: Genetics and breeding of edible mushrooms. Gordon and Breach Science Publishers. The Netherlands,

Ruthes, A.C., Smiderle, F.R., y Lacomini, M. 2015. D-glucans from edible mushrooms: A review on the extraction purification and chemical characterization approaches. Carbohydrate Polymers. **117**:753-761.

Ruíz-Leza, H, A., Rodríguez-Jasso, R, M., Rodríguez-Herrera, R., Contreras-Esquivel, J, C., y Aguilar, C, N. 2007. Diseño de biorreactores para fermentación en medio sólido. Revista Mexicana de Ingeniería Química, **6**(1): 33-40

Salas de la Torre, A., Bazán D., Osorio A., Cornejo O, y Carrero E. 2003. Deshidratación de Hongos Comestibles (*Pleurotus Ostreatus*). Revista Peruana de Química e Ingeniería Química, **6**(1): 55-59.

Salmones, D. y Durán-Barradas, Z. 2001. Obtaining and selecting highly productive strains of *Pleurotus pulmonarius* under warm environmental conditions. Mushroom Research **10**(2): 59-65.

Salmones, D. 2005. Actividad de enzimas lignocelulolíticas en cultivos de *Pleurotus* spp. en pulpa de café y la relación con su capacidad productiva y defensiva. Tesis de doctorado. Instituto Tecnológico de Veracruz, México.

Sanjuán, N., Cárcel, J. A., Clemente, G., y Mulet, A. 2001. Modelling of the rehydration process of brocolli florets. *European Food Research and Technology*. **212**(4): 449-453.

Sánchez, J, E. y Royse, D. 2001. La biología y el cultivo de *Pleurotus ssp.* El Colegio de la frontera Sur. Limusa, Mexico D.F.

Sari, M., Prange, A., Lelley, J. I., Hambitzer R. 2017. Screening of beta-glucan contents in commercially cultivated and wild growing mushrooms. *Food Chemistry*. **216**: 45-51.

Skendi, A., Biliaderis, C.G., Lazaridou, A. y Izydorczyk, M.S. 2003. Structure and rheological properties of water soluble β -glucans from oat cultivars of *Avena sativa* and *Avena bysantina*. *Journal of Cereal Science* 38(1), 15-31.

Smiderle, F.R., Olsen L.M., Ruthes A.C., Czelusniak P.A., Santana-Filho, A.P. Sasaki G.L., Gorin P.A.J., y Lacomini M. 2012. Exopolysaccharides, proteins and lipids in *Pleurotus pulmonarius* submerged culture using different carbon sources. *Carbohydrate Polymers* **87**: 368-376.

Smolskaitė, L., Venskutonis, P. R., y Talou, T. 2015. Comprehensive evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of different mushroom species. *LWT-Food Science and Technology*, **60**(1): 462-471.

Synytsya, A., Mickova, K., Jablonsky, I., Slukova, M., y Copikova, J. 2008. Mushrooms of genus *Pleurotus* as a source of dietary fibres and glucans for food supplements. *Czech Journal of Food Science*. **26**(6): 441-446.

Tian, Y., Zhang, Y., Zeng. S., Zheng, Y., Chen, F., Guo, Z., Zheng, B. 2012. Optimization of microwave vacuu drying of Lotus (*Nelumbo nicífera Gaertn*) sedes by response surface, methodology. *Food Science and Technology International*. **18**(5): 477-488.

Tsai, S. Y., Tsai, H. L., y Mau, J. L. 2008. Antioxidant properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea*, and *Boletus edulis*. *LWT-Food Science and Technology*. **40**(8): 1392-1402.

Vega A. y Franco H. 2013. Productivity and quality of the fruiting bodies of edible mushrooms *Pleurotus pulmonarius* RN2 and *P. djamor* RN81 and RN82 grown on different lignocellulosic substrates. *Información Tecnológica*. **24**(1): 69-77.

Velazquez-Cendeño, M.A., Mata. G., y Savoie, J.M. 2002. Waste-reducing of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* on coffee pulp, changes in the production of some lignocellulolytic enzymes. *World journal of Microbiology and Biotechnology*. **18**: 201-207.

Velioglu, Y., G. Mazza, L. Gao y B. Omah. 1998. Antioxidant activity and total phenolic in select fruits, vegetables and grain products. *J. Agric. Food Chemistry*. **46**: 4113-4117.

Wang, H., Zhang, M., y Mujumdar, A.S.2014. Comparasion of three new trying methods for drying characteristics and quality of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). *Drying Technology*. **32**(15): 1791-1802

Wasser, S.P., Weis, A.L.1999. Medicinal properties of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: current perspectives (review). *International Journal of Medicinal Mushroom*. **1**: 31-62

Welty-Chanes J., y Vergara, B. 1997. Actividad de agua: conceptos y aplicación en alimentos con alto contenido de humedad. Temas en tecnología de alimentos. Instituto Politécnico Nacional. México.

Westland, S. 2001. Colourwre color Forum. Frequently asked questions about color physics, versión 2.0a Konica Monotla. Gran Bretaña.

Xu, X., Yan, H., Tang, J., Chen, J. y Zhang X. 2012. Polysaccharides in *Lentinus edodes*: Isolation, Structure, Immunomodulating Activity and Future Prospective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **54**(4): 474-487.

Yang, J., Lin, H., y Mau, J. 2001. Non volatile tastes components of several commercial mushrooms. *Food chemistry*. **72**(4): 465-471.

Yue-Ming, J. 1999. Purification and some properties of polyphenol oxidase of longan fruit. *Food Chemistry*. **66** (1): 75-79.

Zhang, M., Cui, S.W., Cheung, P.C.K., y Wang, Q., 2007. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process structural characteristics and antitumor activity. *Trends in Food Science & Technology*. **18**: 4-19.

Zervakis, G., Philippoussis, A., Ioannidou, S., y Diamantopoulou, P. 2001. Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. *Folia Microbiológica*, **46**(3) 231–233

