

VALOR FUNCIONAL Y MEDICINAL DE EXTRACTOS DE *PLEUROTUS SP*: PROPIEDADES ANTIOXIDANTES.

Yaixa Beltrán Delgado, Humberto Morris Quevedo, Pedro Batista Corbal, Gabriel Llauradó Maury, Yamila Lebeque Pérez, Rosa Catalina Bermúdez Savón, Nora García Oduardo, Isabelle Perraud Gaime, Serge Moukha, Paul Cos.

Universidad de Oriente, Centro de Estudios de Biotecnología Industrial. Santiago de Cuba

Resumen

Introducción: Dentro de las tendencias actuales de la alimentación, las setas comestibles se destacan por sus propiedades nutricionales y medicinales, considerándolas como alimentos funcionales. En este sentido, el género *Pleurotus sp*, incluye especies comestibles-medicinales de alto valor comercial. **Materiales y métodos:** Se determinó el contenido de proteínas y carbohidratos presentes en los extractos acuosos de *Pleurotus sp*, así como la concentración de polifenoles y la actividad antioxidante *in vitro* de los mismos (ensayos de captación de radicales DPPH, ABTS, poder reductor). **Resultados y discusión:** El contenido de carbohidratos y proteínas en el extracto de cuerpos fructíferos fue de 70.4 y 15 %, respectivamente, mientras que en el extracto micelial fue de 28.6 y 32.6 %, dado por la flexibilidad en las condiciones de extracción. El procedimiento empleado para la obtención de extractos hidrosolubles mediante tratamiento térmico de la biomasa celular favoreció la liberación de compuestos fenólicos con una elevada capacidad secuestrante de especies reactivas de oxígeno, con valores de 38 mg/100g para el extracto micelial y 58 mg/100 g para el extracto de cuerpos fructíferos. Los extractos acuosos del micelio y cuerpos fructíferos poseen propiedades antioxidantes demostradas en ensayos a nivel de reacciones químicas. La captación del radical ABTS y el poder reductor resultaron superiores en el preparado de cuerpos fructíferos; sólo en el ensayo de captación de radicales DPPH el extracto micelial evidenció una mejor respuesta. **Conclusiones.** Estos preparados constituyen candidatos potenciales para el diseño de alimentos funcionales, suplementos dietéticos y/o fármacos útiles en el manejo de las enfermedades causadas por el estrés oxidativo.

Palabras clave: alimento funcional, actividad antioxidante, hongos comestibles-medicinales, *Pleurotus sp*

Introducción

Uno de los principales objetivos de una correcta dieta, es incorporar suficientes nutrientes, para cubrir los requerimientos metabólicos asociados a una buena salud y, por supuesto que se proporcione la sensación de bienestar y satisfacción requeridas.

En este sentido, las tendencias actuales de la alimentación, están encaminadas al consumo de ciertos alimentos que contengan nutrientes y sustancias fisiológicamente activas, que contribuyan a reducir enfermedades.

Muchos son los alimentos que hoy muestran una interesante perspectiva para este propósito, derivados fundamentalmente de fuentes naturales. Dichos alimentos suelen clasificarse como alimentos funcionales, refiriéndose a aquellos que son elaborados no solo por sus características nutricionales, sino también por cumplir una función específica, como puede ser, el mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer enfermedades. Cabe señalar que en la mayoría de los casos, suele agregarse componentes biológicamente activos, como minerales, vitaminas, ácidos grasos, fibra alimenticia o antioxidantes. Esto ha dado lugar a multitud de acepciones como, alimentos de diseño, nutracéuticos, alicamentos y farmalimentos, etc.

Para el diseño de este tipo de alimentos, una de las premisas fundamentales es que sea capaz de cubrir ciertos aspectos, como es el caso de sus efectos antioxidantes, contenidos dentro de

componentes alimentarios, tales como, los polifenoles y otros antioxidantes naturales de origen vegetal. Este tipo de actividad, reviste vital importancia no sólo para las células y los tejidos, sino que un desbalance del sistema redox en el organismo puede ocasionar diversas enfermedades crónicas no trasmisibles como, el cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, entre otras.

Interesante resulta para este análisis, el caso de los hongos comestibles medicinales, utilizados desde épocas remotas como parte integral de la dieta normal humana, no sólo por sus propiedades nutricionales, sino además por las medicinales.

Investigadores como Chang y Wasser 2012, refirieron en un modelo de pirámide del uso de este tipo de hongos en cuanto a sus cualidades como alimento, suplementos dietéticos y atributos medicinales.

Dentro de las cualidades de un alimento, las setas comestibles cumplen con todas ellas: nutrición, sabor y funciones fisiológicas. En la actualidad, estas se utilizan no sólo como drogas botánicas o farmacéuticas, también como una nueva clase de productos, con una variedad de nombres: suplementos dietéticos, tónicos, alimentos funcionales, nutraceuticos, nutriceuticos, fitoquímicos, micoquímicos, bioquimiopreventivos y alimentos diseñados (Wasser, 2010; Wasser y Akavia , 2008; Chang y Miles ,1989, Chang y Wasser 2014; Hyde et al.,2010).

De manera general, los hongos contienen una serie de elementos que contribuyen a su valor nutricional como son, proteínas, vitaminas y minerales. Son bajos en calorías, carbohidratos y calcio. Por otro lado, también presentan compuestos de interés terapéutico, como son, los metabolitos secundarios, que incluyen moléculas de alto peso molecular, tales como: polisacáridos (principalmente β -D glucanos), heteroglucanos, sustancias quitinosas, peptidoglucanos, proteoglucanos, lectinas y componentes ARN, así como moléculas de bajo peso molecular que incluyen: lactonas, terpenoides y alcaloides, antibióticos y agentes metales quelantes. Los hongos medicinales muestran además, un número de enzimas como la lacasa, superóxido dismutasa, glucosa oxidasa y peroxidasa, las cuales representan un importante papel en el tratamiento contra el cáncer previniendo el estrés oxidativo e inhibiendo el crecimiento celular (Siegel et al., 201; Delcaire, 1978).

De este grupo, se destacan las especies del género *Pleurotus sp*, las cuales resultan interesantes por sus propiedades nutricionales y medicinales. Este género está caracterizado por ser cosmopolita, fácil de cultivar, en comparación con otros grupos comerciales. Una de las especies más conocidas por los cultivadores predomina *Pleurotus ostreatus*, debido a la gran variedad de sustratos sobre los cuales puede crecer, gracias a la elevada plasticidad fenotípica y genética que posee. *Pleurotus ostreatus* se encuentra en la lista de 37 especies de hongos descritas por Guzmán (1994), utilizadas en la medicina tradicional de Mesoamérica y México.

Cabe destacar que en el Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (CEBI), se encuentra depositada en la colección de cultivos, la especie de seta comestible *Pleurotus sp*, la cual ha sido utilizada en varios estudios referidos a aspectos de valorización de diferentes residuos agroindustriales en el cultivo de este hongo, la obtención de productos de valor añadido, tales como biomasa micelial (García, 2008), setas comestibles (Bermúdez 2014), enzimas (García, 2008; Rodríguez, 2006) y compuestos medicinales (Morris et al., 2012).

Debido a que existen pocas evidencias experimentales con relación a posibles mecanismos de acción de las propiedades antioxidantes de esta especie, se hace necesario la evaluación farmacológica de esta propiedad dentro del balance redox del organismo.

Conociendo además, que en nuestro país, la dieta habitual de la mayoría de la población es poco variada e incluye un número reducido de alimentos y preparaciones culinarias, se justifica la

urgencia de promover el consumo de una dieta variada y equilibrada, que ayude a prevenir enfermedades y promover salud.

En este sentido, el objetivo de nuestro trabajo está encaminado a evaluar las propiedades antioxidantes de extractos acuosos derivados del micelio y cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp* con perspectivas de diseñar alimentos funcionales, suplementos dietéticos y /o drogas de gran utilidad para la industria alimentaria y médico farmacéutica.

Parte Experimental

Los experimentos fueron realizados en el CEBI (Universidad de Oriente), en la planta de Investigación-Producción de Setas Comestibles y en el Laboratorio de Inmunología Aplicada.

Cepa utilizada

Para este estudio, se utilizó la cepa de *Pleurotus sp* CCEBI-3024, depositada en la Colección de Cultivos del CEBI.

Obtención de extractos acuosos del micelio y cuerpos fructíferos (cultivo sumergido y Fermentación en Estado Sólido)

Cultivo sumergido de Pleurotus sp

Se propagó la cepa en medio YPG de composición: glucosa (2%); peptona (0.5%); extracto de levadura (0.5%); KH_2PO_4 (0.1%); $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.1%) pH=5 (Horitsu et al., 1992), suplementado con agar al 2 %. Se realizó la siembra en 5 placas Petri, que fueron incubadas a 37°C hasta lograr un crecimiento micelial total.

El medio YPG líquido fue dispensado en 10 matraces erlenmeyer de 50 mL de volumen. La siembra se realizó a partir del crecimiento obtenido en las placas, el cual fue raspado con una espátula estéril y diseminado en un erlenmeyer con 50 mL de salina fisiológica (0.9%), agitando vigorosamente. Fueron inoculados 5 mL de la suspensión a cada matraz e incubados a 37°C con agitación constante (100 r.p.m) en zaranda modelo Mizard. 2001, durante 15 días.

Fermentación en estado sólido (FES)

Para la fermentación en estado sólido (FES), se empleó, como sustrato, pulpa de café, bajo las condiciones de cultivo requeridas para ello, que incluyen parámetros definidos, temperatura, luminosidad, ventilación, humedad relativa y riego, entre otros (Bermúdez, 2001).

Extracto del micelio obtenido mediante cultivo sumergido

Una vez obtenida la biomasa, ésta fue filtrada, separando así el medio de cultivo. El micelio fue lavado con agua destilada y pesado en balanza técnica Owa Labor. Se le añadió 5 mL de agua destilada por gramo de micelio, y se procedió al tratamiento térmico durante 10 horas con agua hirviendo a 95 °C. Posteriormente, se centrifugó a 3000 r.p.m durante 10 minutos en centrifuga Hitachi Kokico modelo SCR 7B y fue concentrada hasta la tercera parte de su volumen. Se filtró y conservó a 4°C hasta su utilización.

Extracto de cuerpos fructíferos obtenido por FES

Para obtener el extracto por decocción, se pesaron 500 gramos de cuerpos fructíferos, los cuales fueron cortados en pequeñas piezas de 1 cm² aproximadamente y se les adicionó 3 mL de agua destilada por gramo. Posteriormente, se procedió a la extracción por tratamiento térmico durante 10 horas con agua hirviendo a 95 °C. El extracto fue centrifugado a 3000 r.p.m durante 10 minutos en centrifuga Hitachi Kokico modelo SCR7B, se filtró y conservó a 4°C hasta su utilización.

Caracterización preliminar de los extractos

Determinación del contenido de materia seca

Para la determinación del contenido de materia seca se utilizaron 5 mL de cada extracto y se depositaron en cápsulas de porcelana, pesadas con anterioridad, para ser concentrados a sequedad. Se colocaron las cápsulas en estufa a 105 °C durante tres horas. Con los pesos iniciales y finales de las cápsulas, se determinó la concentración de materia seca en los extractos, tal y como se muestra

en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ materia seca} = \frac{\text{Peso final de la cápsula} - \text{Peso inicial cápsula (g)}}{\text{Volumen de muestra (mL)}} \times 100 \%$$

Determinación de la concentración de proteínas

Para la determinación de la concentración de proteínas presentes en los extractos acuosos, tanto del micelio como de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp.*, se procedió a la realización de la técnica de Lowry (Lowry et al., 1951). Con esta finalidad, se confeccionó una curva de calibración con una solución patrón de albúmina sérica bovina (BSA) (BDH) de concentración 0.184 mg/mL, corregida en un espectrofotómetro LKB-Ultrospec III a 280 nm, a partir de su coeficiente de extinción de 0.68. Se trabajó con diluciones 1:5 y 1: 10 para los extractos de micelio y cuerpos fructíferos. La lectura de la reacción colorimétrica se realizó a 650 nm.

Determinación de la concentración de carbohidratos

La concentración de carbohidratos fue determinada por la técnica del fenolsulfúrico descrita por Dubois et al., 1956. Se confeccionó una curva de calibración a partir de una solución patrón de glucosa de concentración 100 µg/mL. Se realizaron diluciones 1: 50 y 1: 25 del extracto de micelio y, en el caso de los cuerpos fructíferos, 1: 25- 1: 50. Las lecturas de absorbancia se efectuaron en un espectrofotómetro LKB-Ultrospec III a 490 nm.

Cuantificación de polifenoles

La determinación del contenido de polifenoles se llevó a cabo según modificación realizada al procedimiento descrito por Slinkard y Singleton, 1977. Una alícuota de 0,5 mL de los extractos acuosos del micelio y de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp.* fue transferida a un tubo de ensayo, donde se le añadió 1 mL de reactivo Folin-Ciocalteu al 50%, dejándose reaccionar durante 5 min a 30°C en un cuarto oscuro. Luego, se adicionaron 2 mL de solución saturada de Na₂CO₃. Después de 1 h de reposo se determinó la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro (Pharo-300) y se comparó con una curva de calibración realizada con ácido tánico (13-50 µg/mL; $y = 0.009x - 0.123$; $R^2 = 0,993$). Los resultados fueron expresados como µg en equivalentes de ácido tánico por mL del extracto y como mg en equivalentes de ácido tánico por 100g del extracto en seco.

Cuantificación de flavonoides

Para la determinación del contenido de flavonoides, se tomó 250 µL de los extractos acuosos del micelio y de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp.*, el cual fue mezclado con 1.25 mL de agua destilada y 75 µL de una solución al 5% de NaNO₂. Luego de 5 min fue añadida a la mezcla 150 µL de una solución acuosa de AlCl₃ al 10%. Después de transcurrido 6 min se añadió 500 µL de NaOH 1 M y 275 µL de agua destilada. La solución se mezcló bien y se leyó a 510 nm en un espectrofotómetro (Pharo-300). Se utilizó catequina para la curva de calibración ($y = 0.9629x - 0.0002$; $R^2 = 0.9999$). Los resultados fueron expresados como µg en equivalentes de catequina por mL del extracto y como mg en equivalentes de catequina por 100g del extracto en seco.

Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de *Pleurotus sp*

Actividad frente al radical 2,2 difenil -1-picrilhidrazilo (DPPH)

El experimento se realizó preparando una dilución de cada extracto a diferentes concentraciones. La metodología desarrollada (Brand-Williams, Cuvelier & Berset, 1995) fue la siguiente: Un mililitro de la solución a evaluar se mezcló con 0,5mL de solución etanólica de DPPH (Sigma, ref. D9132) al 0.1 mM, se agitó bien y se incubó a 25°C por 1 h, al cabo de la cual, se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro VIS-723G. Como blanco de absorbancia se utilizó una solución del propio DPPH mientras que como control positivo una solución de ácido ascórbico (1 mg/mL). La ecuación para determinar el porcentaje de inhibición del radical DPPH es:

$$Ip \text{ DPPH } \% = (AP-AM)/AP * 100$$

Dónde: AM = Absorbancia del extracto evaluado (Muestra) AP = Absorbancia del DPPH o blanco

Captación de radicales 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico) (ABTS)

Según la metodología desarrollada por Choi et al., 2006 el radical ABTS*+ (2,2'-azinobis (3etilbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) se obtuvo por la mezcla de 7 mM de ABTS y 2,45 mM de persulfato de potasio en agua destilada, la cual se dejó reposar durante la noche a temperatura ambiente en la oscuridad. Se tomaron 5 mL de la mezcla y se diluyeron con 420 ml de agua destilada. Se tomaron 50µL de una dilución de cada extracto a diferentes concentraciones, añadiéndole 3 mL de solución de ABTS diluido y luego de 90 minutos se midió la absorbancia a 414 nm. Como blanco de absorbancia se utilizó una solución de 50µL de agua destilada y 3mL de solución diluida de ABTS. La captación de radicales ABTS por los extractos de micelio y cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp.* fueron estimados en función de las concentraciones de los extractos a las que se alcanza el 50% de la inhibición (EC50).

Determinación del Poder Reductor

El poder reductor se determinó por la técnica referida por Huang y Mau, 2006, a cinco niveles de concentración de los extractos analizados. A 2,5 mL de las muestras se le añadió 2,5 mL de ferricianuro de potasio (10 g/mL). Se incubó durante 20 min a 50 °C y una vez frescas las muestras, se añadió 2,5mL de ácido tricloroacético (100g/mL). A continuación se procedió a centrifugar a 2000 r.p.m durante 10 min. Posteriormente se tomaron 5 mL del sobrenadante al cual se le añadieron 5mL de agua destilada y 1mL de cloruro férrico (1 g/L). Luego se pasó a leer a 700 nm contra un blanco preparado con agua destilada. El poder reductor se expresó como la concentración de los extractos a los que se alcanza el 50% de la absorbancia máxima (EC50) (Barros et al., 2007).

Resultados y discusión

Obtención y caracterización de los extractos de *Pleurotus sp*

Cultivo sumergido

En este trabajo, a partir del cultivo de la cepa CCEBI-3024 de *Pleurotus sp.* en medio YPG sólido, se obtuvo crecimiento micelial total al cabo de los diez días. Por su parte, la propagación en medio líquido se mantuvo por un tiempo de 15 días, hasta obtener una biomasa fresca de 67.5 g aproximadamente, en el volumen de medio utilizado. El valor de materia seca resultó 2.4 g/L.

Los valores correspondientes al contenido de carbohidratos y proteínas presentes en los extractos de micelio obtenido por cultivo sumergido se muestran en la figura 1. La concentración en función de la materia seca de carbohidratos y proteínas presentes fue de 70.4 % y 15.0 % respectivamente. El porcentaje más elevado correspondió a los carbohidratos totales (aproximadamente cinco veces superior respecto a las proteínas).

Fermentación en estado sólido

El porcentaje de proteínas fue de 28.6 %. En este tipo de extracto se produce la agregación y precipitación de estas biomoléculas, fundamentalmente como resultado de las interacciones hidrofóbicas (Chávez et al., 1990); luego, ocurre una pérdida durante las etapas de filtración y de centrifugación. Ello favorecerá el aislamiento y posterior purificación de sustancias estables al calor, como glucanos.

El porcentaje de carbohidratos fue de 32.6 %. Es conocido que las altas temperaturas provocan una extracción preferencial de los carbohidratos. Este es un método empleado convencionalmente en la obtención de extractos y en el aislamiento de glucanos (Hobbs, 2000; Mckenna et al., 2002; Wasser, 2002; He et al., 2004).

Como se puede apreciar, la flexibilidad en las condiciones de extracción favorece el predominio de las proteínas y/o carbohidratos en los extractos. Estas condiciones deben ser optimizadas en el futuro con vistas a la obtención de mayores rendimientos.

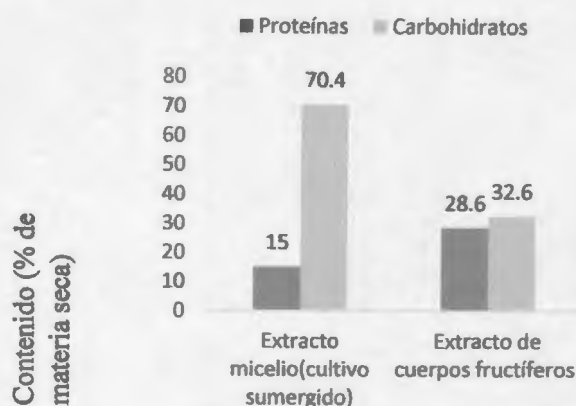


Figura 1. Contenido de proteínas y carbohidratos en extractos acuosos del micelio y cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp*

Cuantificación de polifenoles y flavonoides en extractos acuosos de *Pleurotus sp*.

Se ha descrito la existencia de una correlación positiva entre la actividad antioxidante de extractos de hongos comestibles-medicinales con el contenido de compuestos fenólicos. Lim et al. (2007) refirieron una elevada correlación entre la actividad secuestradora de radicales libres, la inhibición de la producción de óxido nítrico por células inflamatorias y el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en extractos de *Tricholoma matsutake*. En la tabla 1 se presenta el contenido de polifenoles y flavonoides en extractos acuosos de micelio y cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp*. Las curvas de calibración utilizadas fueron: $y = 0.9629x - 0.0002$ ($R^2 = 0.9999$) correspondiente a la catequina (flavonoides) y de $y = 0.0098x + 0.1231$ ($R^2 = 0.993$) para los fenoles totales expresados como ácido tánico. Los resultados indican la existencia de una elevada concentración de compuestos fenólicos en el extracto de cuerpos fructíferos (58 ± 3.2 mg/100 g, superior estadísticamente a la presente en el extracto micelial ($p = 0.001$)). Este resultado es esencialmente similar al de 54.6 mg/100 g referido por Choi et al. (2006) en *Lentinus edodes* tratado a 121°C durante 30 minutos. El procesamiento térmico podría liberar una mayor cantidad de compuestos polifenólicos enlazados, como resultado de la ruptura de constituyentes celulares.

Tabla 1. Contenido de polifenoles y flavonoides en extractos acuosos del micelio y cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp*

Extracto	Polifenoles		Flavonoides	
	($\mu\text{g/mL}$)	(mg/100g)	($\mu\text{g/mL}$)	(mg/100g)
Extracto micelial	538 ± 148	38 ± 4.6	-	-
Extracto de cuerpos fructíferos	$1743 \pm 175^*$	$58 \pm 3.2^*$	112	3.6

(* Indica diferencias significativas en la prueba de la t de Student ($p = 0.001$)).

Los componentes con potencial antioxidante para secuestrar radicales libres son predominantemente solubles en agua. En este sentido, la extracción acuosa de estos metabolitos reviste particular importancia para aplicaciones en el diseño de alimentos funcionales y suplementos dietéticos. El

potencial antioxidante de una sustancia puede ser atribuido a varias de sus características, destacándose entre las más importantes la capacidad para secuestrar y reducir radicales libres, acomplejar metales de transición e inhibir la peroxidación lipídica (Rajeshwar et al., 2005).

Actividad frente al radical 2,2 difenil -1-picrilhidracilo (DPPH)

El radical DPPH es un radical estable, por tal motivo ha sido empleado ampliamente en la determinación de las características antioxidantes de una sustancia o extracto. Si la sustancia evaluada posee actividad antioxidante directa, entonces la misma será capaz de reducir al 2,2 difenil -1-picrilhidracilo por acción directa sobre él, ya sea por transferencia de un electrón o de un radical hidrógeno (Mruthunjaya y Hukkeri, 2008). Los resultados relacionados con la reducción de radicales DPPH por los extractos acuosos del micelio y cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp.* se muestran en la figura 2. En el experimento se empleó ácido ascórbico como sustancia antioxidante de referencia. Los resultados indican que el porcentaje de inhibición fue superior en el extracto micelial (96.05%) que no se diferenció del valor del ácido ascórbico utilizado como control positivo (96.27%) ($p=0.021$). El porcentaje de inhibición en el caso del extracto de cuerpos fructíferos fue de 90.35%.

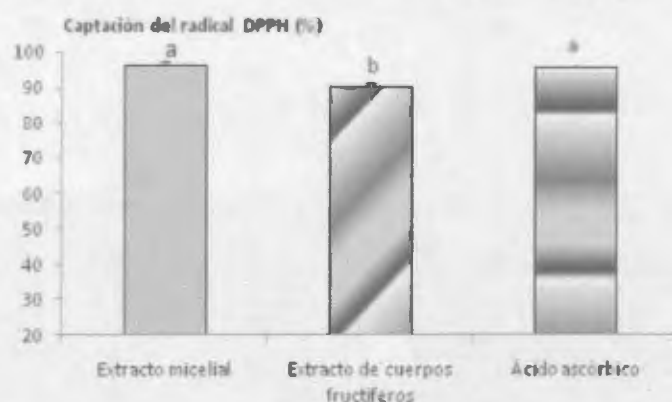


Figura 2. Actividad antioxidante frente al radical DPPH de extractos acuosos de micelio y cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp.*

Los extractos de *Pleurotus sp.* fueron ensayados a la concentración de 1 mg/mL. Se utilizó el ácido ascórbico como control positivo. Medias con letras iguales no difieren (Kruskal-Wallis, Student-Newman-Keuls, $p<0.05$).

Captación de radicales 2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolin-6-ácido sulfónico) (ABTS) Las curvas de la captación de radicales ABTS por los extractos de micelio y cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp.* se presentan en la figura 3.

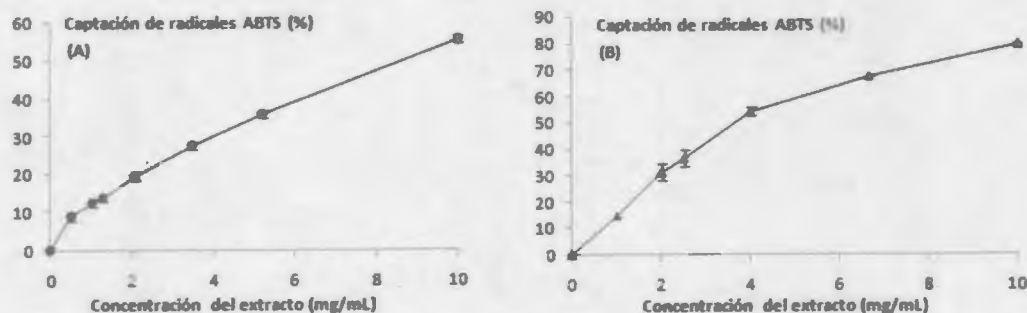


Figura 3. Actividad antioxidante de extractos acuosos de micelio (A) y cuerpos fructíferos (B) de *Pleurotus sp.* en el ensayo de captación de radicales ABTS.

Ozsoy et al. (2009) refirieron valores de captación del radical ABTS de $78.2 \pm 0.85\%$ para un extracto de Aloe vera a concentraciones entre 60-80 mg/mL. Estos autores informaron niveles de inhibición de este radical de $99.4 \pm 0.45\%$ para el α -tocoferol (1 mg/mL) y de $98.03 \pm 0.64\%$ para el ácido ascórbico (0.5 mg/mL). Este método ha sido también utilizado en la determinación de la capacidad antioxidante de frutas nativas peruanas. Los resultados de este estudio mostraron la existencia de una buena correlación con el ensayo de DPPH ($r = 0,9765$), indicando que ambos métodos son practicables para la determinación de la capacidad antioxidante de las materias primas evaluadas (Repo et al., 2008).

Determinación del Poder Reductor.

En la figura 4, se muestran la gráfica del poder reductor de los extractos de micelio y cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp.* El valor de EC50 resultó de 2.35 mg/mL en el extracto micelial, estadísticamente superior en comparación con el de cuerpos fructíferos (2.16 mg/mL, $p < 0.05$). Estos resultados obtenidos en el ensayo de poder reductor sugieren una mejor actividad antioxidante para el extracto derivado del cuerpo fructífero.

Lin (1999) refirió que *Pleurotus ostreatus* posee excelentes propiedades antioxidantes en este sistema experimental. El poder reductor de los iones Fe^{3+} mostrado por los extractos de *Pleurotus* podría guardar relación con la presencia de compuestos que actúan como donores de hidrógenos, como los fenoles capaces de reducir iones metálicos o de reaccionar con radicales libres, seguido por la estabilización y terminación de la reacción en cadena mediada por el radical.

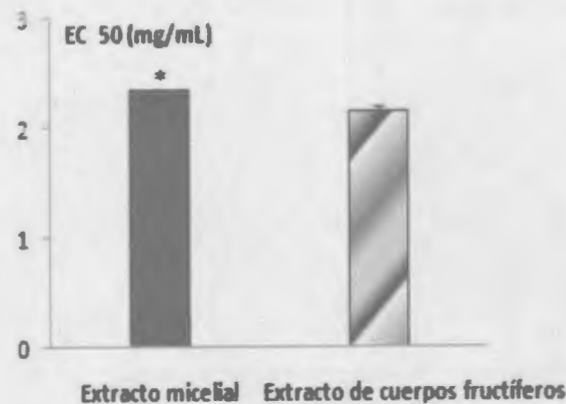


Figura 4. Valores de concentración de extractos acuosos de micelio y cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp.* a las que se alcanza el 50% de la absorbancia máxima (EC50) en el ensayo de poder reductor.

(*) Indica diferencias significativas en la prueba de la t de Student ($p < 0.05$)

Conclusiones

La flexibilidad en las condiciones de extracción (temperatura y condiciones de cultivo) favoreció el predominio de los carbohidratos y/o proteínas, en los extractos obtenidos a partir del micelio y cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp.* En función del contenido mayoritario de carbohidratos (70.4%), presumiblemente glucanos,

El procedimiento empleado para la obtención de extractos hidrosolubles crudos a partir del micelio y cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp.* mediante tratamiento térmico de la biomasa celular favoreció la liberación de compuestos fenólicos con una elevada capacidad secuestrante de especies reactivas de oxígeno, con valores de 38 y 58 mg/100 g, respectivamente.

Los extractos acuosos del micelio y cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp.* poseen propiedades antioxidantes demostradas en ensayos a nivel de reacciones químicas. La captación del radical

ABTS y el poder reductor resultaron superiores en el preparado de cuerpos fructíferos, donde se detectó el mayor contenido de polifenoles y la presencia de flavonoides; sólo en el ensayo de captación de radicales DPPH el extracto micelial evidenció una mejor respuesta.

Referencias

1. Bermúdez R.C., García N., Serrano M., Rodríguez M., Mustelier I (2014). Conversión de residuales agroindustriales en productos de valor agregado por fermentación en estado sólido, *Tecn. Quím.*, Vol. XXXIV, No 3, pp. 217-225.
2. Bermúdez RC, García N, Gross P, Serrano M (2001). Cultivation of *Pleurotus* on agricultural substrates in Cuba. *Micología Aplicada Internacional* 13(1): 25-29.
3. Brand-Williams W., Cuvelier ME and Berset C (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 28:25-30.
4. Chang ST, Miles PG (1989). *Edible mushrooms and their cultivation*. Boca Raton (FL): CRC Press; 345 p. 5.
5. Chang ST, Wasser SP (2012). The role of culinary- medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health. *Int J Med Mushrooms* 1:95- 134.
6. Chavéz M. Díaz J, Pérez V, Delfín J (1990). *Temas de enzimología (Tomo I)*, Santiago de Cuba. ENPES.
7. Choi, Y., S.M., Lee, J., Chun, H. B (2006). Influence of the heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chemistry* 99: 381-387.
8. Delcaire JR(1978). Economic of cultivated mushrooms. In: *The biology and cultivation of edible mushrooms*. Chang ST, Hayes WA, eds. New York: Academic Press, 727-93.
9. Dubois M. Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem*; 28: 350- 356.
10. García N (2008). Producción de setas comestibles y enzimas lacasas por fermentación en estado sólido de la pulpa de café con *Pleurotus spp.* Tesis de Doctor en Ciencias Técnicas. Centro de Estudios de Biotecnología Industrial. Universidad de Oriente. Santiago de Cuba. p. 150.
11. Guzmán G (1994). Fungi in tradicional medicine in Mesoamerica and Mexico. *Revista Iberoamericana de Micología*; 11:3,81-85.
12. He X, Seleen J (2004). Chemical análisis as a quality control method for medicinal mushroom and fungi extracts. *Int J. Medicinal Mushrooms*; 6(3):253-261.
13. Hobbs CH (2000). Medical value of *Lentinus edodes*. A literature review. *Int J Med Mush*; 2: 287-02.
14. Horitsu H, Yohashi Y (1992). Production of xylitol from D- xilose by *Candida tropicalis*. *Biotechnology and Bioengineering*; 40: 1085- 1091.
15. Huang, S.J., Mau, J.L (2006). Antioxidant properties of methanolic extracts from *Agaricus blazei* with various doses of γ -irradiation. *LWT-Food Science and Technology* 39: 707-716.
16. Hyde KD, Bahkali AH, Moslem MA (2010). Fungi- an unusual source for cosmetics. *Fungal Divers*; 43:1- 9.
17. Lee. Y. L., Huang, G. W., Liang, Z. C., Mau, J. L (2007). Antioxidant properties of three extract from *Pleurotus citrinopileatus*. *Journal of Food Science & Technology*, 40: 823 - 833.
18. Lim, H. W., J. H. Yoon, Y. S. Kim, M.W. Lee, S. Y., Choi, H. K (2007). Free radical scavenging and inhibition of nitric oxide production by four grades of pine mushroom (*Tricholoma matsutake* Sing.). *Food Chemistry* 103: 1337-1342.

19. Lin, H.C (1999). Evaluation of taste quality and antioxidant properties of edible mushrooms. Master's Thesis, National Chung-Hsing University, Taichung.
20. Liu, X., Zhou, B., Lin, R., Jia, L., Deng, P., Fan, K., Wang, G., Zhang, J (2010). Extraction and antioxidant activities of intracellular polysaccharide from *Pleurotus sp.* mycelium. *International Journal of Biological Macromolecules*, 47:116–119.
21. Lowry HO, Rosebrough A, Farr L, Randall JR (1991). Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem*; 193: 265- 275.
22. Mc kenna DJ, Jones K, Hughes K. *Reishi Botanical Medicines* (2002). The desk reference for major Herbal Supplements. 2 nd ED., The Haworth Herbal Press: New York, London, Oxford, p. 825-855.
23. Morris Quevedo H.J, Llauradó Maury G., Lebeque Pérez Y., Fontaine Álvarez R., Bermúdez Savón R., Garcia N., Gutiérrez Muñoz A (2012). Capítulo VI. Otros Usos de los Macromicetos en Hongos Comestibles y Medicinales en Iberoamérica: investigación y desarrollo en un entorno multicultural. Editores José E. Sánchez y Gerardo Mata INECOL-ECOSUR México. ISBN-978-607-7637-73-
24. Mruthunjaya, K., Hukkeri, V (2008). *In vitro* Antioxidant and free radical scavenging potential of *Parkinsonia aculeata* L. *Phcog Ma*, 4(13): 42-51.
25. Ozsoy, N., Candoken, E., Akev, N (2009). Antioxidative activity, total phenols, flavonoids, ascorbic acid, β -carotene and β -tocopherol in *Aloe vera*. *Oxid Med Cell Longev*, 2(2): 99–106.
26. Rajeshwar, Y., Senthil Kumar, G. P., Gupta, M., Upal K.M (2005). Studies on invitro antioxidant activities of methanol extract of *Mucuna pruriens* (Fabaceae) seeds. *European Bulletin of Drug Research*, 13: 31- 39.
27. Repo, R., Encina, C.R (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Rev. Soc. Quím. Perú* 74(2).
28. Rodríguez S (2006). Decoloración de los residuales de la Pasteurización de la pulpa de café y la vinaza por *Pleurotus sp.* Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Biológicas. CEBI. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Oriente.
29. Siegel R, Ward E, Brawley O, Ahmedin J (2011). The impact of eliminating socio-economic and racial disparities on premature cancer deaths. *Cancer statistics 2011. Cancer J Clinicians*; 61(4):212–36.
30. Slinkard K, Singleton VL (1977). Total phenol analyses: automation and comparison with manual method. *Am J Enol Vitic*; 28: 49-55.
31. Wasser S (2014). Medicinal Mushroom Science: Current Perspectives, Advances, Evidences, and Challenges. *Biomed J* Vol. 37 No. 6
32. Wasser SP (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl Microbial Biotechnol*; 60: 258-74.
33. Wasser SP (2010). Medicinal mushroom science: history, current status, future trends, and unsolved problems. *Int J Med Mushr*; 12 (1):1–16.
34. Wasser SP, Akavia E (2008). Regulatory issues if mushrooms as functional foods, dietary supplements: safety and efficacy. In: *Mushrooms as functional foods*. Cheung PCK, ed. New York: John Wiley & Sons, Inc.; pp. 199–228.