Enriquecimiento proteico de *Ganoderma lucidum, Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus* utilizando bagazo residual del mezcal

C. López Sánchez [1], E. Ramos Juárez [1], E. Reyes Rodríguez [2], F. de J. Palma Cruz[2]*

[1]Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Oaxaca. Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica
[2]Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Oaxaca. División de Estudios de Posgrado e Investigación. Avenida Ing. Víctor Bravo Ahuja No. 125, Esquina Calzada Tecnológico. C.P. 68030. Oaxaca, Oaxaca.
claudia.lopez@itoaxaca.edu.mx

Área de participación: *Ingeniería Química*

Resumen

Se analizó el aporte nutrimental que el bagazo de *Agave angustifolia*, residual de la destilación de mezcal, hace a los carpóforos de tres diferentes hongos; para ello, se identificó inicialmente el medio de cultivo y las condiciones adecuadas para el crecimiento y desarrollo de los micelios primario y secundario, con el fin de lograr una producción constante. Los mejores resultados del crecimiento micelial, correspondieron a *Ganoderma lucidum*, cultivado en Agar de dextrosa y papa, secundados por *Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus*. Los cuerpos fructíferos de este último, reportaron el mejor porcentaje de proteínas (33.81 g y 388.33 Kcal), seguido por *L. edodes* (19.83 g y 139.77 Kcal) y *G. lucidum* (13.97 y 120.90 Kcal). La proteína presente en la pared celular de los hongos, es uno de los componentes responsables de la calidad nutracéutica de los alimentos, por lo cual es importante inducir el enriquecimiento proteico de estos hongos.

Palabras clave*: enriquecimiento proteico, bagazo, nutracéutico*

Abstract

The nutritional contribution that the bagasse of Agave angustifolia, residual from the distillation of mezcal, makes to the carpophores of three different fungi was analyzed; For this, the culture medium and the appropriate conditions for the growth and development of the primary and secondary mycelia were initially identified, in order to achieve constant production. The best results of mycelial growth, corresponded to Ganoderma lucidum, cultivated in dextrose and potato agar, seconded by Lentinula edodes and Pleurotus ostreatus. The fruiting bodies of the latter, reported the best protein percentage (33.81 g and 388.33 Kcal), followed by L. edodes (19.83 g and 139.77 Kcal) and G. lucidum (13.97 and 120.90 Kcal). The protein present in the cell wall of fungi is one of the components responsible for the nutraceutical quality of food, which is why it is important to induce protein enrichment of these fungi.

Key words*: protein enrichment, bagasse, nutraceutical*

Introducción

En el mundo se cultivan comercialmente más de 15 especies de hongos comestibles a través de diferentes procesos biotecnológicos muy eficientes; en México, sólo se producen de manera consistente tres especies a diferentes escalas: los champiñones (*Agaricus bisporus*), las setas (*Pleurotus ostreatus*), y el shiitake (*Lentinula edodes*); aun cuando nuestro país tiene un enorme potencial para la producción competitiva de otras especies en función de la diversidad de sus ecosistemas y de la gran gama de condiciones edáficas y climáticas resultantes; así como por la

abundancia de subproductos agrícolas y forestales que pueden utilizarse como substrato del cultivo de especies de hongos comestibles [1].

La composición química de los hongos comestibles, determina su valor nutricional y sus propiedades, mismas que difieren de acuerdo a las especies, al sustrato empleado para su cultivo, a las condiciones atmosféricas, la edad y la parte de la fructificación que se ingiera [3]. La calidad biológica de las proteínas fúngicas, varía de acuerdo a las diferentes especies consumidas, las cepas de las que proceden los cultivares, el método de cultivo utilizado para su producción, la composición del sustrato empleado, y la edad y el grado de desarrollo del cuerpo fructífero [4]. También, es importante reconocer que las proteínas de los hongos comestibles, presentan un patrón completo de aminoácidos esenciales, y especialmente son ricos en lisina y leucina, los cuales están ausentes en la mayoría de los cereales de consumo humano [2, 6]. La proteína presente en la pared celular de estos hongos, es uno de los componentes responsables de la calidad nutracéutica de dichos alimentos, por lo cual es importante inducir el enriquecimiento proteico de estos hongos durante su cultivo [1, 3].

De igual manera, las propiedades terapéuticas de los hongos comestibles, han atraído la atención de los investigadores debido a que sus metabolitos se ha visto funcionan como antioxidantes, anticancerígenos, inmunomoduladores, antiartríticos, hipoglucemiantes, cardioprotectores, antiinflamatorios, carcinostáticos, antiangiogénicos, antiosteoporóticos, antinociceptivos, proapoptóticos, antialérgicos, antivirales, antifúngicos, antibacterianos y antiandrogénicos. Además, la importancia nutracéutica de los comestibles, está definida por la presencia de metabolitos primarios como el ácido oxálico, péptidos y proteínas, y metabolitos secundarios como terpenos, esteroides, antraquinonas, derivados del ácido benzoico y quinolonas [2, 5].

Sin embargo, cabe destacar que además de las moléculas antes referidas, los polisacáridos son conocidos como los compuestos más potentes producidos por los hongos y exhiben numerosas actividades benéficas para la salud humana; entre los más conocidos se encuentran el lentinan de *Lentinula edodes*, el pleuran de *Pleurotus* spp., y ganoderan de *Ganoderma lucidum*. Estos y otros polisacáridos, participan en la regulación de la microbiota estomacal y mejoran la función gastrointestinal. Así mismo es importante decir que la bioactividad de este tipo de moléculas se debe a su naturaleza estrictamente polisacárida o a que junto con otras biomoléculas forman conjugados como las glicoproteínas, que, de manera sinérgica, producen grandes beneficios que mejoran o mantienen el estatus de salud de quienes los consumen.

En el presente trabajo, se analizó la posible contribución que el bagazo de *Agave angustifolia*, residual de la destilación de mezcal, puede hacer al valor nutrimental de los cuerpos fructíferos de *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus*, durante su cultivo; para lo cual, inicialmente se identificó el mejor medio de cultivo para lograr el más eficiente desarrollo y las condiciones adecuadas para asegurar el crecimiento de los micelios primario y secundario de las tres especies de hongos, con el propósito de asegurar su producción constante.

Metodología

Micelio primario

La activación de las cepas de *Ganoderma lucidum* (ITO-0016)*, Lentinula edodes* (ITO-0017) y *Pleurotus ostreatus* (ITO-0015) se realizó en cajas Petri conteniendo 20 mL de agar de dextrosa y papa (PDA); cada caja, fue inoculada con un trozo circular de 0.8 mm de diámetro de micelio inicial; se incubaron a 26°C y se realizó una cinética del crecimiento radial, mismo que fue determinado como el diámetro alcanzado por el hongo con el paso del tiempo (cm), para lo cual se hicieron mediciones cada 24 h por espacio de 10 días.

Micelio Secundario

 ISSN 2007-8102

A partir del micelio primario, tuvo efecto la activación micelial de las cepas de los tres hongos, mediante su resiembra en semillas de trigo previamente desinfectadas con HClO al 1% durante 5 min, y posteriormente llevadas a su cocción en agua en ebullición por 15 min. Posteriormente, el trigo fue vertido en frascos previamente esterilizados, a ¾ partes de su capacidad. Para finalizar el procedimiento, se incubó a 26°C por espacio de 120 h.

Fermentación sólida

El bagazo de *Agave angustifolia*, residual de la destilación de mezcal, se obtuvo de una fábrica productora del destilado artesanal, ubicada en la población de San Dionicio Ocotepec, Oaxaca. Este sustrato se lavó consecutivamente con agua caliente, a 80°C, hasta lograr la eliminación total de los azúcares residuales; enseguida, se secó al aire libre y se cortó en pequeños trozos de 4-5 cm de longitud; a continuación, se colocaron 500 g del bagazo resultante en bolsas de polietileno con capacidad de 1.5 kg, y se esterilizaron a 15 lb por 45 min. Se dejaron enfriar y se inocularon con 5 g de micelio secundario y se incubaron en oscuridad a 26°C por espacio de 30 días para *Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes*, y de 45 días para el caso de *Ganoderma lucidum*. Posteriormente, se sometieron a un choque de térmico (4°C) con el propósito de inducir la fructificación y obtener el cuerpo fructífero o carpóforo para su análisis (Figura 1).

Análisis bromatológico de los carpóforos

El contenido de humedad, ceniza, grasa, fibra, carbohidratos y proteínas de muestras de 100 g de los carpóforos de *Ganoderma lucidum, Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus*, se determinaron de acuerdo a los procedimientos de la Association of Official Analytical Chemists [7].

El contenido de carbohidratos se realizó con respecto a la diferencia entre los valores resultantes de humedad, cenizas, extracto etéreo, fibra y proteína. Así mismo, el contenido energético se calculó con base en el factor de Atwater, a partir de los valores obtenidos en las determinaciones de proteína, extracto etéreo y carbohidratos [9, 10].



Figura 1. Carpóforos de Ganoderma lucidum (A), Lentinula edodes (B) y Pleurotus ostreatus (C) producidos en bagazo residual de la producción de mezcal

Resultados y discusión

Cinética de crecimiento radial de las cepas.

El medio de cultivo que permitió el mejor desarrollo de los tres hongos fue el agar de dextrosa y

papa, y en él, los resultados de la cinética de crecimiento radial (Figura 2), mostraron que *Ganoderma lucidum* cubrió totalmente la caja Petri (8 cm) en un lapso de 168 h, seguida por *Lentinula edodes* en un lapso de 216 h. En tanto que *Pleurotus ostreatus* fue el que presentó el crecimiento más lento y tan solo llegó a medir 6.0 cm de crecimiento radial hacia el final de la cinética (Figura 2).

Análisis nutrimental de los carpóforos

El contenido de humedad de las tres especies estudiadas (Tabla 1), es esencialmente elevado, variando entre 61.22 g/100g (*Ganoderma lucidum*) y 90.88 g/100g (*Lentinula edodes*), el valor más bajo de *G. lucidum* se debe a que es una especie que posee cuerpos fructíferos secos y duros, lo cual también ha sido mencionado por otros autores [11].

Respecto de los valores resultantes de fibra, cenizas y extracto etéreo en nuestras determinaciones (Tabla 1), podemos confirmar que los hongos producidos en estas condiciones tienen el valor nutrimental adecuado para el consumo humano, sin olvidar que estas especies fúngicas, son potencialmente importantes como alimentos funcionales, lo cual también ha sido referido en un gran número de estudios al respecto [1, 2, 4, 6].

En lo referente a nuestros valores de carbohidratos resultantes (76.57 g/100g en *Ganoderma lucidum*; 73.33 g/100g en *Lentinula edodes*; y 57.19 en *Pleurotus ostreatus*) (Tabla 1), se muestran en el límite superior del promedio que otros autores refieren [2, 3, 4, 6, 11], y que, como se ha manifestado en otros estudios, posiblemente sean los responsables de la bioactividad que éstos hongos comestibles han demostrado tener [2, 3, 4, 5, 16].

Sin embargo, el contenido de proteína produjo resultados sorprendentes, ya que nuestros valores de 13.97 g/100g en *G. lucidum*, 19.83 g/100g de *L. edodes* y 33.81 g/100g de *P. ostreatus* (Tabla 1), aunque confirman la gran variabilidad que otros autores también han reportado [4, 12]; pudieron resaltar que los niveles proteicos de *Pleurotus ostreatus* superaron el promedio reportado de 12 a 21 g/100g [4], pero coincide con los estudios de Vetter y Rimóczi [12], quienes compararon los niveles del contenido proteico en píleos y estípites de *Pleurotus ostreatus* en diferentes fases de maduración, encontrando que la categoría de píleos con diámetros de 5 a 8 cm, son los que presentaron los valores más altos de proteína (36.38%) y que estos valores descienden hasta un 15% hacia el final del crecimiento.

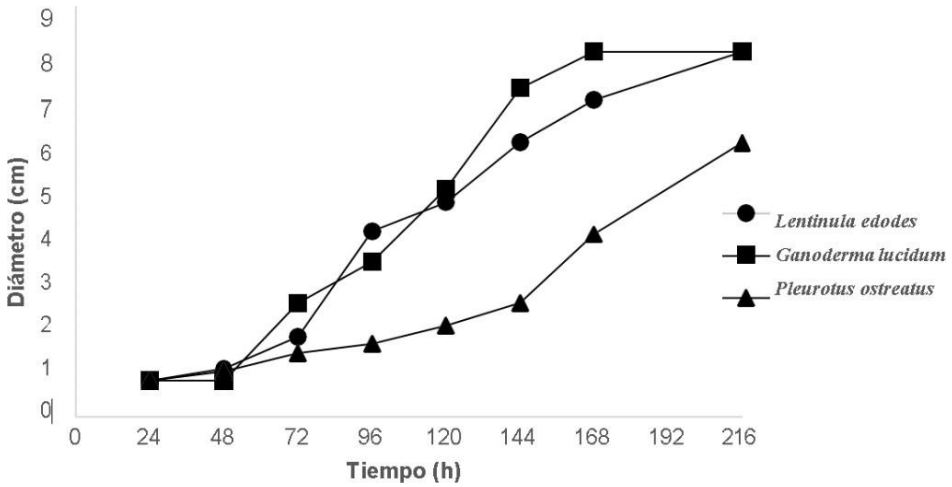


Figura 2. Crecimiento radial de *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus* en PDA.

Cabe agregar que los valores de proteínas obtenidos en este trabajo, en el que utilizamos bagazo

de *Agave angustifolia* como sustrato, sí están relacionados con las características lignocelulósicas del sustrato y son en parte responsables del enriquecimiento proteico de los hongos comestibles en estudio, como ya se ha reportado con anterioridad [15, 17], con lo cual podemos sugerir que el bagazo residual puede enriquecer proteínicamente a los hongos comestibles que se cultiven en él, tomando en cuenta que el valor nutricional de las especies fúngicas comestibles, está principalmente relacionado con su contenido proteico; y que la proteína fúngica está considerada como de más alta calidad que la proteína vegetal [6, 13].

Tabla 1. Análisis nutrimental de los carpóforos de *Ganoderma lucidum, Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus* cultivados en bagazo residual de la producción de mezcal.

PARÁMETRO	g/100g		
	Lentinula edodes	***Ganoderma lucidum***	***Pleurotus ostreatus***
Humedad	70.88[a]	61.22[c]	70.24[b]
Cenizas	3.23[c]	5.73[a]	5.46[b]
Extracto Etéreo	3.41[a]	0.4[b]	2.70[b]
Fibra	0.2[a]	3.32[b]	0.84[b]
Proteína cruda	19.83[b]	13.97[a]	33.81[b]
Carbohidratos	73.33[a]	76.57[b]	57.19[b]
Contenido energético Kcal/100g	383.31[b]	120.90[a]	388.33[b]

[a,b,c] Análisis de medias por el método de Tukey

Trabajo a futuro

Se pretende analizar con mayor detalle el contenido proteico de los carpóforos obtenidos y poder correlacionar la naturaleza química del sustrato utilizado para el cultivo de los hongos, ya que varios autores han reportado esta interacción, lo cual al parecer es el factor determinante de la calidad nutracéutica de los hongos comestibles cultivados en residuos agroindustriales [14, 15, 16]; así como la presencia de los polisacáridos con bioactividad a los que hacen referencia un gran número de autores [2, 3, 4, 5, 16].

Conclusiones

El PDA resultó ser el medio de cultivo más apto para el desarrollo del micelio primario, prueba de ello es que *Ganoderma lucidum* y *Lentinula edodes*, lograron su máximo crecimiento radial en un lapso de 216 h, aunque *Pleurotus ostreatus* creció con menor velocidad.

Respecto al análisis bromatológico, los valores obtenidos coinciden perfectamente con los promedios mundiales; sin embargo, el contenido de proteína produjo resultados sorprendentes, y aunque nuestros valores confirman la gran variabilidad que otros autores también han reportado [4, 12], es importante destacar que el contenido proteico de *Pleurotus ostreatus*, definitivamente está relacionado con las características lignocelulósicas del bagazo de *Agave angustifolia* utilizado como sustrato, también observado con anterioridad por otros autores [17]; por lo cual es necesario sugerir que el bagazo utilizado como sustrato puede enriquecer proteínicamente a los hongos comestibles

que se cultiven en él, ya que lo que se busca finalmente con esto, es el de contar con un alimento con una calidad proteínica similar o superior al de las especies vegetales.

Referencias

[1] S.T. Chang and P.G. Miles, "Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact". *CRC Press LLC. Washington*, *D.C.*, 477 pp. 2004.

[2] S. Gupta, B. Summuna, M. Gupta and S.K. Annepu, "Edible Mushrooms: Cultivation, Bioactive Molecules". Bioactive Molecules in Food. Reference Series in Phytochemistry", *Springer International Publishing AG, part of Springer Nature*, pp. 1-34, 2018.

[3] E. Bernas, G. Jaworska and Z. Lisiewska. "Edible mushrooms as a source of valuable nutritive constituents". *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, vol. 5, no. 1, pp. 5-20, 2006.

[4] J. Vetter, "Biological values of cultivated mushrooms – a review", *Acta Alimentaria*, vol. 48, no. 2, pp. 229–240, 2019.

[5] D. Cör, Ž. Knez and M. Knez, "Antitumour, antimicrobial, antioxidant and antiacetylcholinesterase effect of *Ganoderma lucidum* terpenoids and polysaccharides: a review", *Molecules*, vol. 23, no. 649, pp. 1-21, doi: 10.3390/molecules23030649. 2018/03/13, 2018.

[6] X.M. Wang, J. Zhang, L.H. Wu, Y.L. Zhao, T. Li, J. Q. Li, Y.Z. Wang and H.G. Liu, "A mini-review of chemical composition and nutritional value of edible wild-grown mushroom from China", *Food Chemistry*, vol. 151, pp. 279-285, 2014.

[7] AOAC. "Official Methods of análisis". Fourteenth edition. *Association of Official Analytical Chemists. Washington, U.S.A*., 2002.

[8] S.R.A. Adewusi, F.V. Alofe, O. Odeyemi, O.A. Afolabi and O.L. Oke, "Studies on some edible wild mushrooms from Nigeria: 1. Nutritional, teratogenic and toxic considerations". *Plant Foods for Human Nutrition*, vol. 43, no. 2, pp. 115–121, 1993.

[9] A.L. Merrill. and B.K. Watt, "Energy Value of Foods: Basis and Derivation". *Agriculture Handbook No. 74*, ARS United States Department of Agriculture, Washington DC.,1973.

[10] FAO. "Food energy – methods of analysis and conversion factors". *FAO Food and nutrition paper No. 77*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. 93 pp. 2003.

[11] P.B. Dinesh and R.S. Subhasree, "The sacred mushroom Reishi- A review". *American-Eurasian Journal of Botany*, vol. 1, no. 3, pp. 107-110, 2008.

[12] J. Vetter and I. Rimóczi, "Roh-, verdauliche und unverdauliche Fruchtkörperproteine in Austernseitlingen *Pleurotus ostreatus* (Pilze)", *Z Lebensmittel-Untersuchung und – Forschung,* vol.197, no. 5, pp. 427-428, 1993.

[13] FAO, "Dietary protein quality evaluation in human nutrition". *Food and Nutrition Paper No. 92*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. 79 pp, 2013.

[14] B. M. Bellettini, F.A. Fiorda, H.A. Maieves, T.G. Lopes, S. Ávila, S.P. Hornung, A.J. Maccari and R.R. Hoffmann, "Factors affecting mushroom Pleurotus spp", *Saudi Journal of Biological Sciences*, vol.26, pp. 633-646, 2019.

[15] R. Zhang, X. Li and J.G. Fadel, "Oyster mushroom cultivation with rice and wheat Straw", *Bioresource Technology,* vol. 82, pp. 277-284, 2002.

[16] F.S. Reis, L. Barros, A. Martins and I.C.F.R. Ferreira, "Chemical composition and nutritional value of the most widely appreciated cultivated mushrooms: An inter-species comparative study", *Food and Chemical Toxicology,* vol. 50, no. 2, pp. 191-197, 2012.

[17] C. López Sánchez, E. Reyes Rodríguez, F. J. Palma Cruz. Bagazo de Agave angustifolia y totomoxtle, como suplemento forrajero enriquecido con Pleurotus ostreatus. *Contribución al Conocimiento Científico y Tecnológico en Oaxaca* vol. 3, no. especial Agave-Mezcal, pp. 30-36, 2019.