

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Efecto de dos Sustratos en la Productividad y Calidad Nutricional del Hongo

Pleurotus ostreatus (Jacq.) Kumm

Por:

CORAQUETZALI MAGDALENO LÓPEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México

Septiembre de 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Efecto de dos Sustratos en la Productividad y Calidad Nutricional del Hongo
Pleurotus ostreatus (Jacq.) Kumm

Por:

CORAQUETZALI MAGDALENO LÓPEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Aprobada


Dr. Manuel De La Rosa Ibarra
Asesor Principal


Lic. Laura Olivia Fuentes Lara
Coasesor


Dra. Ana M. Rodríguez Hernández
Coasesor


Dr. Leobardo Bañuelos Herrera
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Septiembre de 2013

AGRADECIMIENTOS

La culminación de un trabajo involucra el esfuerzo conjunto de innumerables personas, quienes contribuyen en diferentes aspectos a la realización del mismo y quienes forman ya parte importante en la vida académica de un estudiante.

*Por ello, agradezco principalmente, a mi Director de Tesis **Dr. Manuel De La Rosa Ibarra**, por haber dirigido este trabajo de investigación, por todo su apoyo, asesoría, amistad y sobre todo, por toda la paciencia y comprensión brindada.*

A mi comité de asesores, por sus enriquecedores comentarios y aportaciones:

***Licenciada Laura Olivia Fuentes Lara:** por su gran apoyo al aceptar formar parte de este trabajo sin dudarlo ni un momento.*

***Dra. Ana Margarita Rodríguez Hernández:** al brindarme su apoyo en formar parte del comité de asesores.*

***M.C. Andrés Rodríguez Gámez:** por su valiosa amistad y apoyo brindado durante mi estancia en esta Universidad, además por formar parte de mi comité de asesores.*

*Quiero agradecer también al Tec. Lab. **Carlos Arévalo Sanmiguel** por apoyarme en la determinación del análisis de proteínas.*

***A mi Alma Mater:** por haberme brindado la oportunidad de obtener una formación profesional.*

***Al Laboratorio de Fisiología Vegetal y al Laboratorio de Nutrición Animal** por permitirme realizar mis experimentos.*

***A dios:** porque al darnos la vida nos da mucho pero sobre todo por ayudarnos a consolidar una más de nuestras metas.*

A todos ustedes..... 1000 gracias.

DEDICATORIA

Por todo lo que significan en mi vida, por sus consejos que con paciencia siempre me brindan; por ese apoyo incondicional que solo con ustedes he encontrado; por la fortaleza, valor y confianza que fomentan, por las risas, lagrimas, felicidad y tristezas que nos ayudan a madurar y por el amor infinito que marca el camino que me guía a seguir en este proceso continuo de superación personal.

Por ello y por todo lo que con palabras y en una sola vida no se puede expresar, dedico este trabajo a:

MIS PADRES: Benjamín y Elizabeth con todo mi amor, respeto y admiración por la mayor herencia que han podido brindarme y por sus incansables atenciones en cada etapa de mi vida y por quienes luche constantemente para llegar a ser una profesionalista.

MIS HERMANOS: Julio Enrique (kike), Xico, Yupanqui y las gemelitas Dalía Jazmín y Azalía Carolina, que siempre me han impulsado a seguir adelante y por que sigamos luchando juntos.

A toda la familia Magdaleno (tíos, primos) por el apoyo y por los consejos que siempre me han brindado.

Mis abuelos: María, Enriqueta e Ignacio (q.e.p.d.) porque gracias a su apoyo y buenos consejos, logre hacer realidad uno de mis más grandes sueños, ser alguien en la vida.

A la familia Gonzalez Hernández: por abrirme las puertas de su casa y tenerme toda la confianza.

Mis amigos: Fher, Mario, Manuel, Gilberto, Laura, Brenda, Bonny, Diana, Marisol... y todos los demás por estar con mígo en las buenas y malas durante los cinco años de la carrera.

MIS INOLVIDABLES E INIGUALABLES AMIGAS: EMILIA, GORETY, PAOLA Y ELIXA, con las que compartí momentos tristes, alegres e inolvidables durante la carrera.

ÍNDICE

	Paginas
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVO GENERAL.....	3
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
4. HIPÓTESIS.....	3
5. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Generalidades de los hongos	4
Importancia de los hongos	5
Partes del hongo y de una seta	6
Reproducción de los hongos	7
Hongos comestibles cultivados	8
Importancia de los hongos comestibles	9
Valor nutricional de los hongos comestibles	10
Producción de hongos comestibles.....	12
Producción mundial	12
Producción nacional	13
Descripción del genero Pleurotus	13
Pleurotus ostreatus	15
Valor nutritivo de Pleurotus ostreatus	15
Residuos lignocelulósicos	17
Sustratos utilizados para el cultivo de Pleurotus ostreatus	18
Requerimientos nutricionales de Pleurotus ostreatus	21

Proceso de producción de <i>Pleurotus ostreatus</i>	23
6. MATERIALES Y MÉTODOS	29
Descripción del área experimental.....	29
Características climáticas	29
Procedimiento.....	29
Diseño experimental.....	34
Variables evaluadas	35
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
Parámetros de productividad	37
Rendimiento	37
Eficiencia biológica.....	39
Tasa de producción.....	40
Análisis bromatológico	42
Contenido de proteínas	43
Contenido de vitaminas	45
8. CONCLUSIONES	47
9. LITERATURA CITADA.....	48
10. ANEXOS	57
Anexo 1. Determinación de proteínas por el método de MICROKJELDHAL	57
Anexo 2. Determinación de Acido Ascórbico por Método de Titulación (A.O.A.C, 967.21)	61

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No	Página
Cuadro 1. Contenido nutricional presente en los hongos frescos (Serafín <i>et al.</i> , 2005)	10
Cuadro 2. Contenido de proteína y perfil de aminoácidos esenciales de las setas, comparado con otros alimentos (Martínez, 2012)	11
Cuadro 3. Contenido nutricional del hongo comestible <i>Pleurotus ostreatus</i> (Hernández y López, 2006)	16
Cuadro 4. Análisis de varianza y comparación de medias de los parámetros de productividad del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) Kumm cultivado en dos tipos de sustrato y fortificado con diferentes compuestos.	37
Cuadro 5. Análisis de varianza y comparación de medias del contenido de proteínas y vitamina C del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) Kumm cultivado en dos tipos de sustrato y fortificado con diferentes compuestos.	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No	Página
Figura 1. Estructura de una seta (Aguinaga, 2012).	6
Figura 2. Ciclo biológico general de un hongo (Ardón, 2004).	7
Figura 3. Cuerpo fructífero de <i>Pleurotus</i> spp. con sus partes principales (Flores, 2012).	14
Figura 4. Rendimiento del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivado en dos sustratos y fortificado con diferentes compuestos.	38
Figura 5. Eficiencia biológica del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivado en dos sustratos y fortificado con diferentes compuestos.	40
Figura 6. Tasa de producción del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivado en dos sustratos y fortificado con diferentes compuestos.	41
Figura 7. Contenido de proteínas del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivado en dos sustratos y fortificado con diferentes compuestos.	45
Figura 8. Contenido de vitamina C del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivado en dos sustratos y fortificado con diferentes compuestos.	46

Resumen

El objetivo de este trabajo fue incrementar la productividad y calidad nutricional del hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm cultivado en diferentes sustratos lignocelulósicos y adicionándole diferentes compuestos. El experimento se llevo a cabo en un cuarto acondicionado en el Laboratorio de Fisiología Vegetal del Departamento de Botánica, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. Se utilizo un diseño completamente al azar con arreglo factorial de A x B, donde A fue el tipo de sustrato utilizado y B fueron los compuestos añadidos, con un total de 8 tratamientos y 3 repeticiones. Las variables evaluadas fueron: Rendimiento (g), Eficiencia Biológica (%), Tasa de Producción (%), Contenido de Proteínas (g/100 g) y Contenido de Vitamina C (mg/100 g). En cuanto a productividad los mejores resultados se presentaron en los hongos cultivados en la paja de sorgo en comparación con los que fueron cultivados en la paja de pasto, sin embargo en el análisis de proteínas y vitamina C, los resultados más altos se presentaron en los hongos cultivados en la paja de pasto con la mezcla de compuestos. Los resultados de la presente investigación permiten concluir que la utilización de algunos residuos lignocelulósicos y la adición de algunos compuestos como son algunos aminoácidos, permiten obtener alta producción de alimentos de muy buena calidad nutricional como son los hongos comestibles *Pleurotus ostreatus*.

Palabras clave: *Pleurotus ostreatus*, aminoácidos, eficiencia biológica, tasa de producción, contenido de proteínas.

1. INTRODUCCIÓN

Los hongos comestibles poseen un contenido nutricional excelente ya que en ellos se encuentran todos los aminoácidos esenciales, azúcares, vitaminas y fibras, además de una amplia diversidad de compuestos que actúan contra algunas enfermedades del hombre (Garcés *et al.*, 2005). El gran valor nutricional de *Pleurotus ostreatus* le ha permitido ser catalogado como la carne vegetal por poseer el doble del contenido proteico que los vegetales tradicionales. Posee un elevado contenido de vitaminas (Tiamina (B1), Riboflavina (B2), Piridoxina (B6), Cobalamina (B12), ácido ascórbico (C), ácido nicotínico, ácido fólico y tocoferol), y actúa como una fuente importante de calcio y fósforo. Presenta ácidos grasos esenciales como el ácido oleico, palmítico y el ácido linoléico (Varnero *et al.*, 2010; Sánchez *et al.*, 2008; Ocaña *et al.*, 1996; Garzón y Cuervo, 2008; Ruíz, 2009).

Los hongos del género *Pleurotus*, pueden producir altas cantidades de proteínas sobre sustratos considerados como materiales de desecho de carácter lignocelulósico, los materiales más comúnmente utilizados como fuente de carbono incluyen paja de trigo, de avena, de centeno, de sorgo, virutas de madera, tallos de maíz, plantas y desperdicios de café, agave, residuos de la industria papelera, hojas de plátano, paja de arroz, bagazo de caña, entre otros (Hernández y López, 2006; Baena, 2005). Además pueden considerarse como alimento funcional debido a que pueden ser fortificados con ingredientes funcionales (Oligosacáridos, alcoholes derivados de azúcares, péptidos y proteínas, glucósidos, vitaminas y minerales) y esto permite que puedan proporcionar un beneficio superior al de los nutrientes

tradicionales que ya de por sí contiene (Ruíz, 2009). Sin embargo, a pesar de que la calidad de las proteínas de los hongos no es tan alta como la proteína animal, se considera que la producción de ésta es más eficiente en términos de costos, espacio y tiempo (Garzón y Cuervo 2008; López *et al.* 2008; Montoya y Restrepo 2006).

El hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en diferentes sustratos como la cascara de café, bagazo de caña, vainas de frijol, paja de trigo, de avena, rastrojo de agave y aserrín, fortificados con ingredientes funcionales activos (vitaminas, provitaminas y minerales) llevan a la obtención de un verdadero alimento funcional (nutracéutico), sin embargo, la variación de las características nutricionales del hongo dependen tanto del sustrato empleado como de los compuestos agregados (Nieto y Chegwin, 2010; Ruíz, 2009).

Se considera que alrededor de la mitad de la población mexicana está mal alimentada en cuanto a elementos nutritivos (aminoácidos, proteínas, vitaminas) que, al ser deficientes en los alimentos ocasionan desnutrición. Por esta razón se están encaminando esfuerzos a generar alimentos de buena calidad, que sean producidos a bajo costo y en gran abundancia.

En el presente estudio se evaluó el incremento en la productividad y calidad nutricional del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm cultivado en diferentes tipos de sustratos lignocelulósicos y con adición de diferentes compuestos, ya que este hongo tiene la característica de proporcionar una alternativa excelente como alimento, por lo que la población en general se vería beneficiada obteniendo un alimento con un alto valor nutricional, de muy buena calidad y a muy bajo costo.

2. OBJETIVO GENERAL

Incrementar la productividad y calidad nutricional del hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm cultivado en dos sustratos lignocelulósicos enriquecidos con diferentes compuestos.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Incrementar el rendimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm utilizando dos sustratos lignocelulósicos.
- Incrementar el contenido de proteínas del hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm utilizando dos sustratos lignocelulósicos y adicionándole algunos aminoácidos.
- Incrementar el contenido de vitamina C en el hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm utilizando dos sustratos lignocelulósicos y adicionándole ergosterol.

4. HIPÓTESIS

La utilización de dos sustratos lignocelulósicos enriquecidos con diferentes compuestos incrementara la productividad y calidad nutricional del hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm.

5. REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades de los hongos

Los hongos son organismos unicelulares, pluricelulares o dimórficos que carecen de clorofila, por lo tanto son heterótrofos, es decir, obtienen sus alimentos por absorción y el componente principal de sus paredes celulares es la quitina. El talo o cuerpo vegetativo de los hongos filamentosos está constituido por filamentos delgados llamados hifas, las que presentan crecimiento apical y en conjunto integran el micelio. Los hongos se dividen en microscópicos y macroscópicos. En el caso de los hongos macroscópicos, el micelio está representado por la masa de apariencia algodonosa y por lo regular blanquecina que forman un cuerpo de reproducción. Dentro de los hongos macroscópicos se encuentran los ascomicetes y basidiomicetes, los cuales presentan una reproducción asexual y/o sexual (Hernández y López, 2006; Garcés *et al.*, 2005; Calderón, 2009).

En función de su forma de nutrición, los hongos se dividen en tres grandes grupos: Los saprófitos, que se alimentan de materia orgánica muerta. Los parásitos, que se alimentan de materia orgánica viva. Los simbiontes (micorrizicos), que subsisten solo en relación de mutua ayuda con otros organismos (Baena, 2005; Ardón, 2004; Cisterna, 2003).

Se estima que habitan en la tierra entre 1.5 y 2.5 millones de especies de hongos, de las que solamente se conocen 7000, básicamente las especies comestibles. Están ampliamente distribuidos en todo el planeta y prosperan en casi todos los climas: tropicales, subtropicales, templados, fríos, es decir en todos aquellos ámbitos de

temperaturas comprendidas entre 4 a 60 grados centígrados, donde existan los elementos indispensables para su existencia: material orgánico y agua (Ardón, 2007; Silva *et al.*, 2010). Las setas de gran consumo han sido tradicionalmente poco conocidas. Se calcula que solamente un cinco por ciento de los hongos existentes en el mundo son conocidos científicamente. El conocimiento de los hongos es milenario y su estudio sistematizado tuvo comienzo en los últimos años y está todavía por desarrollar (Ardón, 2007; Calderón, 2010).

Importancia de los hongos

Los hongos están involucrados en numerosos fenómenos biológicos, tales como: desintegración de la materia orgánica; causan la mayoría de las enfermedades conocidas en plantas, animales y humanos; en procesos industriales de fermentación (pan, vino, cerveza, ciertos quesos, etc.); en la producción comercial de sustancias industriales y medicamentos (ergotina, cortisona, antibióticos, etc.); en alimentación humana (champiñones, trufas, níscalos, etc.), y son útiles en investigación ya que presentan a menudo un ciclo vital corto, de fácil reproducción y con frecuencia una genética haploide (Rodríguez, 1996; Ramos, 2007; Ardón, 2004).

La importancia de los hongos en la alimentación humana reside en su valor dietético (bajo contenido en carbohidratos y grasas), significativo contenido de proteínas (de 20-40 % del peso seco) y vitaminas, que los coloca por arriba de la mayoría de vegetales, frutas y verduras. Adicionalmente resultan ser complementos deliciosos en las comidas por sus propiedades organolépticas (Arriaga y Morales, 2009; Grodzínskaya *et al.*, 2002).

Partes del hongo y de una seta

En el hongo hay que diferenciar dos partes fundamentales: el cuerpo vegetativo y el cuerpo reproductor. El cuerpo vegetativo, que se encuentra bajo el suelo, está formado por unos filamentos llamados hifas que pueden ser unicelulares (con una sucesión de núcleos). Al conjunto de todas las hifas es a lo que se le llama micelio. El micelio es el que se encarga de absorber las sustancias minerales del suelo para alimento del hongo. El micelio en realidad es el hongo, ya que la seta (a la que comúnmente se la llama hongo), es su aparato reproductor. Por lo tanto, la seta (carpóforo) es la parte del hongo que sale al exterior, y constituye el aparato reproductor de los hongos superiores (Cruz, 2001). La figura No. 1 muestra las partes de una seta.

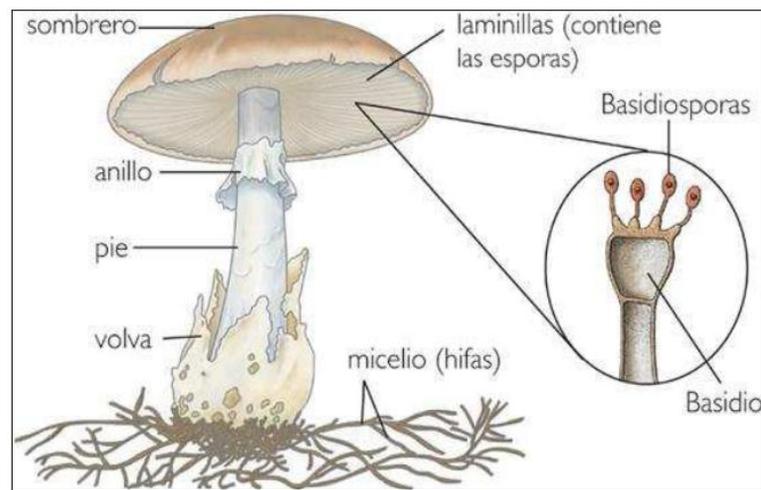


Figura No. 1. Estructura de una seta (Aguinaga, 2012)

El sombrero o píleo es la parte superior, generalmente tiene forma de paraguas, aunque pueden adoptar diversas formas. Bajo el sombrero se encuentra el himenio que es una membrana que envuelve a los elementos fértiles, de ahí que se

denomine a la seta como cuerpo reproductor. El himenio puede presentarse de diferentes formas: como láminas, tubos, pliegues, etc. En ciertas setas, cuando son jóvenes, el sombrero se ve envuelto en una telilla que se rompe cuando este aumenta de tamaño, quedando restos en el pie (estípote), dando lugar al anillo. La volva es como una envoltura en la parte inferior del pie (Gaitán *et al.*, 2006; Ardón, 2007).

Reproducción de los hongos

Los hongos se reproducen por esporas. Los hongos superiores poseen unas células madre localizadas en el himenio que son las encargadas de producir las esporas. En el caso de los Basidiomicetes a estas células madre se les denomina Basidios, mientras que las células madre en los Ascomicetos son los Ascos (Figura No. 2).

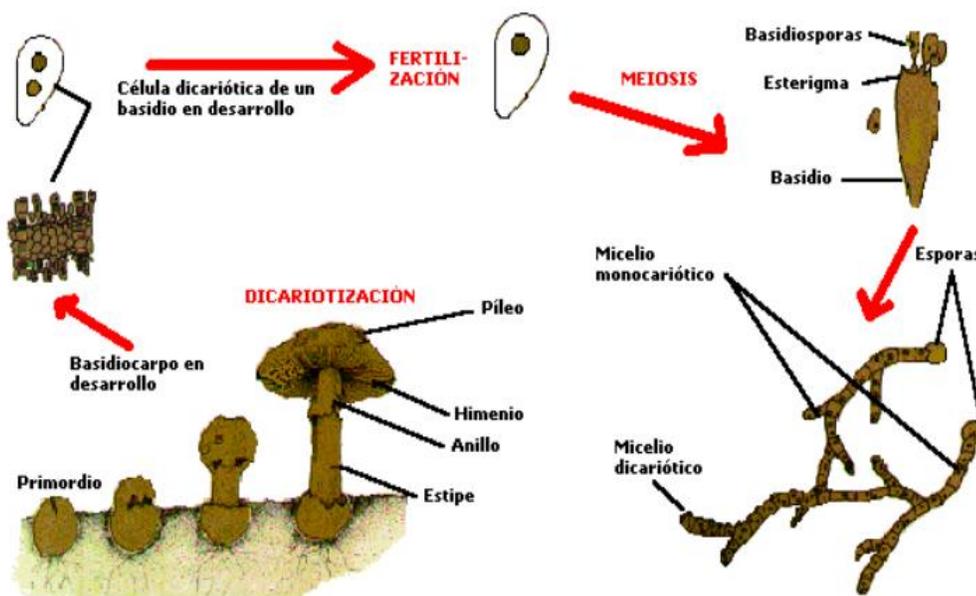


Figura No. 2. Ciclo biológico general de un hongo basidiomiceto (Ardón, 2004)

Las esporas de los basidios y de los ascos, son lanzadas al exterior para la propagación de la especie. Si la spora se deposita en un lugar cuyas condiciones sean favorables dará origen al micelio. Este crecerá bajo el suelo o entre la hojarasca, se ramificará y se entremezclará con los micelios de otras esporas. En el terreno donde la humedad y las condiciones del medio sean óptimas crecerá una seta que portará en su himenio los ascos o basidios que expulsarán al exterior las esporas, dando lugar de nuevo al ciclo biológico del hongo (Hernández y López, 2006; Ardón, 2004).

Hongos comestibles cultivados

El cultivo de hongos comestibles es una actividad productiva que no posee etapas o procesos que afecten al medio ambiente, por el contrario, en el se utilizan materiales de origen vegetal y animal (Hernández y López, 2006).

Clásicamente se han cultivado desde hace muchos años el champiñón y el shitake, el primero en casi todo el mundo y el segundo en los países asiáticos del este. Otros hongos que se cultivan a nivel comercial en el mundo son *Volvariella volvacea*, *Flammulina velutipes*, *Pholiota nameko*, *Auricularia fuscusuccinea*, *A. polytricha* y *Tremella fuciformis* (Rodríguez, 1996).

Son más de 50 especies de hongos comestibles que se cultivan o se pueden cultivar en el mundo en menor o mayor grado; de éstas, *Cantharellus cibarius*, *Coprinus comatus*, *Morcella esculenta*, *Boletus edulis*, *Hydnum repandum*, *Ustilago maydis*, *Agaricus bisporus*, *Lentinus edodes*, *Volvariella volvacea* y *Pleurotus ostreatus* son las más importantes, en dicho orden; aunque la producción de *P. ostreatus* poco a

poco van en aumento debido a su aceptación y al fácil cultivo de estos hongos (Martínez *et al.*, 2007). Las especies de hongos que se recomiendan cultivar en las regiones tropicales y/o subtropicales de América Latina, son: *Pleurotus ostreatus*, *P.djamour*, *Volvariella volvacea*, *Lentinus boryanus* y su equivalente asiático *L. edodes* que es de climas templados y *Auricularia fuscusuccinea*, además de *Lentinus lepideus*. (Guzmán, 1987).

Importancia de los hongos comestibles

Para desarrollar el cultivo de los hongos comestibles, es necesario realizar investigaciones que culminen en la adaptación y mejoramiento de tecnologías disponibles para la explotación racional de este recurso natural altamente potencial (Tablada, 1994).

El cultivo de los hongos comestibles es actualmente una actividad que se desarrolla en diversas regiones del mundo, como en los Estados Unidos, Europa y Asia. En América Latina, a pesar de la potencialidad que existe en la región para cultivar especies que crecen en forma silvestre y de la enorme tradición etnomicológica que existe para el consumo de los hongos comestibles, el cultivo de estos ha sido en poca escala (Martínez *et al.*, 2000).

Aproximadamente 15 especies de hongos, de varios géneros, son explotados comercialmente en diferentes países, 13 de los cuales se encuentran creciendo en forma silvestre en diferentes zonas de México por lo que podrían llegar a producirse en el país, en función a su bajo costo de producción, alto contenido proteico y su

obtención en grandes cantidades en un lapso corto de tiempo (Guzmán, 1987; Lizan, 1984).

Los hongos comestibles colaboran al enriquecimiento de los substratos vegetales haciendo asequibles los hidratos de carbono, albúminas, fermentos, vitaminas y elementos minerales, ya que en el proceso de su crecimiento el hongo degrada la lignina y la celulosa. Otro de los rasgos importantes del cultivo de hongos comestibles, es la posibilidad de la posterior utilización del substrato como abono orgánico, debido a que el micelio es fuente de fitohormonas y otras sustancias biológicamente activas (Grodzinskaya *et al.*, 2002).

Valor nutricional de los hongos comestibles

La calidad y cantidad de proteína que poseen los hongos comestibles es lo que les da el interés en su valor nutricional (Cuadro No. 1). Este, varía dependiendo de la especie, edad o estado particular de desarrollo, lapso de tiempo de cosecha y de las diferentes porciones del cuerpo fructífero (Wani *et al.*, 2010).

Cuadro No. 1. Contenido nutricional presente en los hongos frescos (Serafín *et al.*, 2005).

Contenido	Porcentaje
Agua	86-88
Proteína	2.0-5.0
Hidratos de carbono	3.0-5.0
Grasa	0.2-0.3
Minerales	0.8-1.0

A nivel alimenticio, los hongos comestibles, poseen el doble de contenidos de proteínas que los vegetales (Cuadro No. 2) y disponen de los nueve aminoácidos esenciales, contando con leucina y lisina, ausente en la mayoría de los cereales. Así mismo poseen altas cantidades de minerales, bajo contenido de calorías y carbohidratos. También se caracterizan por tener conocidas y reportadas propiedades medicinales, disminuir los niveles de colesterol en la sangre y poseer sustancias antioxidantes (Romero *et al.*, 2000). Tradicionalmente se ha considerado a los hongos como un alimento de alta calidad, con sabor y textura apreciable y sobre todo de alto valor nutritivo (Akyüz y Kirbağ, 2010). En la actualidad, los hongos juegan un papel importante en la alimentación del hombre al igual que la carne, pescado, frutas y vegetales (Martínez, 2012).

Cuadro No. 2. Contenido de proteína y perfil de aminoácidos esenciales de las setas, comparado con otros alimentos (Martínez, 2012).

Contenido										
Base seca		Base húmeda								
Producto	Proteína (%)	Aminoácidos esenciales (mg/100 g de hongo fresco)								
		Cis	Fen	Iso	Leu	Lis	Met	Tir	Tre	Val
Setas	21.70	28	111	82	139	126	35	219	106	112
Leche	25.20									
Huevo	11.1									
Carne de res	22.8									
Trigo	13.20									
Arroz	7.30									
Maíz	11.20									
Frijol negro	24.20									
Chile jalapeño	16.30									
Aguacate	7.10									
Naranja	5.00									

Cis: Cisteína; Fen: Fenilalanina; Iso: Isoleucina; Leu: Leucina; Lis: Lisina; Met: Metionina; Tir: Tirosina; Tre: Treonina; Val: Valina.

Producción de hongos comestibles

La producción de hongos comestibles inició como una auténtica biotecnología tradicional, basada en técnicas sencillas de propagación, hace aproximadamente 1000-1400 años en China, con el cultivo empírico de las “orejas de ratón” (*Auricularia* spp.) y del “shiitake” (*Lentinula edodes*). A través del tiempo, ha sido posible la incorporación y desarrollo de tecnologías que han mejorado substancialmente la producción comercial a gran escala no tan sólo de los hongos comestibles mencionados, sino también de otras especies potencialmente cultivables (Martínez *et al.*, 2007).

Producción mundial

En 1980, las cuatro especies de hongos comestibles más importantes por su cultivo eran *Agaricus bisporus* (champiñón), *Pleurotus* spp. (Seta), *Lentinula edodes* (shiitake) y *Volvariella volvacea* (Flores, 2012). Actualmente, la producción mundial supera los 7 millones de toneladas de hongos comestibles cultivados frescos por año, cuyo valor económico aproximado supera los 30 billones de dólares. La tasa promedio de incremento anual en la producción de hongos es superior al 11%. A nivel mundial, el champiñón (*Agaricus bisporus*) es el hongo comestible más importante con un nivel de producción superior a los 2 millones de toneladas métricas anuales, seguido por el shiitake (*Lentinula edodes*) con más de 1.5 millones de toneladas, y las setas (*Pleurotus* spp.) con alrededor de un millón de toneladas (Martínez *et al.*, 2007).

Producción nacional

Algunos datos en México reportan que la producción comercial de hongos comestibles cultivados es una actividad relevante (Martínez *et al.*, 2000). Se estima que los volúmenes de producción ascienden a más o menos 47,468 toneladas anuales de hongos frescos. Nuestro país es el mayor productor de Latinoamérica, ya que genera alrededor del 58.9 % de la producción total de esa región y lo ubica como el 16º productor a nivel mundial. La importancia ecológica de esta actividad económica radica en la utilización y reciclaje de más de 47,4000 toneladas anuales de subproductos agrícolas, agroindustriales y forestales. La mayor proporción (95.35 %) corresponde a los champiñones, seguido por las setas con 4.62 %, y el shiitake con 0.038 % (Martínez *et al.*, 2007).

Descripción del genero *Pleurotus*

El término seta es aplicado en México para referirse a los hongos del género *Pleurotus* (*Pleurotus ostreatus* y afines), pero estos hongos también son conocidos popularmente como orejas blancas, orejas de palo, orejas de cazahuate y orejas de izote (Gaitán *et al.*, 2006). Este hongo crece a partir del micelio (filamentos filiformes que se entretajan) se propaga en granos de cereales esterilizados (generalmente de centeno, trigo o mijo). Esta mezcla de cereal con micelio se llama “semilla” y se utiliza para inocular el sustrato para su cultivo (Shah *et al.*, 2004).

Hasta la fecha aproximadamente 70 especies de *Pleurotus* se han registrado y nuevas especies se siguen descubriendo. Estudios de compatibilidad han demostrado la existencia de once grupos interestériles en *Pleurotus* (*P. ostreatus*, *P.*

pulmonarius, *P. populinus*, *P. cornucopiae*, *P. djamor*, *P. eryngii*, *P. cystidiosus*, *P. calyptratus*, *P. dryinus*, *P. purpureo-olivaceus* y *P. tuber-regium*) (Shah et al, 2004).

El género *Pleurotus* comprende especies generalmente de color blanco, amarillento o rosado a veces grisáceo o de color oscuro. Su forma puede ser de embudo, pétalo de flor o concha de ostra. Con relación al estípite puede carecer de este o puede ser lateral o excéntrico y puede ser corto, mediano o largo. Las laminillas son longitudinalmente decurrentes sobre la base del estipe, con frecuencia anastomosadas transversalmente al nivel de la inserción del pie (Figura No. 3). Las esporas son de color blanco, crema o lila pálido, presentan una forma cilíndrica y son lisas. El género está distribuido en Europa, Asia, Australia y América. Es un hongo saprofito, crece sobre troncos, ramas o árboles muertos y algunas veces se encuentra en el suelo sobre raíces podridas, las cuales, generalmente son pobres en nutrientes y vitaminas (García, 1985).

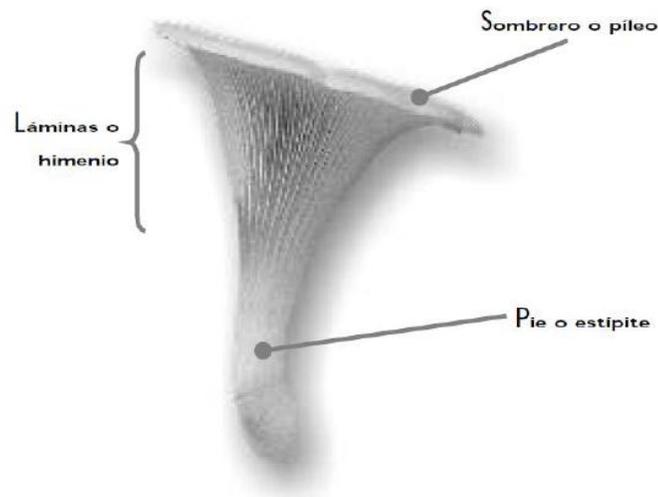


Figura No. 3. Cuerpo fructífero de *Pleurotus* spp. con sus partes principales (Flores, 2012).

Pleurotus ostreatus

Pleurotus ostreatus es un hongo saprofítico o parasito débil, pertenece a la clase *Basidiomycetes* (Cruz *et al.*, 2010; Varnero *et al.*, 2010). La palabra *Pleurotus* viene del griego “pleuro”, que significa formado lateralmente o en posición lateral, refiriéndose a la posición del estípote respecto al píleo. La palabra *ostreatus* en latín quiere decir en forma de ostra y en este caso se refiere a la apariencia y el color del cuerpo fructífero (Hernández y López, 2006).

La composición química de *P. ostreatus* es muy variable y depende del estado de desarrollo y la cepa utilizada; la variabilidad ocasionada por diferencias en el contenido de humedad, temperatura y la presencia de nutrientes.

Valor nutritivo de *Pleurotus ostreatus*

El valor nutritivo de *Pleurotus ostreatus* ha sido reconocido desde hace mucho tiempo. Esta especie constituye un alimento altamente proteico (Cuadro No. 3), posee un elevado contenido de Vitaminas (Tiamina (B1), Riboflavina (B2), Piridoxina (B6), Cobalamina (B12), Ácido Ascórbico (C), Niacina, Ácido Nicotínico y Ácido Pantoténico); y actúa como una fuente importante de Calcio y Fósforo (Macaya, 1998). Aunque su contenido de lípidos es relativamente bajo, presenta ácidos grasos esenciales como el Ácido Oleico (79.4 %), Ácido Palmítico (14.3 %) y el Ácido Linoléico (6.3 %). *P. ostreatus* contiene todos los aminoácidos esenciales, sobresaliendo su alto contenido de Isoleucina, Valina, Lisina y Treonina (Ocaña *et al.*, 1996). Además de su valor nutritivo, *P. ostreatus* posee enzimas específicas capaces de degradar lignina, fenoles y polifenoles hasta un 60 % del contenido

original, por lo que es una de las especies más utilizadas en la investigación de residuos aptos para su cultivo (Varnero *et al.*, 2010; Calderón, 2009; Sánchez *et al.*, 2008; Ocaña *et al.*, 1996; Garzón y Cuervo 2008; Garcés *et al.*, 2005).

Por otro lado *P. ostreatus* tiene una gran cantidad de esteroides, ergosterol es el más importante en alrededor de un 70 % del total. El alto contenido de ergosterol en *Pleurotus ostreatus* puede variar significativamente dependiendo de las condiciones de manipulación, este es transformado en vitamina D por acción de la luz de los rayos UV al ser deshidratados al sol. Por lo que las setas deshidratadas de esta forma, son una buena fuente de esta vitamina, muy importante para la absorción de calcio, sobre todo del fosfato de calcio fundamental para el buen desarrollo de los huesos y dientes (Ramos, 2007).

Cuadro No. 3. Contenido nutricional del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* (Hernández y López, 2006)

Sustancia	%
Agua	92.20
Materia seca	7.80
Ceniza	9.50
Grasa	1.00
Proteína bruta	39.00
Fibra	7.50
Fibra cruda	1.40
Nitrógeno total	2.40
Calcio	33 mg/100 g
Fosforo	1.34 mg/100 g
Potasio	3793 mg/100 g
Hierro	15.20 mg/100 g
Acido ascórbico. Vitamina C	90-144 mg/100 g
Tiamina. Vit. B1	1.16-4.80 mg/100 g
Niacina. Vit. B5	46-108.7 mg/100 g
Acido fólico	65m g/100 g

Como todo ser vivo, este hongo es susceptible a cambios en la temperatura, humedad, ventilación y luz, entre otros y que son precisamente, los factores ambientales más importantes que se deben considerar y controlar a lo largo del proceso de cultivo de los hongos. Las condiciones varían según la etapa del proceso y según el hongo, por lo que es importante conocer las necesidades específicas de la especie a cultivar (Calderón, 2009).

Residuos lignocelulósicos

Los residuos orgánicos producidos son una fuente de contaminación ambiental debido a que los procesos de biodegradación natural no funcionan a la misma velocidad con que se generan dichos desperdicios, estos se acumulan llegando inclusive a convertirse en un peligro para el equilibrio del ecosistema, además generalmente los métodos para desechar estos residuos incluyen quemarlos en el sitio, enterrarlos o botarlos en terrenos sin control alguno, generándose contaminación ambiental (Astaiza, 2004).

Dentro de los residuos orgánicos se encuentran los materiales lignocelulósicos que pueden clasificarse como desperdicios o esquilmos agrícolas (pajas, rastrojos, etc.), residuos agroindustriales (bagazo de caña, pulpa de café, etc.), residuos forestales y desechos lignocelulósicos urbanos (desperdicio de vegetales de frutas y verduras en mercados, etc.) (Alfaro y Nambo, 2008; Onuoha, 2007).

Los materiales lignocelulósicos están constituidos esencialmente por celulosa (45-60 %), hemicelulosa (15- 50 %) y lignina (10-30 %). La celulosa junto con la hemicelulosa son los componentes más abundantes en los materiales lignocelulósicos. A la celulosa se le considera inclusive como el material renovable

más abundante en la biosfera. El porcentaje de cada uno de estos polisacáridos varía dependiendo del tipo de vegetal, del tejido y edad del mismo (Prinsen, 2010; Garzón y Cuervo, 2008).

Sustratos utilizados para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*

Se han utilizado una gran cantidad de sustratos para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. Los materiales más comúnmente utilizados como fuente de carbono incluyen paja de trigo, de avena, de centeno, de sorgo y de algodón, virutas de madera y cortezas, subproductos de algodón, heno, tallos de plantas de maíz, plantas y desperdicios de café, tusa de mazorca, hojas de té, cascaras de maní, harina de soya, cascaras de semillas de girasol, desperdicios de alcaucil, desperdicios de yuca, agave, residuos de la industria papelera, hojas de plátano, cactus, yuca, pulpa de cardamomo, fibra de coco, hojas de limón, tallos de menta, paja de arroz, bagazo de caña, entre otros (Hernández y López, 2006; Baena, 2005). También se pueden realizar cultivos sobre bloques o troncos sintéticos. Las ventajas principales de utilizar estos sustratos en lugar de la producción en troncos naturales, es que los tiempos se acortan y la eficiencia aumenta. Las eficiencias varían de 75 a 125 % en troncos sintéticos (Hernández y López, 2006).

Nieto y Chegwin (2010), utilizaron como sustrato para el cultivo de *Pleurotus*, mezclas de salvado, aserrín, CaCO_3 , viruta y melaza; mezclas de caña, frijol y cáscara de cacao; mezclas de tallos y vainas de frijol, capacho, tallos y hojas de maíz, tamo de arroz, cascarilla de arroz y CaCO_3 ; mezclas de bagazo de caña, tamo de maíz y tamo de frijol; mezclas de bagazo de caña, tamo de frijol y cáscara

de cacao. Llegando a la conclusión de que la variación de las características nutricionales depende tanto del sustrato empleado como de la especie cultivada.

Se utilizaron como sustratos en el cultivo de *Pleurotus ostreatus*, hojas de plátano, paja de trigo, paja de cebada, pajilla de frijol y rastrojo de maíz. La mayor eficiencia biológica (EB) se obtuvo en el sustrato de paja de trigo con 129 %, la hoja de plátano deshidratada con 123 %, y la pajilla de frijol obtuvo la EB más baja de 82 % (Romero *et al.*, 2000).

Ciappini (2004), utilizó paja de trigo y tronco de álamo como sustratos para cultivar *Pleurotus ostreatus*, analizó si existen diferencias en cuanto a su aspecto y composición, llegando a la conclusión de que nutricionalmente *Pleurotus ostreatus* aporta pocas calorías, tiene un alto contenido de proteínas y es bajo en grasas.

Rodríguez *et al.*, (2006), cultivaron tres cepas de *Pleurotus* spp. (IBUG-4, IBUG-8, CS-1) sobre tres sustratos lignocelulósicos: rastrojo de maíz, rastrojo de sorgo forrajero y pasto bermuda (*Cynodon dactylon* (L) Pers.). Con la cepa IBUG-8, cultivada en pasto, se obtuvo la mayor producción de carpóforos, seguido por el rastrojo de maíz y rastrojo de sorgo. Se efectuó un análisis de proteína de los carpóforos y sustratos. Los resultados demostraron que se puede producir alimento de alto valor proteico, mediante el cultivo del hongo comestible del género *Pleurotus*, en condiciones ambientales favorables.

Rivera *et al.*, (2005), usaron como sustratos para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* pulpa seca de café, el aserrín de tallo del cafeto (*Coffe arabiga*, var.

Colombia) y una mezcla 1:1 de éstos. A cada sustrato le agregaron 0,1% de carbonato de calcio. Analizaron el proceso de generación del Dehidroergosterol en los diferentes sustratos y los resultados demostraron que el valor nutricional de los hongos cultivados en desechos agroindustriales del café puede verse afectado por la presencia de polifenoles, ya que éstos pueden generar una disminución del contenido de ergosterol, lo cual hace necesario que se determine el contenido de estas sustancias en el medio y que se prevea la posible disminución del contenido de ergosterol, ya que la degradación hasta dehidroergosterol hace que el hongo sea descartado como una posible fuente de vitamina D₂.

Montoya y Restrepo (2006), realizaron un estudio corto sobre la capacidad de síntesis de proteína del hongo *Pleurotus ostreatus* sobre uno de los residuos de la Industria Licorera de Caldas, uva pasa y algarrobo, en su fase vegetativa. Se determinó la síntesis de biomasa celular a partir de la cuantificación de nitrógeno orgánico durante la colonización del hongo sobre el sustrato y un análisis bromatológico después de culminarse la fase vegetativa. Los resultados demostraron que la capacidad de síntesis de nitrógeno sobre el sustrato de algarrobo y uva pasa se incrementó y por ende incrementaron el contenido de proteína.

Varnero *et al.*, (2010) estudiaron el potencial de distintos residuos forestales como sustrato para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*. Para ello, se analizaron la composición química de estos residuos que fueron: astillas de álamo, astillas de eucalipto, mezcla de paja de trigo y eucalipto, y paja de trigo como testigo. Los resultados obtenidos indicaron que todos los sustratos, principalmente paja de trigo y

mezcla paja de trigo más eucalipto son aptos para el cultivo de *Pleurotus ostreatus*. El nivel proteico de este hongo fue elevado en todos los sustratos y la relación carbono/nitrógeno de los mismos disminuyó después de cosecha.

Patil *et al.*, (2010) analizaron el valor nutricional de *Pleurotus ostreatus* cultivado en paja de soja, paja de arroz y paja de trigo. Obtuvieron que el máximo rendimiento y el máximo contenido de proteínas se registró en la paja de soja.

Requerimientos nutricionales de *Pleurotus ostreatus*

En cuanto al valor nutritivo hay que mencionar que su contenido de agua es muy alto (90 a 95), aumentando con la edad y disminuyendo por estancia en el frigorífico. Podemos decir que en 100 g de *Pleurotus ostreatus* fresco hay además del agua 0.2 a 0.3 g de grasas, 0.5 a 1 g de compuestos minerales (García, 1985).

El contenido de fibra dietética aproximado en los cuerpos fructíferos secos de esta seta es 11 % de celulosa, 47 % de fibra total y 28 % de hemicelulosa. Además contiene 367 kilocalorías, 10 % de proteína cruda, 81 % de carbohidratos y 15 % de cenizas (Serafín *et al.*, 2005).

La mayoría de las especies del género *Pleurotus* se caracterizan por requerir principalmente fuentes de carbono solubles como la glucosa o insolubles como la celulosa; Nitrógeno obtenido básicamente de compuestos orgánicos como aminoácidos o peptona y en raras ocasiones pueden utilizar compuestos inorgánicos como nitratos o nitritos. Por otro lado, los requerimientos de vitaminas y minerales son variados y no indispensables para algunas especies (Guarín y Ramírez, 2004).

Además de nutrientes se requieren condiciones ambientales como: temperatura de 25- 35 °C, humedad relativa entre el 60-95 %, luz en intensidades bajas, desde 60nm aproximadamente (penumbra) para obtener las fructificaciones y oscuridad para el crecimiento micelial. La presencia de CO₂ estimula el crecimiento del micelio y con bajas concentraciones se inicia la fructificación. Por último, el pH más adecuado está entre el 4.5 a 6.5, dependiendo de la especie y de la cepa (Guarín y Ramírez, 2004; Astaiza, 2004; Toledo, 2008).

Temperatura: dependiendo de la cepa puede crecer bien entre 16 y 28 °C para el crecimiento del micelio. Por encima de 40 °C puede ocurrir la muerte del micelio, lo mismo que temperaturas por debajo de 4°C (Toledo, 2008).

Humedad del sustrato: debe mantenerse entre 60 y 75 % de humedad y con buena aireación (Toledo, 2008).

Humedad relativa: se requiere entre un 70 y 90 % en el ambiente en sus dos fases.

Luz y aire: requiere de luz y renovación de aire en la fase de fructificación. El crecimiento del micelio se desarrolla con concentraciones de 20 000 ppm de CO₂ y aun a 30 000 ppm. es necesario hacer incisiones en las bolsas de dos a tres días después de la siembra (Toledo, 2008).

Para evitar que el hongo *P. ostreatus* sea contaminado se debe tener un control estricto de la humedad del sustrato, además de una asepsia total. Es necesario realizar incisiones en las bolsas además de realizar eventuales cambios de oxígeno con extractores de aire, o bien mediante ventiladores (Baena, 2005).

Proceso de producción de *Pleurotus ostreatus*

El proceso de producción de hongos comestibles consta de etapas fundamentales que son: preparación del sustrato, pasteurización, siembra e incubación, fructificación y la cosecha (Calderón, 2009).

Las pajas se cortan en trozos de 2-4 cm, se humedecen hasta que contienen 70-80 % de humedad; esto se consigue por inmersión durante 24 horas en un depósito lleno de agua, o regando los montones por aspersión durante varios días (García, 1984).

Pasteurización

La pasteurización es una actividad que tiene por función disminuir la cantidad de organismos, sobre todo nocivos, que pueden competir con el hongo en la utilización del espacio y de los nutrientes. Ésta es una actividad que prepara al sustrato para una eficaz colonización por el hongo. La pasteurización puede darse por medio de un proceso de composteo durante la preparación del sustrato, de fermentación, o mediante un tratamiento químico o térmico, después de haber mezclado y homogenizado los ingredientes (Morales, 2007; García, 1984).

Una vez que el sustrato recibió el tratamiento adecuado, de remojo en el caso de las pajas y rastrojos o fermentación en bagazos, se debe de realizar una desinfección. La pasteurización tiene como objetivo la eliminación parcial de microorganismos (mohos, levaduras y bacterias), presentes en el sustrato y que en un momento dado si no se eliminan pueden competir con el micelio del hongo, causando graves contaminaciones (Morales, 2007).

La pasteurización del sustrato se puede efectuar principalmente por dos métodos: a) con agua caliente, b) con vapor; el primer método es el más utilizado en el cultivo

de *Pleurotus*, ya que la técnica es sencilla y no requiere de equipo sofisticado para la realizarla. El procedimiento es el siguiente: un tambo metálico de 200 litros se llena aproximadamente $\frac{3}{4}$ partes de su capacidad; con un quemador de alta presión para gas butano se eleva la temperatura del agua hasta llegar a 80° C. Una vez que alcanzó esa temperatura, el substrato se sumerge en el agua caliente (Gaitán *et al.*, 2006; Arrúa y Quintanilla, 2007; Contreras *et al.*, 2005).

El método más conocido de pasteurizar, consiste en la inmersión de la paja seca en agua caliente con una temperatura de 70 a 90 °C durante media hora, para matar insectos, bacterias, hongos, parásitos, semillas, etc. que pueda contener y luego podría aparecer en el cultivo (García, 1984; Arrúa y Quintanilla, 2007). Pasando este tiempo la paja se deja escurrir en un lugar limpio para proceder a la siembra; haciendo también referencia de que con este método no se requiere la hidratación previa, ya que el conocimiento tiene esta función, recomienda también agregar cal hidratada al agua con una proporción de 0.25 % del volumen de agua (Morales, 2007).

Siembra o inoculación del substrato

La siembra se refiere a la mezcla homogénea en condiciones de asepsia del inóculo o semilla con el substrato. Para una siembra eficiente debe tomarse en cuenta, además de la cepa y del substrato, el estado fisiológico del organismo, la tasa de inoculación y una higiene rigurosa (Beetz y Kustudia, 2004; Macaya, 1998).

La siembra consiste en mezclar el micelio con la paja o sustrato ya preparado, del modo más uniforme posible, tratar de no frotar los granos ni restregarlos para desmenuzar el conjunto totalmente, pues se corre el riesgo de destruir el micelio. Hay dos métodos de siembra de *Pleurotus*: a) en capas, b) mezclar el inóculo con el

substrato (Silva *et al.*, 2010; García, 1985; Romero, 2000). La cantidad de semilla que se inocula, va de acuerdo con el peso húmedo del sustrato y es del 2 al 5 %, ó del 8 al 20 % del peso seco (García, 1984).

Incubación del micelio en el sustrato

La incubación es la etapa que permite la colonización del sustrato por el hongo, de preferencia a temperatura y humedad óptimas, y en la oscuridad. Durante esta etapa, se debe proporcionar al hongo una temperatura constante y acorde con sus requerimientos para que la colonización se lleve a cabo con la tasa de crecimiento más alta posible (Arriaga y Morales, 2009).

Durante la incubación, cuatro o cinco días después de haber efectuado la siembra, se hacen de 20 a 40 perforaciones perfectamente distribuidas (con una aguja o navaja estéril) en la parte superior de la bolsa de polietileno y de preferencia sin tocar al sustrato. Esto se hace porque inicialmente se requiere una concentración alta en CO₂ para estimular el crecimiento micelial (hasta niveles cercanos al 25 %), pero pasados estos niveles, el CO₂ limita el desarrollo y es necesario facilitar el intercambio con aire fresco (Ramos, 2007).

Se necesita un área exclusiva para la incubación, con la finalidad de controlar la luz, temperatura, ventilación y humedad del ambiente (Ramos, 2007).

El hongo inicia su crecimiento durante las primeras 24 horas, crece poco porque se tiene que adaptar y empezara un crecimiento acelerado durante las 48 horas. A los tres días se pueden reconocer los signos de expansión y son los siguientes: Hay un avance inicial claro y vigoroso del micelio sobre el sustrato; el sustrato adopta un color blanco y un olor agradable (Arriaga y Morales, 2009).

La temperatura del sustrato debe mantenerse de 24 a 27 °C a esta temperatura favorece más el crecimiento del micelio, a menos de 5 °C no crece, a 10 °C bajo cero muere, y por encima de 35 a 40 °C suele morir (Curveto *et al.*, 2005).

La incubación y expansión del micelio dura de 10 a 20 días, manteniéndolo en un local adecuado de 18 a 20 °C y sacarlo después de estos días al área de fructificación (Cruz, 2001).

Una vez que el micelio ha cubierto totalmente al sustrato es necesario trasladar las bolsas del área de fructificación a una zona destinada al desarrollo y producción de los carpóforos (Cruz, 2001).

Crecimiento y desarrollo de los carpóforos

Cuando el micelio ha crecido suficientemente sobre el sustrato y las condiciones del medio ambiente lo permiten (temperatura, luz, humedad relativa, cantidad de oxígeno y gravedad), las hifas se agregan para formar cuerpos fructíferos. Los mecanismos que dirigen y regulan la formación de cuerpos fructíferos no son conocidos en la actualidad y resultan aún difíciles de explicar; sin embargo es claro que su desarrollo requiere de una modificación del comportamiento normal, invadiendo del micelio vegetativo, por otro en el cual las hifas no tengan un crecimiento divergente, sino que converjan para formar un órgano diferenciado (Alfaro y Nambo, 2008).

En el área de fructificación deberá de tener condiciones semejantes a las que se presentan cuando el hongo se desarrolla en su medio ambiente natural, por lo cual es importante controlar los factores de ventilación, iluminación, temperatura y humedad ambiental (Guarín y Ramírez, 2004).

El periodo de transición entre el crecimiento del micelio y la producción de cuerpos fructíferos, se le llama inducción; en este periodo el micelio al recibir el estímulo de la

temperatura, oxígeno, humedad y luz, se agregan entre sí y se le llama agregados miceliales, que son el inicio de los próximos cuerpos fructíferos. Primero se forman puntos de crecimiento del micelio, después aumentan de tamaño hasta que se reconocen claramente como cabezas de alfiler. En este momento termina el periodo de inducción y el cuerpo fructífero empieza a crecer, entonces el micelio termina de crecer vegetativamente y empieza la fase reproductiva (Ramos, 2007).

De los 14 a 22 días de la siembra, los primordios empieza a aparecer, entonces se quita la bolsa para dar lugar a la fructificación; si esta práctica no se lleva a cabo los primordios se dañan al salir, después los cuerpos fructíferos se desarrollan en un periodo de 4 a 7 días (Morales, 2007).

En la etapa de fructificación la instalación o local debe tener una temperatura de 10 a 28°C con una humedad relativa de 80 a 95 % (Morales, 2007). Se debe mantenerse bien ventilado para evitar que la concentración de CO₂ se incremente y provoque la deformación de los hongos (Morales, 2007).

La humedad del aire es un factor de suma importancia para la adecuada fructificación de las especies de *Pleurotus*. Dado que los cuerpos fructíferos están formados por un alto contenido de agua y su estructura hifal no les permite retener la humedad en condiciones adversas, un balance adecuado entre la humedad ambiental y el contenido de humedad del hongo es necesario. En cuanto al riego de los sustratos, ha de ser suficiente para que permanezcan húmedos (70-75 % de humedad), pero sin pasarse, pues el exceso puede favorecer ataque de la bacteria *Pseudomona*. Las gotas de agua pueden ser lo más finas posibles y si se riega cuando las setas están creciendo, conviene que después de cada riego se aumente

un poco el aire fresco para que se sequen las gotas que hayan caído sobre los sombreros.

De todas formas durante los días de cosecha conviene bajar la humedad al 80 % - 85 % (Cruz, 2001).

Pleurotus ostreatus no puede fructificar en oscuridad continua. Para poder hacerlo requiere ser expuesto a longitudes de onda inferiores a 600 nm, sin embargo la sensibilidad tanto de la cantidad como de la calidad de la luz depende de las especies; la sensibilidad a la luz es máxima desde momentos previos hasta horas después de que el micelio ha colonizado el substrato (Bermúdez *et al.*, 2003).

Cosecha

Para cosechar se debe observar que los carpóforos alcancen el mayor tamaño posible; no se debe permitir que el borde del píleo se ponga totalmente plano o comience a enrizarse hacia arriba porque se demerita la calidad y se propicia la diseminación de esporas. La cosecha se hace cortando el estípite con un cuchillo, justo a la base del tallo, en la unión con el substrato; aunque en algunos lugares se prefiere tomar delicadamente los hongos con la mano, sin dañarlos y sin producir hoyos en el substrato (Cruz *et al.*, 2010).

Para recoger las setas, deben tener el sombrero bien abierto, pero todavía convexo; se hacen en grupos, sin estropear el micelio, con un cuchillo de buen filo (García, 1985).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área experimental

La presente investigación se llevo a cabo en el periodo Agosto-Diciembre del 2012, una parte se llevo a cabo en el laboratorio de Fisiología Vegetal pero la mayor parte se llevo a cabo en un cuarto estéril, ambos se encuentran en el Departamento de Fisiología Vegetal, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en la Calzada Antonio Narro, Col. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, cuyas coordenadas son: Latitud 25°22' N y Longitud 101°00' W y, una altitud de 1742 msnm.

Características climáticas

El cuarto se acondiciono con una temperatura que oscilaba entre los 20 y 23°C y una humedad relativa que se encontraba entre los 65 y 80 %.

Procedimiento

Acondicionamiento del área experimental

El cuarto donde se realizó el experimento fue acondicionado de la siguiente manera: primeramente se desinfecto bien el área utilizando jabón y cloro comercial, esto con la finalidad de eliminar cualquier microorganismo que pudiera contaminar las bolsas del sustrato inoculado con el hongo, después se colocaron 3 tablas en la parte del techo del cuarto para que sirvieran de soporte, a esas tablas se le pusieron armellas, estas sirvieron para colocar la rafia en la que se colgaron las bolsas de paja inoculadas con el hongo. En la parte superior de la puerta se coloco un plástico

negro ya que se encontraba una ventana por donde entraba luz. En el cuarto también se pusieron tres lámparas para cuando se necesitara la luz, además también fue colocado un Timer para que controlara el tiempo de luz.

Sustratos utilizados

La paja de sorgo y la paja de pasto Bermuda se utilizaron como sustratos lignocelulósicos para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*, para obtener fructificaciones. Estas pajas fueron compradas en una forrajera de Saltillo, Coahuila.

Preparación del sustrato

Cada una de las pajas fue cortada en trozos pequeños de un tamaño de 1-2 cm con una guillotina que se encontraba en el laboratorio de Fisiología Vegetal. Simultáneamente a la actividad anterior, se puso a calentar agua en una tina a una temperatura de 90 a 100 °C, posteriormente cada paja fue colocada dentro de la tina para llevar a cabo la esterilización durante una hora, después de esto, se dejó drenar y enfriar durante 1 hora hasta que se igualara con la temperatura del ambiente. Después de que las pajas estaban drenadas se procedió a sumergirlas en una mezcla que contenía cebolla, ajo y orégano, todos estos compuestos fueron molidos con la ayuda de una licuadora que se encontraba en el laboratorio y después puestos en un recipiente que contenía de 2 a 3 litros de agua en donde fueron colocadas cada una de las pajas. Una vez que se habían impregnado bien, las pajas fueron retiradas del recipiente y de nuevo fueron puestas a drenar para así poderlas volver a mezclar con las soluciones nutritivas.

Preparación de las mezclas de las soluciones nutritivas

Los compuestos que se aplicaron a las pajas fueron: ergosterol y una mezcla de tres aminoácidos (Glicina, Histidina y Tirosina). En tres recipientes de seis litros cada uno, se prepararon soluciones que contenían $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ de ergosterol; en otro $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ de aminoácidos; en otro $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ de ergosterol + $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ de aminoácidos.

Cada una de las pajas fue dividida en cuatro partes iguales para que cada parte pudiese mezclarse con cada compuesto, quedando una parte sin agregarle nada. Esto se hizo con ayuda de una cubeta plástica donde se colocaron 2 litros de cada compuesto y fue colocada una parte de cada paja. Después de transcurridos cinco minutos se procedió a retirar la paja de la solución y se colocó en un recipiente seco para que drenara el exceso de agua.

Una vez listos todos los sustratos se procedió a pesarlos, esto se hizo con la ayuda de una balanza (TORREY MOD L-EQ 5/10), se pesaron 750 gramos de sustrato y fueron colocados en bolsas plásticas de 2 kg. Por cada paja se pesaron 12 bolsas de sustrato.

Siembra del micelio

La siembra se realizó el 27 de Octubre del 2012. Se utilizó semilla de sorgo inoculada con *Pleurotus ostreatus* (micelio de hongo), el cual fue comprado en una empresa comercializadora de micelio llamada “Tus Hongos”, en Pachuca, Hidalgo, México. La cantidad de micelio por bolsa fue de 23 gr, en total se necesitó 1 kg de micelio. El llenado de las bolsas se realizó alternando el sustrato con el micelio, ósea colocando una capa de sustrato y una capa de micelio y así sucesivamente hasta

llenar cada unidad experimental, esto se hizo bajo condiciones asépticas para evitar contaminación, después se amarraron las bolsas, se etiquetaron con respecto al número de tratamiento y repetición y se llevaron al cuarto de incubación donde se colocaron al azar en las rafias; a las 24 horas se hicieron agujeros a las bolsas con un sacabocados, con la finalidad de proporcionar oxígeno al micelio.

Incubación

Durante esta fase el cuarto permaneció a oscuras. Las bolsas fueron llevadas al cuarto de incubación previamente desinfectado situado en el Departamento de Fisiología Vegetal el cual se encontraba a una temperatura que oscilaba entre los 20 y 23°C y humedad relativa de 80 % y fueron distribuidas al azar, a cada bolsa se le abrieron 12 pequeños agujeros con un sacabocados para que tuvieran aireación, las bolsas permanecieron ahí 20 días sin ser abiertas, estas fueron revisadas y movidas diariamente para mayor homogeneidad y aireación. El micelio empezó a invadir primeramente la paja de sorgo seguido por la paja de pasto. Después de los 20 días de siembra el micelio había invadido totalmente la paja de sorgo y de los 25 días la paja de pasto. Esta fase se dio por terminada cuando en las revisiones se observó que el micelio había colonizado toda la superficie de los sustratos es decir cuando el sustrato se veía totalmente cubierto por una masa blanquecina y algodonosa y prosiguió a la fase de fructificación.

Fructificación

Una vez que el micelio había colonizado todo el sustrato se le hicieron a cada bolsa unos pequeños cortes horizontales y verticales en todas las superficies para

aumentar la aireación y promover mayor fructificación. Los primeros cuerpos fructíferos empezaron a salir después de los 20 días de la siembra para la paja de sorgo y después de los 25 para la paja de pasto. En esta etapa fue donde empezaron las aspersiones las cuales se hicieron con un atomizador manual y estos se realizaban diario, además sobre el piso del cuarto se colocaron unos recipientes de unisel con agua esto para ayudar a mantener la humedad relativa en el rango necesario. Al igual en esta etapa fueron prendidas las luces del cuarto para acelerar mayor fructificación, aquí se conecto un Timer para darle 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

Cosecha

La cosecha se realizó cuando los hongos tenían un tamaño comercial (de 5-7 cm), con el sombrero bien abierto, estas se hicieron manualmente desprendiendo los cuerpos fructíferos de las bolsas de sustrato con una navajita. Para la paja de sorgo, la primera cosecha se realizo a los 23 días después de la siembra, la segunda cosecha se realizó a los 15 días después de la primera cosecha, la tercera y última cosecha se realizó a los 8 días después de la segunda cosecha; para la paja de pasto la primera cosecha se realizó a los 28 días después de la siembra, la segunda a los 13 días después de la primera cosecha, la tercera y última cosecha se realizo a los 10 días después de la segunda cosecha. Todos los hongos que se iban cortando se pesaban en una bascula (TORREY MOD L-EQ 5/10) y en una matriz de datos se anotaba a que tratamiento correspondía, los gramos que pesaban y la fecha en que eran cortados, posteriormente se guardaron en el refrigerador para la toma de

muestras. Una parte de las muestras fue utilizada para secado y la otra parte se conservó en un refrigerador.

Secado de las muestras

Del primer corte que se realizó se tomó una proporción de hongos por cada tratamiento y estos fueron picados en pedacitos y después fueron puestos a secar, esto se hizo con la ayuda de una estufa de secado de la marca Felisa MOD 293A. Para colocar los hongos en la estufa de secado se necesitaron charolas de papel aluminio las cuales se hicieron manualmente y se etiquetaron con el número de tratamiento. Las muestras se dejaron en la estufa durante 48 horas, después se sacaron de la estufa y fueron puestas en recipientes marcados de nueva cuenta con el número de tratamiento. Estos permanecieron guardados hasta que se hizo el análisis de proteínas.

Diseño experimental

El presente trabajo se estableció usando un diseño completamente al azar con arreglo factorial de A x B, donde A fue el tipo de sustrato utilizado y B fueron los compuestos añadidos, con un total de 8 tratamientos y 3 repeticiones. Los tratamientos a utilizar fueron: T1 paja de sorgo; T2 paja de sorgo + ergosterol + aminoácidos; T3 paja de sorgo + aminoácidos; T4 paja de sorgo + ergosterol; T5 paja de pasto; T6 paja de pasto + ergosterol + aminoácidos; T7 paja de pasto + aminoácidos, T8 paja de pasto + ergosterol. Los resultados obtenidos se analizaron mediante el paquete estadístico de la UANL.

Variables evaluadas

Parámetros de productividad

Para evaluar la productividad, se registró el tiempo de corte de la primera, segunda y tercera cosecha de cuerpos fructíferos maduros, así como el peso de los hongos obtenidos por bolsa y por día de corte y se cuantificaron los parámetros de productividad total de la forma siguiente.

Rendimiento (peso fresco): Se determinó sumando el peso de todos los cuerpos fructíferos de cada tratamiento, por cada cosecha, esto se hizo con la ayuda de una balanza TORREY MOD L-EQ 5/10.

Eficiencia Biológica (%EB): se obtuvo por la siguiente ecuación:

$$EB (\%) = \frac{\text{Peso total de hongos frescos cosechados (g)}}{\text{Peso del sustrato seco (g)}} \times 100$$

Donde el peso del sustrato seco se obtuvo por diferencia con respecto a la humedad del sustrato.

Tasa de Producción (%TP): Esta se determinó al dividir la eficiencia biológica por el período productivo (T), que comprende número de días transcurridos de la siembra o inoculación del sustrato hasta alcanzar la tercera cosecha. En este sentido la tasa de producción nos indica la eficiencia biológica diaria. Con la siguiente ecuación:

$$TP (\%) = \frac{EB (\%)}{\text{Ciclo de producción}}$$

Análisis bromatológico

Los cuerpos fructíferos de la primera cosecha por cada tratamiento se desmenuzaron y dejaron secar a temperatura ambiente durante 48 horas, una vez secos se molieron hasta convertir en polvo para realizar el análisis proximal.

Proteína Cruda. La determinación de nitrógeno total se hizo por el método Micro-Kjeldahl (AOAC, 1990) (Anexo 1). La proteína total presente en los cuerpos fructíferos se evaluó considerando la conversión del factor de $N \times 4.38$. Para la determinación se utilizaron 0.050 g del hongo en peso seco y desgrasado. La corrección de la proteína $N \times 4.38$ en lugar de $N \times 6.25$, es consecuencia del nitrógeno (N) no proteico contenido en la pared celular quitinosa de los hongos, el cual es digerido y detectado en el método Kjeldahl.

Contenido de vitamina C. Este se determinó por el método de valoración del 2,6-dicloroindofenol. (AOAC, 967.21) (Anexo 2). Para la determinación se utilizaron 20 g del hongo en peso fresco.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros de productividad

Primeramente se presentan los resultados de los parámetros cuantitativos de productividad evaluados, estos fueron: Rendimiento (g), Eficiencia Biológica (%EB) y Tasa de Producción (%TP). En el Cuadro No. 4 se muestra la significancia que tubo cada parámetro estudiado según el análisis de varianza y comparación de medias aplicado a este experimento.

Cuadro No. 4. Análisis de varianza y comparación de medias de los parámetros de productividad del hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm cultivado en dos tipos de sustrato y fortificado con diferentes compuestos.

Tratamientos	Rendimiento (g) **	Eficiencia biológica (EB) **	Tasa de producción (TP) **
P. Sorgo	435.00 A ⁺	217.50 A	4.18 A
P. Sor. + Erg. + Aa	387.67 A	193.83 A	3.72 A
P. Sor.+ Aa	308.33 AB	154.17 AB	2.97 AB
P. Sor. + Erg.	370.00 A	185.00 A	3.56 A
P. Pasto	285.00 B	101.78 B	1.78 B
P. Pas. + Erg. + Aa	277.67 B	99.17 B	1.74 B
P. Pas. + Aa	259.33 B	92.62 B	1.62 B
P. Pas. + Erg.	315.66 AB	112.74 B	1.98 B
C.V. %	9.04	9.99	10.26

*= Valores medios con la misma letra son estadísticamente iguales. (DMS \leq 0.01); **= Diferencia altamente significativa; C.V.= Coeficiente de Variación; P= Paja; Sor= Sorgo; Pas= Pasto; Erg= Ergosterol; Aa= Aminoácidos.

RENDIMIENTO (peso fresco)

El análisis de varianza y comparación de medias para la variable rendimiento mostró diferencias altamente significativas en todos los tratamientos. De los dos sustratos

evaluados el que aportó el mayor rendimiento fue el tratamiento compuesto por paja de sorgo, con un valor de 435 g, en comparación con la paja de pasto que solo aportó 285 g de cuerpos fructífero, en lo que respecta a la interacción de los sustratos con los compuestos que se agregaron, el mayor rendimiento se presentó en el tratamiento compuesto por paja de sorgo con la mezcla de ergosterol y aminoácidos en el cual se obtuvieron 387.67 g, el menor rendimiento lo presentó el tratamiento compuesto por paja de pasto con aminoácidos en el cual solo se obtuvieron 259.33 g, en general el mayor valor de rendimiento se presentó en la paja de sorgo y el menor en la paja de pasto con aminoácidos (Figura No. 4). Rodríguez (1996), encontró resultados diferentes cultivando la cepa (C.S.I) de *Pleurotus ostreatus* en rastrojo de pasto y rastrojo de sorgo, en los resultados que el obtuvo la paja de pasto fue en donde se presentó el mayor rendimiento (369.54 g), en comparación con el rastrojo de sorgo que solo presentó 167.78 g.

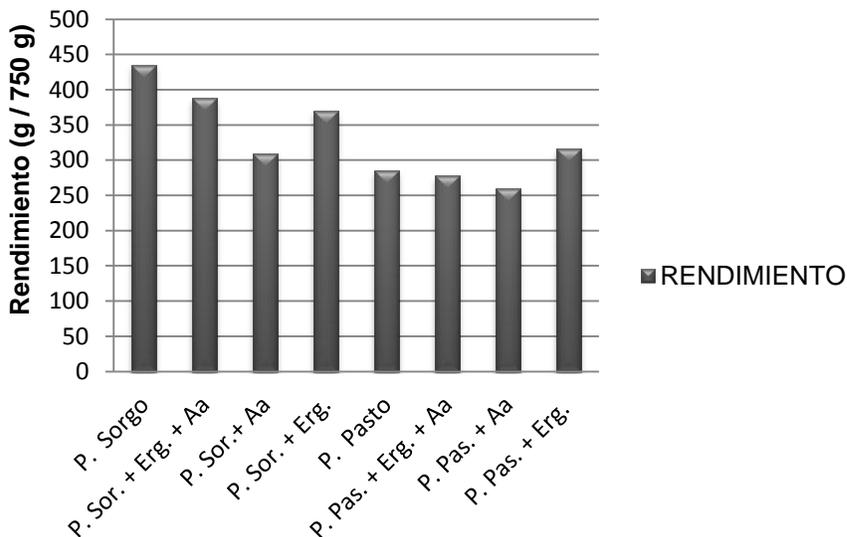


Figura No. 4. Rendimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en dos sustratos y fortificado con diferentes compuestos.

EFICIENCIA BIOLÓGICA

Los resultados del análisis de varianza y comparación de medias de la eficiencia biológica mostraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos. Puede observarse que de los dos sustratos que fueron evaluados la mayor eficiencia biológica se presentó en la paja de sorgo con un valor de 217.50 por ciento en comparación con la paja de pasto que solo presentó 101.78 por ciento; al igual para los tratamientos que contenían la interacción de sustratos con la mezcla de compuestos el que obtuvo la mayor eficiencia biológica fue el tratamiento compuesto por paja de pasto con mezcla de ergosterol y aminoácidos con un valor de 193.83 por ciento y el tratamiento con menor valor fue el que estaba compuesto por paja de pasto con la mezcla de aminoácidos con 92.62 por ciento. En general la mayor eficiencia biológica se presentó en el tratamiento que solo contenía paja de sorgo y la menor eficiencia biológica se presentó en el tratamiento compuesto por paja de pasto con la mezcla de aminoácidos (Figura No. 5). Flores (2012), obtuvo resultados de eficiencia biológica similares a los de esta investigación utilizando paja de trigo como sustrato para cultivo de *Pleurotus*, los valores que él obtuvo oscilaron entre 70 – 154 por ciento de EB. Sin embargo estos mismos resultados no coinciden con los reportados por Rodríguez *et al.* (2006), los cuales obtuvieron la más alta eficiencia biológica con el rastrojo de pasto con un valor de 126.2 por ciento en comparación del rastrojo de sorgo que obtuvo un valor de 50.6 por ciento. Los rendimientos considerados aceptables son de 100% de eficiencia biológica (Guzmán, 1985); seis de los ocho tratamientos probados en esta investigación fueron superiores a este valor y dos más resultaron similares, con una producción favorable. Las variaciones

en la EB para *Pleurotus spp.* se pueden atribuir a las diferencias biológicas, químicas y físicas entre los sustratos de cultivo y por el genotipo de los hongos, así como por las condiciones del cultivo (Dundar *et al.*, 2009).

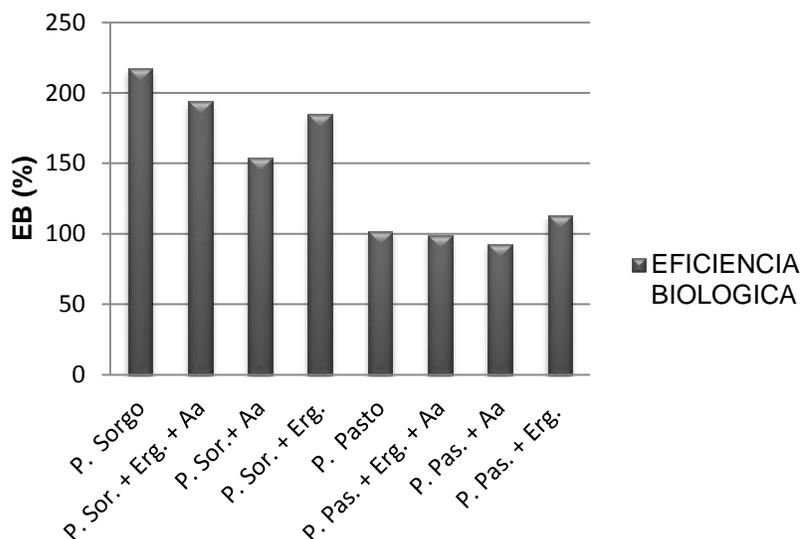


Figura No. 5. Eficiencia biológica del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en dos sustratos y fortificado con diferentes compuestos.

TASA DE PRODUCCIÓN

El análisis de varianza y comparación de medias para la tasa de producción del mostro diferencias altamente significativas entre los tratamientos. De los sustratos evaluados la tasa de producción mayor de presento en la paja de sorgo con un valor de 4.18 por ciento a comparación de la paja de pasto la cual presento un valor de 1.78 por ciento; en lo que respecta a la interacción de las pajas con la mezcla de compuestos la tasa de producción más alta se presento en el tratamiento compuesto por paja de sorgo con mezcla de aminoácidos y ergosterol con un valor de 3.72 por

ciento y la más baja se presentó en el tratamiento que estaba compuesto por paja de pasto y aminoácidos con un valor de 1.62 por ciento. En general los tratamientos con tasa de producción más alta fueron los de la paja de sorgo (Figura No. 6). Los promedios de tasa de producción en los sustratos evaluados oscilaron entre 1.62 y 4.18 por cientos, y el obtenido sobre el tratamiento de paja de pasto fue similar al reportado por Ardón (2004), sobre pasto estrella africana correspondiente a 2.72 por ciento, sin embargo este valor fue superior al reportado en esta investigación.

La TP es la relación existente entre la EB y el ciclo de cultivo, lo cual indica que aquellos tratamientos que presenten valores similares de EB también presentarán valores similares de TP, por lo tanto, de la misma forma que sucedió con la Eficiencia Biológica total (EB) en general y como se muestra en la Figura No. 6, se observa que la tendencia de los datos de Tasa de Producción (TP) es mayor en la paja de sorgo que en la paja de pasto.

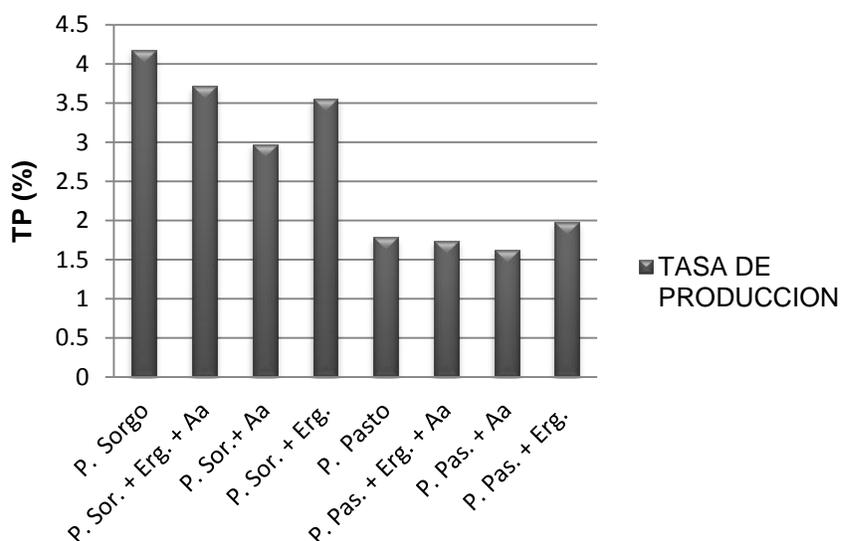


Figura No. 6. Tasa de producción del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en dos sustratos y fortificado con diferentes compuestos.

Análisis bromatológico

La bromatología nos da a conocer los cambios físicos y químicos que sufren los diversos nutrimentos contenidos en los alimentos al ser transformados ya sea con fines de conservación o de consumo, permite conocer su composición cualitativa y cuantitativa y qué métodos analíticos aplicar para determinar su calidad. (Acero, 2007). La composición química de los hongos comestibles determina su valor nutricional y propiedades sensoriales. Esta composición difiere según la especie, también depende del sustrato, las condiciones atmosféricas, la edad y parte del hongo (Dundar *et al.*, 2008). La bromatología de *P. ostreatus* es muy variable y depende del estado de desarrollo y la cepa utilizada; la variabilidad es ocasionada por diferencias en el contenido de humedad, temperatura y la presencia de nutrientes (Varnero *et al.*, 2010). Los hongos como alguno de los vegetales que normalmente forman parte de la dieta diaria, presentan una composición nutricional similar, ambos están compuestos por más del 80% de agua, son bajos en grasas y ricos en vitaminas y minerales (Ciappini *et al.*, 2004).

Por tanto, como el análisis proximal es un método por el cual se evalúan las propiedades nutritivas de los alimentos. Este análisis se realizó en los cuerpos fructíferos del hongo de acuerdo con las técnicas reportadas en materiales y métodos, obteniéndose resultados para proteína cruda y contenido de vitamina C. Se pudo observar de acuerdo al análisis de varianza y comparación de medias que solo los datos de proteína no tienen diferencias significativas entre los tratamientos, por otra parte, para en contenido de vitamina C, se encontraron diferencias altamente significativas en todos los tratamientos (Cuadro No. 5).

Cuadro No 5. Análisis de varianza y comparación de medias del contenido de proteínas y vitamina C del hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm cultivado en dos tipos de sustrato y fortificado con diferentes compuestos.

Tratamientos	Proteínas (g/100g) NS	Vitamina C (mg/100g) **
P. Sorgo	16.41 A	18.53 A ⁺
P. Sor. + Erg. + Aa	15.09 A	12.30 B
P. Sor.+ Aa	16.28 A	14.37 B
P. Sor. + Erg.	15.42 A	18.63 A
P. Pasto	15.81 A	18.43 A
P. Pas. + Erg. + Aa	15.75 A	18.60 A
P. Pas. + Aa	17.27 A	18.53 A
P. Pas. + Erg.	15.51 A	18.53 A
C.V. %	9.15	7.37

*= Valores medios con la misma letra son estadísticamente iguales. (DMS \leq 0.01); **= Diferencia altamente significativa; C.V= Coeficiente de Variación; P= Paja; Sor= Sorgo; Pas= Pasto; Erg= Ergosterol; Aa= Aminoácidos.

CONTENIDO DE PROTEINAS

Los resultados del análisis de varianza y comparación de medias del contenido de proteína (N x 4.38) no mostraron diferencias significativas, sin embargo si se presentan diferencias numéricas entre cada tratamiento. De los sustratos evaluados los cuerpos fructíferos con mas cantidad de proteína cruda se presentaron en la paja de sorgo con un valor de 16.41 g/100 g en comparación con los que fueron cosechados en la paja de pasto que solo presentaron 15.81 g/100 g; en lo que respecta a la interacción de los sustratos con los compuestos añadidos, la mayor cantidad de proteína cruda lo presentaron los cuerpos fructíferos cosechados en el tratamiento que constituía la paja de zacate con aminoácidos con 17.27 g/100 g en comparación a los que fueron cosechados en el tratamiento que constituía paja de

sorgo con una mezcla de aminoácidos y ergosterol los cuales solo reportaron 15.09 g/100 g. En general los cuerpos fructíferos con mayor cantidad de proteína cruda se presentaron en el tratamiento constituido por la paja de zacate con la mezcla de aminoácidos y los que presentaron menor cantidad se presentaron en el tratamiento constituido por la paja de sorgo con la mezcla de aminoácidos y ergosterol (Figura No. 7). El contenido de proteína cruda encontrada en los cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* (15.09-17.27 g/100 g), es similar al reportado por Flores, (2012), en *Pleurotus ostreatus* cultivado en bagazo de yucca con paja de sorgo, en dicho estudio el porcentaje de proteína cruda ($N \times 4.38$) oscilo entre 15.69 y 18.96 gramos por cien gramos (g/100 g) de materia seca. Al igual los resultados de esta investigación son similares a los reportados por Dundar *et al.*, (2009), quienes reportaron valores entre los intervalos de 14.06-22.15 g/100 g de proteínas en hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en tallo de soja, algodón y sorgo. Garzón y Cuervo (2008), reportan que el contenido de proteína cruda de *P. ostreatus* oscila entre 10.5 a 30.4%, los parámetros de proteínas encontrados en esta investigación se encuentran dentro del rango de valores antes mencionado, lo cual permite decir que la calidad biológica de estas proteínas en términos de contribución nutricional para la dieta humana es alta. Estos resultados muestran, que se mantiene el valor nutricional al emplear las mezclas en la producción de setas comestibles. Las condiciones físicas del lugar de cultivo no se ven involucradas en el contenido de proteína cruda.

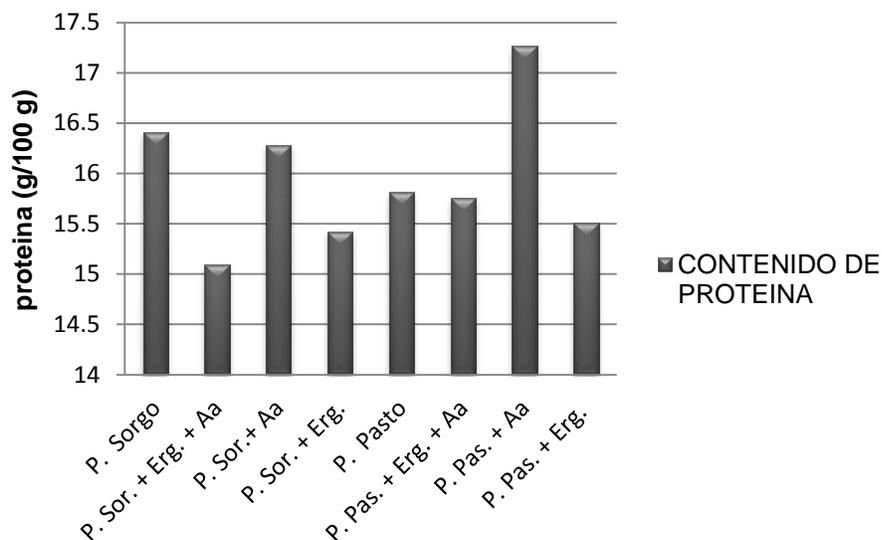


Figura No. 7. Contenido de proteínas del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en dos sustratos y fortificado con diferentes compuestos.

CONTENIDO DE VITAMINA C

Los resultados del análisis de varianza y comparación de medias del contenido de vitamina C mostraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos. En lo que respecta al contenido de vitamina C, de los sustratos evaluados el tratamiento en el cual se presentó la mayor cantidad de vitamina C, fue el de paja de sorgo con un valor de 18.53 mg/100g en comparación con el tratamiento de la paja de pasto en el cual solo se obtuvieron 18.43 mg/100 g; en cuanto a la interacción de los sustratos con la mezcla de compuestos, el tratamiento que presentó los valores más altos de vitamina C fue la paja de sorgo que contenía la mezcla de ergosterol con un valor de 18.63 mg/100 g, y el tratamiento que presentó el valor más bajo de vitamina C, fue en la misma paja de sorgo pero esta vez con la mezcla de aminoácidos y ergosterol

con un valor de 12.30 mg/100 g. Cabe mencionar que el comportamiento del contenido de vitamina C en la paja de sorgo tuvo muchas variaciones, sin embargo en la paja de pasto este se mantuvo casi constante (Figura No. 8). Los porcentajes de vitamina C reportados en esta investigación estaban en el intervalo de 12.30 - 18.63 mg/100 g, estos son similares a los reportados por Patil *et al.* (2010), quienes obtuvieron valores de ácido ascórbico entre los intervalos de 15.80-12.52 mg/100 g, sobre paja de trigo y paja de arroz, cabe mencionar que los valores obtenidos en esta investigación son superiores pero similares a los reportados por Patil. Ruiz (2009), encontró resultados más altos al de este experimento, obteniendo en un cultivo de hongos de *P. ostreatus* a través de la técnica de ingeniería de matrices un nivel aproximado de $43,0 \pm 2.33$ mg de Vit C/100 g.

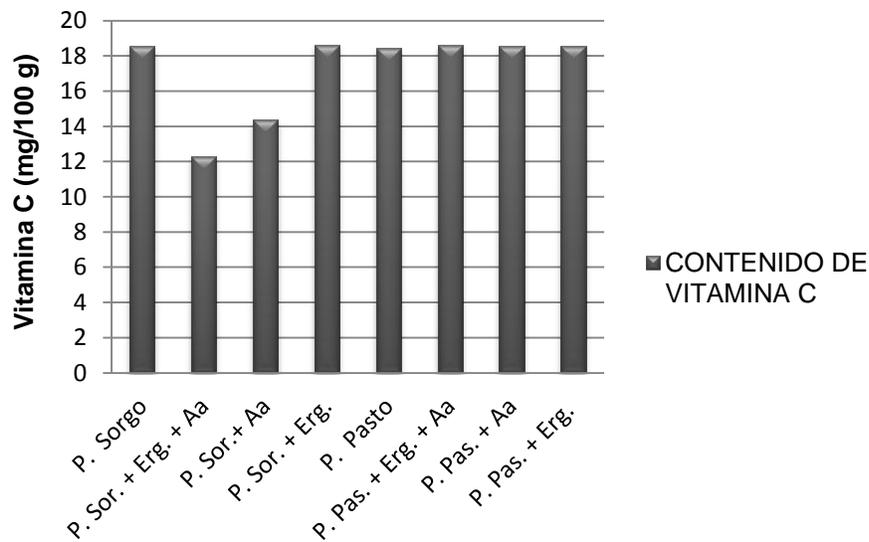


Figura No. 8. Contenido de vitamina C del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en dos sustratos y fortificado con diferentes compuestos.

8. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir que los sustratos utilizados mejoraron la capacidad productiva del hongo *Pleurotus ostreatus*, incrementando los valores de rendimiento de manera significativa. De la misma manera, la calidad nutritiva se vió favorecida con la adición de algunos precursores tanto de proteínas como de vitaminas, ya que también fue incrementado el contenido de estos compuestos en el hongo.

La cosecha de hongos en pajas forrajeras es una alternativa viable para obtener productos comestibles con altos valores de proteínas y vitaminas a muy bajos costos de producción, por lo que deberían implementarse sistemas de cultivos de este tipo, para contribuir a satisfacer las necesidades de alimentación de la población.

9. LITERATURA CITADA

- Acero, G.M.G. 2007. Manual de prácticas de bromatología. Universidad Autónoma de Aguascalientes. Jesús María, Aguascalientes, México. 88 pp.
- Aguinaga, B.P.N. 2012. Evaluación de cuatro sustratos para la producción del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*) en tres ciclos de producción en la zona de tambillo, provincia de pichincha. Tesis de Licenciatura. Escuela Politécnica Nacional. San Francisco de Quito, Ecuador. 150 pp.
- Akyüz, M. and S. Kirbağ. 2010. Nutritive value of wild edible and cultured mushrooms. *Turkya. Turk J Biol.* 34: 97-102.
- Alfaro, R.A. y S.G.S. Nambo. 2008. Producción de setas *Pleurotus ostreatus* Variedad Rosa en tres sustratos. Tesis de Licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Uruapan, Michoacán, México. 60 pp.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th edition. Association of Official Analytical Chemist. Arlington. Virginia. United States of America. 771 pp.
- Ardón, L.C.E. 2004. Evaluación de pericarpio de jacaranda (*Jacaranda mimosaeifolia*) y pasto estrella africana (*Cynodon plectostachyus*), para el cultivo artesanal del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*, Ecosur-0112). Tesis de Licenciatura. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 100 pp.
- Ardón, L.C.E. 2007. La producción de los hongos comestibles. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. 213 pp.
- Arriaga, C.J.C. y A.J.C. Morales. 2009. Producción de cuatro variedades de *Pleurotus ostreatus* (Jac. Ex Fr) Kum en paja de trigo. Tesis de Licenciatura.

- Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Uruapan, Michoacán, México. 50 pp.
- Arrúa R.J.M. y R.J. E. Quintanilla. 2007. Producción del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*) a partir de las malezas *Paspalum fasciculatum* y *Rottboellia cochinchinensis*. Tesis de Licenciatura. Universidad Earth. Guácimo, Limón, Costa Rica. 48 pp.
- Astaiza, P. 2004. Producción de una base proteica con *Pleurotus ostreatus* a partir de residuos agroindustriales generados en el Departamento del Cauca. Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 2(1): 49-54.
- Baena, G. A. 2005. Aprovechamiento del bagazo del Maguey Verde (*Agave salmiana*) de la agroindustria del mezcal en San Luis Potosí para la producción de hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*). Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C. San Luis Potosí, S.L.P. México. 116 pp.
- Beetz, A. and M. Kustudia. 2004. Mushroom cultivation and marketing. National sustainable agriculture information service operated by the National Center for Appropriate Technology, through a grant from the Rural Business-Cooperative Service, U.S. Department of Agriculture. California. 24 pp.
- Bermúdez, S. R. C., Q. H. J. Morris, F. C. Donoso, M.C. E. Martínez y S.E.I. Ramos. 2003. Influencia de la luz en la calidad proteica de *Pleurotus ostreatus* Var. Florida. Santiago de Cuba, Cuba. Revista Cubana Investigación Biomédica. 22(4): 226-231.

- Calderón, M.J.A. 2009. Determinación de la mejor etapa de aplicación de la fertilización nitrogenada en el sustrato caña de maíz (*Zea mays* L.) para la producción del hongo *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm (Cepa ECS-152). Tesis de Licenciatura. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 75 pp.
- Calderón M.N.B. 2010. Guía para el Establecimiento y Control de Buenas Prácticas para la producción de inóculo de hongos comestibles (*Pleurotus ssp*). Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad de San Carlos Guatemala. Guatemala. 67 pp.
- Ciappini, M.C., B. Gatti y Z.M.L. López. 2004. *Pleurotus ostreatus*, una opción en el menú. Estudio sobre las girgolas en la dieta diaria. Argentina. Invenio. 7(12): 127-132.
- Cisternas, L.C. 2003. Clasificación Ecofisiológica de los Hongos Comestibles. Información Tecnológica. MICOTEC. 3 pp.
- Contreras, R.P.S., M.S.L. García y L.A.R. Trigos. 2005. Manual ARPCC para la producción de setas y *Shii-take* crudos. Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México. 82 pp.
- Cruz, D., E. López de León, L.F. Pascual, M. Battaglia. 2010. Guía técnica de producción de hongos comestibles de la especie *Pleurotus ostreatus*. Guatemala. Journal of Agriculture and Environment for International Development. 104 (3-4): 139 – 154.
- Cruz L.M.J. 2001. Cultivo de setas (*Pleurotus ostreatus*) en desperdicios de la destilación alcohólica del sotol (*Dasyilirion cedrosanum*). Tesis de

- Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 76 pp.
- Curvetto, N.R., M.R. Gonzales, D. Figlas y S. Delmastro. 2005. Cascara de semilla de girasol. Manual del cultivador de hongos: cultivo del hongo ostra. Capitulo 5. Sustrato. Universidad Nacional del Sur de Argentina, Buenos Aires, Argentina. 104-109 pp
- Dundar, A., H. Acay and A. Yildiz. 2009. Effect of using different lignocellulosic wastes for cultivation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. On mushroom yield, chemical composition and nutritional value. Turkey. African Journal of Biotechnology. 8(4): 662-666.
- Flores, R.G. 2012. Aprovechamiento del bagazo residual de *Yucca* spp. como sustrato para la producción de *Pleurotus* spp. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto Politécnico Nacional. México. D.F. 124 pp.
- Gaitán, H.R., D. Salmones. M. P. Pérez y G. Mata. 2006. Manual práctico del cultivo de setas; Aislamiento, siembra y producción. Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Veracruz, México. 56 pp.
- Garcés, A.M., N. Vélez, S. Ruiz, J. G. Serna y E. Suarez. 2005. Evaluación de algunos residuos orgánicos como sustrato para el cultivo de hongos comestibles. Colombia. Revista Lasallista de Investigación. 2(2): 15-20.
- García, R.M. 1984. Setas de los arboles. Hongos de la madera. 2da edición. Publicaciones de Extensión Agraria. Madrid, España. 339 pp.
- García, R.M. 1985. Nuevas Técnicas de Cultivo del *Pleurotus ostreatus*. Publicaciones de Extensión Agraria. No. 8. Madrid, España. 20 pp.

- Garzón, J.P. y J.L. Cuervo. 2008. Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. Colombia. Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. NOVA 10(6): 126-140.
- Grodzinskaya, A.A., I.H. Diógenes, y N.M. Piven. 2002. Cultivo de hongos comestibles utilizando desechos agrícolas e industriales. Caracas, Venezuela. Agronomía Tropical. 52(4): 1-14.
- Guarín, B.J.A y A.A.A. Ramírez. 2004. Estudio de factibilidad técnico-financiero de un cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus* en Cundinamarca. Tesis de Licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana. Santa Fe de Bogotá, Colombia. 86 pp.
- Guzmán, G. 1985. Hongos. Editorial Limusa, México, DF. 194 pp.
- Guzmán, G. 1987. Identificación de los hongos comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera. Editorial Limusa, SA de CV. México, DF. 436 pp.
- Hernández, C.R.A. y R.C.L. López. 2006. Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales del Departamento de Cundinamarca. Tesis de Licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 106 pp.
- Lizan, R.L. 1984. Identificación de hongos comestibles. Publicaciones del Ministerio de Agricultura. Manuales Técnicos. Madrid, España. 195 pp.
- López, C., R. Hernández, C. Suarez y M. Borrero. 2008. Evaluación del crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre diferentes residuos agroindustriales

- del Departamento de Cundinamarca. Colombia. Universitas Scientiarum. 2(13): 128-137.
- Macaya, L.A.V. 1988. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* y especies afines (Fungi: Pleurotaceae) sobre medios naturales semi-esteriles. Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 36 (2A): 255-260.
- Martínez, C.D., P. Morales, M. Sobal, M. Bonilla y W. Martínez. 2007. México ante la Globalización en el Siglo XXI: El sistema de Producción-Consumo de los Hongos Comestibles. Capítulo 6.1. In: El Cultivo de Setas *Pleurotus* spp. en México. ECOSUR-CONACYT, México, D.F. 20 pp.
- Martínez, C.D., A. Larque, M. Aliphath, A. Aguilar, M. Bonilla, y W. Martínez. 2000. La biotecnología de hongos comestibles en la seguridad y soberanía alimentaria de México. II Foro Nacional sobre Seguridad y Soberanía Alimentaria. Academia Mexicana de Ciencias-CONACYT, México, D. F. Pp. 193-207.
- Martínez, C.J. 2012. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* en el Valle del Fuerte, Sinaloa: Una alternativa de aprovechamiento de esquilmos agrícolas. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Indígena de México. Mochicahui, El Fuerte; Sinaloa, México. 70 pp.
- Montoya, S. y G.M. Restrepo. 2006. Evaluación de la síntesis de proteína a partir del crecimiento vegetativo de *Pleurotus spp.* sobre residuos de algarrobo y uva pasa. Colombia. Revista Universidad de Caldas. 2: 23-31.
- Morales C.J.E. 2007. Influencia de Tres Azucres en el Desarrollo de Setas (*Pleurotus ostreatus*). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México. 65 pp.

- Nieto, I.J. y C. Chegwin. 2010. Influencia del sustrato utilizado para el crecimiento de hongos comestibles sobre sus características nutraceuticas. Colombia. Revista Colombiana de Biotecnología. 1(12): 169-178.
- Ocaña, R., G. Martínez, M. A. Duarte, R. Serwatowski y O. Paredes. 1996. Tecnología para la producción y conservación de setas (*Pleurotus ostreatus*). Acta universitaria. 1(6): 52-66.
- Onuoha, C. 2007. Cultivation of the mushroom (*Pleurotus tuber regium*) using some local substrates. Nigeria. Life Science Journal. 4(4): 58-61.
- Patil, S.S., S.A. Ahmed, S. M. Telang and V.M. M. Baig. 2010. The nutritional value of *pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm cultivated on different lignocellulosic agrowastes. India. Innovative Romanian Food Biotechnology. 7: 66-76.
- Prinsen, P. 2010. Composición química de diversos materiales lignocelulósicos de interés industrial y análisis estructural de sus ligninas. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS)- Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Sevilla, España. 92 pp.
- Ramos, O.G.I. 2007. *Pleurotus ostreatus* cultivado en residuos de palma aceitera como importante fuente proteica para la dieta humana. Tesis de Licenciatura. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 144 pp.
- Rivera, A., H. J. Osorio, M. J. Ríos, I. J. Nieto y C. M. Laverde. 2005. Dehidroergosterol: un artefacto generado durante el proceso de extracción de esteroides en el hongo *Pleurotus sajor-caju*. Colombia. Revista Colombiana de Química. 34(2): 117-125.

- Rodríguez, M.R. 1996. Caracterización de cepas del hongo comestible *Pleurotus spp.* en medios de cultivo y su evaluación en sustratos lignocelulósicos forrajeros para la producción de carpóforos. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma de Nuevo León. Marín, N.L, México. 90 pp.
- Rodríguez, M.R., G.R. González, L.M.A. Ruiz, L.P.M. García, M.J. Ruiz Moreno, N.J.F. Zamora y P.E. Salcedo. 2006. Perspectivas de producción de hongos comestibles (*Pleurotus spp.*) en la Región Nordeste del Estado de Nuevo León. *Scientia-CUCBA* 8(2):162.2006. Guadalajara, Jalisco, México.
- Romero, J. A., G. A S. Rodríguez y M. M R. Pérez. 2000. *Pleurotus ostreatus*. Importancia y tecnología de cultivo. Universidad de Cienfuegos “Carlos Rafael Rodríguez”, Cuatro caminos, Cd. De Cienfuegos, Cuba. 6 pp.
- Romero, O., M. Huerta, M. A. Damián, A. Macías, M. Tapia, J. F.C. Parraguirre y J. Juárez. 2010. Evaluación de la capacidad productiva de *Pleurotus ostreatus* con el uso de hoja de plátano (*Musa paradisiaca* L., cv . Roatan) deshidratada, en relación con otros sustratos agrícolas. *Agronomía Costarricense* 34(1): 53-63.
- Ruiz, R. M. P. 2009. Aplicación de la ingeniería de matrices en el desarrollo de hongos comestibles (*Pleurotus ostreatus*) mínimamente procesados, fortificados con vitaminas C, E y minerales Calcio y Zinc. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia. 109pp.
- Sánchez, A., M. Esqueda, R. Gaitán, A. Córdova y M.L. Coronado. 2008. Uso potencial del rastrojo de tomate como sustrato para el cultivo de *Pleurotus spp.* México. *Revista Mexicana de Micología*. 28: 17-24.

- Serafín M.A.H., Z.K. Wrobel, C. F. Gutiérrez, S.G. Martínez y K.K. Wrobel. 2005. Estudio Sobre Algunos Elementos Traza en *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* y *Ustilago maydis*. Memoria del VII Congreso Nacional de Ciencia de los Alimentos y III Foro de Ciencias y Tecnología de Alimentos, Guanajuato, Gto. México. 10 pp.
- Shah, Z.A., M. Ashraf and C.M. Ishtiaq. 2004. Comparative Study on Cultivation and Yield Performance of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on Different Substrates (Wheat Straw, Leaves, Saw Dust). Pakistan Journal of Nutrition. 3(3). 158-160.
- Silva, S.R, F.C. Fritz F., A.J. Cubillos y C.M. Díaz. 2010. Manual para la producción de hongos (Shiitake). Proyecto CONAMA-FPA RM-027-2010. Universidad de Chile, Chile. 38 pp.
- Tablada, J.J. 1994. Hongos Mexicanos Comestibles. Micología Económica. Fondo de Cultura Económica. Academia Mexicana de Lengua. México, DF. 184 pp.
- Toledo, A.M.F. 2008. Residuos de maíz y quinua como potenciales sustratos para el cultivo de hongos comestibles *Pleurotus ostreatus*. Tesis de Licenciatura. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador. 125 pp.
- Varnero, M. T., M. S. Quiroz y C. H. Álvarez. 2010. Utilización de Residuos forestales lignocelulósicos para producción del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*). Santiago, Chile. Información Tecnológica. 21(2):13-20.
- Wani, B.A., R. H. Bodha and A. H. Wani. 2010. Nutritional and medicinal importance of mushrooms. India. Journal of Medicinal Plants Research. 4(24): 2598-2604.

10. ANEXOS

ANEXO 1

Determinación de proteínas

La determinación de proteínas se realizó en un laboratorio del Departamento de Nutrición Animal de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Reactivos necesarios para la determinación de proteína Método de MICROKJELDHAL

Mezcla digestora

Para preparar un litro de esta muestra, se utilizaron los siguientes reactivos:

25 g de sulfato de potasio

10 g de óxido de mercurio rojo

1 litro de ácido sulfúrico concentrado

Sulfato de cobre solución saturada (25 ml)

Para preparar el sulfato de cobre saturado, se pusieron 100 ml de agua destilada, agregar el sulfato de cobre hasta que ya no se disuelva y agregar a esta solución 10 g de mezcla reactiva de selenio.

Hidróxido de sodio

Se pesaron 500 g del reactivo, se le agregaron 900 ml de agua, se agitó hasta disolver, luego se pesaron 0.1 g de fenolftaleína y se le agregó a la solución, se agitó y se aforó a un litro.

Acido Bórico al 2.2%

Se pesaron 22.2 g de acido bórico, luego se disolvieron en 900 ml de agua caliente, se dejo enfriar y se aforo a un litro, después se valoro la solución.

Acido sulfúrico N= 0.025.

Se midieron 0.6875 ml y se agrego 900 ml de agua, se agito y se aforo a un litro (valorar la solución).

Indicador mixto verde de bromocresol y rojo de metilo.

Se pesaron 0.05 g de indicador rojo de metilo y 0.1 g de indicador verde de bromocresol se disolvieron los dos indicadores en alcohol al 95% y se aforo a 100 ml con alcohol.

Determinación de proteínas por el método de MICROKJELDHAL

Fundamento

Está basado en la combustión húmeda de la muestra, con una mezcla digestora o catalizadora formada por sulfato de sodio o potasio, que incrementa el punto de ebullición y un catalizador que puede ser una sal de cobre, mercurio o selenio. Se añade acido sulfúrico y se calienta. La oxidación provoca que el nitrógeno se convierta en sulfato de amonio, el amonio se destila y se recibe en ácido bórico, valorándose el acido no neutralizado por medio de titulación.

Procedimiento

La determinación de proteína por el método de Microkjeldhal se obtuvo mediante tres etapas que fueron: digestión, destilación y titulación.

Digestión

Se pesaron 0.050 g de cada muestra seca de los hongos con la ayuda de una balanza analítica Explorer OHUAS (E02140) que se encontraba en el laboratorio de nutrición animal, después los 0.050 g de cada muestra fueron pasados a un matraz Kjeldahl de 800 ml y se le agregaron 4 ml de mezcla digestora (ácido sulfúrico), cada matraz fue llevado al aparato Kjeldahl NOVATECH (MDK-6) que se encontraba en el laboratorio para que fuera digerido hasta tomar un color cristalino. Ya que habían tomado el color cristalino se retiraron del aparato Kjeldahl y fueron puestos a enfriar para pasar a la siguiente fase que fue la de destilación.

Destilación con equipo Rapid Still

La destilación de las muestras se realizó con un microdestilador de unidad de destilación rápida de la marca LABCONCO que se encontraba en el laboratorio de nutrición animal. La muestra fue vaciada a la copa del equipo de destilación después se enjuagó con poquita agua destilada y se cerró la llave que contenía la copa del aparato, después en la misma copa se adicionó NaOH al 50% hasta la mitad del nivel de la copita, después se dejó caer poco a poco hasta donde estaba la muestra y se procedió a recibir 60 ml del destilado, en un vaso de precipitado que contenía 30 ml de ácido bórico al 2.2 % y una gota de indicador mixto. Cabe mencionar que mientras se recibían los 60 ml de destilado este iba cambiando de un color rosa a un color verde. Una vez obtenidos los 60 ml de destilado se prosiguió a pasar a la última etapa que fue la de titulación.

Titulación

La titulación se realizó con la ayuda de una bureta digital de la marca BRAND que se encontraba en dicho laboratorio. Las muestras fueron tituladas con ácido sulfúrico (H_2SO_4) con una normalidad de 0.026809 N. Para cada muestra se anotaron los gramos de ácido sulfúrico gastados. Posteriormente el contenido de nitrógeno fue calculado mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Nitrógeno} = [(\text{ml de } \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ gastados} * 0.014 * 0.026809) / \text{g muestra}] * 100$$

ANEXO 2

Determinación de Acido Ascórbico por Método de Titulación (A.O.A.C, 967.21)

Valoración del 2,6- dicloroindofenol

Se preparo una solución estándar de acido ascórbico (1mg/ml). Se transfirió la alícuota de 2 ml al matraz Erlenmeyer, se le agrego 5 ml de solución acido metafosforico- acido acético (solución extractora). Se procedió a titular rápidamente con 2,6- dicloroindofenol en una bureta de 50 ml, hasta que se observara la aparición de un tono rosa ligero. Luego se titulo un blanco compuesto por 7ml de la solución extractora mas el volumen gastado en la titulación del estándar en agua, se titulo con 2,6- dicloroindofenol, hasta tono rosa. Todo esto se hizo por triplicado. Al valor obtenido del estándar se le resto el del blanco y la concentración de indofenol se expreso como mg de acido ascórbico equivalente a un ml de indofenol.

Determinación del contenido de acido ascórbico en la muestra.

A la muestra se le adiciono su misma cantidad en solución extractora y se mezclo bien, luego se filtro con la ayuda de un embudo y papel filtro para café tipo cesta, marca Melitta, modelo PAB-100P. Se tomo una alícuota de 2 ml del filtrado mas 5 ml de acido metafosforico-acetico en un matraz Erlenmeyer y se titulo con indofenol hasta el vire rosa. Esto se realizo por triplicado. Al volumen registrado de titulación se le resto el gastado en el blanco. Se determino el acido ascórbico mediante la siguiente ecuación:

Mg de acido ascórbico= Volumen titulación muestra/ Volumen titulación estándar.