

## Influencia del tamaño de partícula, la agitación y el tiempo en la extracción de sustancias bioactivas de la seta ostra (*Pleurotus ostreatus*).

### Influence of particle size, agitation and time in the extraction of bioactive substances from the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*).

Astrid Stefanía Duarte Trujillo<sup>1</sup>, Julio Amilcar Pineda Insuasti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad de los Llanos. Villavicencio, Colombia.

<sup>2</sup> Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA). Ibarra, Ecuador.

Autor para correspondencia: [stefan-ing.agroind@hotmail.com](mailto:stefan-ing.agroind@hotmail.com)

Recibido: octubre 15 de 2019

Aceptado: diciembre 26 de 2019

#### RESUMEN

Las sustancias bioactivas de *Pleurotus ostreatus* pueden ser extraídas mediante maceración en solventes hidroalcohólicos. Sin embargo, los parámetros de operación, no han sido evaluados. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es evaluar la influencia del Tamaño de Partícula (TP), la Agitación (A) y el Tiempo de Maceración (TM) en la Eficiencia de extracción de sustancias bioactivas de la seta ostra (E). Para ello, se prepararon tinturas madre con etanol al 60% y hongo en polvo en relación 1:10 y se realizó un diseño experimental 2<sup>3</sup> con un nivel de confianza del 95%. Se encontró que el tratamiento que presenta la mayor eficiencia (29%) consta de TP=500 micras, TM=48 h y FA=160 rpm. La influencia de FA en E fue la única estadísticamente significativa. El análisis de regresión lineal arrojó el siguiente modelo matemático:  $E (FA) = -0,0636667 * FA + 31,9242$ .

**PALABRAS CLAVE:** extractos, eficiencia, optimización.

#### ABSTRACT

The bioactive substances of *Pleurotus ostreatus* can be extracted by maceration in hydroalcoholic solvents. However, the operating parameters have not been evaluated. Therefore, the objective of this work is to evaluate the influence of Particle Size (TP), Agitation (A) and Maceration Time (TM) on the Extraction Efficiency (E) of bioactive substances from the oyster mushroom. To do this, mother tinctures were prepared by 60% ethanol and powder mushroom in 1:10 ratio, and an experimental design 2<sup>3</sup> was carried out with 95% confidence level. It was found that the treatment with the highest efficiency (29%) consists of TP = 500 microns, TM = 48 h and FA = 160 rpm. The influence of FA on E was the only statistically significant. The linear regression analysis gave the following mathematical model:  $E (FA) = -0.0636667 * FA + 31.9242$ .

**KEYWORDS:** extracts, efficiency, optimization.

## INTRODUCCIÓN

El envejecimiento acelerado de la población y el aumento de la carga de enfermedades crónicas ha generado preocupación internacional y creado conciencia de la importancia del mejoramiento y preservación de la salud (Mitra y Rodríguez-Fernandez, 2010; OMS, 2015). Estudios epidemiológicos desarrollados por más de 50 años han manifestado que tales inconvenientes pueden ser contrarrestados con una alimentación balanceada (Terry *et al.*, 2001), de ahí que el mercado mundial de alimentos funcionales esté aumentando a una tasa anual del 8-14 % (Agriculture and Agri-Food Canada, 2009).

Los hongos comestibles son considerados alimentos funcionales, ya que presentan propiedades tanto nutricionales como medicinales que permiten mejorar las funciones biológicas y por lo tanto la salud del consumidor (M. E. Valverde, Hernández-Perez, y Paredes-López, 2013).

El segundo hongo comestible más cultivado en el mundo es la seta ostra (*Pleurotus ostreatus*) (Suárez y Nieto, 2013), el cual sintetizan gran variedad de compuestos bioactivos como glicoproteínas, polisacáridos, policétidos, péptidos, polifenoles, lectinas, betaglucanos, entre otros, los cuales generan reacciones biológicas que favorecen la salud del consumidor (Gomes-Corrêa *et al.*, 2016). Se ha reportado actividad biológica anticancerígena (Deepalakshmi y Mirunalini, 2016), antiinflamatoria (Gunawardena *et al.*, 2014), antimicrobiana (Ramesh y Pattar, 2010), antioxidante (Khan *et al.*, 2017), anti-tirosinasa (Hapsari *et al.*, 2012), antitumoral (Devi *et al.*, 2015), cardioprotectora (Yan *et al.*, 2015), hepatoprotectora (C. Zhang *et al.*, 2016), hipocolesterolémica, hipoglucémica (Y. Zhang *et al.*, 2016) e inmunomoduladora (Llauradó *et al.*, 2016).

Las propiedades medicinales de *P. ostreatus* pueden ser aprovechadas mediante extracción de las sustancias bioactivas que le generan. Por

ende, los procesos de extracción por maceración cobran importancia, ya que además de económicos, son sencillos y ecológicos. Los extractos pueden ser empleados como materia prima para la formulación de otras preparaciones (Azmir *et al.*, 2013), como muestra para el estudio de componentes bioactivos y actividades biológicas (Smith, 2003), o como insumo para aplicaciones industriales que permitan aprovechar su potencial biológico (Chitiva, 2010). Dentro de las aplicaciones industriales de los extractos fúngicos se destaca su uso como cosmocéticos, nutricosméticos (Taofiq *et al.*, 2016), nutracéuticos, nutricéuticos (Niksic, Klaus, y Argyropoulos, 2016), y biofármacos (M. E. Valverde *et al.*, 2013).

La distribución y consumo de los extractos fúngicos constituye, no sólo una forma de uso sostenible del capital natural, que según el Plan Nacional de desarrollo actual del Ecuador (2014-2018), es uno de los objetivos para el crecimiento verde del país (DNP, 2014), sino también, una forma de contribuir al mejoramiento de la salud de la población, que es uno de los Objetivos del Desarrollo Sostenible de la Organización de las Naciones Unidas (ONU, 2015).

No obstante, los procesos de extracción de sustancias bioactivas a partir de hongos no están estandarizados, ya que las farmacopeas existentes fueron hechas específicamente para tratar material vegetal y animal (E. Valverde y Dos Santos, 2000). Para estandarizar el proceso es necesario evaluar la influencia de los parámetros que influyen en la eficiencia de extracción. Según Valverde y Dos Santos (2000), las variables de entrada que influyen en la maceración, independientemente de la escala de producción o del tipo de producto final son: el estado de división (tamaño de partícula) de la droga, la agitación, la temperatura, el pH, la naturaleza del solvente y el tiempo de extracción

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es evaluar la influencia del Tamaño de Partícula (TP), la Agitación (A) y el Tiempo de Maceración (TM) en la Eficiencia de extracción de sustancias bioactivas de la seta ostra (E).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Material biológico*

La cepa ceba-gliie-po-010106 de *Pleurotus ostreatus*, perteneciente al Banco de Recursos Genéticos Microbianos (BRGM) del CEBA fue empleada como inóculo primario para la propagación del micelio sobre los granos de trigo, los cuales fueron usados como inóculo secundario para la propagación del micelio sobre el sustrato electo, la paja de fréjol (*Phaseolus vulgaris*) (Pineda, 2014). Los cuerpos fructíferos del hongo se cultivaron a una temperatura promedio de 18 °C, adoptando las consideraciones técnicas establecidas por Pineda, Duarte y Ponce (2017); luego se cosecharon y se almacenaron a 4°C hasta su uso.

### *Equipos*

Se empleó una balanza de precisión Acculab VIC212, un horno desecador Jelo Tech ON-01E, un molino eléctrico VICTORIA VH750-C, un agitador mecánico (shaker) Stuart SSM1, tamices Fisher No. 18 (1 mm) y 35 (0,5 mm).

### *Preparación del material biológico*

Los cuerpos fructíferos se revisaron para comprobar que no se encuentren en deterioro, luego se fragmentaron en trozos de aproximadamente 5 cm y se deshidrataron en el horno de secado a 60 °C hasta peso constante, según metodología de Ma y colaboradores (2014). Posteriormente se molieron y se tamizaron. Se seleccionó el polvo que pasara por el tamiz No. 18 y quedara por encima del No. 35.

### *Maceración dinámica*

La tintura para cada Erlenmeyer se preparó guardando una relación peso/volumen 1:10 entre la muestra y la tintura (Comissão Permanente de Revisão da Farmacopéia Brasileira., 1997). Las tinturas se maceraron según diseño experimental y se filtraron. Los residuos obtenidos se conservaron para calcular la eficiencia de extracción y los extractos para estudios posteriores de química analítica.

### *Diseño experimental*

Se realizó un diseño experimental factorial 2<sup>3</sup>, con un número de respuestas, 15 grados de libertad (g. l.) para el error y un orden completamente aleatorizado. Los factores de estudio fueron el Tiempo de Maceración (TM), la Frecuencia de Agitación (FA) y el Tamaño de Partícula (TP), con dos niveles de estudio cada uno, los cuales se combinaron formando un total de 8 tratamientos que se realizaron por triplicado dando lugar a 24 corridas experimentales. Los niveles seleccionados para el factor TM fueron 24 h y 48 h, mientras que los para el factor FA fueron 140 rpm y 160 rpm, y para el Factor TP fueron 500 micras y 1500 micras. La variable de respuesta fue la eficiencia de extracción de sustancias bioactivas y la unidad experimental fue una muestra de aproximadamente 5 g del hongo seco en polvo. El resto de parámetros se consideraron parámetros de operación, tales como la temperatura ambiente de 27 °C, la presión atmosférica de 0,95 atm y el solvente etanol al 60 % v/v.

### *Cálculo de la eficiencia de extracción*

Los filtros de papel Whatman No. 4 se secaron a 60 °C hasta peso constante (AOAC, 1990). Por otro lado, las muestras maceradas se filtraron al vacío y se secaron sobre el papel Whatman a 60 °C hasta peso constante, el cual también se registró. El peso final de las muestras se obtuvo difiriendo los valores previamente registrados (1), y el peso de las

sustancias bioactivas extraídas se determinó sustrayendo al peso inicial de la muestra su peso final luego de la maceración (2).

$$Pfm (g) = Ppm - Ppf \quad (1)$$

$$Pext (g) = Pim - Pfm \quad (2)$$

Donde;

*Pfm* = Peso seco final de la muestra (luego de maceración)

*Ppm* = Peso seco de la muestra sobre el papel filtro

*Ppf* = Peso seco del papel filtro

*Pext* = Peso seco de sustancias bioactivas extraídas

*Pim* = Peso seco inicial de la muestra (antes de la maceración)

La ecuación 3 permite calcular la eficiencia de extracción de las sustancias bioactivas, mediante el cociente entre el peso seco del extracto y el peso seco inicial de la muestra, multiplicado por 100.

$$E (\%) = \frac{Pext}{Pim} * 100 \quad (3)$$

### RESULTADOS

En la tabla 1, se presenta la matriz de resultados, conforme al diseño experimental.

**Tabla 3.** Matriz de resultados experimentales.

| Trat | TM (h) | FA (rpm) | TP (micras) | E (%) |
|------|--------|----------|-------------|-------|
| 2    | 48     | 140      | 1500        | 20,24 |
| 6    | 48     | 140      | 500         | 14,12 |
| 7    | 24     | 160      | 500         | 19,76 |
| 5    | 24     | 140      | 500         | 22,59 |
| 3    | 24     | 160      | 1500        | 23,76 |
| 1    | 24     | 140      | 1500        | 17,65 |
| 8    | 48     | 160      | 500         | 28,94 |
| 4    | 48     | 160      | 1500        | 21,65 |
| 7    | 24     | 160      | 500         | 21,00 |
| 3    | 24     | 160      | 1500        | 24,00 |
| 4    | 48     | 160      | 1500        | 21,41 |
| 5    | 24     | 140      | 500         | 22,12 |
| 1    | 24     | 140      | 1500        | 17,41 |

| Trat | TM (h) | FA (rpm) | TP (micras) | E (%) |
|------|--------|----------|-------------|-------|
| 2    | 48     | 140      | 1500        | 20,00 |
| 6    | 48     | 140      | 500         | 13,18 |
| 8    | 48     | 160      | 500         | 29,65 |
| 2    | 48     | 140      | 1500        | 21,65 |
| 7    | 24     | 160      | 500         | 20,38 |
| 5    | 24     | 140      | 500         | 23,06 |
| 8    | 48     | 160      | 500         | 28,24 |
| 3    | 24     | 160      | 1500        | 23,53 |
| 6    | 48     | 140      | 500         | 13,65 |
| 1    | 24     | 140      | 1500        | 17,88 |
| 4    | 48     | 160      | 1500        | 21,88 |

### Análisis de Varianza para Eficiencia

En la tabla 2, se presenta el ANOVA, que evalúa la variabilidad de eficiencia en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, un efecto tiene el valor-P menor que 0,05 indicando con un nivel de confianza del 95,0% que su influencia en la eficiencia de extracción es estadísticamente significativa.

**Tabla 4.** Análisis de varianza para Eficiencia

| Fuente    | Razón-F | Valor-P |
|-----------|---------|---------|
| TM        | 0,01    | 0,9349  |
| FA        | 11,73   | 0,0038  |
| TP        | 0,10    | 0,7549  |
| (TM)*(FA) | 4,42    | 0,0529  |
| (TM)*(TP) | 0,04    | 0,8360  |
| (FA)*(TP) | 1,02    | 0,3294  |

### Análisis de Pareto

En la figura 1, se presenta el diagrama de Pareto estandarizado para la eficiencia, el cual corrobora los resultados del análisis de varianza, indicando que existe diferencia significativa en el valor de la Eficiencia cuando se estudia el factor de agitación.

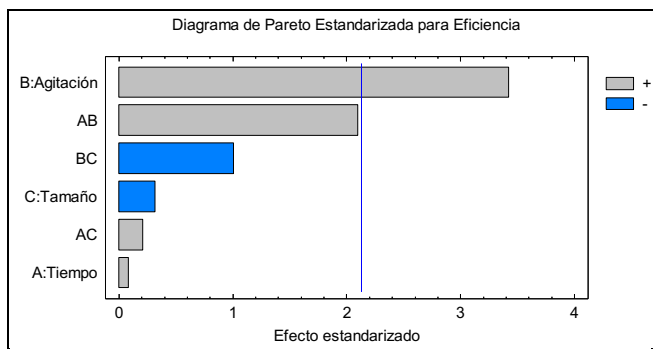


Figura 1. Diagrama de Pareto Estandarizada para Eficiencia

**Camino de Máximo Ascenso para Eficiencia**

En la tabla 2, se presenta el trayecto de máximo ascenso (o descenso). Este es el trayecto, desde el centro de la región experimental actual, a través del cual la respuesta estimada cambia más rápidamente con un cambio menor en los factores experimentales. Indica buenas locaciones para correr experimentos adicionales si el objetivo es incrementar o disminuir la eficiencia. Actualmente, 6 puntos se han generado cambiando tiempo en incrementos de 1,0 (h).

Tabla 3. Camino de Máximo Ascenso para Eficiencia

| TM (h) | FA (rpm) | TP (micras) | Predicción E (%) |
|--------|----------|-------------|------------------|
| 36,0   | 150,0    | 1000,0      | 21,1563          |
| 37,0   | 155,0    | 960,446     | 22,5365          |
| 38,0   | 157,335  | 932,349     | 23,3118          |
| 39,0   | 159,213  | 906,503     | 24,0217          |
| 40,0   | 160,864  | 881,886     | 24,7175          |
| 41,0   | 162,374  | 858,087     | 25,4176          |

**Análisis de la superficie de respuesta estimada**

En la figura 2, se presenta la superficie de respuesta estimada. La máxima eficiencia se logra cuando se trabaja con niveles superiores de tiempo y agitación para un tamaño de partícula de 1000 micras.

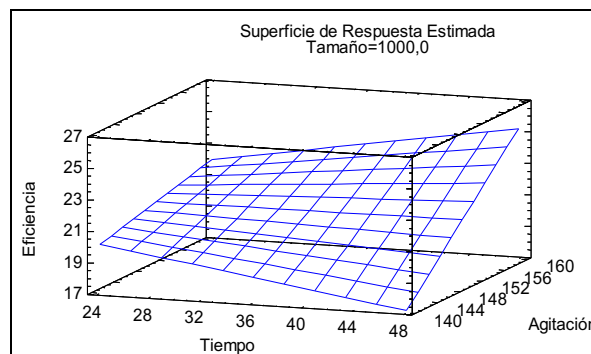


Figura 2. Superficie de respuesta estimada para un tamaño de partícula de 1000 micras.

**Modelo matemático empírico**

Un modelo de regresión lineal fue arrojado por el software estadístico:

$$E (FA) = - 0,0636667 * FA + 31,9242$$

Utilizando el modelo matemático como función objetivo, se optimiza la variable respuesta, logrando un valor máximo de 26,11% cuando el proceso es operado a 48 horas de tiempo, 160 rpm de agitación y 500 micras de tamaño de partícula.

**DISCUSIONES**

**Tamaño de partícula**

La velocidad de difusión del solvente está en función del tamaño de partícula de la droga. La división excesiva de la droga produce polvos muy finos que se compactan, lo que dificulta la penetración del solvente y la extracción incompleta de los principios activos; además, pueden pasar al extracto y dar una apariencia turbia. La filtración de esos extractos es difícil, lenta y costosa, además, causa la retención de una parte del extracto. Por otro lado, una deficiente reducción del tamaño de partícula disminuye el área superficial de la droga, lo que dificulta la penetración del solvente a las células fúngicas (E. Valverde y Dos Santos, 2000).

Está comprobada su influencia en la eficiencia de extracción de polifenoles de la hierba

*Thymus serpyllum* L (Jovanović *et al.*, 2017), pero en la extracción de sustancias bioactivas de hongos por maceración no ha sido evaluada.

Pese a que el tamaño de partícula no ha sido evaluado, algunos investigadores han trabajado con tamaños de partícula de 0,8 mm logrando una eficiencia del 32,7% (Finimundy *et al.* 2018); 0,5 mm logrando una eficiencia del 4% (Szwengiel y Stachowiak, 2016); 0,4 mm logrando una eficiencia del 3,1% (Lin *et al.*, 2014); 0,25 mm logrando una eficiencia del 2,6% (Hu *et al.*, 2006); y 0,18 mm logrando una eficiencia del 7,1% (Li y Shah, 2016). Parecería que la disminución del tamaño de partícula provoca la disminución de la eficiencia, pero Li y Shah (2016) obtuvieron una mayor eficiencia que los otros autores, con excepción de Finimundy y colaboradores (2018), pese a que su TP es el menor. Por lo que podría pensarse que este parámetro no tiene influencia fuerte en la eficiencia de extracción, coincidiendo con este trabajo.

### Frecuencia de agitación

La agitación rítmica y fuerte de la tintura contra un soporte adecuado o recipiente se denomina dinamización (Machado, 2000), , y favorece el proceso de extracción gracias a que incrementa la difusión de las sustancias bioactivas y disminuye el gradiente de concentración (Azmir *et al.*, 2013). Está comprobado que la dinamización de la maceración aumenta la eficiencia de extracción de polifenoles (Lima *et al.*, 2015).

La mayoría de las investigaciones reportadas en la literatura para *P. ostreatus* realizan la extracción por maceración estática, son pocas las que incorporan agitación al proceso, y cuando lo hacen optan por una frecuencia de 150 rpm (Huang *et al.*, 2015; Nattoh *et al.*, 2016; Ramesh y Pattar, 2010; Ren *et al.*, 2014; C. Zhang *et al.*, 2018), que es la recomendada por las farmacopeas para drogas vegetales. Otros autores operaron a 115 rpm (Sulistiany,

Sudirman, y Dharmaputra, 2016) y el resto no controló la frecuencia de agitación (Hapsari *et al.*, 2012; J. Li *et al.*, 2015; D. Ren *et al.*, 2015). Pero ningún autor evaluó la influencia de la frecuencia de agitación en la extracción de sustancias bioactivas de Orellana. Aunque algunos calcularon la eficiencia de extracción: 32,7% operando con agua al clima a 500 rpm y relación 1:30 (Finimundy *et al.* 2018), 7,8% operando con etanol 80% a 150 rpm y relación 1:50 (Radzki *et al.*, 2016); 22,2% operando con agua hirviendo a 150 rpm y relación 1:20 (Alam *et al.*, 2010).

En el presente trabajo se encontró que la frecuencia de agitación sí tiene influencia significativa y su valor óptimo fue de 160 rpm, muy cercano al recomendado por las Farmacopea argentina (1996), Farmacopea brasileña (2010) y Farmacopea francesa (1847).

### Tiempo de maceración

Se determina experimentalmente en función del solvente y del equipo seleccionado. Debe ser el suficiente para permitir la separación de los compuestos de interés, sin embargo, tiene que procurarse que no sea excesivo para evitar sobrecostos innecesarios (Dalonso *et al.*, 2010).

Tan sólo dos investigaciones evaluaron la influencia del tiempo de maceración en el proceso de extracción de polisacáridos de *Pleurotus*. Para Jiao y colaboradores (2017) el tiempo óptimo fue de 44,77 minutos y obtuvo una eficiencia de tan sólo 3.61%, mientras que para Sun y colaboradores (2010) fue de 2.7 horas, aunque no midieron la eficiencia de extracción como variable de respuesta sino el porcentaje de purificación. Algunos estudios afirman que debe limitarse a 90 minutos, ya que luego de este tiempo la influencia sobre la eficiencia de extracción tiende a ser insignificante (Albuquerque *et al.*, 2017; Jovanović *et al.*, 2017), por lo que no sería un factor estadísticamente influyente (Ćujić *et al.*, 2016). Además, Modelos de Superficie de

Respuesta (RSM, por sus siglas en inglés) demostraron que el tiempo de operación no se ve afectado por la Relación Droga:Solvente, el número de extracciones o la temperatura de operación (Sun *et al.*, 2010).

Alam y colaboradores (2010) realizaron maceraciones acuosas durante 3 h y obtuvieron una eficiencia del 22,2%. Finimundy y colaboradores (2018), lo hicieron durante 2,5 h y obtuvieron una eficiencia del 32,7%. Hapsari y colaboradores (2012) maceraron durante 2 h y obtuvieron una eficiencia del 12%. Pahila y colaboradores (2017) lo hicieron en menos de una hora y obtuvieron una eficiencia de tan sólo el 10%, del mismo modo que Phat, Moon y Lee (2016), quienes obtuvieron una eficiencia de tan sólo el 3,1%, operando cada uno con diferente relación droga:solvente. Otros autores, realizaron las maceraciones incorporando etanol, antes y/o después de la maceración en agua, obteniendo eficiencias del: 30 % operando con agua hirviendo durante 2 h y Etanol 80% durante 4 h (Xu *et al.*, 2016); 7,8% operando con Etanol 80% durante 1 h y agua hirviendo durante 3 h (Radzki *et al.*, 2016); 7,1% operando con Etanol 95% durante 24 h, agua hirviendo durante 3 h y Etanol 80%

durante 12 h (S. Li y Shah, 2016); 5,8% operando con agua durante 3 h y Etanol 95% durante 24 h (Y. Zhang *et al.*, 2012); 5,3% operando con Etanol 80% durante 24 h, agua durante 2 h y Etanol absoluto durante 12 h (Xia, Fan, Zhu, y Tong, 2011); 5,2% operando con Etanol 99% durante 48 h, agua hirviendo durante 8 h y Etanol 99% durante 12 h (P. Mitra, Khatua, y Acharya, 2013) 3,8% y 3,1% operando con Etanol absoluto durante 6 h y 24 h, respectivamente (Komura *et al.*, 2014; Lin *et al.*, 2014); 2,7% % operando con Etanol 80% durante 3 h y agua hirviendo durante 3 h (Facchini *et al.*, 2014). Considerando los datos anteriores, se ve no relación de linealidad y/o proporcionalidad entre la variación del tiempo de maceración y la eficiencia de extracción, lo que concuerda con los resultados de este trabajo.

## CONCLUSIONES

Se encontró que el tratamiento que presenta la mayor eficiencia (29%) consta de TP=500 micras, TM=48 h y FA=160 rpm. La influencia de FA en E fue la única estadísticamente significativa. El análisis de regresión lineal arrojó el siguiente modelo matemático:  $E (FA) = -0,0636667 * FA + 31,9242$ .

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agriculture and Agri-Food Canada. (2009). Consumer Trends: Functional Foods. *Market Analysis Report*, (December), 10.
- Alam, N., Yoon, K. N., Lee, K. R., Shin, P. G., Cheong, J. C., Yoo, Y. B., ... Lee, T. S. (2010). Antioxidant Activities and Tyrosinase Inhibitory Effects of Different Extracts from *Pleurotus ostreatus* Fruiting Bodies. *Mycobiology*, 38(4), 295–301. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2010.38.4.295>
- Albuquerque, B. R., Prieto, M. A., Barreiro, M. F., Rodrigues, A., Curran, T. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). Catechin-based extract optimization obtained from *Arbutus unedo* L. fruits using maceration/microwave/ultrasound extraction techniques. *Industrial Crops and Products*, 95, 404–415. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.10.050>
- Association of Official Analytical Chemists [AOAC]. (1990). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (15th ed.). Washington, DC: AOAC.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Chitiva Jaramillo, A. (2010). *Contribución al estudio de microhongos filamentosos en los ecosistemas Páramo de Guasca y El Tablazo. Estudio preliminar de mohos de páramos colombianos*. Bogotá

- D.C. Retrieved from [http://www.javeriana.edu.co/gifuj/hongos\\_ecosistemas\\_paramo.pdf](http://www.javeriana.edu.co/gifuj/hongos_ecosistemas_paramo.pdf)
- Colombia. Departamento Nacional de Planeación [DNP]. (2014). *Bases del Plan Nacional de Desarrollo 2014-2018. Departamento Nacional de Planeación* (Vol. 2). Bogotá D.C. Retrieved from <https://goo.gl/wuDSYZ>
- Comissão Permanente de Revisão da Farmacopéia Brasileira. (1997). *Farmacopéia Homeopática Brasileira: métodos gerais* (2nd ed.). Brasília. Retrieved from <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=247021&indexSearch=ID>
- Ćujić, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G., & Ibrić, S. (2016). Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. *Food Chemistry*, *194*, 135–142. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.008>
- Dalonso, N., Souza, R., Silveira, M. L. L., Ruzza, Â. A., Wagner, T. M., Wisbeck, E., & Furlan, S. A. (2010). Characterization and antineoplastic effect of extracts obtained from pleurotus sajor-caju fruiting bodies. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *160*(8), 2265–2274. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8678-9>
- Deepalakshmi, K., & Mirunalini, S. (2016). Efficacy of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fr.) P.kumm. on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced mammary carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats. *New Horizons in Translational Medicine*, *3*(2), 73–82. <https://doi.org/10.1016/j.nhtm.2016.06.002>
- Devi, K. S. P., Behera, B., Mishra, D., & Maiti, T. K. (2015). Immune augmentation and Dalton's Lymphoma tumor inhibition by glucans/glycans isolated from the mycelia and fruit body of *Pleurotus ostreatus*. *International Immunopharmacology*, *25*(1), 207–217. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.01.026>
- Farmacopea argentina. (1996). *Comisión Permanente de la Farmacopea Argentina* (7th ed., Vol. 1). Buenos Aires: ANMAT. <https://doi.org/10.1016/B978-84-8086-896-9/00339-3>
- Farmacopea brasileña. (2010). *Fundación Oswaldo Cruz [FIOCRUZ]* (5th ed., Vol. 1). Brasília: Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria [ANVISA].
- Farmacopea francesa. (1847). *Traducido por Jiménez, Manuel*. (Universidad Complutense de Madrid, Ed.) (2nd ed.). Madrid: Imprenta de D. N. Sanchíz.
- Finimundy, T. C., Barros, L., Calhelha, R. C., Alves, M. J., Prieto, M. A., Abreu, R. M. V., ... Ferreira, I. C. F. R. (2018). Multifunctions of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer: A highly nutritious food and a source for bioactive compounds. *Food Chemistry*, *245*, 150–158. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.088>
- Gomes Corrêa, R. C., Brugnari, T., Bracht, A., Peralta, R. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. *Trends in Food Science & Technology*, *50*, 103–117. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.012>
- Gunawardena, D., Bennett, L., Shanmugam, K., King, K., Williams, R., Zabaras, D., ... Münch, G. (2014). Anti-inflammatory effects of five commercially available mushroom species determined in lipopolysaccharide and interferon- $\gamma$  activated murine macrophages. *Food Chemistry*, *148*, 92–96. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.015>
- Hapsari, R., Elya, B., & Amin, J. (2012). Formulation and evaluation of antioxidant and tyrosinase inhibitory effect from gel containing the 70% ethanolic *Pleurotus ostreatus* extract. *Int. J. Med. Arom. Plants*, *2*(1), 135–140.
- Hu, S. H., Liang, Z. C., Chia, Y. C., Lien, J. L., Chen, K. S., Lee, M. Y., & Wang, J. C. (2006). Antihyperlipidemic and Antioxidant Effects of Extracts from *Pleurotus citrinopileatus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(6), 2103–2110. <https://doi.org/10.1021/jf052890d>
- Huang, S. J., Lin, C. P., & Tsai, S. Y. (2015). Vitamin D2 content and antioxidant properties of fruit body



- and mycelia of edible mushrooms by UV-B irradiation. *Journal of Food Composition and Analysis*, 42, 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.02.005>
- Jiao, F., Wang, X., Song, X., Jing, H., Li, S., Ren, Z., ... Jia, L. (2017). Processing optimization and antioxidative activity of enzymatic extractable polysaccharides from *Pleurotus djamor*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 469–478. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.01.126>
- Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Gođevac, D. M., & Bugarski, B. M. (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. *Separation and Purification Technology*, 179, 369–380. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.01.055>
- Khan, A. A., Gani, A., Masoodi, F. A., Mushtaq, U., & Naik, A. S. (2017). Structural, rheological, antioxidant, and functional properties of  $\beta$ -glucan extracted from edible mushrooms *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Coprinus attrimentarius*. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 11, 67–74. <https://doi.org/10.1016/J.BCDF.2017.07.006>
- Li, J., Wang, X., Wang, W., Luo, J., Aipire, A., Li, J., & Zhang, F. (2015). *Pleurotus ferulae* water extract enhances the maturation and function of murine bone marrow-derived dendritic cells through TLR4 signaling pathway. *Vaccine*, 33(16), 1923–1933. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.02.063>
- Li, S., & Shah, N. P. (2016). Characterization, antioxidative and bifidogenic effects of polysaccharides from *Pleurotus eryngii* after heat treatments. *Food Chemistry*, 197, 240–249. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.113>
- Lima, M. dos S., da Conceição Prudêncio Dutra, M., Toaldo, I. M., Corrêa, L. C., Pereira, G. E., de Oliveira, D., ... Ninow, J. L. (2015). Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced in industrial scale by different processes of maceration. *Food Chemistry*, 188, 384–392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.014>
- Lin, J. T., Liu, C. W., Chen, Y. C., Hu, C. C., Juang, L. D., Shiesh, C. C., & Yang, D. J. (2014). Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory properties for ethanolic extracts from *Pleurotus eryngii* fruiting bodies harvested at different time. *LWT - Food Science and Technology*, 55(1), 374–382. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.08.023>
- Llauradó, G., Morris, H. J., Lebeque, Y., Venet, G., Fong, O., Marcos, J., ... Bermúdez, R. C. (2016). Oral administration of an aqueous extract from the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* enhances the immunonutritional recovery of malnourished mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 83, 1456–1463. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.08.067>
- Ma, G., Yang, W., Mariga, A. M., Fang, Y., Ma, N., Pei, F., & Hu, Q. (2014). Purification, characterization and antitumor activity of polysaccharides from *Pleurotus eryngii* residue. *Carbohydrate Polymers*, 114, 297–305. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.069>
- Machado Rocha, L. (2000). Extracción de materias primas vegetales. In R. Pinzón (Ed.), *Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos* (pp. 61–70). Bogotá D.C.: Área de Ciencia y Tecnología del Convenio Andrés Bello & Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO) del subprograma X del CYTED.
- Mitra, A. K., & Rodríguez-Fernandez, G. (2010). Latin America and the Caribbean: assessment of the advances in public health for the achievement of the Millennium Development Goals. *Int J Environ Res Public Health*, 7(5), 2238–2255. <https://doi.org/10.3390/ijerph7052238>
- Nattoh, G., Musieba, F., Gatebe, E., & Mathara, J. (2016). Towards profiling differential distribution of bioactive molecules across four phenologies in *Pleurotus djamor* R22. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(6), 472–480. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(16\)61071-X](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(16)61071-X)
- Niksic, M., Klaus, A., & Argyropoulos, D. (2016). Safety of foods based on mushrooms. In V. Prakash, O. Martín-Belloso, L. Keener, S. Astley, S. Braun, H. McMahon, & H. Lelieveld (Eds.), *Regulating*

- Safety of Traditional and Ethnic Foods* (pp. 421–437). Waltham, Massachusetts: Academic Press.
- Organización de las Naciones Unidas [ONU]. (2015). *Objetivos de Desarrollo Sostenible*. Retrieved from <http://www.un.org/sustainabledevelopment/es/summit/>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2015). *Informe mundial sobre el envejecimiento y la salud*. New York. Retrieved from [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/186466/1/9789240694873\\_spa.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/186466/1/9789240694873_spa.pdf?ua=1)
- Pahila, J., Kaneda, H., Nagasaka, R., Koyama, T., & Ohshima, T. (2017). Effects of ergothioneine-rich mushroom extracts on lipid oxidation and discoloration in salmon muscle stored at low temperatures. *Food Chemistry*, 233, 273–281. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.130>
- Pineda, J. A. (2014). *Desarrollo de una tecnología para la producción a pequeña escala de la biomasa del hongo ostra (Pleurotus ostreatus)*. Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz.
- Pineda, J. A., Duarte, A. S., & Ponce, C. A. (2017). *Champiñón ostra: Guía de producción artesanal* (1st ed.). Ibarra.
- Radzki, W., Ziąja-Sołtys, M., Nowak, J., Rzymowska, J., Topolska, J., Sławińska, A., ... Kuczumow, A. (2016). Effect of processing on the content and biological activity of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* mushroom. *LWT - Food Science and Technology*, 66, 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.016>
- Ramesh, C. H., & Pattar, M. G. (2010). Antimicrobial properties, antioxidant activity and bioactive compounds from six wild edible mushrooms of western ghats of Karnataka, India. *Pharmacognosy Research*, 2(2), 107–112. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.62953>
- Ren, D., Jiao, Y., Yang, X., Yuan, L., Guo, J., & Zhao, Y. (2015). Antioxidant and antitumor effects of polysaccharides from the fungus *Pleurotus abalonus*. *Chemico-Biological Interactions*, 237, 166–174. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.06.017>
- Ren, L., Hemar, Y., Perera, C. O., Lewis, G., Krissansen, G. W., & Buchanan, P. K. (2014). Antibacterial and antioxidant activities of aqueous extracts of eight edible mushrooms. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 3(2), 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.01.003>
- Smith, R. M. (2003). Before the injection - Modern methods of sample preparation for separation techniques. *Journal of Chromatography A*, 1000(1–2), 3–27. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00511-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00511-9)
- Suárez Arango, C., & Nieto, I. J. (2013). Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: Una alternativa en la obtención de nutracéuticos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 30(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2012.03.011>
- Sulistiany, H., Sudirman, L. I., & Dharmaputra, O. S. (2016). Production of Fruiting Body and Antioxidant Activity of Wild *Pleurotus*. *HAYATI Journal of Biosciences*, 23(4), 191–195. <https://doi.org/10.1016/J.HJB.2016.07.003>
- Sun, Y., Li, T., Yan, J., & Liu, J. (2010). Technology optimization for polysaccharides (POP) extraction from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus* by Box-Behnken statistical design. *Carbohydrate Polymers*, 80(1), 242–247. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.11.018>
- Szwengiel, A., & Stachowiak, B. (2016). Deproteinization of water-soluble  $\beta$ -glucan during acid extraction from fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus* mushrooms. *Carbohydrate Polymers*, 146, 310–319. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.015>
- Taofiq, O., González-Paramás, A. M., Martins, A., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Mushrooms extracts and compounds in cosmetics, cosmeceuticals and nutricosmetics-A review. *Industrial Crops and Products*, 90, 38–48. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.06.012>
- Terry, P., Giovannucci, E., Michels, K. B., Bergkvist, L., Hansen, H., Holmberg, L., & Wolk, A. (2001). Fruit, vegetables, dietary fiber, and risk of colorectal cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 93(7), 525–533. <https://doi.org/10.1093/jnci/93.7.525>
- Valverde, E., & Dos Santos, M. (2000). Extracción de materias primas vegetales. In R. Pinzón (Ed.),

*Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos* (pp. 27–60). Bogotá D.C.: Área de Ciencia y Tecnología del Convenio Andrés Bello & Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO) del subprograma X del CYTED.

- Valverde, M. E., Hernández-Perez, T., & Paredes-López, O. (2013). Edible mushrooms: improving human health and promoting quality life. *International Journal of Microbiology*, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2015/376387>
- Yan, B., Jing, L., & Wang, J. (2015). A polysaccharide (PNPA) from *Pleurotus nebrodensis* offers cardiac protection against ischemia–reperfusion injury in rats. *Carbohydrate Polymers*, 133, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.076>
- Zhang, C., Li, S., Zhang, J., Hu, C., Che, G., Zhou, M., & Jia, L. (2016). Antioxidant and hepatoprotective activities of intracellular polysaccharide from *Pleurotus eryngii* SI-04. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 568–577. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.104>
- Zhang, C., Zhang, L., Liu, H., Zhang, J., Hu, C., & Jia, L. (2018). Antioxidation, anti-hyperglycaemia and renoprotective effects of extracellular polysaccharides from *Pleurotus eryngii* SI-04. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111, 219–228. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.009>
- Zhang, Y., Hu, T., Zhou, H., Zhang, Y., Jin, G., & Yang, Y. (2016). Antidiabetic effect of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 83, 126–132. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.045>