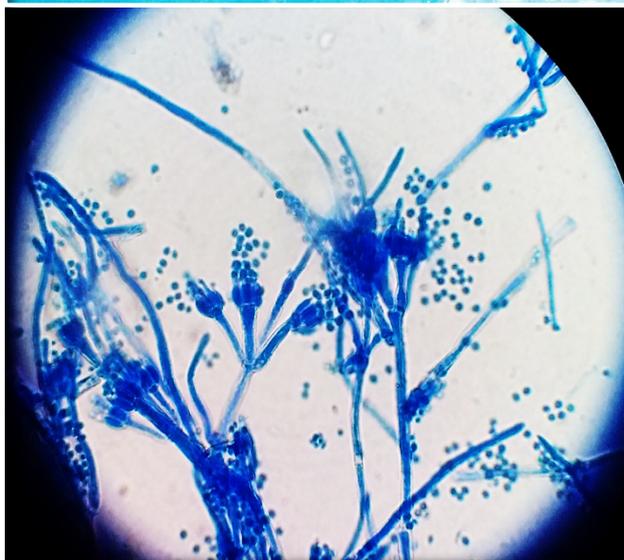


Biorrefinería





El Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA), es una institución de Investigación, Desarrollo e Innovación (I+D+i), constituida bajo la forma de Fundación, sin fines de lucro y de utilidad común. Es una persona jurídica de derecho privado, reconocida por el Estado ecuatoriano mediante acuerdo número 026 del 17 de marzo de 2009 del Ministerio del Ambiente y publicado en el Registro Oficial número 579 del 28 de abril de 2009. El CEBA mantiene un enfoque científico-empresarial, con una filosofía de trabajo por resultados fundamentada en la competitividad. Promueve y apoya toda actividad encaminada a conseguir un equilibrio adecuado para el desarrollo económico, crecimiento de la población, uso

racional de los recursos, protección y conservación del ambiente.

Los resultados científicos se difunden a través de su revista científica Bionatura (www.revistabionatura.com).

La **misión** del CEBA es proveer el soporte científico, tecnológico y empresarial a la BIOECONOMÍA Ecuatoriana, mediante el desarrollo de la *Estrategia ecuatoriana de Bioeconomía (EEB)*, que permitan el máximo aprovechamiento de la biodiversidad en el marco del desarrollo global y sustentable.

La **visión** del CEBA es poner al alcance de todas las personas del mundo la cooperación científica, técnica y empresarial en el campo de la BIOECONOMÍA.

El CEBA se alinea a los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la ONU y al Plan Nacional del Buen Vivir:

- Mejorar la calidad de vida de la población.
- Garantizar los derechos de la naturaleza y promover la sostenibilidad ambiental territorial y global.
- Impulsar la transformación de la matriz productiva.
- Asegurar la soberanía y eficiencia de los sectores estratégicos para la transformación industrial y tecnológica.

Dr. C. Julio Pineda Insuasti, PhD

Director Ejecutivo

Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente

Periférico Sur s/n, Fincas San Agustín (San Antonio)

Cel: (+593) 99 5797813, cebaecuador@gmail.com, www.ceba.org.ec

Ibarra-Ecuador

Biorrefinería

La Revista Biorrefinería publica trimestralmente en español o inglés trabajos inéditos de investigaciones básicas y aplicadas en los campos de la Bioeconomía, Bioagricultura, Bioalimentación, Biosalud, Bioambiente, Bioenergía, Bioindustria y otras disciplinas afines a las Ciencias de la Vida, dirigidas a la generación de nuevos conocimientos, evaluación y desarrollo de nuevas tecnologías, productos y procedimientos de trabajo con impacto a nivel mundial.

Consejo Editorial / Editorial Board

Dr. C. Julio Pineda Insuasti, PhD.
Director Ejecutivo / Executive Director

Lcda. M. Vanessa Rocha Cabuyales
Editora de Sección / Section Editor

Dr. C. Gualberto León Revelo, PhD.
Editor Técnico / Technical Editor

Ing. Astrid Stefanía Duarte Trujillo
Editor Académico / Academic Editor

Equipo Técnico / Technical Team

MSc. Tatyana Katherine Saltos Echeverría
Asistente de publicación / Publication assistant

Camilo Alejandro Pineda Soto
Diagramador y Diseñador / Diagrammer and Designer

Comité Científico / Scientific Committee

1. Dr. Rubén Del Toro, PhD. PUCE, Ecuador
2. Dr. José País, PhD, UTN. Ecuador
3. MSc. Jimmy Núñez, UTN. Ecuador
4. MSc. Elsa Sulay Mora Muñoz. UTN, Ecuador
5. MSc. Edwin Ortiz Rodríguez. GAD Antonio Ante, Ecuador
6. MSc. Gustavo Reyes Lara. CEBA, Ecuador
7. Ing. Carlos Alfonso Santillán. CEBA, Ecuador
8. Dr. C. Fidel Domenech PhD. ONUDI, Cuba
9. Dr. César Zuleta, PhD. PUCE, Ibarra, Ecuador
10. MSc. Claudia Soto Arroyave. UCO, Colombia
11. MSc. Napoleón Benavides. MAE, Ecuador
12. Ing. Rubén Darío Guzmán. IANCEM, Ecuador
13. Abg. César Augusto Ponce. CEBA, Ecuador
14. MSc. William Gómez A. Aglomerados S.A, Ecuador
15. MSc. Klever Ayala Pastaz. CEBA, Ecuador
16. MSc. Juan Carlos Fiallos. ESPOCH, Ecuador
17. Dr. C. Mario Cujilema, PhD. U de Camagüey, Cuba
18. Dr. C. Ernesto Rosero Delgado, PhD. UTM, Ecuador
19. Dra. Gabriela Cifuentes G, PhD. Qualifarm, Ecuador
20. MSc. Javier Jiménez Forero. UNILLANOS, Colombia.
21. MSc. Estefanía Andrade. FLACSO, Ecuador
22. Msc. José Huaca. UTN, Ecuador.
23. Dr. C. Ernesto Osejos, PhD. UTN, Ecuador
24. Dr. C. Luis Enrique Trujillo Toledo, PhD. ESPE, Ecuador

Formato: 21 cm x 29,7 cm

ISSN digital: 2602-8530

URL: <http://www.ceba.org.ec/publicaciones/revista-biorrefineria/>

Contacto: [biorrefineria.ceba@gmail.com](mailto: biorrefineria.ceba@gmail.com)

Tabla de contenido

<i>Degradación de índigo carmín por hongos de pudrición blanca.....</i>	<i>5</i>
<i>Producción de Beauveria spp. con fines agrícolas.....</i>	<i>16</i>
<i>Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos aromáticos utilizando el hongo Pleurotus.....</i>	<i>26</i>
<i>Obtención de cepas puras de Monascus spp. con fines industriales.....</i>	<i>32</i>
<i>Producción de la seta rosada (Pleurotus djamor) por Fermentación en Estado Sólido (FES).....</i>	<i>43</i>
<i>Obtención de cepas puras de Trichoderma spp.....</i>	<i>53</i>
<i>Influencia de la densidad y el título en el pickup de una venda con extracto de cebolla.....</i>	<i>65</i>
<i>Beta-Glucanos de Pleurotus y sus efectos en la salud.....</i>	<i>74</i>
<i>Producción de carbonato de calcio precipitado a partir de piedra caliza.....</i>	<i>85</i>
<i>Producción de Fertilizante Orgánico a partir de Residuos de sangre del camal.....</i>	<i>92</i>
<i>Pleurotus ostreatus: una seta con potencial.</i>	<i>98</i>
<i>Instrucciones a los autores.....</i>	<i>118</i>

Degradación de índigo carmín por hongos de pudrición blanca

Indigo carmine degradation by white rot fungi

Astrid Stefanía Duarte Trujillo¹, Javier Alexander Jiménez Forero², Julio Amilcar Pineda Insuasti³, Elsa Sulay Mora Muñoz⁴

¹ Organización Micológica Internacional (OMI), Florencia, Colombia.

² Universidad de los Llanos (UNILLANOS), Villavicencio, Colombia.

³ Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

⁴ Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.

Autor para correspondencia: stefan-ing.agroind@hotmail.com

Recibido: octubre 21 de 2018

Aceptado: diciembre 23 de 2018

RESUMEN

El Índigo Carmín (IC) es un colorante textil ampliamente usado, que causa contaminación ambiental por su estructura polifenólica de naturaleza persistente. Los Hongos de Pudrición Blanca (HPB) producen un complejo de enzimas no específicas capaces de degradar colorantes polifenólicos como el IC, por lo que su biomasa viva y/o sus enzimas presentan aplicaciones industriales potenciales en el tratamiento de efluentes industriales, en el blanqueo de pulpa para papel y en el envejecido de telas. El objetivo de éste artículo es describir los avances científicos en la degradación enzimática de Índigo Carmín (IC) por HPB e identificar las deficiencias de conocimiento que limitan su desarrollo tecnológico. Se identificó que la principal limitante tecnológica es el deficiente escalado del proceso.

PALABRAS CLAVE: biorremediación, enzimas, industria, lacasas, peroxidases.

ABSTRACT

Indigo Carmine (IC) is a widely used textile dye, which causes environmental pollution due to its polyphenolic structure of persistent nature. White Rot Fungi (WRF) produce a complex of non-specific enzymes capable of degrading polyphenolic dyes such as IC, so that their living biomass and / or their enzymes present potential industrial applications in the treatment of industrial effluents, in the bleaching of pulp for paper and in the aging of fabrics. The objective of this article is to describe the scientific advances in the enzymatic degradation of IC by WRF and to identify the knowledge deficiencies that limit its technological development. It was identified that the main technological limitation is the poor scaling of the process.

KEYWORDS: bioremediation, enzymes, industry, laccases, peroxidases.

INTRODUCCIÓN

Los colorantes sintéticos son compuestos aromáticos que en su estructura incluyen anillos aril con sustituyentes nitros, aminos,

hidroxilos, entre otros, los cuales presentan sistemas de electrones deslocalizados responsables de la absorción de la radiación electromagnética de diferentes longitudes de onda (Quintero y Cardona, 2010). Se pueden

clasificar por tecnología de teñido, estructura química o enlace cromóforo, índice de color y tipo de ionización (Quintero y Cardona, 2010; Wesenberg, 2003).

Los tintes tina (incluyendo el índigo) y los sulfurosos representan alrededor del 31% del mercado mundial de colorantes textiles, valor del cual el índigo constituye el 7%, representando cerca de 12.000 toneladas (Roessler, Crettenand, Dossenbach, Marte, y Rys, 2002). Su uso está muy difundido en la industria del denim, aunque gran parte del tinte empleado en la tinción de las telas, no se fija, sino que se pierde en las aguas residuales en proporción del 2 al 50%. Se calcula que la industria textil genera alrededor de 200 a 350 metros cúbicos de aguas residuales por tonelada de ropa teñida (Husain, 2010; Kuhad, Sood, Tripathi, Singh, y Ward, 2004; Schoeberl, Brik, Braun, y Fuchs, 2005).

Al salir en las aguas residuales, los tintes constituyen contaminantes persistentes debido a su origen sintético, su estructura compleja de alto peso molecular (Kuhad *et al.*, 2004), y su estabilidad a la luz, a la temperatura y al ataque microbiano (Gregory, 2000) generando fluctuaciones de las fuentes hídricas en parámetros como demanda química de oxígeno (DQO), demanda bioquímica de oxígeno (DBO), pH, color, salinidad, composición química (Talarposhti, Donnelly, y Anderson, 2001). El Índigo Carmín (IC), pese a contaminar el medio ambiente, causa dermatitis alérgica, conjuntivitis, hipertensión, hiperactividad, afecciones gastrointestinales y neurotoxicidad (Additifs, 2015; EFSA, 2015), además de ser un cancerígeno probable según la Association pour la Recherche Thérapeutique Anti-Cancéreuse (ARTAC, 2011).

Los métodos convencionales de tratamiento de efluentes de la industria textil se han caracterizado por ser eficientes, sin embargo, son inviables económicamente, generan lodos y en el caso de las membranas se colmatan; por el contrario, los métodos biológicos como

la biorremediación, trabajan con organismos vivos o muertos y/o enzimas, libres o inmovilizados con actividad biológica depurativa, son más económicos, son efectivos y no generan lodos (Kuhad *et al.*, 2004). En la biorremediación se han empleado hongos y/o bacterias en cultivos individuales o cocultivo para degradación de colorantes industriales, siendo los Hongos de Pudrición Blanca (HPB) de vital importancia gracias a su sistema enzimático inespecífico, que consta de ligninasas de tipo peroxidasa y fenoloxidasa, que en la naturaleza inician, más no dirigen la degradación de la lignina contenida en la madera, la cual tiene una estructura polifenólica similar a la de los colorantes sintéticos (Glenn y Gold, 1983; Wesenberg, 2003).

Debido a que la actividad enzimática de los HPB es inespecífica, los colorantes pueden ser también objeto de degradación. Su eficiencia depende de variables exógenas como la temperatura de incubación, presencia o ausencia de inductores, concentración de sustrato (índigo, en este caso), composición del medio, pH, entre otros (Harvey y Thurston, 2001). El papel depurador de los hongos de pudrición blanca puede ir desde la decoloración de las aguas residuales coloradas con tintes industriales, hasta su detoxificación, como reporta Abadulla *et al.* (2000) en colorantes antraquinónicos, azo e indigoide tratados con *Trametes Hirsuta*.

El objetivo de este artículo es describir los avances científicos en la degradación enzimática de Índigo Carmín (IC) por HPB e identificar las deficiencias de conocimiento que limitan su desarrollo tecnológico.

ÍNDIGO CARMÍN

El índigo carmín es un polvo azul oscuro y cristalino que también está disponible como laca. Es insoluble en agua, alcohol y éter debido a las fuerzas intermoleculares fuertes de los puentes de hidrógeno, pero soluble en

cloroformo, nitrobenzeno y ácido sulfúrico concentrado (Zollinger, 2003). Genéricamente es denominado indigotina, carmín de índigo o índigo carmín. En los Estados Unidos de Norte América le identifican como §74.102 FD&C Blue No. 2 mientras que en la Unión Europea le reconocen como E132. También suele conocerse como CI 73015, CI 75781 (cosméticos), CI Vat blue I, FD & C Azul Nº 2 / Azul 2 (EE.UU.), Azul Acido CI 74 (Additifs, 2015). En la figura 1 se puede ver el grupo cromóforo causante del color, que consta de un doble enlace entre dos carbonos sustituidos por dos donadores N-H y dos aceptores C=O (U. S. Government Publishing Office, 2016).

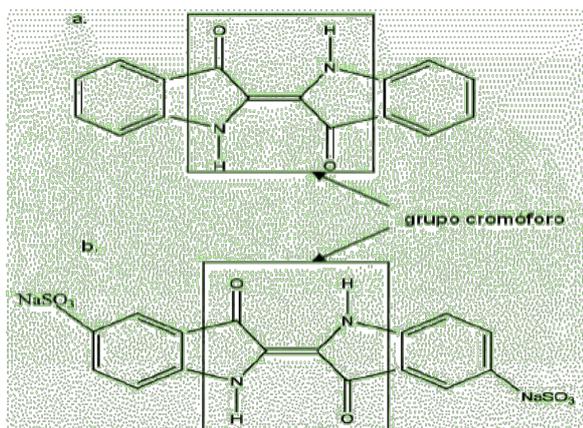


Fig. 1. Molécula de índigo (a) y molécula de índigo carmín (b) (Quintero y Cardona, 2010).

El índigo carmín se obtiene por calentamiento del índigo (añil o pasta de índigo), en presencia de ácido sulfúrico. El aditivo es aislado y sometido a procedimientos de purificación (U. S. Government Publishing Office, 2016). Es ampliamente empleado como aditivo en la industria farmacéutica, alimentaria (animal, humana...) y cosmética desde 1931 (FDA, 2015). Su aplicación más importante es el teñido de Blue Jeans y otros productos del denim (Gemeay, Mansour, El-Sharkawy, y Zaki, 2003).

El índigo se fija a los textiles durante la etapa de tinción mediante óxido-reducción compleja debido a su insolubilidad en agua y a la no afinidad con las fibras celulósicas (Božič y Kokol, 2008). El colorante es reducido con agentes

reductores o mediante métodos electroquímicos, de modo que empieza a decolorarse, solubilizarse en agua, aumentar su afinidad por la celulosa e incorporarse a las fibras textiles a través de sus hendiduras. En la medida en que seca la tela, el índigo va volviendo a su forma insoluble, estableciendo enlaces mecánicos con las fibras (Quintero y Cardona, 2010). Finalmente, se adiciona peróxido de hidrógeno u oxígeno atmosférico a pH alto para remover el exceso de colorante (Božič y Kokol, 2008).

EFLUENTES TEXTILES

En la tabla 1 se observan las características fisicoquímicas de un efluente teñido con índigo:

Tabla 1. Caracterización de un efluente de la industria textil teñido de índigo

Parámetro	Valor de rango	Valor promedio
pH	11.2 - 11.3	11.3 +/- 0.1
DQO (mg/L)	1300 – 1554	1427 +/- 180
Conductividad	12.2 – 12.3	12.3 +/- 0.1
Color (Pt-Co)	3132 – 4190	3661 +/- 748

Fuente: (Maga y Tu, 1995)

MECANISMOS DE DEGRADACIÓN

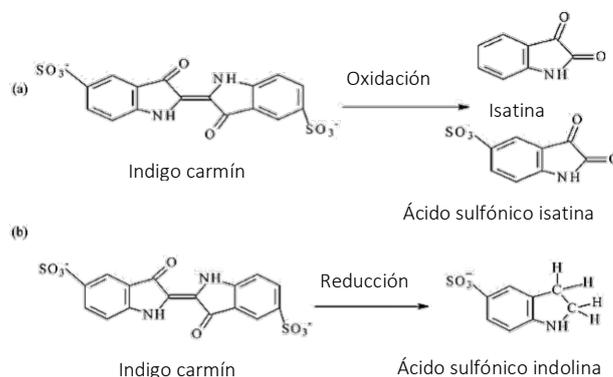


Fig. 2. Mecanismos de degradación del índigo carmín (H.-X. Li *et al.*, 2015).

El mecanismo de degradación del índigo carmín más común es la oxidación, donde se producen principalmente isatina y ácido sulfónico isatina como metabolitos tras la

escisión del doble enlace C=C y la formación del grupo carbonilo C=O. Existen también algunas bacterias como *Bacillus* spp. que no oxida, sino que reducen el IC hasta ácido sulfónico indolina según figura 2 (H.-X. Li, Xu, Tang, Zhang, y Mao, 2015).

TRATAMIENTO DE EFLUENTES

Métodos fisicoquímicos

Adsorción por hidróxido de calcio (Ramesh, Kirana, Ashwini, y Manasa, 2015), por nanofibras de alcohol de polivinilo mesoporoso (Teng, Li, Zhang, y Taha, 2011), por quitina o quitosán (Prado, Torres, Faria, y Dias, 2004); coagulación con sulfato de aluminio y cloruro férrico (Unlu, Yukseler, y Yetis, 2009); filtración por membranas (Buscio, Crespi, y Gutiérrez-Bouzán, 2015; Unlu *et al.*, 2009); oxidación química con peróxido de hidrógeno sobre gel de sílica (Gemeay *et al.*, 2003), con película de birnesita (Zaied *et al.*, 2011), con ozono (Qu, Xu, Meng, Wang, y Wang, 2015); oxidación electroquímica con un electrodo de tipo DSA y un cátodo de circonio (Palma-Goyes, Silva-Agredo, González, y Torres-Palma, 2014); fotodegradación química con peróxido de hidrógeno y radiación UV (Galindo, Jacques, y Kalt, 2001); fotocatalisis en fibras de dióxido de titanio (Barka, Assabane, Nounah, y Ichou, 2008; Othman, Mohamed, y Ibrahim, 2007; Palma-Goyes *et al.*, 2014; Vautier, Guillard, y Herrmann, 2001); electrofenton y foto-electrofenton (Flox *et al.*, 2006); ultrasonido (Palma-Goyes *et al.*, 2014); y disolución en un agente tensoactivo como bromuro de cetiltrimetilamonio (Lu *et al.*, 2005).

Métodos biológicos

Actividad microbiana con células libres o inmovilizadas, principalmente de *Bacillus* spp (H.-X. Li *et al.*, 2015), γ -*Proteobacterium* (Singh, Capalash, Goel, y Sharma, 2007) y *Paenibacillus larvae* (Ramya, Anusha, y Kalavathy, 2008). Actividad enzimática, principalmente con enzimas lacasas de *Bacillus amyloliquefaciens* (L. Lu *et al.*, 2012), de *Scytalidium thermophilum* (L. Lu *et al.*, 2012),

de *Bacillus subtilis* (Cho, Seo, Lee, y Pan, 2011) y de hongos de pudrición blanca (Balan y Monteiro, 2001; Wesenberg, 2003).

HONGOS DE PUDRICIÓN BLANCA

Los hongos de pudrición blanca (HPB) abarcan grupos diversos ecofisiológicamente como los basidiomicetes, que en la naturaleza son capaces de despolimerizar y mineralizar la lignina presente en la madera por acción de una o más enzimas extracelulares, con procesos de absorción mínima en los micelios (Wesenberg, 2003). La lignina es un polímero que forma parte de la pared celular de las plantas y se conforma de unidades no repetitivas de fenilpropanoide ligadas por varios enlaces C-C, con una estructura muy semejante a la de los Compuestos Orgánicos Persistentes (COPs); su alta complejidad, estabilidad e irregularidad implica que las enzimas que le degradan, posean la habilidad de oxidar inespecíficamente sustratos de alto potencial de oxido-reducción.

Por tanto, las Enzimas Modificadoras de Lignina (EML) pueden degradar varios compuestos de estructura polifenólica semejante a la lignina como los colorantes sintéticos y otros compuestos persistentes (Pointing, 2001; Swamy y Ramsay, 1999; Van Aken y Agathos, 2002), lo cual le otorga diversas aplicaciones biotecnológicas como la biorremediación (Bumpus y Aust, 1987) y el blanqueo tanto de la pulpa para papel (Camarero *et al.*, 2007) como de prendas textiles en la etapa del acabado (Doshi y Shelke, 2001).

ENZIMAS MODIFICADORAS DE LIGNINA (EML)

Las Enzimas Modificadoras De Lignina (EML) de los HPB son principalmente tres oxidoreductasas: una fenoloxidasas y dos peroxidadasas; Lacasa (LAC), Manganese Peroxidasas (MnP) y Lignin-peroxidadasas (LiP), respectivamente. LiP y MnP requieren de un suministro constante de peróxido de hidrógeno, por lo que enzimas auxiliares como

Glioxal Oxidasa y Superóxido Dismutasa son necesarias. Algunos hongos producen las tres enzimas ligninolíticas mientras que otros sólo pueden sintetizar una (Glenn y Gold, 1983; Wesenberg, 2003).

Los HPB producen las EML durante su metabolismo secundario (idiofase), que según la teoría, es la fase de stress celular inducida por el nivel limitado de la fuente de Carbono o Nitrógeno, el cual puede ser simulado a escala laboratorio (Wesenberg, 2003). Las EML son capaces de iniciar, más no de dirigir el proceso denominado "Combustión enzimática" que activa al compuesto polifenólico para que supere la barrera energética e inicie una fragmentación termodinámicamente favorecida (Kirk y Farrell, 1987).

Las EML catalizan la oxidación del IC mediante abstracción de cuatro electrones para reducir del oxígeno molecular a agua y producir isatina. A partir de allí sigue una secuencia de reacciones de hidrólisis sin mediación de la enzima. La isatina se oxida y forma el ácido isático, que es inestable y se descarboxila espontáneamente produciendo ácido antranílico como producto final de degradación. Varios factores pueden influir en la velocidad global de la degradación enzimática de índigo tales como los fenómenos de adsorción, las limitaciones de transporte, la accesibilidad y el potencial redox de la enzima y el sustrato (Balan y Monteiro, 2001; Campos, Kandelbauer, Robra, Cavaco-Paulo, y Gübitz, 2001). A continuación, se describen las principales enzimas ligninolíticas implicadas en la degradación del IC.

Peroxidasas

Son enzimas que utilizan peróxido de hidrógeno para catalizar la oxidación de una variedad de compuestos orgánicos e inorgánicos. La gran mayoría tiene un grupo protoporfirina IX (hemo b) como grupo prostético, el cual consta de un Fe^{2+} pentacoordinado a 4 Nitrógenos pirrólicos y al nitrógeno de la histidina proximal (Conesa, Punt, y van den Hondel, 2002). En la figura 4 se ilustra su ciclo catalítico.

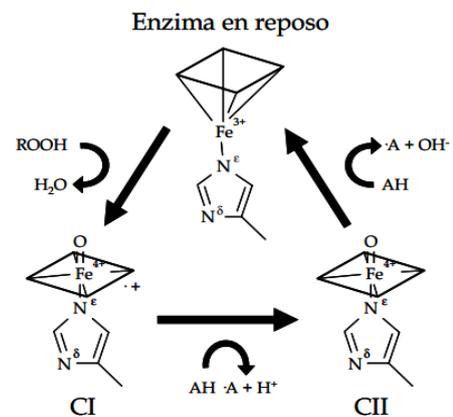


Fig. 3. Ciclo catalítico de las peroxididasas (Rodríguez Sánchez, 2006).

Las diferentes peroxididasas difieren en la naturaleza del sustrato de reducción, como se describe a continuación:

Manganeso-Peroxidasas: son las más producidas por los hongos de pudrición blanca. Son glicoproteínas N-Glicosiladas con una protoporfirina de hierro IX (hemo) como grupo prostético, peso molecular entre 32 a 62.5 kDa, y múltiples isoformas, alrededor de 11. Las MnP oxidan Mn^{2+} a Mn^{3+} , catión que sólo degrada compuestos fenólicos porque su potencial redox no es suficientemente elevado para mediar la ruptura de enlaces $\text{C}\alpha\text{-C}\beta$. Mn^{3+} es inestable en medio acuoso, por ende, es estabilizado con quelantes sintetizados por el mismo hongo como el ácido oxálico o el malónico, y promovido tanto por mediadores nativos Mn^{2+} y Mn^{3+} , como por cooxidantes o mediadores secundarios como los ácidos grasos insaturados (Tween 80...) o los tioles (Glutatión reducido, cisteína...); éstos últimos son secretados por la célula en forma de péptidos durante la lisis celular parcial (Conesa *et al.*, 2002; Paszczyński, Andrzej Crawford y Huynh, 1988; Wesenberg, 2003).

Lignin-peroxididasas: su masa molecular está entre 38 y 47 kDa, presenta hasta 19 isoformas y su estructura N-Glicosilada contiene un grupo hemo en el sitio activo. Esta enzima cataliza las escisiones laterales, la ruptura de anillos de compuestos fenólicos, las demetoxilaciones, las cloraciones oxidativas, y la oxidación de compuestos tipo lignina

aromática no fenólica como los dímeros mediante la extracción de un electrón para formar radicales reactivos. Sin embargo, la LiP no es imprescindible para iniciar la oxidación de la lignina; inclusive existen varios HPB que no le excretan. Al igual que las MnP, la actividad de las LiP es promovida por mediadores redox sintetizados por el mismo hongo como 2-cloro-1,4-dimetoxibenceno y alcohol veratrílico (3,4-Dimethoxybenzyl) que acercan sustratos al centro redox de la enzima y le salvaguardan de inactivación por agua oxigenada (Conesa *et al.*, 2002; Van Aken y Agathos, 2002; Wesenberg, 2003).

Versatil-peroxidadas: se describió por primera vez en *Pleurotus* y *Bjerkandera*. Esta enzima puede oxidar tanto compuestos aromáticos fenólicos como no fenólicos, por lo que se considera un híbrido entre MnP y LiP; además, es curioso que su pH óptimo difiera de acuerdo al sustrato oxidado, siendo de 5 para Mn²⁺ y de 3 para compuestos aromáticos, valores similares a óptimos para MnP y el LiP, respectivamente. Por otro lado, oxida directamente hidroquinonas y fenoles sustituidos que no se oxidan de manera eficiente por MnP y LiP (Martínez, 2002; Wesenberg, 2003).

FENOLOXIDASAS

Lacasas

Son enzimas N-Glucosiladas del tipo fenoloxidasas producidas por casi todos los basidiomicetes de pudrición blanca. Su peso molecular está entre 60 a 390 kDa, presentan cuatro átomos de Cu (2+ en estado de reposo) distribuidos en diferentes sitios de unión del sitio activo y se clasifican en tres tipos de acuerdo a sus características específicas. Como se observa en la figura 3, catalizan la oxidación de donantes de hidrógeno aromático, con una consecuente reducción del oxígeno a agua. Algunas se expresan constitutivamente, otras lo hacen por inducción con compuestos aromáticos como ABTS (ácido 2,2-azino-bis- (3-

etilbenzotiazolin-6-sulfónico), HBT (N, N' bis- (1 H -tetrazol-5-il) – hidrazina) y siringaldazina (Wesenberg, 2003; Xiao *et al.*, 2004).

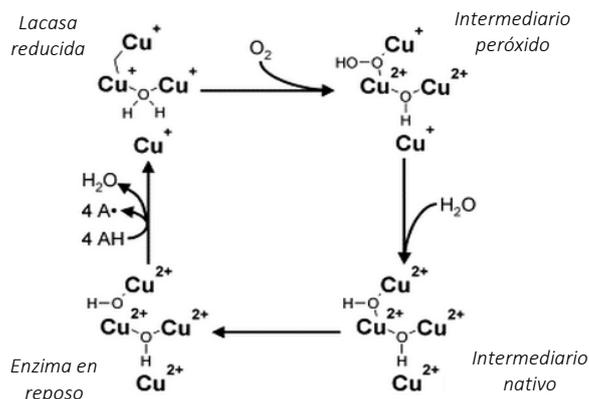


Fig. 4. Ciclo catalítico de las lacasas (Wesenberg, 2003).

DEGRADACIÓN DE IC POR HPB

Los colorantes se emplearon inicialmente como medidores de actividades fúngica ligninolítica en varios ensayos enzimáticos. Los primeros en reportarlo fueron Glenn y Gold (1983), quienes evaluaron la decoloración de colorantes poliméricos sulfonados utilizando *Phanerochaete chrysosporium*. A partir de allí se empezaron a publicar estudios que evaluaban la capacidad decolorante de varias cepas más. Los primeros en reportar la decoloración de un efluente de la industria química que contenía cromóforos azo fueron Knapp y Newby (1999); luego Wesenberg, Buchon y Agathos (2002) utilizaron las enzimas ligninolíticas de hongos para tratar efluentes de la industria textil.

En la tabla 2 se enuncian y describen brevemente las principales investigaciones de hongos que se han empleado para degradar el índigo carmín:

Tabla 2. Hongos de pudrición blanca que degradan índigo carmín.

Variedad	Descripción	Fuente
<i>Coprinopsis cinérea</i> , <i>Gongronella sp.</i>	Como cocultivo es 900 veces más efectivo que emplearlas por separado. El pH óptimo es de 6,5 a una temperatura de 60°C. Conversión 75-80%	(Pan <i>et al.</i> , 2014)
<i>Corilopsis rigida</i>	Fermentación en estado sólido ex situ con cáscara de cebada y castañas como soporte y sulfato de cobre como inductor. Hubo producción de lacasa y degradación total del IC en 4h.	(Gómez, Pazos, Rodríguez Couto, y Sanromán, 2005)
<i>Trametes hirsuta</i>	Decoloró hasta un 82% el IC inmovilizado en esponja de acero inoxidable, en un bioreactor suplementado con sulfato de cobre.	(Rodríguez Couto, Sanromán, Hofer, y Gübitz, 2004)
	Inmovilizado del hongo sobre perladura de naranja en bioreactores de cama fija tanto en modo batch como en continuo. En batch decoloró el 100% del IC 100% en 3h y en continuo el 94% en 3 días.	(Rodríguez Couto, Rosales, y Sanromán, 2006)
	Fermentación en reactores de platos cónicos y de inmersión, empleando las semillas de uva como soporte. El IC se degradó 98% en 20h.	(Rodríguez Couto <i>et al.</i> , 2006)
	Lacasa de <i>T. hirsuta</i> fue inmovilizada en perlas de alginato en un bioreactor de transporte aéreo, alcanzando una degradación del IC en un 96%	(Domínguez, Alberto Rodríguez Couto, Susana Sanromán, 2005)
<i>Ceriporiopsis subvermispora</i>	La cepa creció en estado semisólido sobre cáscaras de melón con xilidina como inductor para producción de lacasa y decoloración del IC hasta más del 95%	(Yavuz, Kaya, y Aytekin, 2014)
<i>Phellinus gilvus</i> ,	Decoloró el índigo un 100% en medio líquido	(Balan y Monteiro, 2001)
<i>Pleurotus sajor-caju</i> ,	Decoloró el índigo un 94% en medio líquido	
<i>Pycnoporus sanguineus</i> ,	Decoloró el índigo un 91% en medio líquido	
<i>Trametes hirsuta</i> ,	Se empleó lacasa aislada del hongos para degradar el IC hasta	(Campos <i>et al.</i> , 2001))
<i>Sclerotium rolfsii</i> ,	Ácido antanílico, decolorando hasta un 98%	
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Los residuos de yuca se bioconvirtieron fúngicamente para la producción de MnP en estado sólido. Dicha enzima se empleó para degradación de índigo hasta un 90,18%	(H. Li, Zhang, Tang, Zhang, y Mao, 2015)
	El hongo en medio líquido decoloró el índigo en un 75%.	(Balan y Monteiro, 2001)
	Mayor decoloración, hasta el 100% con dos días más de actividad.	(Knapp, Newby, y Reece, 1995)
<i>Piptoporus betulinus</i> ,	El hongo en medio líquido logra decoloración del IC del 100%.	(Knapp <i>et al.</i> , 1995)
<i>Pleurotus ostreatus</i> ,	El hongo en medio líquido logra decoloración del IC del 99%.	
<i>Trametes (Coriolus) versicolor</i>	El hongo en medio líquido logra decoloración del IC del 100%.	

CONCLUSIÓN

Los hongos de pudrición blanca son microorganismos que cuentan con un sistema enzimático inespecífico capaz de degradar compuestos de estructura polifenólica como los colorantes sintéticos, lo que constituye una alternativa potencial para el tratamiento de efluentes textiles contaminados con índigo carmín y para el proceso de decoloración del

denim, evitando así el uso de químicos persistentes. Las investigaciones realizadas corroboran la actividad enzimática de los hongos de pudrición blanca, pero no solucionan el problema de contaminación de cuerpos de agua por índigo carmín porque se limitan a la escala laboratorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abadulla, E., Tzanov, T., Costa, S., Robra, K.-H., Cavaco-Paulo, A., & Gubitz, G. M. (2000). Decolorization and Detoxification of Textile Dyes with a Laccase from *Trametes hirsuta*. *Applied and Environmental Microbiology*, *66*(8), 3357–3362. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.8.3357-3362.2000>
- Additifs. (2015). Indigotine, Carmin(e) d'indigo. Toxicite. Recuperado a partir de http://www.additifs-alimentaires.net/E132.php?src_reg&nostat#a_src
- Association pour la Recherche Thérapeutique Anti-Cancéreuse (ARTAC). (2011). *Classification de l'ARTAC des additifs alimentaires selon leur risque potentiellement ou certainement cancérigène*. Recuperado a partir de http://www.artac.info/fic_bdd/pdf_fr_fichier/Classification_des_additifs_13299194710.pdf
- Balan, D. S. L., & Monteiro, R. T. R. (2001). Decolorization of textile indigo dye by ligninolytic fungi. *Journal of Biotechnology*, *89*(2), 141–145. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00304-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00304-2)
- Barka, N., Assabbane, A., Nounah, A., & Ichou, Y. A. (2008). Photocatalytic degradation of indigo carmine in aqueous solution by TiO₂-coated non-woven fibres. *Journal of Hazardous Materials*, *152*(3), 1054–1059. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.07.080>
- Božič, M., & Kokol, V. (2008). Ecological alternatives to the reduction and oxidation processes in dyeing with vat and sulphur dyes. *Dyes and Pigments*, *76*(2), 299–309. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2006.05.041>
- Bumpus, J. A., & Aust, S. D. (1987). Biodegradation of environmental pollutants by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*: Involvement of the lignin degrading system. *BioEssays*, *6*(4), 166–170. <https://doi.org/10.1002/bies.950060405>
- Buscio, V., Crespi, M., & Gutiérrez-Bouzán, C. (2015). Sustainable dyeing of denim using indigo dye recovered with polyvinylidene difluoride ultrafiltration membranes. *Journal of Cleaner Production*, *91*, 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.12.016>
- Camarero, S., Ibarra, D., Martínez, Á. T., Romero, J., Gutiérrez, A., & del Río, J. C. (2007). Paper pulp delignification using laccase and natural mediators. *Enzyme and Microbial Technology*, *40*(5), 1264–1271. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.09.016>
- Campos, R., Kandelbauer, A., Robra, K. ., Cavaco-Paulo, A., & Gübitz, G. . (2001). Indigo degradation with purified laccases from *Trametes hirsuta* and *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Biotechnology*, *89*(2), 131–139. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00303-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00303-0)
- Cho, E.-A., Seo, J., Lee, D.-W., & Pan, J.-G. (2011). Decolorization of indigo carmine by laccase displayed on *Bacillus subtilis* spores. *Enzyme and Microbial Technology*, *49*(1), 100–104. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2011.03.005>
- Conesa, A., Punt, P. J., & van den Hondel, C. A. M. J. J. (2002). Fungal peroxidases: molecular aspects and applications. *Journal of Biotechnology*, *93*(2), 143–158. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00394-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00394-7)
- Domínguez, Alberto Rodríguez Couto, Susana Sanromán, M. Á. (2005). Dye decolorization by *Trametes hirsuta* immobilized into alginate beads. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *21*(4), 405–409. <https://doi.org/10.1007/s11274-004-1763-x>
- Doshi, R., & Shelke, V. (2001). Enzymes in textile industry- An environment-friendly approach. *Indian Journal of Fibre & Textile Research (IJFTR)*, *26*(1–2), 202–205. Recuperado a partir de [http://14.139.47.15/bitstream/123456789/24929/1/IJFTR 26%281-2%29 202-205.pdf](http://14.139.47.15/bitstream/123456789/24929/1/IJFTR%2026%281-2%29%202-205.pdf)
- European Food Safety Authority (EFSA). (2015). Scientific Opinion on the safety and efficacy of indigo carmine (E 132) for cats and dogs and ornamental fish. *EFSA Journal*, *13*(5), 4108–4123. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4108>
- Flox, C., Ammar, S., Arias, C., Brillas, E., Vargas-Zavala, A. V., & Abdelhedi, R. (2006). Electro-Fenton

- and photoelectro-Fenton degradation of indigo carmine in acidic aqueous medium. *Applied Catalysis B: Environmental*, 67(1), 93–104. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2006.04.020>
- Galindo, C., Jacques, P., & Kalt, A. (2001). Photochemical and photocatalytic degradation of an indigoid dye: a case study of acid blue 74 (AB74). *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 141(1), 47–56. [https://doi.org/10.1016/S1010-6030\(01\)00435-X](https://doi.org/10.1016/S1010-6030(01)00435-X)
- Gemeay, A. H., Mansour, I. A., El-Sharkawy, R. G., & Zaki, A. B. (2003). Kinetics and mechanism of the heterogeneous catalyzed oxidative degradation of indigo carmine. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 193(1), 109–120. [https://doi.org/10.1016/S1381-1169\(02\)00477-6](https://doi.org/10.1016/S1381-1169(02)00477-6)
- Glenn, J. K., & Gold, M. H. (1983). Decolorization of Several Polymeric Dyes by the Lignin-Degrading Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Envir. Microbiol.*, 45(6), 1741–1747. Recuperado a partir de <http://aem.asm.org/cgi/content/long/45/6/1741>
- Gómez, J., Pazos, M., Rodríguez Couto, S., & Sanromán, M. Á. (2005). Chestnut shell and barley bran as potential substrates for laccase production by *Coriolopsis rigida* under solid-state conditions. *Journal of Food Engineering*, 68(3), 315–319. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.06.005>
- Gregory, P. (2000). Dyes and Dye Intermediates. En *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* (pp. 1–66). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/0471238961.0425051907180507.a01.pub2>
- Harvey, P. J., & Thurston, C. F. (2001). The biochemistry of ligninolytic fungi. En G. M. Gadd (Ed.), *Fungi in Bioremediation* (pp. 27–52). Cambridge: British Mycological Society.
- Husain, Q. (2010). Peroxidase mediated decolorization and remediation of wastewater containing industrial dyes: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 9(2), 117–140. <https://doi.org/10.1007/s11157-009-9184-9>
- Jeffords, D. L., Lance, P. H., & Dewolf, W. C. (1977). Severe hypertensive reaction to indigo carmine. *Urology*, 9(2), 180–181. [https://doi.org/10.1016/0090-4295\(77\)90192-3](https://doi.org/10.1016/0090-4295(77)90192-3)
- Kirk, K., & Farrell, R. (1987). Enzymatic “combustion”: The microbial degradation of lignin. *Annual Review of Microbiology*, 41, 465–505. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.41.100187.002341>
- Knapp, J. ., & Newby, P. . (1999). The decolourisation of a chemical industry effluent by white rot fungi. *Water Research*, 33(2), 575–577. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(98\)00243-7](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(98)00243-7)
- Knapp, J. S., Newby, P. S., & Reece, L. P. (1995). Decolorization of dyes by wood-rotting basidiomycete fungi. *Enzyme and Microbial Technology*, 17(7), 664–668. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(94\)00112-5](https://doi.org/10.1016/0141-0229(94)00112-5)
- Kuhad, R. C., Sood, N., Tripathi, K. K., Singh, A., & Ward, O. P. (2004). Developments in microbial methods for the treatment of dye effluents. *Advances in Applied Microbiology*, 56, 185–213. Recuperado a partir de <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsid=16287114>
- Li, H.-X., Xu, B., Tang, L., Zhang, J.-H., & Mao, Z.-G. (2015). Reductive decolorization of indigo carmine dye with *Bacillus* sp. MZS10. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 103, 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.04.007>
- Li, H., Zhang, R., Tang, L., Zhang, J., & Mao, Z. (2015). Manganese peroxidase production from cassava residue by *Phanerochaete chrysosporium* in solid state fermentation and its decolorization of indigo carmine. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 23(1), 227–233. <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2014.11.001>
- Lu, L., Zhao, M., Li, G.-F., Li, J., Wang, T.-N., Li, D.-B., & Xu, T.-F. (2012). Decolorization of synthetic dyes by immobilized spore from *Bacillus amyloliquefaciens*. *Catalysis Communications*, 26, 58–62. <https://doi.org/10.1016/j.catcom.2012.04.024>
- Lu, Y., Li, J., Zhang, X., Tang, J., Wei, B., & Liu, J. (2005). Studies on the mechanism of Indigo Carmine removal by solvent sublation. *Journal of Colloid and Interface Science*, 292(1), 210–218. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2005.05.046>
- Maga, J., & Tu, A. (1995). *Food additive toxicology*. New York: Marcel Dekker, Inc.

- Martínez, A. T. (2002). Molecular biology and structure-function of lignin-degrading heme peroxidases. *Enzyme and Microbial Technology*, 30(4), 425–444. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(01\)00521-X](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(01)00521-X)
- Othman, I., Mohamed, R. M., & Ibrahim, F. M. (2007). Study of photocatalytic oxidation of indigo carmine dye on Mn-supported TiO₂. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 189(1), 80–85. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2007.01.010>
- Palma-Goyes, R. E., Silva-Agredo, J., González, I., & Torres-Palma, R. A. (2014). Comparative degradation of indigo carmine by electrochemical oxidation and advanced oxidation processes. *Electrochimica Acta*, 140, 427–433. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.06.096>
- Pan, K., Zhao, N., Yin, Q., Zhang, T., Xu, X., Fang, W., ... Xiao, Y. (2014). Induction of a laccase Lcc9 from *Coprinopsis cinerea* by fungal coculture and its application on indigo dye decolorization. *Bioresource Technology*, 162, 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.116>
- Paszczyński, Andrzej Crawford, R. L., & Huynh, V.-B. (1988). Manganese peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*: purification. *Methods in enzymology*, 161, 264–270.
- Pointing, S. (2001). Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(1), 20–33. <https://doi.org/10.1007/s002530100745>
- Prado, A. G. ., Torres, J. D., Faria, E. A., & Dias, S. C. . (2004). Comparative adsorption studies of indigo carmine dye on chitin and chitosan. *Journal of Colloid and Interface Science*, 277(1), 43–47. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.04.056>
- Qu, R., Xu, B., Meng, L., Wang, L., & Wang, Z. (2015). Ozonation of indigo enhanced by carboxylated carbon nanotubes: Performance optimization, degradation products, reaction mechanism and toxicity evaluation. *Water Research*, 68, 316–327. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.10.017>
- Quintero, L., & Cardona, S. (2010). Índigo Carmín technologies for the decolorization of dyes : indigo and indigo carmine. *Dyna*, 77, 371–386.
- Ramesh, T. N., Kirana, D. V., Ashwini, A., & Manasa, T. R. (2015). Calcium hydroxide as low cost adsorbent for the effective removal of indigo carmine dye in water. *Journal of Saudi Chemical Society, In press*. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2015.03.001>
- Ramya, M., Anusha, B., & Kalavathy, S. (2008). Decolorization and biodegradation of Indigo carmine by a textile soil isolate *Paenibacillus larvae*. *Biodegradation*, 19(2), 283–291. Recuperado a partir de <http://link.springer.com/article/10.1007/s10532-007-9134-6>
- Rodríguez Sánchez, E. (2006). *Caracterización molecular de lacasas de Pleurotus eryngii: expresión heteróloga de estas enzimas y aplicaciones en la degradación de contaminantes aromáticos*. Universidad Complutense de Madrid.
- Rodríguez Couto, S., Rosales, E., & Sanromán, M. Á. (2006). Decolourization of synthetic dyes by *Trametes hirsuta* in expanded-bed reactors. *Chemosphere*, 62(9), 1558–1563. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.06.042>
- Rodríguez Couto, S., Sanromán, M. Á., Hofer, D., & Gübitz, G. . (2004). Stainless steel sponge: a novel carrier for the immobilisation of the white-rot fungus *Trametes hirsuta* for decolourization of textile dyes. *Bioresource Technology*, 95(1), 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2003.05.002>
- Roessler, A., Crettenand, D., Dossenbach, O., Marte, W., & Rys, P. (2002). Direct electrochemical reduction of indigo. *Electrochimica Acta*, 47(12), 1989–1995. [https://doi.org/10.1016/S0013-4686\(02\)00028-2](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(02)00028-2)
- Schoeberl, P., Brik, M., Braun, R., & Fuchs, W. (2005). Treatment and recycling of textile wastewater —case study and development of a recycling concept. *Desalination*, 171(2), 173–183. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2004.02.105>
- Singh, G., Capalash, N., Goel, R., & Sharma, P. (2007). A pH-stable laccase from alkali-tolerant γ

- proteobacterium JB: Purification, characterization and indigo carmine degradation. *Enzyme and Microbial Technology*, 41(6), 794–799. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2007.07.001>
- Swamy, J., & Ramsay, J. . (1999). The evaluation of white rot fungi in the decoloration of textile dyes. *Enzyme and Microbial Technology*, 24(3), 130–137. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(98\)00105-7](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(98)00105-7)
- Talarposhti, A. M., Donnelly, T., & Anderson, G. K. (2001). Colour removal from a simulated dye wastewater using a two-phase Anaerobic packed bed reactor. *Water Research*, 35(2), 425–432. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00280-3](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00280-3)
- Teng, M., Li, F., Zhang, B., & Taha, A. A. (2011). Electrospun cyclodextrin-functionalized mesoporous polyvinyl alcohol/SiO₂ nanofiber membranes as a highly efficient adsorbent for indigo carmine dye. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 385(1), 229–234. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.06.020>
- U. S. Government Publishing Office. (2016). Tittle 21. Chapter I. Subchapter A. Part 74: Listing of color additives subject to certificación. En *Electronic code of federal regulations (ECFR)*.
- U.S. FOOD AND DRUGS ADMINISTRATION (FDA). (2015). Summary of Color Additives for Use in the United States in Foods, Drugs, Cosmetics, and Medical Devices. Recuperado a partir de <http://www.fda.gov/ForIndustry/ColorAdditives/ColorAdditiveInventories/ucm115641.htm>
- Unlu, M., Yukseler, H., & Yetis, U. (2009). Indigo dyeing wastewater reclamation by membrane-based filtration and coagulation processes. *Desalination*, 240(1–3), 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.desal.2008.02.026>
- Van Aken, B., & Agathos, S. N. (2002). Implication of manganese (III), oxalate, and oxygen in the degradation of nitroaromatic compounds by manganese peroxidase (MnP). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58(3), 345–351. <https://doi.org/10.1007/s00253-001-0888-1>
- Vautier, M., Guillard, C., & Herrmann, J.-M. (2001). Photocatalytic Degradation of Dyes in Water: Case Study of Indigo and of Indigo Carmine. *Journal of Catalysis*, 201(1), 46–59. <https://doi.org/10.1006/jcat.2001.3232>
- Wesenberg, D. (2003). White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. *Biotechnology Advances*, 22(1–2), 161–187. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2003.08.011>
- Wesenberg, D., Buchon, F., & Agathos, S. N. (2002). Degradation of dye-containing textile effluent by the agaric white-rot fungus *Clitocybula dusenii*. *Biotechnology Letters*, 24(12), 989–993. <https://doi.org/10.1023/A:1015660927710>
- Xiao, Y. Z., Chen, Q., J., H., Shi, Y. Y., Wu, J., Hong, Y. Z., & Wang, Y. P. (2004). Selective induction, purification and characterization of a laccase isozyme from the basidiomycete *Trametes* sp. AH28-2. *Mycologia*, 96(1), 26–35. Recuperado a partir de <http://www.mycologia.org/content/96/1/26.short>
- Yavuz, M., Kaya, G., & Aytakin, Ç. (2014). Using *Ceriporiopsis subvermispora* CZ-3 laccase for indigo carmine decolorization and denim bleaching. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 88, 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.10.014>
- Yoshida, O., Harada, T., Miyagawa, M., & Kato, T. (1971). Bladder cancer in workers of the dyeing industry. *Igaku No Ayumi*, 79, 421–422.
- Zaied, M., Chutet, E., Peulon, S., Bellakhal, N., Desmazières, B., Dachraoui, M., & Chaussé, A. (2011). Spontaneous oxidative degradation of indigo carmine by thin films of birnessite electrodeposited onto SnO₂. *Applied Catalysis B: Environmental*, 107(1), 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2011.06.035>
- Zollinger, H. (2003). *Color chemistry: syntheses, properties, and applications of organic dyes and pigments* (3^a ed.). Zürich: Wiley-VCH.

Producción de *Beauveria spp.* con fines agrícolas

Production of *Beauveria spp.* for agricultural purposes

Pablo Roberto Vela Núñez¹, Julio Pineda Insuasti², Astrid Stefanía Duarte Trujillo³, Claudia Patricia Soto Arroyave⁴, Camilo Alejandro Pineda Soto⁵

¹ Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.

² Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

³ Organización Micológica Internacional (OMI), Colombia.

⁴ Universidad Católica de Oriente (UCO), Rionegro, Colombia.

⁵ Escuela Politécnica Nacional (EPN), Quito, Ecuador

Autor para correspondencia: velapablo1981@gmail.com

Recibido: octubre 15 de 2018

Aceptado: diciembre 25 de 2018

RESUMEN

Beauveria spp. es un hongo entomopatógeno comúnmente empleado para control biológico en cultivos agrícolas. Muchos de los bioinsumos agrícolas se preparan con base en este hongo, siendo de primera necesidad, la optimización de la producción. Por ello, el propósito de este trabajo es describir el proceso tecnológico de producción de esporas de *Beauveria spp.* que permita la implementación de parámetros de operación óptimos. La Fermentación Bifásica es la más adecuada para la producción de propágulos, ya que combina simplicidad de la fermentación sólida con la alta eficiencia de la fermentación líquida.

PALABRAS CLAVES: fermentación, parámetro de operación, propágulos.

ABSTRACT

Beauveria spp. is an entomopathogenic fungus commonly used for biological control in agricultural crops. Many of the agricultural bio-inputs are prepared based on this fungus, being of prime necessity, the optimization of production. Therefore, the purpose of this work is to describe the technological process of production of spores of *Beauveria spp.* that allows the implementation of optimal operation parameters. Biphasic Fermentation is the most suitable for the production of propagules, since it combines the simplicity of solid fermentation with the high efficiency of liquid fermentation.

KEYWORDS: fermentation, operation parameter, propagules.

INTRODUCCIÓN

La preocupación sobre el impacto negativo de los insecticidas químicos ha ocasionado cambios en los patrones del consumo del mercado, que viran hacia lo ecológico y/o orgánico, cobrando gran importancia el uso de Agentes de Control Biológico (BCA, por sus siglas en inglés) (Feng, 1994). El biocontrol

constituye una estrategia biotecnológica ecológicamente limpia y compatible con la agricultura orgánica y el Manejo Integrado de Plagas (MIP, por sus siglas en inglés) (Monte y Llobell, 2003). El objetivo de usarlo es crear un equilibrio entre las plagas y los biocontroladores, de modo que la plaga llegue a un nivel donde ya no sea dañina. Además, el biocontrol presenta amplias ventajas sobre las

prácticas convencionales de control de plagas, ya que es económico, no genera resistencia en las plagas, no pone en riesgo la salud de los fumigadores y no afecta el medio ambiente (Hanke, 2012).

Los bioinsumos son productos elaborados a partir de microorganismos, los cuales son seleccionados por su capacidad de promover el crecimiento vegetal, directamente al facilitar la absorción de nutrientes por la planta o indirectamente al contribuir al control de enfermedades y plagas (Nora Altier, Elena Beyhaut, 2012). Entre los microorganismos empleados se incluyen hongos, actinomicetos y bacterias (Murillo, Rueda, García, y Ruiz Espinoza, 2010). Para la selección de los aislados fúngicos con potencial como BCA, se debe seleccionar las cepas con rápido crecimiento, esporulación abundante y alta patogenicidad a plagas objetivo, además de bajos costos de producción. Por otro lado, los bioinsumos formulados deben presentar larga vida útil tras almacenamiento a condiciones ambientales, sin perder significativamente su viabilidad e infectividad. Se recomienda una vida útil de 18 meses para el mercado agrícola (Couch y Ignoffo, 1981).

Beauveria spp. es un hongo entomopatógeno, empleado exitosamente como BCA de insectos en cultivos agrícolas. Está comprobado que puede colonizar epi o endofíticamente una amplia gama de especies de plantas, reforzando su sistema inmunológico contra insectos y hongos patógenos como *Pythium* spp, *Rhizoctonia* spp, y *Fusarium* spp. (Elliot *et al.*, 2000; Ownley, Gwinn, y Vega, 2010; Rondot y Reineke, 2016; White *et al.*, 2002). Entre los insectos susceptibles a *Beauveria* spp. se encuentran el escarabajo de la patata de Colorado, *Lepitnotarsa decemlineata* (Allee, Goettel, Gol'berg, Whitney, y Roberts, 1990); la hormiga roja de fuego, *Solenopsis invicta* Burenk (Bradleighvinson y Siebeneicher, 1991); la oruga de pino, *Dendrolimus Punctata* Walker (Long y Du, 1988); la cucaracha alemana, *Blattella germánica* (Cai y Liu, 1988); el barrenador

menor, *Elasmopalpus hgnosellus* (McDowell, Funderburk, Boucias, Gilreath, y Lynch, 1990); el gusano falso medidor, *Trichoplusia ni* (Ignoffo, García, Kroha, y Crouch, 1982); el gusano de seda de mora, *Bombyx mori* (Huang, 1988); el saltamontes migratorio, *Melanoplus sanguinipes* (Feng, 1994); piojo harinoso, *Planococcus ficus* (Rondot y Reineke, 2016); entre otros.

Beauveria spp. se cultiva fácilmente en medios sólidos y líquidos, con la diferencia de que en fermentación sólida se producen conidios aéreos ocasionados por su ciclo biológico, mientras que en fermentación líquida se producen blastosporas como consecuencia de la fragmentación de las hifas por las fuerzas mecánicas de agitación (Bidochka, Pfeifer, y Khachatourians, 1987a; Feng, 1994), aunque se considera que la conidiación depende de la naturaleza del aislado y de las condiciones fisiológicas particulares usadas (M. C. Rombach, 1989).

Las blastosporas son inestables durante el secado post-fermentación debido a su pared fina, mientras las conidiosporas son mucho más resistentes (Yin, Chen, Chen, Guo, y Li, 1988b), por lo que se ha estado estudiando su producción a gran escala. Se han producido conidios aéreos mediante fermentación bifásica, es decir, que la producción de micelios vegetativos se hace en medio líquido, seguida de una conidiación superficial del micelio sobre un nutriente o portador inerte; sin embargo, este tipo de fermentación requiere de mucha mano de obra. También se ha incursionado en la fermentación sumergida, con el objetivo de producir conidios sumergidos similares a los conidios aéreos en cuanto a estabilidad, virulencia y morfología (Feng, 1994).

En vista de la importancia de la inducción de la conidiación y de la inhibición de la formación de blastosporas, es imprescindible ampliar los conocimientos al respecto. Por tanto, el propósito de este trabajo es describir el proceso tecnológico de producción de esporas

de *Beauveria* spp., mediante una amplia revisión de la literatura que permita el uso de parámetros de operación óptimos.

GENERALIDADES DEL PROCESO

Existen métodos muy variados para la producción de conidios de hongos entomopatógenos, pudiendo ir desde lo simple a lo complejo según el medio de cultivo empleado para su producción y el grado de tecnificación del proceso. Muchos experimentos a escala laboratorio han sido llevados a cabo con el fin de determinar la composición del medio de cultivo y los parámetros óptimos para la producción de biomasa fúngica, evaluando a su vez, sustratos alternativos de bajo costo que mejoren la producción, la infección y almacenamiento de estos microorganismos.

La producción en masa de hongos entomopatógenos se consigue de dos maneras principales: cultivo líquido y cultivo sólido (B. Alves, Filho, y Roberts, 2003). La producción de conidios en cultivos líquidos es más rápida que en los cultivos sólidos. Las Blastosporas se producen normalmente en cultivos líquidos agitados; y pese a que son más delicados y de corta duración que las conidiosporas, pueden ser igual o más virulentas (Bartlett y Jaronski, 1988; Hall, 1981; Pham, Kim, Kim, y Kim, 2009; Taylor y Feng, 1994). Según Kononova (1978), la conidiación sumergida incluye cinco fases de desarrollo: (1) hinchazón y germinación de conidios; (2) formación de micelios y conidióforos; (3) ramificación del micelio y conidiación inicial; (4) conidiación masiva; (5) separación de conidios en cultivo líquido.

Las blastosporas se pueden formular como un polvo eficaz, duradero, humectable o concentrado en suspensión por un proceso sofisticado, pero comercialmente viable (Kim, Je, Skinner, y Parker, 2013). Sin embargo, la mayoría de los productos pesticidas a base de hongos se hacen con conidios a partir de cultivos sólidos, los cuales deben ser

separados del sustrato para formular el bioinsumo, lo que aumenta la dificultad del proceso (Lee, Kim, Skinner, Parker, y Kim, 2016), pese a que los costos de producción sean bajo, debido a la asequibilidad de las materias primas. Básicamente hay tres procesos de producción que utilizan medios sólidos: Producción en sacos de polipropileno, en botellas de vidrio y en bandejas (Lopes, 2008).

Como la fermentación sumergida es más costosa que la sólida y tiende a producir blastosporas en mayor proporción que conidios sumergidos, se ha incursionado en la producción de *Beauveria* spp. por fermentación bifásica, con el objetivo de producir conidios sumergidos que sean similares a los conidios aéreos en estabilidad y virulencia, así como en su morfología. La producción de conidios aéreos se realiza en dos etapas. En la primera etapa el hongo se desarrolla en condiciones sumergidas, mientras en la segunda etapa el inóculo líquido se transfiere a un medio sólido para que ocurra la esporulación (Hall y Papierok, 1982). Según Soper y Ward (Soper y Ward, 1981), la fermentación bifásica combina las ventajas de los medios sólidos y líquidos; lo que permite que el hongo crezca en fermentadores hasta el final de la fase logarítmica obteniendo una producción máxima de biomasa micelial. Aunque este método requiere de gran cantidad de mano de obra siendo más costosa su implementación (M. C. Rombach, 1989).

PRODUCCIÓN DEL INÓCULO

Las cepas de trabajo se cultivan por lo general en Agar Glucosa- Peptona de soya (Rondot y Reineke, 2016), Agar Papa-Dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) (Bidochka *et al.*, 1987a) o Agar de Dextrosa-Sabouraud (SDA, por sus siglas en inglés) (Medo, Michalko, Medová, y Cagáñ, 2016) o Agar Harina de Avena a 22-26 °C, alternando luz y oscuridad (Greenfield *et al.*, 2016). Para obtener el inóculo líquido, los conidios se cosechan vertiendo tween 80 al 0,02 % sobre las cajas de Petri y raspando

suavemente con una varilla de vidrio la superficie de las colonias de 8 días de edad (Pham *et al.*, 2009); luego se suspende en Solución de Ringer concentrada con 0,02% de Tween 80 (Rondot y Reineke, 2016), caldo estéril de levadura-glucosa (Leckie *et al.*, 2008) o caldo Dextrosa-Saboraud (Ying y Feng, 2004) y se deja incubando durante 6 días a 24-26 °C (Lee *et al.*, 2016). La concentración de conidios en la solución se mide con un hemocitómetro o una cámara de Neubauer.

FERMENTACIÓN

El inóculo se vierte en el medio de cultivo y se incuba por el tiempo correspondiente. Para medios líquidos, como caldo de glucosa y extracto de levadura, se reporta un tiempo de incubación de 4 a 5 días a temperatura ambiente en bioreactores con capacidad de 7 u 8 litros. Los micelios se cosechan mediante filtración al vacío a través de un tamiz de malla 18 (abertura de malla de 1 mm) o un embudo de Buchner cubierto con papel de filtro Whatman # 4, y se secan al horno. El caldo se recolecta y se refrigera hasta su posterior análisis (Leckie *et al.*, 2008).

Para la fermentación sólida, se esteriliza el sustrato a 121 °C por 45 minutos en bolsas de polipropileno, una vez enfriado se inocula con suspensión de esporas y se incuba a 24-26 °C durante 6-7 días, pudiendo alargarse hasta las dos semanas. Posteriormente, el cultivo se seca por ventilación a 34 °C durante 1 día y a temperatura ambiente durante otro día más. Finalmente, los conidios se recogen del sustrato empleando un tamiz vibrante (78 Mesh por cm) y se dejan secar durante un día más. Algunos sustratos humectan el sustrato con una solución de ácido cítrico al 4 %, para reducir la contaminación bacteriana (Feng, Pu, Ying, y Wang, 2004; Kim, Kassa, Skinner, Hata, y Parker, 2011). Lee y colaboradores (2016) emplearon bolsas de polipropileno con perforaciones de 15 micras de diámetro, lo que les permitió posteriormente sumergir las bolsas incubadas en agua para lavar el sustrato con agitación y obtener una nueva solución de

esporas con una concentración promedio de 1×10^6 conidios/ml, útil para biopreparados.

Es necesario recordar que tanto los bioreactores como los medios de cultivo deben ser previamente esterilizados para garantizar la asepsia del cultivo. Se han reportado condiciones de esterilización de medios de cultivo a 120 °C por 20 minutos (Medo y Cagáñ, 2011; Meyling y Eilenberg, 2006); y de bioreactores a 248 °C, 200 rpm de agitación y un flujo de 4 L de aire comprimido por minuto de aireación durante 1 día (Leckie *et al.*, 2008).

PARÁMETROS DE OPERACIÓN

Composición del medio: la composición del medio esta inherentemente relacionada con la cantidad y calidad del hongo producido (Kassa *et al.*, 2008). La proporción C:N óptima es de 22,4 y el mejor medio para fermentación líquida descrito se conforma de una solución con 3% de harina de maíz, 2% de polvo de maíz y 2% de salvado de arroz (Pham *et al.*, 2009). Alguno de los sustratos utilizados para el crecimiento son generalmente productos vegetales ricos en almidón como granos y polvo de mijo italiano (*Setaria itálica*) (Kim *et al.*, 2011), salvado de trigo (M. C. Rombach, Aguda, y Roberts, 1988), arroz (Feng, 1994), patatas, avena, maíz y frijol. De estos, el arroz cocido es uno de los medios más comúnmente utilizados para la producción de *B. bassiana* a gran escala (Leite, L. G., Batista Filho, A., Almeida, J. D., y Alves, 2003). El lactosuero también ha sido empleado por algunos autores, gracias a su contenido de lactosa y proteínas, como fuente de azúcar y nitrógeno, correspondientemente (Kassa *et al.*, 2008). Igualmente, los gránulos de alginato de sodio con salvado de trigo también han sido empleados para la inmovilización de las esporas (Knudsen, Johnson, y Eschen, 1990; Marques, Alves, y Marques, 1999).

Está demostrado que la composición del medio líquido puede determinar la producción de conidios (Feng, 1994). Yin y colaboradores

(1988a) indujeron la producción de conidios sumergidos al emplear un medio líquido conformado con un 2% de jarabe de maíz, 3% de sacarosa y diversas sales basales. La conidiación sumergida está relacionada con la naturaleza de la fuente de carbono y la presencia de nitrato como fuente de nitrógeno, por ejemplo, en la forma de KNO_3 y NaNO_3 (Kononova, 1978; Schamne, 2010; Thomas, Khachatourians, y Ingledew, 1987); sin embargo, el uso de NH_4NO_3 induce la producción de blastosporas en fermentadores (Chen *et al.*, 1990). Por otro lado, la adición de fosfato reduce significativamente la producción de conidios, mientras la de quitina presenta un efecto contrario (Hegedus, Bidochka, y Khachatourians, 1990)

Bidochka y colaboradores (1987b) estudiaron el crecimiento de *B. Bassiana* en cultivo líquido probando diferentes medios: 0,2 % de extracto de levadura - 1 % de peptona - 2 % de glucosa; 1 % de peptona - 2 % de glucosa; 1 % de peptona; 2 % de glucosa. Encontraron que la producción de blastosporas se da en todos los medios líquidos a excepción del compuesto únicamente por glucosa. En peptona-glucosa, el rendimiento de blastosporas fue cuatro veces mayor que en el extracto de levadura-peptona-glucosa. Sin embargo, la producción más alta de biomasa surgió al usar el medio levadura-peptona-glucosa.

La sustitución de glucosa por otra fuente de carbono simple como citrato, lactosa, sorbitol, almidón, fructosa o glicerol disminuye el rendimiento de conidios sumergidos y/o aumenta la proporción de blastosporas (Thomas *et al.*, 1987), además, disminuye la adhesión de los conidios aéreos; aunque la combinación de extracto de levadura y sacarosa o maltosa, induce una mayor conidiación (M. C. ubmerge. Rombach, 1989). Por otro lado, la presencia de N-acetilglucosamina promueve la adhesión conidial, mientras los detergentes le inhiben (Holder y Keyhani, 2005). En consecuencia, los tensoactivos como aceite de ricino, éter lauril de polioxietileno, tween 80, tween 20, entre

otros, se emplean para disminuir la adhesión de los propágulos al sustrato y puedan fácilmente disolverse en la solución acuosa en que se sumerjan. El tensoactivo más eficaz es Silwet L-77 (Lee *et al.*, 2016). La adición de sodio y potasio aparte de servir como fuente de nutrientes, sirve también como para regular la presión osmótica (B. Alves *et al.*, 2003).

Temperatura: estudios han demostrado que este hongo puede crecer adecuadamente a un rango de temperatura de 20-25 °C (Hajek, 1997), aunque un estudio demuestra que la temperatura óptima de crecimiento micelial es a 25-27 °C (Pham *et al.*, 2009).

Humedad: las conidiosporas germinan en un ambiente con alta humedad (Couch y Ignoffo, 1981).

Iluminación: para la inducción de los conidios aéreos en medios sólidos se incuban en condiciones de oscuridad (Rondot y Reineke, 2016; Wagner y Lewis, 2000), aunque algunos autores emplean un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad (Ownley *et al.*, 2010); o 12 horas de luz y 12 de oscuridad (Greenfield *et al.*, 2016).

pH: bajos pH disminuyen la adhesión conidial, aunque no de manera drástica (Holder y Keyhani, 2005). El óptimo pH inicial para la producción de esporas es 5,2 (Pham *et al.*, 2009).

Agitación: las fuerzas mecánicas de la agitación fragmentan los micelios y promueven la formación de blastosporas (Bartlett y Jaronski, 1988; Hall, 1981; Pham *et al.*, 2009). Se reporta que la frecuencia agitación de medios líquidos que permite la mayor producción de esporas es de 200 rpm (Pham *et al.*, 2009).

Afinidad de los propágulos: *Beauveria spp.* produce al menos tres propágulos unicelulares distintos: conidios aéreos, células vegetativas denominadas blastosporas y conidios sumergidos; que se pueden aislar de placas de agar, de cultivos líquidos ricos en nutrientes y

de cultivos sumergidos bajo condiciones de limitación de nutrientes, respectivamente. Los conidios aéreos se adhieren mal a las superficies débilmente polares y rápidamente a las superficies hidrófobas e hidrófilas. Por el contrario, las blastosporas se unen mal a las superficies hidrófobas, formando pequeños agregados; pero se unen a las superficies hidrófilas y polares débiles, con la diferencia de que con esta última requiere un mayor tiempo de incubación para unirse. Por su parte, los conidios sumergidos muestran una especificidad de unión más amplia a superficies hidrofóbicas, débilmente polares e hidrofílicas (Holder y Keyhani, 2005).

RENDIMIENTO

Las tasas de germinación se calculan mediante un conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) (Goldman y Green, 2008). Una de las formas para determinar la viabilidad de los conidios de los hongos entomopatógenos es usar suspensiones fúngicas estandarizadas a concentraciones definidas, las cuales se dispersan en placas que contienen Agar Sabouraud o PDA. Las placas se incuban a 24-26 ° C, con un fotoperiodo de 12 horas y humedad relativa del 60-80%. Después de 24 horas el porcentaje de conidios germinados y no germinados se cuantificaron con un microscopio de luz (S. B. Alves, 1998).

La determinación del rendimiento de cultivos sólidos es complicada, ya que los hongos están íntimamente ligados a la matriz sólida en la que se desarrollan, lo que dificulta la medición de la biomasa producida. Por el contrario, en el cultivo sumergido, la biomasa puede separarse y cuantificarse más fácilmente por diferencial de peso seco. Bajo este contexto, se han realizado estudios que permitan estimar de forma indirecta la cantidad de biomasa generada mediante la medición de otros componentes producidos proporcionalmente

con el crecimiento celular, tales como la glucosamina, los azúcares totales y el ergosterol. Los resultados obtenidos por Desgranges, Vergoignan, Georges y Durand (1991) muestran que las mediciones de glucosamina son un buen indicador del desarrollo de la biomasa fúngica. Sin embargo, este indicador de biomasa sólo puede ser utilizado para comparar diferentes medios que tienen los mismos constituyentes Incluso si las relaciones C/N son diferentes.

CONCLUSIONES

Beauveria spp. es un hongo entomopatógeno comúnmente empleado para control biológico en cultivos agrícolas. Muchos de los bioinsumos agrícolas se preparan con base en este hongo, siendo la primera necesidad, la producción de la mayor cantidad de conidios al menor costo.

Los propágulos de *Beauveria* spp. pueden ser conidios aéreos, conidios sumergidos o blastosporas; los cuales se producen por fermentación sólida, líquida o líquida con agitación, respectivamente. La producción de propágulos depende de la composición del medio y de parámetros de operación que le inducen o inhiben. El fin de controlar estos parámetros es la de producir la mayor cantidad de conidiosporas, que son más viables y estables en contraste con las blastosporas.

La Fermentación en Estado Sólido presenta menores costos de producción y produce conidios aéreos, que son los propágulos más viables, sin embargo, la Fermentación Líquida es más rápida, presenta mayores rendimientos y es más fácil medir la biomasa producida. Por tanto, ha tomado gran importancia la Fermentación Bifásica, la cual consta de un inóculo líquido que se vierte sobre un sustrato sólido; se han empleado varios tipos de bioceldas, de las cuales las bolsas perforadas facilitan la posterior extracción de las esporas en solución.

REFERENCIAS

- Allee, L. L., Goettel, M. S., Gol'berg, A., Whitney, H. S., & Roberts, D. W. (1990). Infection by *Beauveria bassiana* of *Leptinotarsa decemlineata* larvae as a consequence of fecal contamination of the integument following per os inoculation. *Mycopathologia*, 111(1), 17–24. <https://doi.org/10.1007/BF02277296>
- Alves, B., Filho, A. B., & Roberts, D. W. (2003). Effect of salts, vitamins, sugars and nitrogen sources on the growth of three genera of Entomophthorales: *Batkoa*, *Furia*, and *Neozygites*, 107(July), 872–878. <https://doi.org/10.1017/S0953756203007974>
- Alves, S. B. (1998). *Controle microbiano de insetos* (2ª ed.). Piracicaba: FEALQ. Recuperado a partir de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300160104>
- Bartlett, M. C., & Jaronski, S. T. (1988). Mass production of entomopathogenic fungi for biological control of insects. En M. N. Burge (Ed.), *Fungi in Biological Control Systems* (pp. 61–85). Manchester, UK: Manchester University Press. <https://doi.org/10.1002/jctb.280480109View/save citation>
- Bidochka, M. J., Pfeifer, T. A., & Khachatourians, G. G. (1987a). Development of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in liquid cultures. *Mycopathologia*, 99(2), 77–83. <https://doi.org/10.1007/BF00436909>
- Bidochka, M. J., Pfeifer, T. A., & Khachatourians, G. G. (1987b). Development of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in liquid cultures, 83, 77–83.
- Bradleighvinson, S., & Siebeneicher, S. R. (1991). Infection of the red imported fire ant by *Beauveria bassiana* through various routes of exposure. *Journal of Invertebrate Pathology*, 285, 280–285.
- Cai, B. L., & Liu, A. X. (1988). Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to cockroaches. En Y. W. Li, Z. Z. Li, Z. Q. Liang, J. W. Wu, Z. K. Wu, & Q. F. Xu (Eds.), *Study and Application of Entomogenous Fungi in China* (pp. 101–103). Beijing: Academic Periodical Press.
- Chen, C. J., Wu, J. W., Li, Z. Z., Wang, Z. X., Li, Y. W., Chang, S. H., ... Tan, Y. C. (1990). Application of microbial pesticides in IPM China. En C. J. Cheng (Ed.), *Integrated Management of Pine Caterpillars in China* (pp. 214–308). Beijing: Forestry Publishing House.
- Couch, T. L., & Ignoffo, C. M. (1981). Microbial Control Formulation of insect pathogens. En H. D. Burges (Ed.), *Microbial Control of Pests and Plant diseases 1970-1980* (pp. 621–634). London: Academic Press.
- Desgranges, C., Vergoignan, C., Georges, M., & Durand, A. (1991). Biomass estimation in solid state fermentation. *Plateforme de pré-développement en Biotechnologie*, 200–205.
- Elliot, S. L., Sabelis, M. W., Janssen, A., Van der Geest, L. P. S., Beerling, E. A. M., & Fransen, J. (2000). Can plants use entomopathogens as bodyguards? *Ecology Letters*, 3(3), 228–235. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2000.00137.x>
- Feng, M. G. (1994). Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. *Biocontrol Science and Technology*, 4(1), 3–34. Recuperado a partir de <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09583159409355309>
- Feng, M. G., Pu, X. Y., Ying, S. H., & Wang, Y. G. (2004). Field trials of an oil-based emulsifiable formulation of *Beauveria bassiana* conidia and low application rates of imidacloprid for control of false-eye leafhopper *Empoasca vitis* on tea in southern China. *Crop Protection*, 23(6), 489–496. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2003.10.004>
- Goldman, E., & Green, L. H. (2008). *Quantitation of Microorganisms. Practical Handbook of Microbiology* (2ª ed.). CRC Press.
- Greenfield, M., Gómez-Jiménez, M. I., Ortiz, V., Vega, F. E., Kramer, M., & Parsa, S. (2016). *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* endophytically colonize cassava roots following soil drench

- inoculation. *Biological Control*, 95, 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.01.002>
- Hajek, A. E. (1997). Ecology of Terrestrial Fungal Entomopathogens. En J. G. Jones (Ed.), *Advances in Microbial Ecology* (pp. 193–249). Boston, MA: Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-9074-0_5
- Hall, R. A. (1981). The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. En *Microbial Control of Pests and Plant Diseases, 1970–1980* (Burgess, H., pp. 483–498). London: Academic Press.
- Hall, R. A., & Papierok, B. (1982). Fungi as biological control agents of arthropods of agricultural and medical importance, 205–240.
- Hanke, G. (2012). El control biológico: base de la agricultura sostenible. *La Revista Agraria*, 144(13), 10–11. Recuperado a partir de <http://www.larevistaagraria.org/content/el-control-biológico-base-de-la-agricultura-sostenible>
- Hegedus, D. D., Bidochka, M. J., & Khachatourians, G. G. (1990). Applied Microbiology Biotechnology *Beauveria bassiana* submerged conidia production in a defined medium containing chitin , two hexosamines or glucose, 641–647.
- Holder, D. J., & Keyhani, N. O. (2005). Adhesion of the entomopathogenic fungus *Beauveria (Cordyceps) bassiana* to substrata. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9), 5260–5266. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.5260>
- Huang, Y. X. (1988). Experiment on the virulence of *Beauveria bassiana* to *Bombyx mori* in different culture stage. En Y. W. Li, Z. Z. Li, Z. Q. Liang, J. W. Wu, Z. K. Wu, & Q. F. Xu (Eds.), *Study and Application of Entomogenous Fungi in China* (pp. 80–82). Beijing: Academic Periodical Press.
- Ignoffo, C. M., García, C., Kroha, M., & Crouch, T. L. (1982). Use of larvae of *Trichoplusia ni* to bioassay conidia of *Beauveria bassiana*. *Journal of Economic Entomology*, 75(2), 275–276.
- Kassa, A., Brownbridge, M., Parker, B. L., Skinner, M., Gouli, V., Gouli, S., ... Humber, R. A. (2008). Whey for mass production of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, 112, 583–591. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.12.004>
- Kim, J. S., Je, Y. H., Skinner, M., & Parker, B. L. (2013). An oil-based formulation of *Isaria fumosorosea* blastospores for management of greenhouse whitefly *Trialetrodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science*, 69(5), 576–581. <https://doi.org/10.1002/ps.3497>
- Kim, J. S., Kassa, A., Skinner, M., Hata, T., & Parker, B. L. (2011). Production of thermotolerant entomopathogenic fungal conidia on millet grain. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 38(6), 697–704. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0850-2>
- Knudsen, G. R., Johnson, J. B., & Eschen, A. J. (1990). Alginate Pellet Formulation of a *Beauveria bassiana* (Fungi : Hyphomycetes) Isolate Pathogenic to Cereal Aphids. *Journal of Economic Entomology*, 83(6), 2225–2228. <https://doi.org/10.1093/jee/83.6.22252225-2228>
- Kononova, E. V. (1978). Selection of commercial strains of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. En *First Joint US/USSR Conference on the Production, Selection and Standardization of Entomopathogenic Fungi of the US/USSR Joint Working Group on the Production of Substances by Microbiological Means* (pp. 172–191). National Science Foundation (USA). Recuperado a partir de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US19830883357>
- Leckie, B. M., Ownley, B. H., Pereira, R. M., Klingeman, W. E., Jones, C. J., & Gwinn, K. D. (2008). Mycelia and spent fermentation broth of *Beauveria bassiana* incorporated into synthetic diets affect mortality, growth and development of larval *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biocontrol Science and Technology*, 18(7), 697–710. <https://doi.org/10.1080/09583150802262906>
- Lee, S. J., Kim, S., Skinner, M., Parker, B. L., & Kim, J. S. (2016). Screen bag formulation of *Beauveria* and *Metarhizium* granules to manage *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 19(3), 887–892. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2016.08.005>

- Leite, L. G., Batista Filho, A., Almeida, J. D., & Alves, S. B. (2003). Produção de fungos entomopatogênicos. *Ribeirão Preto: AS Pinto*, 59.
- Long, F. Z., & Du, K. H. (1988). Study on the pathogenic mechanism of *Beauveria bassiana* to the Masson's pine caterpillar. En Y. W. Li, Z. Z. Li, Z. Q. Liang, J. W. Wu, Z. K. Wu, & Q. F. Xu (Eds.), *Study and Application of Entomogenous Fungi in China* (pp. 80–82). Beijing: Academic Periodical Press.
- Lopes, R. B. (2008). *Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios*. FEALQ.
- Marques, E. J., Alves, S. B., & Marques, I. M. R. (1999). Effects of the temperature and storage on formulations with mycelia of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill and *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorok. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 42(2), 153–160.
- McDowell, J. M., Funderburk, J. E., Boucias, D. G., Gilreath, M. E., & Lynch, R. E. (1990). Biological activity of *Beauveria bassiana* against *Elasmopalpus lignosellus* (Lepidoptera: Pyralidae) on leaf substrates and soil. *Environmental Entomology*, 19, 137–141. Recuperado a partir de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9030096>
- Medo, J., & Cagáň, Ľ. (2011). Factors affecting the occurrence of entomopathogenic fungi in soils of Slovakia as revealed using two methods. *Biological Control*, 59(2), 200–208. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.07.020>
- Medo, J., Michalko, J., Medová, J., & Cagáň, Ľ. (2016). Phylogenetic structure and habitat associations of *Beauveria* species isolated from soils in Slovakia. *Journal of Invertebrate Pathology*, 140. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2016.08.009>
- Meyling, N. V., & Eilenberg, J. (2006). Isolation and characterisation of *Beauveria bassiana* isolates from phylloplanes of hedgerow vegetation. *Mycological Research*, 110(2), 188–195. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2005.09.008>
- Monte, E., & Llobell, A. (2003). Trichoderma in organic agriculture. En *V World Avocado Congress* (pp. 725–733). Recuperado a partir de http://www.avocadosource.com/WAC5/Papers/WAC5_p725.pdf
- Murillo, B., Rueda, E. O., García, J. L., & Ruiz Espinoza, F. H. (2010). *Agricultura orgánica*. (Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Ed.). Ciudad de México, México: Plaza y Valdés S.A.
- Nora Altier, Elena Beyhaut, M. R. & F. R. (2012). Plataforma De Bioinsumos De Uso Agrícola En Base a Microorganismos Benéficos. *INIA*, (29), 47–50. Recuperado a partir de <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos compartidos/18429300612191129.pdf>
- Ownley, B. H., Gwinn, K. D., & Vega, F. E. (2010). Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: Ecology and evolution. *BioControl*, 55(1), 113–128. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9241-x>
- Pham, T. A., Kim, J. J., Kim, S. G., & Kim, K. (2009). Production of Blastospore of Entomopathogenic Submerged Batch Culture. *Mycobiology*, 37(3), 218–224.
- Rombach, M. C. (1989). Producción of *Beauveria bassiana* [deuteromycotina. hyphomycetes] sympoduloconidia in submerged culture. *Entomophaga*, 34(1), 45–52. <https://doi.org/10.1007/BF02372586>
- Rombach, M. C., Aguda, R. M., & Roberts, D. W. (1988). Storing dry *Beauveria bassiana* mycelium. *International Rice Research Newsletter*, 13, 37–38. Recuperado a partir de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=PH19910024139>
- Rombach, M. C. (1989). Production of *Beauveria bassiana* [Deuteromycotina. Hyphomycetes] sympoduloconidia in submerged culture. *BioControl*, 34(1), 45–52.
- Rondot, Y., & Reineke, A. (2016). Endophytic *Beauveria bassiana* in grapevine *Vitis vinifera* (L.) reduces infestation with piercing-sucking insects. *Biological Control*. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.10.006>
- Schamne, P. A. (2010). *Effect of additives and Fishfertilquitosana® in solid media during conidia*

production of Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorokin and Beauveria bassiana (Bals.) Vuillemin. Universidade estadual do centro-oeste, UNICENTRO – PR.

- Soper, R. S., & Ward, M. G. (1981). Production, formulation and application of fungi for insect control. *Biological control in crop production*, 161–180.
- Taylor, P., & Feng, M. G. (1994). Biocontrol Science and Technology Production , formulation and application of the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana for insect control : current status Production , Formulation and Application of the Entomopathogenic Fungus Beauveria bassiana for, (April 2013), 37–41.
- Thomas, K. C., Khachatourians, G. G., & Ingledew, W. M. (1987). Production and properties of Beauveria bassiana conidia cultivated in submerged culture. *Canadian journal of microbiology*, 33(1), 12–20. <https://doi.org/doi:10.1139/m87-003>
- Wagner, B. L., & Lewis, L. C. (2000). Colonization of corn, Zea mays, by the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(8), 3468–3473. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.8.3468-3473.2000>
- White, J. F., Belanger, F., Meyer, W., Sullivan, R. F., Bischoff, J. F., & Lewis, E. a. (2002). Clavicipitalean fungal epibionts and endophytes - Development of symbiotic interactions with plants. *Symbiosis*, 33(3), 201–213. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.08.001>
- Yin, F. M., Chen, Q. C., Chen, Y. G., Guo, G. I., & Li, Z. W. (1988a). Studies of Submerged Culture of Beauveria bassiana Conidia. *Study and Application of Entomogenous Fungi in China*, 1, 105–110.
- Yin, F. M., Chen, Q. C., Chen, Y. G., Guo, G. L., & Li, Z. W. (1988b). Pathogenicity of Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae to cockroaches. En Y. W. Li, Z. Z. Li, Z. Q. Liang, J. W. Wu, Z. K. Wu, & Q. F. Xu (Eds.), *Study and Application of Entomogenous Fungi in China* (pp. 105–110). Beijing: Academic Periodical Press.
- Ying, S. H., & Feng, M. G. (2004). Relationship between thermotolerance and hydrophobin-like proteins in aerial conidia of Beauveria bassiana and Paecilomyces fumosoroseus as fungal biocontrol agents. *Journal of Applied Microbiology*, 97(2), 323–331. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02311.x>

Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos aromáticos utilizando el hongo *Pleurotus*

Bioremediation of contaminated soils with aromatic hydrocarbons by the *Pleurotus* fungus

Johoselyn Paola Fernandez Mora¹, Elsa Sulay Mora Muñoz², Gualberto Gerardo León Revelo³, Julio Amilcar Pineda Insuasti⁴, Astrid Stefanía Duarte Trujillo⁵, Claudia Patricia Soto Arroyave⁶, Camilo Alejandro Pineda Soto⁷, Luis Adalberto Chamorro Ortega²

¹ Universidad Católica del Ecuador (PUCE), Ibarra, Ecuador.

² Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.

³ Universidad Politécnica Estatal del Carchi (UPEC), Tulcán, Ecuador.

⁴ Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

⁵ Universidad de los Llanos (UNILLANOS), Villavicencio, Colombia.

⁶ Universidad Católica de Oriente (UCO), Rionegro, Colombia.

⁷ Escuela Politécnica Nacional (EPN), Quito, Ecuador.

Autor para correspondencia: gualbertoleon@hotmail.es

Recibido: octubre 15 de 2018

Aceptado: diciembre 26 de 2018

RESUMEN

Todas las actividades que están envueltas en la exploración y explotación del petróleo provocan impactos potencialmente negativos al suelo, lo que representa una problemática importante tanto a nivel nacional como internacional. Una de las alternativas que ha tomado fuerza en los últimos años es la biorremediación, que utiliza microorganismos para la remediación de ambientes; dentro de los microorganismos empleados se destacan los Hongos de Pudrición Blanca (HPB), tales como *Pleurotus ostreatus*.

PALABRAS CLAVE: enzimas, Hongos de Pudrición Blanca, lacasas, peroxidases.

ABSTRACT

All the activities that are involved in the exploration and exploitation of oil cause potentially negative impacts on the soil, which represents an important problem both nationally and internationally. One of the alternatives that has taken force in recent years is bioremediation, which uses microorganisms for the remediation of environments; White Rot Fungi (WRF), such as *Pleurotus ostreatus*, stand out among the microorganisms used.

KEYWORDS: enzymes, White Rot Fungi, laccases, peroxidases.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo social del hombre ha provocado, en igual magnitud, la contaminación del aire, suelo y agua. Las tecnologías desarrolladas no han tenido presente, en su gran mayoría,

mermar las cargas contaminantes a estos sistemas, por lo que, el incremento de la contaminación está fuertemente relacionado con el progreso social (Falcón, 2017). Los

problemas de contaminación en el ámbito local, nacional e internacional son parte de la vida cotidiana; con el tiempo han ido degradando los ecosistemas del planeta, y los suelos terrestres no son la excepción (Prado *et al.*, 2011).

Desde el inicio de la actividad petrolera, el medio ambiente se ha visto afectado por numerosas intervenciones que han dañado severamente el ambiente circundante.

Todas las actividades que ceñidas a la exploración y explotación del petróleo generan impactos potencialmente negativos al medio ambiente, la extracción, transporte y procesamiento de crudo generan grandes volúmenes de desechos como ripios, lodos petrolizados, agua de perforación y petróleo crudo, constituido básicamente por compuestos orgánicos aromáticos, poliaromáticos, derivados de hidrocarburos, compuestos inorgánicos y metales, los cuales son difíciles de degradar de manera natural, por la complejidad de su estructura y pueden actuar como contaminante orgánico persistente (COP) si no se maneja de forma adecuada (Fernández *et al.*, 2008).

En la actualidad existe un gran número de técnicas para disminuir la contaminación por hidrocarburos en el suelo, sin embargo, la biorremediación es una técnica innovadora, considerada como la vía más efectiva para la remediación, la cual ha sido aplicada exitosamente en el tratamiento de suelos contaminados con hidrocarburos, se caracteriza por ser de bajo costo de operación y trabajar con microorganismos que degradan las sustancias tóxicas (Ventura, 2009). La biorremediación enfrenta el reto de convencer a las compañías y a los organismos oficiales de su alto potencial. Hace algunos años, la biorremediación fue una técnica poco reconocida y relegada, pero hoy en día, se ha convertido en una verdadera industria con diversas líneas interdisciplinarias (Delgado y Montoya, 2009).

Por lo tanto, este artículo pretende abordar teóricamente los diferentes avances de la biorremediación por hongos, centrando su atención en un Hongo de Pudrición Blanca (HPB) ampliamente cultivado a escala mundial.

HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS

Los hidrocarburos reciben este nombre por el hecho de estar compuestos fundamentalmente por carbono e hidrógeno; los compuestos derivados del anillo bencénico reciben el nombre de “aro-máticos” debido a que tienen el olor característico del benceno; y los compuestos formados por varios anillos reciben el nombre de “policíclicos”. Lo anterior explica la procedencia del término “Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos” (Agudo, 2009).

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) son compuestos orgánicos derivados de la combustión del material orgánico, principalmente conformados de al menos dos anillos aromáticos. La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos ha considerado al menos a 16 de los HAP's como “contaminantes prioritarios” debido a su amplia distribución en el ambiente y sus propiedades mutagénicas, carcinogénicas y teratogénicas (Ortiz *et al.*, 2012).

Según Ortiz y colaboradores (2012), los HAPs se clasifican según su origen en: biogénico, petrogénico y pirogénico. Los HAPs biogénicos son producto del metabolismo de organismos macroscópicos y microscópicos, tales como las plantas y las termitas, que aportan al suelo, naftaleno y perileno. Los HAPs petrogénicos son derivados del petróleo, sus principales compuestos incluyen homólogos alquilados (con radicales) y no sustituidos de naftalenos, fluorenos, fenantrenos, dibenzotiofenos y crisenos, donde los homólogos alquilados son más abundantes. Generalmente ingresan al ambiente en fase gaseosa (por evaporación-depositación) y en fase líquida (derrames de

crudo) principalmente. Los HAP's pirogénicos son producto de la combustión incompleta de todo material orgánico, incluyendo, hidrocarburos y carbón mineral.

Durante muchos años, se cuestionó el efecto tóxico de los hidrocarburos del petróleo en el suelo y las plantas, de modo que algunos autores consideraron favorecedora su presencia a bajas concentraciones (Martínez y López, 2001). Plice (1948) encontró que el crudo, agregado en proporción de 0,75% a un suelo arenoso, estimulaba el crecimiento de la soya, pero si esta proporción se aumentaba al 4% las plantas morían.

BIORREMEDIACIÓN

La biorremediación es una técnica que usa microorganismos o plantas para fraccionar, neutralizar o reducir los contaminantes en el ambiente, y es considerada una alternativa viable para el tratamiento de la tierra y los efluentes (Menezes *et al.*, 2017). Esta técnica se empezó a implementar en la década de los 70, aprovechando los productos metabólicos y las características físico químicas de la estructura celular de microorganismos como bacterias y hongos, que permitían renovar los suelos afectados (Torres y Casagua, 2013).

Según Delgado y Montoya (2009), la biodegradabilidad de una mezcla de hidrocarburos presente en un suelo contaminado depende de diversos factores, entre ellos, los medioambientales, los físicos, los químicos y los microbiológicos. Los factores medioambientales son aquellos que proporcionan las condiciones óptimas para el crecimiento de los microorganismos que llevan a cabo la recuperación del suelo, tales como, la temperatura, el pH, la disponibilidad de nutrientes y oxígeno, y la humedad. Los factores físicos de mayor importancia son la biodisponibilidad, la presencia de agua y la provisión de un aceptor de electrones adecuado como el oxígeno; mientras el factor químico más importante es la estructura molecular del contaminante, la cual varía

conforme con la solubilidad, el grado de ramificación, el grado de saturación y la naturaleza y el efecto de los sustituyentes. El factor microbiológico es el más importante en la Biorremediación, consiste en la transformación biológica de los compuestos orgánicos catalizada por acción específica de las enzimas. Frecuentemente, los microorganismos que tienen las enzimas para degradar están presentes en el suelo.

MICROORGANISMOS UTILIZADOS EN LA BIORREMEDIACIÓN

Las bacterias son las más empleadas en el proceso de biorremediación, aunque también se han empleado otros microorganismos como hongos, algas, cianobacterias y actinomicetos para la de-gradación de compuestos tóxicos en el suelo (Kanaly y Harayama, 2010; Mesa *et al.*, 2006).

Los contaminantes recalcitrantes, tales como los bifenilos, los compuestos orgánicos aromáticos, los hidrocarburos aromáticos policíclicos, los plaguicidas clorados y los plaguicidas organofosforados, son efectivamente mineralizados a CO₂ por varias especies de hongos lignocelulolíticos (también conocido como Hongos de Pudrición Blanca), cuya especificidad enzimática permite degradar mezclas complejas de contaminantes (Herrera *et al.*, 2006). Los hongos tienen muchas ventajas que facilitan su aplicación en la biorremediación, tales como, la ubicuidad, la producción de enzimas extracelulares y la facilidad de colonización del suelo contaminado gracias a su estructura de hifas. Los hongos son, además, muy buenos en la acumulación de metales pesados como cadmio, cobre, mercurio, plomo y zinc (Potin *et al.*, 2004).

DEGRADACIÓN POR HPB

La tasa de degradación microbiana de hidrocarburos en suelos está condicionada por parámetros fisicoquímicos como: presencia de nutrientes (Nitrógeno, Fósforo), contenido de

oxígeno (O₂), presión parcial (P_v) de gases, temperatura (T), pH, contenido de sales, tamaño (Diámetro) y distribución de partículas (Tamices), capacidad reguladora del suelo, solubilidad y concentración de viales, cantidad y biodisponibilidad de contaminantes, entre otros (Ramírez *et al.*, 2012).

Hay dos tipos principales de metabolismo fúngico para la degradación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos: no-lignocelulolítico y lignocelulolítico. Los hongos que no crecen sobre madera tienen metabolismo no-lignocelulolíticos, y por consiguiente no requieren mediación del peróxido de hidrógeno; mientras que los hongos lignocelulósicos como *Phanerochaete chrysosporium* y *Pleurotus ostreatus* pueden producir ambos tipos de enzimas, no-lignocelulolíticas y lignocelulolíticas, pudiendo trabajar con o sin mediación de enzimas productoras de peróxido de hidrógeno (Bamforth y Singleton, 2005).

Según Cazar (2016), los HPB invaden los tejidos vegetativos, secretando enzimas que degradan la lignina y diferentes componentes de la madera, o distintos sustratos, estas enzimas son: Manganese-Peroxidasas (MnP), Lignin-Peroxidasas y lacasas.

CHAMPIÑÓN OSTRA

Pleurotus ostreatus es un hongo comestible perteneciente al grupo de HPB, normalmente llamado champiñón ostra. Es útil en la biorremediación porque puede colonizar la tierra contaminada fácilmente y degradar HAP's. Este hongo puede producir niveles altos de lacasa enzima extracelular y tiene el potencial para mineralizar HAP's

completamente. *Pleurotus ostreatus* es un hongo con gran potencial debido a su amplia explotación comercial a nivel mundial (Matthew Gacura 2009).

Las tecnologías de utilización del hongo *Pleurotus ostreatus* para biorremediación no se encuentran completamente desarrolladas, se encuentran en la fase experimental por lo cual requieren mayor investigación para aplicarse a nivel industrial. En la literatura se encontraron 6 investigaciones donde se empleó el hongo *Pleurotus ostreatus* como microorganismo para la biorremediación de diferentes contaminantes (Cazar, 2016; Matthew Gacura 2009; Miele *et al.*, 2010; Novotny *et al.*, 2001; Rigasa *et al.*, 2005), de las cuales tan sólo 2 corresponden a remediación de suelos contaminados con HAP's (Cazar, 2016; Matthew Gacura 2009).

CONCLUSIONES

La actividad petrolera ha provocado la contaminación de los suelos por la presencia de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP's), lo que en la actualidad constituye un problema ambiental de primer orden. La perspectiva de esta problemática a futuro no es tan abrumadora, ya que hoy en día se cuenta con novedosas técnicas para la recuperación de suelos, tales como la Biorremediación. Las investigaciones de hoy en día han centrado todo su esfuerzo por intensificar el porcentaje de degradación de especies de hongos como *Pleurotus ostreatus*, sin embargo, la principal limitante de aplicación es el escalamiento desde el laboratorio a la industria, por lo que se recomienda mayor investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agudo, A. (2009). *Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) acercamiento a su problemática como riesgo laboral* España
- Bamforth, S. y Singleton, I. (2005). Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 80, 723–736.

- Cazar, C. S. (2016). *Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de la parroquia taracoa en francisco de orellana, mediante el hongo Pleurotus ostreatus*. Ingeniero, Escuela Superior Politécnica De Chimborazo, Riobamba.
- Delgado, K. T. y Montoya, T. Z. (2009). *Biorremediación De Suelos Contaminados Por Hidrocarburos*. Ingeniería Universidad Nacional De Colombia, Medellín
- Falcón, J. A. F. (2017). Propuesta de metodología para la recuperación de suelos contaminados. *Revista centro azúcar*, 44, 53-60.
- Fernández, C., Llobregat, M., Jimènez, B., Altomare, V. y Labrador, H. (2008). Biodegradación de asfalteno y resinas por microorganismos presentes en suelo contaminado con hidrocarburo. *Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela*, 23, 7-15.
- Herrera, O. F., Huerta, E. R., López, I. V. y Hernández, J. O. (2006). Enzimas Ligninolíticas Fúngicas Para Fines Ambientales. *Mensaje Bioquímico*, XXX, 29-55.
- Kanally, R. A. y Harayama, S. (2010). Advances in the field of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation by bacteria. *Microbial Biotechnology*, 3, 136–164.
- Martínez, V. y López, F. (2001). Efecto de hidrocarburos en las propiedades físicas y químicas de suelo arcilloso. *Terra Latinoamericana*, 19, 9-17.
- Mastandrea, C., Chichizola, C., Ludueña, B., Sánchez, H., Álvarez, H. y Gutiérrez, A. (2005). Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 39, 27-36.
- Matthew Gacura (2009). *Effect of Pleurotus ostreatus on Bioremediation of PAH Contaminated River Sediment* Master of Science Youngstown State University EE. UU.
- Menezes, G. d. S., Carvalho, T. A. d., Almeida, W. d. S., Sussuchi, E. M., Viégas, P. R. A. y Marino, R. H. (2017). Bioremediation potential of filamentous fungi in methylene blue: Solid and liquid culture media. *Ciência e Agrotecnologia*, 41, 526-532.
- Mesa, J. B. L. d., Quintero, G., Vizcaíno, A. L. G., Cáceres, D. C. J., Riaño, S. M. G. y García, J. M. (2006). Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *Nova - Publicación Científica*, 4, 82-90.
- Miele, A., Giardina, P., Sannia, G. y Faraco, V. (2010). Random mutants of a *Pleurotus ostreatus* laccase as new biocatalysts for industrial effluents bioremediation. *Journal of Applied Microbiology*, 108, 998–1006.
- Novotny, C., Rawal, B., Bhatt, M., Patel, M., Sasek, V. y Molitoris, H. P. (2001). Capacity of *Irpex lacteus* and *Pleurotus ostreatus* for decolorization of chemically different dyes. *Journal of Biotechnology*, 18, 113–122.
- Ortiz, R., Cram, S. y Sommer, I. (2012). Hidrocarburos aromáticos policíclicos (haps) en suelos de la llanura aluvial baja del estado de tabasco, México. *Universidad y Ciencia Trópico Húmedo*, 28, 131-144.
- Plice, M. (1948). Some effects of crude petroleum on soil fertility. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 14, 413-416.
- Potin, O., Rafin, C. y Veignie, E. (2004). Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 54, 45-52.
- Prado, A. M., López, E. P., Espinoza, J. P., Nevárez, B. G. y Rodríguez, A. O. (2011). Biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos empleando lodos residuales como fuente alterna de nutrientes. *Rev. Int. Contam. Ambie*, 27, 241-252.
- Ramírez, O. A., Rivera, A. R., Marin, L. A., Rojano, B., Ruiz, O. y Gallo, S. C. (2012). Biorremediación de un suelo con diésel Mediante el uso de microorganismos autóctonos *Gestión y ambiente*, 15, 27-40.

- Rigasa, F., Dritsa, V., Marchant, R., Papadopoulou, K., Avramides, E. y Hatzianestis, I. (2005). Biodegradation of lindane by *Pleurotus ostreatus* via central composite design. *Environment International*, 31, 191– 196.
- Torres, G. V. y Casagua, J. D. (2013). Importancia de la biorremediación para mejorar las condiciones del suelo afectado con derrames de hidrocarburos y el medio ambiente en Colombia del 2002 al 2012. *Gerencia de instituciones de salud y gestión ambiental*, 1, 112-137.
- Ventura, A. P. (2009). *Biorremediación de suelos contaminados con gasolina utilizando estiércol de caballo, en Torreón, Coahuila*. Ingeniero Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" Unidad Laguna Mexico.

Obtención de cepas puras de *Monascus spp.* con fines industriales

Obtaining pure strains of *Monascus spp.* for industrial purposes

Klever Bayardo Ayala Pastaz¹, Julio Amilcar Pineda Insuasti², Astrid Stefanía Duarte Trujillo³, Claudia Patricia Soto Arroyave⁴, Camilo Alejandro Pineda Soto⁵, Luis Adalberto Chamorro Ortega¹.

¹ Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.

² Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

³ Organización Micológica Internacional (OMI), Florencia, Colombia.

⁴ Universidad Católica de Oriente (UCO), Rionegro, Colombia.

⁵ Escuela Politécnica Nacional (EPN), Quito, Ecuador

Autor para correspondencia: kleverbayal@gmail.com

Recibido: octubre 27 de 2018

Aceptado: diciembre 28 de 2018

RESUMEN

Monascus spp. es un hongo con gran potencial industrial porque produce monacolina, un tipo de lovastatina natural y diversos pigmentos, generalmente rojos. No obstante, su uso se ha visto limitado por la producción de citrina, una micotoxina. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue describir aspectos claves para la obtención de cepas puras de *Monascus spp.* que permita la óptima elección de las cepas con fines industriales. Se describieron las principales etapas de obtención de cepas puras: aislamiento, identificación, caracterización y conservación. Se concluye que la identificación y la conservación son partes claves del proceso, y se propone la especie *M. sanguineus* como una alternativa para la producción de pigmentos, ya que no produce citrina.

PALABRAS CLAVE: angkak, banco de recursos genéticos, conservación de especies, pigmento natural.

ABSTRACT

Monascus spp. is a fungus with great industrial potential because it produces monacoline, a kind of natural lovastatin and various pigments, usually red. However, its use has been limited by the production of citrine, a mycotoxin. In this context, the aim of this study was to describe key aspects for obtaining pure strains of *Monascus spp.* that allows the optimal choice of strains for industrial purposes. The main stages of obtaining pure strains were described: isolation, identification, characterization and conservation. It is concluded that the identification and conservation are key parts of the process. The species *M. sanguineus* is proposed as an alternative for the pigment production, as it does not produce citrine.

KEYWORDS: angkak, bank of genetic resources, conservation of species, natural pigment.

INTRODUCCIÓN

Los hongos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y son esenciales

para la degradación y el reciclaje de la materia orgánica. Durante su metabolismo secundario producen variedad de metabolitos como

enzimas, polisacáridos, antibióticos, pigmentos, alcaloides, ácidos orgánicos, entre otros. Adicionalmente, tienen la facultad de crecer en condiciones ambientales hostiles, por lo que su potencial biotecnológico ha sido estudiado por años (Hajjaj *et al.*, 2000).

Monascus spp. es un hongo ascomiceto filamentoso descrito desde 1884; pertenece a la familia Monascaceae, y usualmente es conocido como moho rojo (Vidyalakshmi, Paranthaman, Murugesh, y Singaravadivel, 2009). Se reportan en la literatura alrededor de 20 especies (Species Fungorum, 2016), de las cuales *M. pilosus*, *M. purpureus*, *M. ruber* y *M. floricornis* son las de mayor importancia biotecnológica, por su uso tradicional en la comida oriental (Sabater-Vilar, Maas, y Fink-Gremmels, 1999), donde es muy empleado como colorante y/o conservante del vino, el pescado, las carnes, el queso, el arroz, entre otros productos (Carvalho, Oishi, Pandey, y Soccol, 2005; Pattanagul, Pinthong, y Phianmongkhol, 2007). Sus compuestos son en su mayoría biológicamente activos, por lo que presentan diversas aplicaciones como aditivos, principalmente, en las industrias cosmética, de alimentos y de medicamentos (Pattanagul *et al.*, 2007; Pisareva y Kujumdzieva, 2010).

La monacolina y los pigmentos son los metabolitos de mayor importancia biotecnológica. La monacolina, es un tipo de lovastatina natural, capaz de disminuir el colesterol en la sangre, gracias a la inhibición competitiva de la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMG Co-A) que cataliza la biosíntesis del colesterol; por lo tanto, se pueden emplear para el tratamiento de la hiperlipidemia y enfermedades cardiovasculares (Endo, 1979; Heber *et al.*, 1999). Los pigmentos son los metabolitos de *Monascus* spp. más ampliamente utilizados en la industria alimentaria y biotecnológica como colorantes naturales, saborizantes y conservantes (Pisareva y Kujumdzieva, 2010); su uso se ha extendido gracias a que, durante los últimos años, los colorantes sintéticos se han

relacionado con el cáncer. Los pigmentos de coloración roja son los de mayor importancia, ya que pueden ser utilizados como sustitutos de los nitritos y la eritrosina en la elaboración de los cárnicos (Carvalho *et al.*, 2005); sin embargo, se ha cuestionado su empleo porque *Monascus* spp. produce citrina, anteriormente llamada monascidin A (Pattanagul *et al.*, 2007); la cual es una micotoxina que también es producida por *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp., y tiene efectos cancerígenos, mutágenos, citotóxicos, hepatóxicos, nefrotóxicos y teratogénicos (Chan y Shiao, 2007), lo que pone en juego el reconocimiento de inocuidad GRASS otorgado por la FDA (Nout, 2007).

Para evaluar el riesgo de toxicidad se han realizado exámenes genómicos, encontrándose que sólo las cepas de las especies *M. purpureus* y *M. kaoliang* poseen los genes que expresan citrina (Y.-P. Chen *et al.*, 2008). Además, recientemente, se desarrolló un método que permite separar la citrina de los alimentos mediante su unión a nanopartículas magnéticas de superficie activa maghemita, gracias a los grupos quelantes de hierro que posee, principalmente Ceto-enoles (Magro *et al.*, 2016).

En vista de los altos costos económicos de la nanotecnología, es importante seleccionar en la práctica, las cepas de *Monascus* spp. que producen grandes cantidades de biopigmentos con bajo o nulo contenido de citrinina (M.-H. Chen y Johns, 1993). En este contexto, el objetivo de este trabajo fue describir aspectos claves para la obtención de cepas puras de *Monascus* spp., mediante una amplia revisión de la literatura que permita la óptima elección de las cepas con fines industriales.

AISLAMIENTO DE CEPAS

Se reportan aislamientos a partir de alimentos como puré de sorgo (Lin y Demain, 1991), arroz contaminado (Carvalho *et al.*, 2005), aceitunas verdes procesadas térmicamente

(Panagou, Katsaboxakis, y Nychas, 2002), angkak (Kim, Kim, Oh, Jee-Hwan, y Lee, 2010), cuajada de soja fermentada (Yongsmith, Tabloka, Yongmanitchai, y Bavavoda, 1993), papas, avena, frutas y forraje ensilado (Samson, Hoekstra, Frisvad, y Filtenborg, 2002); suelo pedregoso-arenoso (Stchigel, Cano, Abdullah, y Guarro, 2004); arena de raíz de pino (Barnard y Cannon, 1987); sedimentos de ríos (Cannon, Abdullah, y Abbas, 1995); ecosistemas marinos (Landy y Jones, 2006); cuerpos de agua dulce (Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1979) y combustible de aviación (Vasilyeva, Chekunova, Bilanenko, Kachalkin, y Polyakova, 2012). Las muestras se toman con un asa y se depositan en alguno de los medios de cultivo reportados en la literatura para el aislamiento de *Monascus* spp.: Agar Papa Dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés), Agar Sabouraud, Solución agarosa de Czapek (Palo, Vidal-Adeva, y Maceda, 1960), Agar Batata Dextrosa (BDA, por sus siglas en inglés) (Macario, Palo, Vidal-Adeva, y Maceda, 1960), Agar Rosa Bengala con cloranfenicol (Chairote, Chairote, Wongpornchai, y Lumyong, 2007) y Medio Wong modificado (Lin y Demain, 1991).

Si el material para el aislamiento fueron granos invadidos por el hongo se recomienda esterilizar primero mediante dos inmersiones en etanol al 95 % durante 30 segundos y una lavada intermedia en solución acuosa de hipoclorito de sodio al 0,1 % durante uno a cuatro minutos (Chairote *et al.*, 2007). Para el caso especial de las cepas encontradas en los sedimentos y suelo se aplica el método de aislamiento de placa directa y el medio de cultivo Agar Patata Zanahoria (PCA, por sus siglas en inglés) (Cannon *et al.*, 1995; Stchigel *et al.*, 2004).

Los medios de cultivos inoculados se incuban entre 29 a 32 ° C durante 10 días, o hasta que el micelio se propague por toda la caja de Petri (Carvalho *et al.*, 2005; Lin y Demain, 1991). También se registran las siguientes condiciones de cultivo: 25 a 30 °C durante siete

días (Park, Stamenova, y Long, 2004), 30±2 °C durante 3 a 5 días (Chaisrisook, 2002).

IDENTIFICACIÓN

Algunos de los medios reportados para la comparación de características macroscópicas de las colonias y la medición de tasas de crecimiento, son: Agar Autolisado de Levadura Czapek (CYA, por sus siglas en inglés), Agar Extracto de Malta (MEA), Agar Glicerol 25 N (G25N), Agar Papa Dextrosa (PDA), Agar Harina de Avena (OMA, por sus siglas en inglés) y Agar de Harina de Maíz (CMA, por sus siglas en inglés) a 25 °C durante 7 días. Las mediciones y observaciones tanto de los caracteres morfológicos de las colonias (tamaño, color, forma, textura...) como de los caracteres microscópicos del micelio (hifas, conidios, cleistotecios, esporas, ramificaciones...) se hacen con lactofenol como medio de montaje (Shao, Xu, y Chen, 2011; Stchigel *et al.*, 2004).

Monascus spp. se distingue principalmente por su etapa Basipetospora anamorfa y por su cuerpo fructífero o ascoma, que es un cleistotecio ubicado en los extremos de las hifas ramificadas del micelio vegetativo, como muestra la figura 1. El cleistotecio se conforma de dos capas: la interna que está formada por la ampliación de las regiones apicales de las hifas, y la externa que consiste de un entretrejido de hifas que forman su "envoltura". Los ascos dentro de los cuerpos fructíferos están dispuestos al azar y son degradados en las primeras etapas de formación de esporas sexuales (Vasilyeva *et al.*, 2012). Es un hongo homotálico, es decir, que su reproducción sexual se da por dos gametos aportados por el mismo talo (Kamolnan Lakrod, Chaisrisook, y Skinner, s. f.). Las esporas sexuales se denominan ascosporas mientras que las asexuales se denominan conidiosporas; y la unión entre ambos tipos de esporas da origen a los tubos germinativos (Cousin y Blackburn, 2006; Wong y Bau, 1978). Dichas esporas son resistentes al calor y pueden crecer en medios con niveles

reducidos de oxígeno, lo que es característico del género (Panagou *et al.*, 2002). Las hifas son septadas (tabicadas), pero la forma y textura del micelio depende del tipo de especie. El desarrollo de las hifas aéreas y la producción de metabolitos secundarios son modulados por la proteína *mrflbA* (Shao *et al.*, 2011). Chairisook (2002) establece que dos cepas pertenecen al mismo Grupo de Compatibilidad de Micelio (GCM) si al sembrarlas en el mismo medio de cultivo crecen como una sola colonia, de lo contrario son incompatibles.

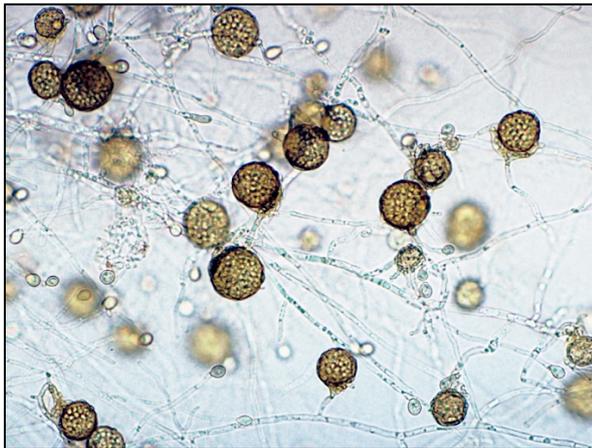


Figura 1. Ascomas o cuerpos fructíferos llenos de ascos (Butac, s. f.)

A continuación, se listan algunas características de especies reportadas en la literatura:

M. purpureus

Su micelio es blanco en los primeros estados de crecimiento, luego cambia al color rosa por la producción de pigmentos, posteriormente se torna de color anaranjado-amarillento característico, con un consecuente aumento de la acidez del medio, y finalmente torna color rojo intenso. Sus ascosporas son esféricas o ligeramente ovoides, con un diámetro de 5 micras o 6x5 micras, respectivamente. Sus conidios son abundantes, germinan más rápido y requieren más nutrientes exógenos que las ascosporas, sin embargo, son menos resistentes al calor. Es la especie más común porque a partir de él se produce el arroz rojo o angkak (Pattanagul *et al.*, 2007; Wong y Bau, 1978). A continuación,

la figura 2 muestra una colonia de *M. purpureus*.



Figura 2. Cultivo de *M. purpureus* en agar.

M. pallens

La colonia presenta crecimiento circular, el micelio aéreo está casi ausente y sin pigmentación (al igual que *M. floridanus*). Las hifas son hialinas, tabicadas, de pared delgada, piriformes, escasamente ramificadas, sin incrustaciones cristalinas, y ocasionalmente anastomosadas. Producen conidios abundantemente y ascosporas elipsoidales de pared gruesa. Los ascomas son parduzcos y se componen por células angulares. Los ascos son difíciles de observar y es probable que sus paredes se descompongan antes de la formación de las paredes de ascosporas. El perfil enzimático es similar al de *M. pilosus* y *M. purpureus*, a diferencia de que no tiene actividad α -galactosidasa y β -galactosidasa como el primero, ni cisteína arilamidasa como el segundo (Cannon *et al.*, 1995).

M. sanguineus

La colonia es de forma irregular, plana y varía de flocosa a algodonosa. Su micelio es inicialmente blanco y luego cambia entre rosado a rojo grisáceo. Las hifas tienen paredes lisas, son irregularmente ramificadas, varían de hialinas a marrón pálido. Produce ascomas abundantemente, los cuales tienen forma más o menos globosa y coloración marrón pálido, con ascosporas elipsoidales y gruesas, pero sin presencia de ascos. Morfológicamente es similar a *M. ruber*, pero sin actividad leucina

arilamidasa y α -galactosidasa. De *M. pilosus* y *M. purpureus* se diferencia en que estos tienen ascomas carentes de color; además no produce las enzimas leucina arilamidasa, α -galactosidasa y β -galactosidasa que produce el primero, ni la leucina arilamidasa y cisteína arilamidasa que produce el segundo (Cannon *et al.*, 1995).

M. argentinensis

Su micelio es abundante, delicadamente algodonoso, de color hialino a marrón pálido o gris con márgenes blancos, sin pigmentos solubles. Las hifas son tabicadas, de paredes delgadas, hialinas o de color ligeramente marrón y ramificadas, que anastomosan a veces en fascículos. Produce ampliamente artroconidias o clamidosporas esféricas con forma de barril, intercaladas o laterales, solas o en cadena. Los conidióforos son erectos, con conidiosporas simples o formadas en cadenas cortas de basipétalos. Las conidiosporas son hialinas a café oliváceo pálido, de pared gruesa cuya forma varía de globosa a piriforme, con una base aplanada. Los ascomas son abundantes, no tienen ostiolo, son globosos, de color café oliváceo oscuro, con la cavidad llena de ascosporas hialinas y elipsoidales a globosas (Stchigel *et al.*, 2004).

M. ruber

Presenta numerosos ascomas circulares y lisos, llenos de ascosporas incoloras, lisas y ovoides de base achatada. Las conidiosporas pueden estar aisladas o ligadas formando cadenas; generalmente son más grandes que las ascosporas, pero su tamaño puede variar hasta alcanzar dimensiones demasiado pequeñas, donde reciben el nombre de microconidios. Las colonias presentan un crecimiento muy rápido, con una morfología algodonosa, circular, rugosa y de coloración rojo-púrpura opaco (Macario *et al.*, 1960).

M. floridanus

Tiene mucho menos ascosporas que *M. sanguineus*, carece de pigmentos rojos y carece de actividad valina arilamidasa; no

obstante, presenta actividad cisteína arilamidasa (Cannon *et al.*, 1995).

Según Shao, Xu y Chen (2011), existen nueve especies del género *Monascus* spp. aceptadas internacionalmente con base en caracteres de cultivo, sin embargo, se reportan en la literatura más de 20 especies (Species Fungorum, 2016), de las cuales muchas son sinónimo, de modo que las identidades genéticas de este género están todavía en debate.

Tradicionalmente, la identificación microbiana se basa en caracteres fenotípicos, incluyendo propiedades morfológicas, fisiológicas y bioquímicas (Shao *et al.*, 2011); pero esta forma de identificación aplicada a los mohos está cada vez más en desuso, cobrando mayor importancia los métodos de detección de compuestos volátiles, los inmunoensayos, las técnicas moleculares y la espectroscopía de infrarrojo (Cousin y Blackburn, 2006).

Los marcadores moleculares, independientemente de las condiciones culturales proporcionan una herramienta viable para la discriminación de genotipos estrechamente relacionados y la determinación de relaciones genéticas entre diferentes cepas de *Monascus* spp (Shao *et al.*, 2011). Se han empleado varios marcadores moleculares como la Amplificación Aleatoria de ADN Polimórfico (RAPD, por sus siglas en inglés) (K. Lakrod, Chairidook, Yongsmith, y Skinner, 2000; Shinzato, Namihira, Tamaki, Tsukahara, y Matsui, 2009), el gen de β -tubulina, el Espaciador Transcribible Interno (ITS, por sus siglas en inglés) del ADNr (Park *et al.*, 2004) y *Monascus* Retro-Transposón (MRT) (Y.-P. Chen, Tseng, Liaw, Wang, y Yuan, 2007). Estos métodos tienen sus propias ventajas y desventajas. Por ejemplo, RAPD e ITS son fáciles de manejar, pero el primero tiene baja reproducibilidad mientras que el segundo presenta dificultad en la alineación todos los taxones. Por su parte, el análisis filogenético basado en el gen β -tubulina es consistente con

las alineaciones, pero no alcanza a diferenciar entre *M. ruber* y *M. pilosus*. MRT es dependiente del Southern blotting, por ende, es un proceso muy demorado (Shao *et al.*, 2011). Shao y colaboradores (2011) proponen los marcadores de Repetición Inter-Simple de Secuencias (RISS) y Polimorfismos Amplificados de Secuencias relacionadas (PAS) como alternativas moleculares para la clasificación e identificación de cepas de *Monascus* spp. a gran escala o como complementos de los métodos tradicionales, gracias a su simplicidad, reproducibilidad y polimorfismo. El RISS utiliza sólo un cebador para amplificar fragmentos de ADN entre dos microsatélites de repetición idénticos (Zietkiewicz, Rafalski, y Labuda, 1994), mientras que el PAS marca objetivos abiertos de lectura (ORFs, por sus siglas en inglés) en el genoma, utilizando un diseño único de los pares de cebadores (Li y Quiros, 2001). PAS es más informativo que RISS, ya que produce bandas más polimórficas; sin embargo, los dendogramas son muy parecidos pese a las inconsistencias menores en la posición de algunos subgrupos, debido a que amplifican en una región diferente del genoma (Shao *et al.*, 2011).

CARACTERIZACIÓN

Entre las actividades biológicas de los metabolitos producidos se encuentra: Hipocolesterolémica (Heber *et al.*, 1999), anti-obesidad (Choe, Lee, Woo, y Shin, 2012), anticancerígena (Hsu, Hsu, Liang, Kuo, y Pan, 2011), antiinflamatoria (Cheng, Wu, Yuan, Su, y Yanai, 2012), hipotensora (Kuba, Tanaka, Sesoko, Inoue, y Yasuda, 2009), antifúngica (Tu *et al.*, 2016), antibacteriana (Mukherjee y Singh, 2011), entre otras, que son otorgadas por los compuestos biológicamente activos que produce.

En la tabla 1 se muestran los principales metabolitos producidos por el género *Monascus* spp.

Tabla 1. Principales metabolitos secundarios producidos por especies de *Monascus* spp.

Tipo	Metabolito	Variiedad	
Pigmento amarillo	Monasquina	<i>M. ruber</i>	
	Ancaflavina	<i>M. purpureus</i>	
	Yellow II	<i>M. purpureus</i>	
Pigmento anaranjado	Monascorubrina	<i>M. ruber</i>	
	Rubropunctatina	<i>M. purpureus</i>	
	Monapil	<i>M. purpureus</i>	
Pigmento rojo	Rubropunctamina	<i>M. purpureus</i>	
	Monascorubramina	<i>M. purpureus</i>	
Antibiótico	Citrina	<i>M. purpureus</i>	
	(monascidina A)	<i>M. kaoliang</i>	
Enzima	Proteasas	<i>M. purpureus</i>	
	Glucoamilasas	<i>M. purpureus</i>	
	α -amilasas	<i>M. purpureus</i>	
Estatina	Mevinolina	<i>M. ruber</i>	
	(Monacolina K)	<i>M. purpureus</i>	
Amino- azúcar	Glucosamina	<i>M. ruber</i>	
		<i>M. purpureus</i>	
Alcohol	Etanol	<i>M. purpureus</i>	
	Ácido orgánico	Ácido acético	<i>M. purpureus</i>
		Ácido butírico	<i>M. purpureus</i>
Azafilón	Acetato		
	Monascusazafilol	<i>M. pilosus</i>	
	Monascuscaolina	<i>M. kaoliang</i>	
	Xantomonasina	<i>M. pilosus</i>	

La cantidad y tono de los pigmentos producidos es influenciado por el tipo de cepa y su perfil metabólico, al igual que por los nutrientes del medio (fósforo y nitrógeno, principalmente), las condiciones de cultivo (temperatura, pH y humedad, principalmente) y los métodos de cultivo (Carvalho *et al.*, 2005). *Monascus* spp. es un hongo que puede crecer

en un rango de temperatura desde los 15 °C hasta los 45 °C, aunque su óptimo se ubica entre los 25 a 37 °C. Igualmente, puede crecer en un rango de pH de 2,5 a 8,0; siendo el ideal de 4,0 a 7,0 (Carvalho *et al.*, 2005); aunque se reportan casos donde *M. ruber* ha crecido en un rango de pH de 1,7 a 2,0 y una temperatura de 80°C (Nout, 2007).

ALMACENAMIENTO Y CONSERVACIÓN

Para el almacenamiento de las cepas se emplea generalmente el medio de cultivo PDA a 4°C (Y.-P. Chen *et al.*, 2008), aunque también se usa Agar Extracto de Malta (MEA, por sus siglas en inglés) a 2°C. Para garantizar la viabilidad de las cepas almacenadas en agar, se debe repicar, es decir, realizar durante un semestre subcultivos mensuales antes de uso.

Se reporta que los mejores métodos de almacenamiento para la conservación de las cepas en Bancos de Recursos Genéticos (BRG) son la liofilización y la criopreservación en nitrógeno líquido, que preservan la estabilidad

genética durante más de 40 años (Hawksworth, 1985; Nagai *et al.*, 2005) a una temperatura de -70 °C (Kim *et al.*, 2010).

CONCLUSIONES

Las etapas para obtener cepas puras de *Monascus* spp. son: aislamiento de cepas, identificación de especies, caracterización, almacenamiento y conservación. El aislamiento debe realizarse en un medio de cultivo con características semejantes a las del sustrato de recolección para garantizar la selectividad; la identificación debe ser óptima, para evitar otorgar erróneamente propiedades o características a las cepas; la caracterización permite encontrar los usos potenciales de la cepa; el almacenamiento es el responsable de conservar la viabilidad y estabilidad genética de la cepa. Se propone aprovechar el potencial en la industria alimentaria de los pigmentos producidos por cepas que no sinteticen citrina, tales como, *M. sanguineus*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ajdari, Z., Ebrahimpour, A., Manan, M. A., Hamid, M., Mohamad, R., & Ariff, A. B. (2011). Nutritional Requirements for the Improvement of Growth and Sporulation of Several Strains of *Monascus purpureus* on Solid State Cultivation. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 9. <https://doi.org/10.1155/2011/487329>
- Barnard, E., & Cannon, P. (1987). A new species of *Monascus* from pine tissues in Florida. *Mycology*, 79(3), 479–484.
- Butac. (s. f.). BUTAC. Recuperado 3 de septiembre de 2016, a partir de http://www.butac.it/wp-content/uploads/2015/05/Monascus_purpureus_Koji_Mould.jpg
- Cannon, P. F., Abdullah, S. K., & Abbas, B. A. (1995). Two new species of *Monascus* from Iraq, with a key to known species of the genus. *Mycological Research*, 99(6), 659–662. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(09\)80523-6](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80523-6)
- Carvalho, J. C. de, Oishi, B. O., Pandey, A., & Soccol, C. R. (2005). Biopigments from *Monascus*: strains selection, citrinin production and color stability. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48(6), 885–894. Recuperado a partir de http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132005000800004&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Chairote, E., Chairote, G., Wongpornchai, S., & Lumyong, S. (2007). Preparation of red yeast rice using various Thai glutinous rice and *Monascus purpureus* CMU001 isolated from commercial Chinese red yeast rice sample. *KMITL Science Journal*, 7, 28–37. Recuperado a partir de <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.499.7883&rep=rep1&type=pdf>

- Chaisrisook, C. (2002). Mycelial reactions and mycelial compatibility groups of red rice mould (*Monascus purpureus*). *Mycological Research*, 106(3), 298–304. <https://doi.org/10.1017/S0953756202005580>
- Chan, W.-H., & Shiao, N.-H. (2007). Effect of citrinin on mouse embryonic development in vitro and in vivo. *Reproductive Toxicology*, 24(1), 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.04.070>
- Chen, M.-H., & Johns, M. R. (1993). Effect of pH and nitrogen source on pigment production by *Monascus purpureus*. *Applied Microbial and Cell Physiology*, 40(1), 132–138. <https://doi.org/10.1007/BF00170441>
- Chen, Y.-P., Tseng, C.-P., Chien, I.-L., Wang, W.-Y., Liaw, L.-L., & Yuan, G.-F. (2008). Exploring the Distribution of Citrinin Biosynthesis Related Genes among *Monascus* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(24), 11767–11772. <https://doi.org/10.1021/jf802371b>
- Chen, Y.-P., Tseng, C.-P., Liaw, L.-L., Wang, C.-L., & Yuan, G.-F. (2007). Characterization of MRT, a new non-LTR retrotransposon in *Monascus* spp. *Botanical Studies*, 48, 377–385. Recuperado a partir de <http://ejournal.sinica.edu.tw/bbas/content/2007/4/Bot484-02.pdf>
- Cheng, M.-J., Wu, M.-D., Su, Y.-S., Yuan, G.-F., Chen, Y.-L., & Chen, I.-S. (2012). Secondary metabolites from the fungus *Monascus kaoliang* and inhibition of nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated macrophages. *Phytochemistry Letters* (Vol. 5). <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2012.01.008>
- Cheng, M.-J., Wu, M.-D., Yuan, G.-F., Su, Y.-S., & Yanai, H. (2012). Secondary metabolites produced by the fungus *Monascus pilosus* and their anti-inflammatory activity. *Phytochemistry Letters*, 5(3), 567–571. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2012.05.015>
- Choe, D., Lee, J., Woo, S., & Shin, C. S. (2012). Evaluation of the amine derivatives of *Monascus* pigment with anti-obesity activities. *Food Chemistry*, 134(1), 315–323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.149>
- Cousin, M. A., & Blackburn, C. D. W. (2006). Detection, enumeration and identification methods for spoilage molds. En *Food spoilage microorganisms* (pp. 55–85). Cambridge: Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9781845691417.1.55>
- Endo, A. (1979). Monacolin K, a new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species. *J Antibiot (Tokyo)*, 32(8), 852–854. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/500505>
- Hajjaj, H., Blanc, P., Groussac, E., Uribelarrea, J.-L., Goma, G., & Loubiere, P. (2000). Kinetic analysis of red pigment and citrinin production by *Monascus ruber* as a function of organic acid accumulation. *Enzyme and Microbial Technology*, 27(8), 619–625. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(00\)00260-X](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(00)00260-X)
- Hawksworth, D. L. (1985). Fungus Culture Collections as a Biotechnological Resource. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 3(1), 417–453. <https://doi.org/10.1080/02648725.1985.10647820>
- Heber, D., Yip, I., Ashley, J., Elashoff, D., Elashoff, R., Ir, V., & Autor, I. del. (1999). Cholesterol-lowering effects of a proprietary Chinese red-yeast-rice dietary supplement. *Am J Clin Nutr*, 69(2), 231–6. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9989685>
- Hsu, Y.-W., Hsu, L.-C., Liang, Y.-H., Kuo, Y.-H., & Pan, T.-M. (2011). New Bioactive Orange Pigments with Yellow Fluorescence from *Monascus*-Fermented *Dioscorea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(9), 4512–4518. <https://doi.org/10.1021/jf1045987>
- Kim, J. Y., Kim, H.-J., Oh, Jee-Hwan, J. H., & Lee, I. (2010). Characteristics of *Monascus* sp. isolated from *Monascus* fermentation products. *Food Science and Biotechnology*, 19(5), 1151–1157. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0164-1>
- Kohlmeyer, J., & Kohlmeyer, E. (1979). *Marine Mycology: The Higher Fungi*. New York: Academic Press.

- Kuba, M., Tanaka, K., Sesoko, M., Inoue, F., & Yasuda, M. (2009). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in red-mold rice made by *Monascus purpureus*. *Process Biochemistry*, *44*(10), 1139–1143. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.06.007>
- Lakrod, K., Chaisridook, C., Yongsmith, B., & Skinner, D. Z. (2000). RAPD analysis of genetic variation within a collection of *Monascus* spp. isolated from red rice (ang-kak) and sofú. *Mycological Research*, *104*(4), 403–408. <https://doi.org/10.1017/S0953756299001434>
- Lakrod, K., Chaisrisook, C., & Skinner, D. Z. (s. f.). Transformation of *Monascus purpureus* to hygromycin B resistance with cosmid pMOcosX reduces fertility. *Electronic Journal of Biotechnology*, *6*(2), 143–147. Recuperado a partir de http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-34582003000200007&lng=es&nrm=iso&tlng=en
- Lakshman, P. L. N., Toyokawa, Y., Toyama, H., Taira, T., & Yasuda, M. (2010). Purification and characterisation of two extracellular acid proteinases from *Monascus pilosus*. *Food Chemistry*, *121*(4), 1216–1224. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.007>
- Landy, E. T., & Jones, G. M. (2006). What is the Fungal Diversity of Marine Ecosystems in Europe? *Mycologist*, *20*(1), 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.mycol.2005.11.010>
- Li, G., & Quiros, C. F. (2001). Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. *Theor Appl Genet*, *103*, 455–461. Recuperado a partir de https://courses.cit.cornell.edu/jl265/Li_and_Quiros2001.pdf
- Lin, T. F., & Demain, A. L. (1991). Effect of nutrition of *Monascus* sp. on formation of red pigments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *36*(1), 70–75. <https://doi.org/10.1007/BF00164701>
- Macario, A. L., Palo, M. A., Vidal-Adeva, L., & Maceda, L. M. (1960). A study on ang-kak and its production. *Philippine J Sci.*, *89*(1), 1–19.
- Magro, M., Moritz, D. E., Bonaiuto, E., Baratella, D., Terzo, M., Jakubec, P., ... Vianello, F. (2016). Citrinin mycotoxin recognition and removal by naked magnetic nanoparticles. *Food Chemistry*, *203*, 505–512. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.147>
- Mukherjee, G., & Singh, S. K. (2011). Purification and characterization of a new red pigment from *Monascus purpureus* in submerged fermentation. *Process Biochemistry*, *46*(1), 188–192. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.08.006>
- Nagai, T., Tomioka, K., Takeuchi, K., Iida, M., Kawada, M., & Sato, T. (2005). Evaluation of Preservation Techniques of Microorganism Resources in the MAFF Genebank. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, *39*(1), 19–27. <https://doi.org/10.6090/jarq.39.19>
- Nout, R. (2007). The Colonizing Fungus as a Food Provider. En R. A. Samson & J. Dijksterhuis (Eds.), *Food Mycology: A Multifaceted Approach to Fungi and Food* (pp. 343–344). Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Palo, M. A., Vidal-Adeva, L., & Maceda, L. (1960). Study on ang-kak and its production. *Philipp. J. Sci. Soc.*, *89*, 1–22.
- Panagou, E. Z., Katsaboxakis, C. Z., & Nychas, G.-J. E. (2002). Heat resistance of *Monascus ruber* ascospores isolated from thermally processed green olives of the Conservolea variety. *International Journal of Food Microbiology*, *76*(1), 11–18. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00748-6](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00748-6)
- Park, H. G., Stamenova, E. K., & Long, S.-C. (2004). Phylogenetic relationships of *Monascus* species inferred from the ITS and the partial p-tubulin gene. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, *46*, 225–230. Recuperado a partir de http://tao.wordpedia.com/show_pdf.ashx?sess=alu30a3pidthll45yeert145&file_name=JO00001095_45-4_325-330&file_type=r
- Pattanagul, P., Pinthong, R., & Phianmongkhol, A. (2007). Review of Angkak Production (*Monascus*

- purpureus). *Chiang Mai J. Sci.*, 34(3), 319–328.
- Pattanagul, P., Pinthong, R., Phianmongkhol, A., & Tharatha, S. (2008). Mevinolin, citrinin and pigments of adlay angkak fermented by *Monascus* sp. *International Journal of Food Microbiology*, 126(1), 20–23. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.04.019>
- Pisareva, E. I., & Kujumdzieva, A. V. (2010). Influence of Carbon and Nitrogen Sources on Growth and Pigment Production by *Monascus Pilosus* C1 Strain. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24(sup1), 501–506. <https://doi.org/10.1080/13102818.2010.10817890>
- Rosenblitt, A., Agosin, E., Delgado, J., & Pérez-Correa, R. (2000). Solid Substrate Fermentation of *Monascus purpureus*: Growth, Carbon Balance, and Consistency Analysis. *Biotechnology Progress*, 16(2), 152–162. <https://doi.org/10.1002/btpr.5420160201>
- Sabater-Vilar, M., Maas, R. F. ., & Fink-Gremmels, J. (1999). Mutagenicity of commercial *Monascus* fermentation products and the role of citrinin contamination. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 444(1), 7–16. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(99\)00095-9](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(99)00095-9)
- Samson, R. A., Hoekstra, E. S., Frisvad, J. C., & Filtenborg, O. (2002). *Introduction to food and airborne fungi* (6ª ed.). Netherland: Centraalbureau Voor Schimmelcultures-Utrecht.
- Shao, Y., Xu, L., & Chen, F. (2011). Genetic diversity analysis of *Monascus* strains using SRAP and ISSR markers. *Mycoscience*, 52(4), 224–233. <https://doi.org/10.1007/S10267-010-0087-Y>
- Shinzato, N., Namihira, T., Tamaki, Y., Tsukahara, M., & Matsui, T. (2009). Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis coupled with microchip electrophoresis for high-resolution identification of *Monascus* strains. *Appl Microbiol Biotechnol*, 82, 1187-. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-1937-4>
- Singgih, M., Saraswaty, V., Ratnaningrum, D., Priatni, S., & Damayanti, S. (2014). The Influence of Temperature and Ethanol Concentration in Monacolin K Extraction from *Monascus* Fermented Rice. *Procedia Chemistry*, 9, 242–247. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2014.05.029>
- Species Fungorum. (2016). Species Fungorum. Recuperado 4 de septiembre de 2016, a partir de <http://www.speciesfungorum.org/>
- Srianta, I., Zubaidah, E., Estiasih, T., Yamada, M., & Harijono. (2016). Comparison of *Monascus purpureus* growth, pigment production and composition on different cereal substrates with solid state fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 7, 181–186. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.05.011>
- Stchigel, A. M., Cano, J. F., Abdullah, S. K., & Guarro, J. (2004). No New and interesting species of *Monascus* from soil, with a key to the known species. *Studies in Mycology*, 50, 299–306. Recuperado a partir de [http://www.cbs.knaw.nl/publications/1050/028-New and interesting species of *Monascus* from soil, with a key to the known species.pdf](http://www.cbs.knaw.nl/publications/1050/028-New%20and%20interesting%20species%20of%20Monascus%20from%20soil,%20with%20a%20key%20to%20the%20known%20species.pdf)
- Tseng, Y. Y., Chen, M. T., & Lin, C. F. (2000). Growth, pigment production and protease activity of *Monascus purpureus* as affected by salt, sodium nitrite, polyphosphate and various sugars. *Journal of Applied Microbiology*, 88(1), 31–37. Recuperado a partir de <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2672.2000.00821.x/full>
- Tu, C.-Y., Chen, Y.-P., Yu, M.-C., Hwang, I.-E., Wu, D.-Y., & Liaw, L.-L. (2016). Characterization and expression of the antifungal protein from *Monascus pilosus* and its distribution among various *Monascus* species. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 122(1), 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.12.009>
- Vasilyeva, A. A., Chekunova, L. N., Bilanenko, E. N., Kachalkin, A. V., & Polyakova, A. V. (2012). Characterization of the strain *Monascus floricidus* P. F. Cannon & E. L. Barnard, isolated from aviation fuel. *Microbiology*, 81(4), 244–250. <https://doi.org/10.1134/S0026261712010158>
- Vidyalakshmi, R., Paranthaman, R., Murugesh, S., & Singaravadivel, K. (2009). Stimulation of *Monascus* Pigments by Intervention of Different Nitrogen Sources. *Global Journal of*

- Biotechnology & Biochemistry*, 4(1), 25–28. Recuperado a partir de [http://idosi.org/gjbb/gjbb4\(1\)09/4.pdf](http://idosi.org/gjbb/gjbb4(1)09/4.pdf)
- Wong, H.-C., & Bau, Y.-S. (1978). A comparison of conidial and ascospore germination of *Monascus purpureus*. *Transactions of the British Mycological Society*, 70(2), 277–282. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(78\)80042-4](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(78)80042-4)
- Yongsmith, B., Tabloka, W., Yongmanitchai, W., & Bavavoda, R. (1993). Culture conditions for yellow pigment formation by *Monascus* sp. KB 10 grown on cassava medium. *World J Microbiol Biotechnol*, 9(1), 85–90. <https://doi.org/10.1007/BF00656524>
- Yoshizaki, Y., Susuki, T., Takamine, K., Tamaki, H., Ito, K., & Sameshima, Y. (2010). Characterization of glucoamylase and α -amylase from *Monascus anka*: Enhanced production of α -amylase in red koji. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110(6), 670–674. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2010.07.005>
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176–183. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>

Producción de la seta rosada (*Pleurotus djamor*) por Fermentación en Estado Sólido (FES)

Production of the pink mushroom (*Pleurotus djamor*) by Solid State Fermentation (SSF)

Astrid Stefanía Duarte Trujillo¹, Julio Amilcar Pineda Insuasti², Claudia Patricia Soto Arroyave³, Camilo Alejandro Pineda Soto⁴

¹ Organización Micológica Internacional (OMI), Florencia, Colombia.

² Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

³ Universidad Católica de Oriente (UCO), Rionegro, Colombia.

⁴ Escuela Politécnica Nacional (EPN), Quito, Ecuador

Autor para correspondencia: stefan-ing.agroind@hotmail.com

Recibido: octubre 18 de 2018

Aceptado: diciembre 30 de 2018

RESUMEN

Pleurotus djamor es un hongo con múltiples propiedades gastronómicas, medicinales y nutricionales, pero su cultivo no está muy difundido. El objetivo de este trabajo es describir el proceso de producción del hongo, para identificar los avances tecnológicos al respecto. Se encontró que la producción de *P. djamor* por Fermentación en Estado Sólido (FES) es todavía incipiente, ya que la máxima capacidad de bioceldas empleada es 3 kg, siendo imperioso incursionar en técnicas de escalado.

PALABRAS CLAVE: escalado, hongos comestibles, parámetros de operación, proceso.

ABSTRACT

Pleurotus djamor is a mushroom with several culinary, medicinal and nutritional properties, but its cultivation is not widespread. The aim of this paper is to describe the process of production of the mushroom to identify the technological advances in this regard. It was found that *P. djamor* production by Solid State Fermentation (SSF) is still incipient, since the maximum capacity is 3 kg bioceldas employed, being imperious venture into scaling techniques.

KEYWORDS: scaling, edible mushrooms, operating parameters, process.

INTRODUCCIÓN

Existen en la naturaleza aproximadamente 14000 especies de hongos que presentan basidiocarpo, de las cuáles más de 3 000 pueden ser consideradas comestibles y tan sólo 10 producidas a escala industrial (Chang y

Miles, 2004). La producción de hongos comestibles es una actividad que permite la conversión biológica de subproductos agroindustriales en alimentos nutritivos y medicinales (Gutiérrez y Acosta-Urdapilleta, 2012); y constituye una alternativa para responder a la creciente demanda mundial de

alimentos, ya que su producción es fácil, económica y rápida (Pineda, 2013).

La producción anual de hongos comestibles está aumentando a una tasa de aproximadamente un 25% al año debido a la creciente tendencia de los consumidores hacia la alimentación saludable. Para el año 2013 se reportó una producción mundial de 10 millones de toneladas de setas frescas, siendo China el mayor productor con 7 millones de toneladas, seguido de Italia, Estados Unidos, Países Bajos y Polonia. La producción de hongos secos fue de 2,5 millones de toneladas, y la de hongos en conserva fue de 1,3 millones de toneladas, siendo también China el primer productor (FAO, 2013).

Pleurotus spp. es un hongo de pudrición de la madera conocido como seta ostra (Liou, 2000), perteneciente a la familia Pleurotaceae (Cohen, Persky, y Hadar, 2002). Es el segundo hongo más cultivado a nivel mundial, después del champiñón blanco o champiñón de París (*Agaricus bisporus*); su producción mundial es de aproximadamente 1,5 millones de toneladas por año y sigue en aumento debido a las propiedades nutricionales, medicinales y gastronómicas que ha mostrado (Shah, Z. A., Ashraff, M. y Ishtiaq, 2004; Suárez y Nieto, 2016). Las especies más estudiadas del género son *P. ostreatus* y *P. pulmonarius*, sin embargo, según el índice Fungorum ya se han investigado 202 especies (Corrêa, Brugnari, Bracht, Peralta, y Ferreira, 2016).

Pleurotus spp. es capaz de digerir los sustratos debido al complejo enzimático que segrega, por lo que puede tanto detoxificar como pre-digerir residuos agroindustriales, que de otro modo no recibirían uso, favoreciendo al reciclaje de carbono (Salmones, Mata, y Waliszewski, 2005) y al aumento de la biodisponibilidad de los sustratos, los cuáles serían apropiados para alimentación animal (Van Hamme, Singh, y Ward, 2006; Velioglu y Ozturk, 2015). Entre las enzimas producidas por las especies del género *Pleurotus* se

destacan β -glucosidasas, celulasas, xilanasas, Lignin-Peroxidasas (LIP), Manganeso-Peroxidasas (MNP) y lacasas (Lac) (Akpınar y Urek, 2012; Massadeh, Fraija, y Fandib, 2010; Palmieri, Giardina, Bianco, Fontanella, y Sannia, 2000; Reddy, Ravindra Babu, Komaraiah, Roy, y Kothari, 2003). Se estima que se producen en el mundo alrededor de 1×10^{10} TM de residuos lignocelulósicos por año, lo que muestra que el sustrato de para la producción de hongos comestibles está disponible en abundancia (Li, Kim, Jiang, Won, y Nam, 2009).

Pleurotus djamor es una especie pantropical del hongo ostra, apreciada por su brillante color rosado y su sabor único (Hu, Tian, Zhao, Wang, y Ng, 2016). Existe tres variedades de la especie: *var. djamor*, *var. cyathiformis* y *var. roseus*; las cuales se diferencian entre sí por sus características tanto macro como microscópicas (Corner, 1981). Como es un hongo saprófito, puede colonizar y fructificar sobre gran variedad de sustratos vegetales ricos en celulosa y lignina (Benitez, Huerta, y Sánchez, 1998), siendo más eficiente en la degradación de la primera. Gracias a su complejo enzimático, puede soportar altas concentraciones de compuestos químicos de naturaleza persistente, por lo que presenta un gran potencial para la bioremediación de compuestos xenobóticos como los colorantes sintéticos (Kalmış E., 2008). Otros metabolitos producidos por esta especie son α -galactosidasas (Hu *et al.*, 2016), polisacáridos (Zhang *et al.*, 2016), flavonoides como la quercetina, carotenoides (Nattoh, Musieba, Gatebe, y Mathara, 2016), biosurfactantes, lipasas (Van Hamme *et al.*, 2006; Velioglu y Ozturk, 2015), esteroides y ácidos grasos. Estos dos últimos son de gran interés porque han mostrado ser efectivos en la reducción del colesterol (Angarita *et al.*, 2013; Jegadeesha, Raaman, Hariprasath, Ramesh, y Srikumar, 2014). Adicionalmente, ha mostrado actividad antioxidante (Guzmán, Zúñiga, Santafé, Torres, y Angulo, 2009; Sasidhara y Thirunalasundari, 2014), hepatoprotectora (Zhang *et al.*, 2016),

anticancerígena (Raman *et al.*, 2015), antibacteriana (Valencia del Toro, Garín Aguilar, Téllez Jaimes, y Durán Páramo, 2008) e hipocolesterolémica (Jegadeesha *et al.*, 2014), por lo que es recomendable su consumo.

La producción de *P. djamor* es viable tanto económica como ambiental y socialmente, por lo tanto, es una especie promisoría en el mercado internacional de hongos comestibles (Vivero, 2002) para su consumo en restaurantes de hoteles, cocinas gourmet y pizzerías, principalmente (Álvarez & Vega-Ríos, 2010), así como materia prima en la industria farmacéutica.

Bajo este contexto, el objetivo de este trabajo es describir el proceso de producción de *P. djamor* mediante una amplia revisión de la literatura que permita identificar los avances tecnológicos desarrollados al respecto.

SUSTRATOS

Por lo general, las fuentes de carbono oleosas estimulan la producción de metabolitos hidrófobos, mientras las fuentes ricas en hidratos de carbono a partir de residuos inducen la producción de sustancias hidrófilas (Velioglu & Ozturk, 2015). Se han reportado sustratos como paja de cebada (Salmones, Gaitán-Hernández, Pérez, y Guzmán, 1997; Salmones, Valdéz, y Gaitán-Hernández, 2004), paja de arroz (Vega, Mata, Salmones, y Elena., 2006), pulpa de café, paja de trigo (Salmones *et al.*, 2005), cáscara de semilla de girasol, residuos de uva, cáscaras de papa, aceite de semilla de girasol (Velioglu y Ozturk, 2015), rastrojos de maíz, y de calabaza, bagazo de henequén (López-Cobá, Méndez, y Peralta, 2005), bagazo de caña de azúcar, Harina de cebada, harina de trigo, harina de arroz, Bienestarina, harina de maíz, harina de soja, salvado de trigo, harina de trigo integral, harina de maíz pinto, harina de maíz amarillo (Angarita *et al.*, 2013), harina de avena, serrín de madera (Lechner, Wright, y Albertó, 2004),

hojas de banano, cascarilla de café, tamo de cebada (Espinosa y Pazmiño, 2016), papel (Gutiérrez y Acosta-Urdapilleta, 2012), entre otras. Algunos autores suplementan el medio de cultivo con CaCO_3 al 3 % para balancear el pH (Lechner *et al.*, 2004).

PROCESO DE PRODUCCIÓN

Pretratamiento de la materia prima

Algunos sustratos por su gran tamaño tienen que ser reducidos a longitudes de 1-5 cm (Salmones *et al.*, 1997, 2005). Los sustratos con alto contenido de humedad tienen que secarse a 60 °C durante 24 horas hasta alcanzar los valores deseados (Velioglu y Ozturk, 2015), mientras los sustratos con bajo porcentaje de agua tienen que rehidratarse por 12 a 24 horas (López-Cobá *et al.*, 2005; Salmones *et al.*, 2005). Algunos sustratos sólidos son adicionalmente suplementados con sustancias nutritivas como solución de peptona, extracto de levadura y sales minerales (Velioglu y Ozturk, 2015). Todos los sustratos deben esterilizarse a 80-121 °C durante 40-60 minutos y dejarse enfriar (Salmones *et al.*, 1997, 2005). Otros autores recomiendan que la esterilización se dé a 95 °C durante 2 horas (Espinosa y Pazmiño, 2016) o a 120 °C durante 2 horas (Lechner *et al.*, 2004).

Preparación del inóculo

Las cepas se mantienen inicialmente en Agar Papa-Dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) a 25 °C (Kalmış E., 2008) o en Agar Extracto de Malta (MEA, por sus siglas en inglés) a 27°C durante una a dos semanas. También se han empleado medios de cultivo como Agar Saboraud, agar Levadura-Nitrógeno-Fosfato-Dextrosa (YNPD, por sus siglas en inglés) y agar Levadura-Extracto de Malta (YMEA, por sus siglas en inglés) a 30 °C. Luego se toma un taco de agar con micelio y se deposita en una bolsa con sorgo previamente hidratado en agua durante 12 horas y esterilizado a 121 °C por una hora. El material se incuba a 26-28 °C durante 15 días en oscuridad o hasta que el micelio cubra por completo los granos (Benitez

et al., 1998; Hurtado, 2015; Mata y Pérez-Merlo, 2003; Salmones *et al.*, 1997; Salmones y Mata, 2015), aunque otros autores aseveran que la incubación puede tardar hasta tres semanas (Salmones *et al.*, 2005). López y colaboradores (López-Cobá *et al.*, 2005) sugieren que las semillas sean cocidas durante 10 minutos a 80 °C antes de la esterilización. Espinosa y Pazmiño (2016) usan semilla de cebada y aserrín como sustratos alternativos para la preparación de inóculos, demostrando que este último permite obtener una Eficiencia Biológica (EB) más alta. Para el caso de la fermentación líquida, los inóculos son directamente los tacos de agar (Kalmış E., 2008).

Fermentación

Cuando el sustrato pasteurizado se haya enfriado hasta los 28 °C se adiciona 5-6 % de inóculo al sustrato pretratado y se incuba a 28±1°C durante 16 días con una humedad relativa del 71 al 92%. Posteriormente se induce la fructificación mediante estímulos ambientales como cambios bruscos de temperatura, luz y aireación, lo que desencadena la aparición irreversible de primordios, que luego se convertirán en basidiocarpos (Sánchez y Royse, 2001; Vega *et al.*, 2006). Algunas de las condiciones inductoras de fructificación reportadas en la literatura son las siguientes: temperatura ambiente media de 24 a 29 °C, humedad relativa del 84 al 90%, iluminación natural y circulación de 400 m³ de aire por hora durante 36 días. La iluminación diaria debe ser de 11 a 12 horas (Salmones *et al.*, 1997, 2005); aunque Nattoh, Musieba, Gatebe y Mathara (2016) manifiestan que no es necesaria. Benitez y colaboradores (1998) sugieren que, si dos días después de la inoculación las bolsas son perforadas lateralmente para permitir el intercambio de gases, se puede cosechar en tan sólo una semana, con un flujo de aire de 600-900 m³/h. Por otro lado, Velioglu y Ozturk (2015) demuestran que, enriqueciendo los sustratos sólidos con soluciones nutritivas, el

tiempo de incubación se puede reducir a 13 días.

Cosecha

Se realiza sustrayendo las setas desde la base una vez que el cuerpo fructífero tenga un tamaño óptimo para ser cosechado y no haya esporulado, de lo contrario se disminuye la vida útil del producto (Pineda, Duarte, y Ponce, 2016). La clasificación de los capóforos adultos según el tamaño del píleo se hace en 4 categorías: G1, para los menores de 5 cm; G2 de 5,0-9,9 cm; G3 de 10-14,9 cm; y G4 de 15 cm en adelante.

RENDIMIENTO

Para evaluar la viabilidad de una cepa con fines industriales se debe evaluar tanto el tiempo de incubación como el de formación y desarrollo de los primordios, el número de cosechas, el tamaño de los cuerpos fructíferos, la eficiencia biológica y la tasa de producción (Salmones *et al.*, 1997).

En la tabla 1 se pueden observar algunos indicadores de viabilidad, que varían dependiendo de las condiciones de cultivo de la cepa.

La eficiencia biológica (EB) en base húmeda se determina dividiendo el peso fresco de los basidiomas entre el peso seco del sustrato por 100; la tasa de producción (TP) se calcula mediante la relación entre la EB y el Ciclo de Cultivo (CC), contando desde la incubación hasta la cosecha (Mata y Guzmán, 1993); el Rendimiento se determina al dividir el peso de los carpóforos en base seca entre el peso seco del sustrato por 100 (Benitez *et al.*, 1998) y la Tasa de Biodegradación (TB) se determina al restar el peso inicial del sustrato al peso final de este, y dividir entre peso inicial del sustrato, todo en base seca por 100 (López-Cobá *et al.*, 2005).

Tabla 1. Indicadores de viabilidad de cepas de *P. djamor* con diferentes condiciones de cultivo.

Sustrato	Suplemento	T (°C)		H (%)		pH	CC (Días)	EB (%)	TP	R (%)	Ref.
		Inc.	Fruct	Sustr	Relat						
Rastrojo de maíz	---	19-33	24-32	78-79	---	7,5	36	83,9	2,3	---	(López-Cobá <i>et al.</i> , 2005)
Rastrojo de calabaza	---	19-33	24-32	78-79	---	7,5	59	71,3	1,2	---	(López-Cobá <i>et al.</i> , 2005)
Bagazo de Henequén	---	19-33	24-32	78-79	---	7,5	22	76,1	3,5	---	(López-Cobá <i>et al.</i> , 2005)
Pulpa de café	---	26	26	60	90	---	19-24	49-125	3-7	6-11	(Benitez <i>et al.</i> , 1998)
Paja de cebada	---	27-29	---	50-55	75-90	---	14-19	18-72	0,3-1,7	2,7-6,6	(Salmones <i>et al.</i> , 1997)
Pulpa de café	---	27-29	19-29	60-65	78-90	---	36	40-60	---	---	(Salmones <i>et al.</i> , 2005)
Paja de trigo	---	27-29	19-29	60-65	78-90	---	36	30-40	---	---	(Salmones <i>et al.</i> , 2005)
Semillas de girasol	Medio líquido nutritivo y aceite de girasol	29	N/A	70	N/A	6,0	13	N/A	N/A	N/A	(Velioglu y Ozturk, 2015)
Residuos de uva		29	N/A	70	N/A	6,0	13	N/A	N/A	N/A	(Velioglu y Ozturk, 2015)
Cáscaras de papa		29	N/A	70	N/A	6,0	13	N/A	N/A	N/A	(Velioglu y Ozturk, 2015)
Bagazo de caña de azúcar	Harina de cebada y CaCO ₃	26	---	---	---	5,6	15	---	---	---	(Angarita <i>et al.</i> , 2013)
Hojas de plátano	Afrechillo de	27	---	50-80	75	4-5	---	51-70	---	---	(Espinosa y Pazmiño, 2016)
Cascarilla de café	arroz, yeso	27	---	50-80	75	4-5	---	42-68	---	---	(Espinosa y Pazmiño, 2016)
Tamo de cebada		27	---	50-80	75	4-5	---	70-71	---	---	(Espinosa y Pazmiño, 2016)
Paja de cebada	---	28	25-32	---	84-90	---	---	54-114	0,9-1,9	11-27	(Salmones <i>et al.</i> , 2004)

Donde;

T (°C)= Temperatura; H(%)= Humedad; pH= Potencial de Hidrógeno; CC= Ciclo de Cultivo; EB= Eficiencia Biológica; TP=Tasa de Producción; R= Rendimiento; Ref.= Referencia.

Las eficiencias biológicas y tasas de biodegradación son mayores en ambiente controlados, como los laboratorios, que por lo general se encuentran entre 19 a 27 °C, en contraste con las cepas cultivadas en campo abierto (López-Cobá *et al.*, 2005). Se reportan EB del 30 al 40 % sobre paja de trigo y del 40 al 62 % sobre pulpa de café (Salmones *et al.*, 2005); aunque las eficiencias se pueden aumentar hasta un 125 % si se emplean cepas aisladas de zonas ubicadas alrededor de los 1200 msnm (Benitez *et al.*, 1998).

Algunos autores han efectuado cruces entre varias especies del género *Pleurotus* spp., incluyendo *P. djamor*, para reducir los ciclos de producción de los cuerpos fructíferos. Sin embargo, esto ha disminuido la productividad, lo que se atribuye a factores genéticos (Salmones *et al.*, 1997). A causa de esto, se realizaron estudios de compatibilidad inter-variedad, encontrando que *P. djamor* var. *Salmonestramineus* y *P. djamor* var. *roseus* son compatibles y superan la productividad de sus parentales (Salmones *et al.*, 2004).

FACTORES QUE AFECTAN LA PRODUCCIÓN

Los hongos crecen en intervalos específicos de temperatura, humedad, pH, luminosidad, afuera de los cuales no se presenta crecimiento (Hurtado, 2015).

Temperatura

El micelio se desarrolla perfectamente entre 22 y 28 °C, mientras que el cuerpo fructífero lo hace entre 12 y 21 °C (Free Spore España, 2013). Aunque López y colaboradores (2005) emplean un rango más amplio, de 19 a 33 °C para la incubación, y de 24 a 32 °C para la fructificación, lo que coincide con Sánchez y colaboradores (1997). Sin embargo, las temperaturas óptimas pueden variar dependiendo del metabolito a producir; por ejemplo, para producción de β -galactosidasas la temperatura óptima es 53,5 °C (Hu *et al.*, 2016), para la producción de ribonucleasas la temperatura óptima es 60 °C (Wu, Zheng, Cui,

Wang, y Ng, 2010) y para la producción de enzimas ligninolíticas la temperatura óptima es 28 °C (Akpınar y Urek, 2012). La temperatura afecta mucho la tensión superficial y el índice de emulsificación en la producción de biosurfactantes, siendo 29 °C la temperatura que permite la mayor eficiencia (Velioglu y Ozturk, 2015).

Humedad

Para la preparación del inóculo el sustrato debe tener una humedad del 50 al 55%, mientras que para la producción de carpóforos debe estar alrededor del 60-65 % (Mata y Pérez-Merlo, 2003; Salmones *et al.*, 2005), aunque algunos autores optan por un 70 % (Velioglu y Ozturk, 2015). Por otro lado, la humedad relativa debe oscilar entre el 70 a 95% (Gaitán-Hernández, Salmones, Pérez Merlo, y Mata, 2006), siendo preferible del 75 al 85 % (Free Spore España, 2013). Una forma práctica de medir la humedad, cuando no se cuenta con la tecnología necesaria, es mediante la prueba de guante, que consiste en tomar un puñado de sustrato y oprimir fuerte con la mano percatándose de que no escurra agua, de lo contrario es necesario secar un poco (Espinosa y Pazmiño, 2016).

Microelementos

La adición de zinc a los medios de cultivo induce la producción de enzimas con actividad antioxidante (Zhang *et al.*, 2016). La adición de hierro bivalente induce la producción de biosurfactantes, ya que el hierro hace parte de los cofactores de algunas enzimas (Velioglu y Ozturk, 2015) y es un importante activador de la enzima isocitrato liasa, implicada en el crecimiento celular (Hommel y Ratledge, 1993).

pH

El carbonato de calcio debe ser adicionado al inóculo en proporciones del 1 al 10 % como regulador pH, para evitar que la compactación de los granos de cereal (Nattoh *et al.*, 2016). Para la producción óptima de cuerpos fructíferos se reporta un pH óptimo de 7,5

(Burgos, 1995). Las enzimas pueden soportar un rango de pH de 3 a 10, cuyo valor óptimo depende del objetivo del proceso, por ejemplo, para producción de α -galactosidasas el valor óptimo es de 5,0 (Hu *et al.*, 2016), para la producción de biosurfactantes el valor óptimo es 8,0 (Velioglu y Ozturk, 2015) y para la producción de ribonucleasas el valor óptimo es 4,6 (Wu *et al.*, 2010).

Luminosidad

La incubación debe efectuarse en condiciones de oscuridad tanto para la preparación del inóculo como para la producción de carpóforos (Salmones *et al.*, 2005). La iluminación se aplica para inducir la fructificación, empleando diferentes fotoperiodo: 12 horas de luz y 12 h de oscuridad (Salmones *et al.*, 1997), 9 h de luz y 15 h de oscuridad (Lechner *et al.*, 2004), 11 h de luz y 13 h de oscuridad (Salmones *et al.*, 2004).

Bioceldas

Se reportan bolsas de polipropileno de 200 g de capacidad (Salmones *et al.*, 1997), de 500 g (Nattoh *et al.*, 2016), de 1 kg (Vega *et al.*, 2006) y de 3 kg (Espinosa y Pazmiño, 2016); botellas de plástico (Nattoh *et al.*, 2016); erlenmeyers (Angarita *et al.*, 2013); y bioreactores de bandeja (Velioglu y Ozturk, 2015). En la figura

1 se observan basidiocarpos de *P. djamor* cultivados en bioceldas de plástico.



Fig. 1. *P. djamor* en bioceldas de plástico de 3 kg (Raman *et al.*, 2015)

CONCLUSIONES

Pleurotus djamor es un hongo apreciado por sus propiedades gastronómicas, medicinales y nutricionales, así como por su aporte a la seguridad alimentaria, el cuidado del medio ambiente y el desarrollo rural. Este hongo tiene la capacidad de crecer sobre diversidad de sustratos lignocelulósicos, por lo que puede cultivarse sobre diversidad de residuos agroindustriales, resultando económicamente viable. Su producción mediante Fermentación en Estado Sólido (FES) todavía es incipiente, ya que la máxima capacidad de bioceldas empleada es 3 kg, por lo que todavía resta incursionar en técnicas de escalado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akpinar, M., & Urek, R. O. (2012). Comparison of *Pleurotus* species abilities to produce ligninolytic enzymes. En *Abstracts of the 15th European Congress on Biotechnology* (Vol. 29, p. S92). New Biotechnology.
- Álvarez, M. A., & Vega-Ríos, A. (2010). Aceptación y apreciación de hongos comestibles. *RIDTEC*, 9(1), 43–49.
- Angarita, C., Nieto-Ramirez, J. I., Diaz, G. J., Rojas L., J. R., Sepúlveda, L., & Atehortúa, L. (2013). Evaluation of a method using high performance liquid chromatography with ultraviolet detection for the determination of statins in macromycetes of the genus *Pleurotus* cultivated by fermentation processes. *Talanta*, 116, 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.04.053>
- Benitez, F. A., Huerta, G., & Sánchez, J. E. (1998). Producción de 18 cepas de *Pleurotus djamor* del Soconusco, Chiapas. *Quehacer Científico en Chiapas*, 1(2), 25–36.
- Burgos, D. (1995). *Cultivo del hongo comestible Pleurotus djamor en bagazo de henequén fermentado en forma comparativa con Pleurotus ostreatus*. Universidad Autónoma de Yucatán.
- Chang, S.-T., & Miles, P. G. (2004). *Mushrooms: Cultivation, nutritional value, medicinal effect, and*

- environmental impact* (2ª ed.). Florida: CRC Press.
- Cohen, R., Persky, L., & Hadar, Y. (2002). Biotechnological applications and potential of wood-degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58(5), 582–594. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-0930-y>
- Corner, E. J. H. (1981). *The agaric genera Lentinus, Panus, and Pleurotus with particular reference to Malaysian species*. Mishawaka, U.S.A.: J. Cramer.
- Corrêa, R. C. G., 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>
- Espinosa, A. G., & Pazmiño, V. H. (2016). *Elaboración de productos agroindustriales a partir de (Pleurotus ostreatus, djamor), como alternativa al poliestireno expandido*. UDLA.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2013). Statistics. Recuperado 1 de abril de 2016, a partir de <http://faostat3.fao.org/home/E>
- Free Spore España. (2013). *Pleurotus djamor*. Recuperado a partir de <http://freespore.com/pleurotus-djamor.html>
- Gaitán-Hernández, R., Salmones, D., Pérez Merlo, R., & Mata, G. (2006). *Manual práctico del cultivo de setas: aislamiento, siembra y producción* (1era. ed.). Xalapa, Ver., México: Instituto de Ecología, A. C. <https://doi.org/970-709-042-1>
- Gutiérrez, A. P., & Acosta-Urdapilleta, M. de L. (2012). *Cultivo de “Pleurotus djamor var roseus”: Uso de paja de trigo y Papel Como sustratos (Edición en español)*.
- Guzmán, M., Zúñiga, N., Santafé, G. G., Torres, O., & Angulo, A. (2009). Actividad antioxidante y estudio químico del hongo *Pleurotus djamor* recolectado en Córdoba. *Facultad de ciencias agropecuarias*, 7(2), 1–7.
- Hommel, R. K., & Ratledge, C. (1993). Biosynthetic mechanisms of low molecular weight surfactants and their precursor molecules. En N. Kosaric (Ed.), *Biosurfactant: Production, properties and applications* (pp. 3–63). New York: Marcel Dekker Inc.
- Hu, Y., Tian, G., Zhao, L., Wang, H., & Ng, T. B. (2016). A protease-resistant α -galactosidase from *Pleurotus djamor* with broad pH stability and good hydrolytic activity toward raffinose family oligosaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.005>
- Hurtado, M. G. (2015). *Establecimiento de condiciones de cultivo en laboratorio del hongo Pleurotus djamor para la producción de metabolitos con posible aplicación terapéutica*. Universidad Técnica Particular de Loja.
- Jegadeesha, R., Raaman, N., Hariprasath, L., Ramesh, V., & Srikumar, R. (2014). Hypolipidemic Effect of *Pleurotus djamor var . roseus* in Experimentally Induced Hypercholesteromic Rats. *Research Journal of Pharmaceutical , Biological and Chemical Sciences*, 5(2), 581–588.
- Kalmış E., A. N. K. F. (2008). Evaluation of two wild types of *Pleurotus ostreatus* (MCC07 and MCC20) isolated from nature for their ability to decolorize Benazol Black ZN textile dye in comparison to some commercial types of white rot fungi: *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus djamor*, and *P. pulmonarius*. *Canadian Journal of Microbiology*, 54(5), 366–370. <https://doi.org/10.1139/W08-025>
- Lechner, B. E., Wright, J. E., & Albertó, E. (2004). The genus *Pleurotus* in Argentina. *Mycologia*, 96(4), 845–858. <https://doi.org/10.2307/3762117>
- Li, H., Kim, N., Jiang, M., Won, J., & Nam, H. (2009). Bioresource Technology Simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulosic residues pretreated with phosphoric acid – acetone for bioethanol production. *Bioresource Technology*, 100(13), 3245–3251. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.01.021>

- Liou, S.-R. (2000). *Evolutionary genetics of speciation in basidiomycetes: genetic studies of reproductive isolation in Pleurotus djamor calyptratus complex*. Duke University.
- López-Cobá, H. E., Méndez, L. A., & Peralta, S. M. (2005). Cultivo de *Pleurotus djamor* en condiciones de laboratorio y en una casa rural tropical. *Revista Mexicana de Micología*, 21, 1–3.
- Massadeh, M., Fraija, A., & Fandib, K. (2010). Effect of Carbon Sources on The Extracellular Lignocellulolytic Enzymetic System of *Pleurotus Sajor-Caju*. *Jordan journal of Biological Science*, 3(2), 51–54.
- Mata, G., & Guzmán, G. (1993). Cultivation of *Lentinus boryanus* in wood shavings in Mexico. *Crypt Bot*, 4, 47–49.
- Mata, G., & Pérez-Merlo, R. (2003). Spawn viability in edible mushrooms after freezing in liquid nitrogen without a cryoprotectant. *Cryobiology*, 47(1), 14–20. [https://doi.org/10.1016/S0011-2240\(03\)00064-6](https://doi.org/10.1016/S0011-2240(03)00064-6)
- 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)
- Palmieri, G., Giardina, P., Bianco, C., Fontanella, B., & Sannia, G. (2000). Copper Induction of Laccase Isoenzymes in the Ligninolytic Fungus *Pleurotus ostreatus*. *Applied And Environmental Microbiology*, 66(3), 920–924.
- Pineda, J. A. (2013). Producción de proteínas comestibles con fuentes alternativas de materias primas. *Revista Axioma*, 1(10), 5–9.
- Pineda, J. A., Duarte, A. S., & Ponce, C. A. (2016). *Champiñón ostra: Guía de producción artesanal* (1ª ed.). Ibarra: CEBA.
- Raman, J., Reddy, G. R., Lakshmanan, H., Selvaraj, V., Gajendran, B., Nanjian, R., ... Sabaratnam, V. (2015). Mycosynthesis and characterization of silver nanoparticles from *Pleurotus djamor* var. *roseus* and their in vitro cytotoxicity effect on PC3 cells. *Process Biochemistry*, 50(1), 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.11.003>
- Reddy, G. V., Ravindra Babu, P., Komaraiah, P., Roy, K. R. R. M., & Kothari, I. L. (2003). Utilization of banana waste for the production of lignolytic and cellulolytic enzymes by solid substrate fermentation using two *Pleurotus* species (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*). *Process Biochemistry*, 38(10), 1457–1462. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00025-6](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00025-6)
- Salmones, D., Gaitán-Hernández, R., Pérez, R., & Guzmán, G. (1997). Estudios sobre el género *Pleurotus*. VIII. Interacción entre crecimiento micelial y productividad. *Rev Iberoam Micol*, 14(Tabla 1), 173–176.
- Salmones, D., & Mata, G. (2015). Laccase production by *Pleurotus djamor* in agar media and during cultivation on wheat straw. *Revista Mexicana de Micología*, 42, 17–23.
- Salmones, D., Mata, G., & Waliszewski, K. N. (2005). Comparative culturing of *Pleurotus* spp. on coffee pulp and wheat straw: Biomass production and substrate biodegradation. *Bioresource Technology*, 96(5), 537–544. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.019>
- Salmones, D., Valdéz, L. M., & Gaitán-Hernández, R. (2004). Entrecruzamiento y evaluación de la producción de las variedades de *Pleurotus djamor* (Fr.) Boedijn. *Revista Mexicana de Micología*, 18, 21–26.
- Sánchez-Vázquez, J., Huerta-Palacios, G., & Calvo-Bado, L. (1997). El cultivo de hongos comestibles como una alternativa sostenible en los trópicos. En M. Palma & I. Chapela (Eds.), *Micología en el desarrollo sostenible, la ampliación de los conceptos, desapareciendo las fronteras* (pp. 221–237). Parkway.
- Sánchez, J. E., & Royse, D. J. (2001). *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* (1ª ed.). México D.F: Noriega Editores. Recuperado a partir de https://www.researchgate.net/publication/256526787_Book_La_biologia_y_el_cultivo_de_Ple

urotus_spp

- Sasidhara, R., & Thirunalasundari, T. (2014). Phytochemicals and antioxidant potentials of *Pleurotus djamor*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(4), 950–953.
- Shah, Z. A., Ashraff, M. & Ishtiaq, M. (2004). Comparative study on cultivation and yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on the different substrates (wheat straw, leaves, sawdust). *Pak J Nut*, 3(3), 158–160.
- Suárez, C., & Nieto, J. (2016). Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles : una alternativa en la obtención de nutraceuticos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 30(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2012.03.011>
- Valencia del Toro, G., Garín Aguilar, M. E., Téllez Jaimes, M. Á., & Durán Páramo, E. (2008). Actividad antibacteriana de extractos hexánicos de cepas de *Pleurotus djamor*. *Revista mexicana de micología*, 28(SPE.), 119–123.
- Van Hamme, J. D., Singh, A., & Ward, O. P. (2006). Physiological aspects. Part 1 in a series of papers devoted to surfactants in microbiology and biotechnology. *Biotechnology Advances*, 24(6), 604–620. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.08.001>
- Vega, A., Mata, G., Salmones, D., & Elena., C. R. (2006). Cultivo de cepas nativas de *Pleurotus djamor* en Panamá, en paja de arroz y pulpa de café. *Revista Mexicana de Micología*, 23, 93–97.
- Velioglu, Z., & Ozturk, R. (2015). Optimization of cultural conditions for biosurfactant production by *Pleurotus djamor* in solid state fermentation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 120(5), 526–531. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2015.03.007>
- Vivero, T. (2002). El hongo nuestro de cada día. *Desafío. Especial: investigación de alimentos*, 49–51.
- Wu, X., Zheng, S., Cui, L., Wang, H., & Ng, T. B. (2010). Isolation and characterization of a novel ribonuclease from the pink oyster mushroom *Pleurotus djamor*. *The Journal of general and applied microbiology*, 56, 231–239. <https://doi.org/10.2323/jgam.56.231>
- Zhang, J., Liu, M., Yang, Y., Lin, L., Xu, N., Zhao, H., & Jia, L. (2016). Purification, characterization and hepatoprotective activities of mycelia zinc polysaccharides by *Pleurotus djamor*. *Carbohydrate Polymers*, 136, 588–597. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.075>

Obtención de cepas puras de *Trichoderma* spp. con fines industriales

Obtaining pure strains of *Trichoderma* spp. for industrial purposes

Edmundo Napoleón Benavides Sotelo¹, Julio Amilcar Pineda Insuasti², Astrid Stefanía Duarte Trujillo³, Claudia Patricia Soto Arroyave⁴, Camilo Alejandro Pineda Soto⁵

¹ Ministerio de Ambiente del Ecuador (MAE), Quito, Ecuador.

² Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

³ Organización Micológica Internacional (OMI), Florencia, Colombia.

⁴ Universidad Católica de Oriente (UCO), Rionegro, Colombia.

⁵ Escuela Politécnica Nacional (EPN), Quito, Ecuador

Autor para correspondencia: napoleon.bensotelo@gmail.com

Recibido: octubre 15 de 2018

Aceptado: diciembre 20 de 2018

RESUMEN

Trichoderma spp. es un moho cosmopolita generalmente empleado como biocontrolador y/o biofertilizante en cultivos agrícolas, por lo cual es importante su conservación en Centros de Recursos Genéticos (CRG). El objetivo de este trabajo es presentar información básica para la obtención de cepas puras de *Trichoderma* spp. que permita el máximo aprovechamiento a la biodiversidad endógena. Se concluyó que, la obtención de cepas puras con fines industriales consta de cuatro etapas: aislamiento, identificación, caracterización y conservación; donde la primera y la cuarta son Puntos Críticos de Control (PCC), ya que una mala identificación asigna erróneamente propiedades a cepas y una mala conservación pone en juego la integridad fenotípica y genómica del hongo. Estos PCC's influyen en la viabilidad económica de la industria.

PALABRAS CLAVE: CRG, cepas viables, aplicaciones industriales, conservación, identificación.

ABSTRACT

Trichoderma spp. it is a cosmopolitan mold usually used as a biocontroller and / or biofertilizer in agricultural crops, so it is important to conserve it in Genetic Resources Centers (CRG). The objective of this work is to present basic information for obtaining pure strains of *Trichoderma* spp. that allows the maximum use to the endogenous biodiversity. It was concluded that obtaining pure strains for industrial purposes consists of four stages: isolation, identification, characterization and conservation; where the first and the fourth are Critical Control Points (CCP), since a bad identification erroneously assigns properties to strains and a bad conservation brings into play the phenotypic and genomic integrity of the fungus. These CCP's influence the economic viability of the industry.

KEYWORDS: CGR, viable strains, industrial implementation, conservation, identification

INTRODUCCIÓN

Se estima que existen en la naturaleza entre medio millón a casi 10 millones (Hawksworth, 2001). Según el Índice Fungorum se han descrito hasta el momento 529 mil especies (Species Fungorum, 2016), lo que demuestra la amplia biodiversidad fúngica y el vasto potencial biotecnológico para el descubrimiento de nuevos metabolitos.

Trichoderma spp. es un género de hongos deuteromicetos pertenecientes a la clase de los Hifomicetos. Se encuentra comúnmente en el suelo, y puede crecer en todos los pisos térmicos, desde los polos hasta los trópicos. Una característica del género es la capacidad de degradar eficazmente una amplia gama de sustratos naturales (Penttilä, Limón, y Nevalainen, 2004), gracias a su producción de celulasas y hemicelulasas (Druzhinina y Kubicek, 2016), por lo que es muy útil en la biotransformación de residuos vegetales en alimento para animales (Valiño, Elías, Torres, Carrasco, y Albelo, 2004). Según el índice fungorum, se han descrito hasta el momento 296 especies (Species Fungorum, 2016), de las cuales la especie más estudiada es *T. harzianum* (Ghisalberti y Sivasithamparam, 1991).

Trichoderma spp se considera uno de los hongos más útiles en la producción de enzimas industriales, la agricultura y la biorremediación (Rey, Llobell, Monte, Scala, y Lorito, 2004). Las investigaciones recientes demuestran que es simbiote de plantas, oportunista no virulento y micopatógeno (Harman, Howell, Viterbo, Chet, y Lorito, 2004). Varias especies del género constituyen agentes de control biológico contra hongos patógenos de cultivos agrícolas y promotores vegetales, tanto de la absorción de nutrientes como de la respuesta inmune (Bailey *et al.*, 2006; Clavijo y Cotes, 1998; Evans, Holmes, y Thomas, 2003); por ello, se comercializan usualmente como biofertilizantes y bioplaguicidas (Chet, 1987; Harman *et al.*, 2004). Se reporta que más del

60% de los biofungicidas disponibles en el mercado, son elaborados a partir de *Trichoderma* spp. (Verma, Brar, Tyagi, Surampalli, y Valéro, 2007).

En el sector de la salud, *Trichoderma* spp también ha sido de gran importancia que presenta actividad anticancerígena (Saravanakumara *et al.*, 2015) y antitumoral (Li *et al.*, 2011).

Los Centros de Recursos Genéticos (CRG) de hongos son útiles para aislar, identificar y conservar las especies para aplicaciones específicas en el futuro. La comunidad académica y la industria a menudo requieren más que la obtención de cepas, sino también el acceso a información referente a las condiciones de cultivo, conservación y producción de metabolitos de interés. Por lo tanto, los CRG tienen que ajustarse a la demanda (Ryan y Smith, 2004).

Bajo Este contexto, el objetivo de este trabajo es presentar información básica para la obtención de cepas puras de *Trichoderma* spp., mediante una amplia revisión de la literatura, que permita a los CRG ajustarse a los requerimientos de la industria y dar el máximo aprovechamiento a la biodiversidad nativa.

AISLAMIENTO

Recolección

Se ha recolectado a partir de los siguientes sustratos: árbol de *Theobroma* spp. (Bailey *et al.*, 2006); muestra de suelo (You *et al.*, 2016); sedimento marino (Ren *et al.*, 2013); rizosferas de aloe (Zhang *et al.*, 2016), de chile, de mango (Guigón-López *et al.*, 2010), de frijol, de soja (Larralde-Corona *et al.*, 2008); cortezas de mangle (Saravanakumara *et al.*, 2015), de *Taxus baccata* (Adelin *et al.*, 2014); esponjas marinas (Kobayashi, Uehara, Matsunami, Aoki, y Kitagawa, 1993) y mejillones azules (Ruiz *et al.*, 2007).

Para la recolección de las cepas endógenas a partir de plantas que carecen de corteza, tales como las leguminosas, los tejidos sanos (tallos, hojas y raíces) se deben picar en trozos pequeños (3 cm a 5 cm) y enjuagar; posteriormente, se deben esterilizar con hipoclorito de sodio al 1% durante 4 min a 5 min y con tiosulfato de sodio al 2,5% durante 10 min para eliminar el cloro residual; y finalmente se deben enjuagar y pasar por alcohol al 75% durante 1 min. Los tejidos se secan bajo una cámara de flujo laminar, se cortan en trocitos de aproximadamente 0,5 cm y se transfieren a placas de Petri con el medio de cultivo (Wang *et al.*, 2015).

Para la recolección a partir de árboles, se debe retirar un trozo de corteza del tronco a una altura de 1,60 a 1,70 m, y con un objeto corto punzante extraer astillas triangulares de 0,8 cm x 0,5 cm, como indica la figura 1. El material se lleva al laboratorio, donde se escinde con una cuchilla y con pinzas se toman muestras internas, las cuales se depositan en los medios de cultivo (Evans *et al.*, 2003).



Fig. 1. Cortes efectuados en el árbol para la toma de muestras (Evans *et al.*, 2003).

Para recolección de cepas del suelo se suspenden las muestras de rizósfera en solución salina 0,9 % p/v, luego se toman alícuotas para inocular platos de PDA con antibiótico y se hacen repiques hasta obtener la cepa pura en medios selectivos (Larralde-Corona *et al.*, 2008). Otros autores reportan para la suspensión de las muestras de suelo

sólo agua destilada estéril en proporción de 1/1000 (Sánchez López, Martínez Bolaños, Zavala González, y Ramírez Lepe, 2012).

Aislamiento

En la tabla 1 se mencionan los principales medios de cultivo reportados en la literatura para el aislamiento del *Trichoderma* spp.:

Tabla 1. Medios de cultivos reportados para el aislamiento de *Trichoderma* spp.

Medio	Suplemento	Referencia
Agar Peptona Dextrosa	Rosa bengala y estreptomina	(Martin, 1950)
Agar Papa Dextrosa	Penicilina y estreptomina	(Evans <i>et al.</i> , 2003)
Agar Extracto de Malta	Cloranfenicol	(Evans <i>et al.</i> , 2003)
Agar Papa Dextrosa	Cloranfenicol	(Wang <i>et al.</i> , 2015)
Medio selectivo	Cloranfenicol	(Sánchez López <i>et al.</i> , 2012)

Para el empleo de estos medios de cultivo se reportan tiempos de incubación de una semana a 25 °C (Martin, 1950), ocho semanas a 25 °C (Evans *et al.*, 2003) y cuatro días a 28 °C en condiciones de oscuridad (Zhang *et al.*, 2016).

Purificación

Las cepas se purifican en Agar Papa Dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) (Thongram, Sarangthem, Gourshyam, y Bharat, 2013), medio Extracto de levadura-Peptona-Dextrosa (YPD, por sus siglas en inglés) (Larralde-Corona *et al.*, 2008) o Agar Zanahoria Papa a 25 °C en condiciones de oscuridad (CPA, por sus siglas en inglés) (Evans *et al.*, 2003) durante 20 días (Lang *et al.*, 2015) y se hacen repiques cuantas veces sea necesario hasta obtener cepas axénicas.

IDENTIFICACIÓN

Las colonias de hongos pertenecientes al género *Trichoderma* spp. se reconocen fácilmente por su rápido crecimiento y su coloración particular, que varía del blanco-verdoso al amarillo-verdoso. En el área de conidiosporas se observan anillos concéntricos, y por el revés de la colonia puede haber coloración amarilla, ámbar, amarilla verdosa o neutra. En cuanto a características microscópicas, los conidióforos son por lo general hialinos, erectos, ramificados, no verticilados, solitarios o en grupos, con fiálides hialinas en forma de botella. Las conidiosporas están dispuestas en el ápice de las fiálides; su morfología puede variar de subglobosa a oblonga, lisa a espinosa, hialina a verdosa, dependiendo de la especie (Arango, Ordoñez, Castañeda, y Restrepo, 1988; Barnet y Hunter, 1972).

La identificación de especies se puede realizar mediante visualización de patrones de ramificación y morfología tanto de conidios como de conidióforos (Rifai, 1969) mediante observación al microscopio luego de 6 a 7 días de crecimiento en PDA a 25-30 °C (Thongram *et al.*, 2013). Tanto Bissett (1984, 1991) como Barnet y Hunter (1978) establecieron claves taxonómicas para diferenciar las especies del género. Sin embargo, hay pocos caracteres morfológicos útiles, y los existentes son similares entre sí, por lo que la identificación de especies precisa basada en la morfología es difícil (Respinis *et al.*, 2010).

Cada vez más van tomando mayor utilidad las técnicas y herramientas de identificación molecular (Kubicek, Komon-Zelazowska, y Druzhinina, 2008). Para la extracción del ADN se inocula el Caldo de Papa Dextrosa (PDB, por sus siglas en inglés) con tacos de PDA colonizados con micelio aéreo del hongo y se incuba durante 48 h a 24 °C en un agitador orbital, luego se filtra con un embudo Buchner, se lava el micelio con agua estéril y se tritura;

finalmente se procesa según el tipo de técnica molecular escogida (Thongram *et al.*, 2013), tales como, el código de barras de oligonucleótidos (Druzhinina *et al.*, 2005), el análisis en software (MEGA5) versión 5 (Tamura *et al.*, 2011), la toma de huellas dactilares de ADN, los Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción (RFLP, por sus siglas en inglés), la amplificación y secuenciación del Espaciador Transcrito Interno (ITS, por sus siglas en inglés) (Gams y Bissett, 1998; Lieckfeldt, Kuhls, y Muthumeenakshi, 1998).

Actualmente se han secuenciado los siguientes genomas del género: *T. reesei*, *T. virens*, *T. asperellum*, *T. harzianum*, *T. parareesei*, *T. gamsii*, *T. longibrachiatum* y *T. citrinoviride* (Baroncelli, Zapparata, Piaggieschi, Sarrocco, y Vannacci, 2016; Kubicek *et al.*, 2011; Martínez *et al.*, 2008; Mukherjee, Horwitz, Herrera-Estrella, Schmoll, y Kenerley, 2013; Yang *et al.*, 2015). En la figura 2 se observa la variabilidad morfológica del micelio, de acuerdo con el tipo de cepa empleada, aunque tienen en común la esporulación de color verde.

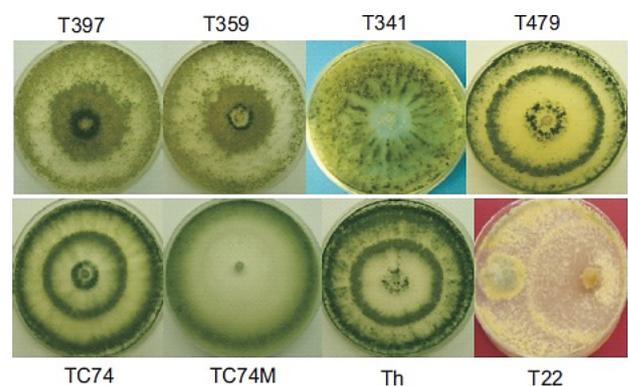


Figura 2. Morfología de diferentes cepas de *Trichoderma* spp. (Guigón-López *et al.*, 2010).

CARACTERIZACIÓN

La caracterización permite conocer las aplicaciones específicas del hongo con base en los metabolitos producidos (Lieckfeldt, Samuels, Nirenberg, y Petrini, 1999).

Tasas de crecimiento

Se toman tacos de PDA con micelio y se inoculan cajas de Petri con PDA, las cuales son incubadas a 25 °C durante el tiempo necesario hasta que el micelio recubra completamente la superficie de la caja.

El crecimiento radial se mide diariamente y la Tasa de Crecimiento radial (TC) se calcula como sigue (Larralde-Corona et al., 2008):

$$TC = \frac{\text{Crecimiento final} - \text{Crecimiento inicial}}{\text{tiempo de incubación}}$$

Producción de metabolitos

La biosíntesis de metabolitos secundarios en los hongos a menudo implica vías bioquímicas únicas e inusuales que, si se varían sutilmente, pueden originar diversidad de sustancias a

partir de sólo unos precursores clave, provenientes del metabolismo primario como los ácidos, acetil-CoA reductasa, mevalonato y aminoácidos (Demain y Fang, 2000; Keller, Turner, y Bennett, 2005).

Dentro de los metabolitos secundarios derivados se destacan: péptidos no ribosomales como los peptaiboles, sideróforos, micotoxinas, policétidos, terpenos, pironas, entre otros. La producción de estas sustancias depende de la especie y de la cepa con que se esté trabajando, y no meramente de las condiciones de cultivo, aunque el uso de inductores puede ser necesario (Zeilinger, Gruber, Bansal, y Mukherjee, 2016).

En la tabla 2 se consignan algunos de los metabolitos producidos por este género.

Tabla 2. Metabolitos producidos por las especies de *Trichoderma spp.*

Tipo	Metabolito	Especie	Referencia	
Enzima	Celobiohidrolasas	<i>T. viride</i>	(Valiño et al., 2004)	
	Betaglucanasa	<i>T. ovalisporum</i>	(Bailey et al., 2006)	
	Celulasa	<i>T. ovalisporum</i>	(Bailey et al., 2006)	
	Poligalacturonasa	<i>T. ovalisporum</i>	(Bailey et al., 2006)	
	Proteasa	<i>T. ovalisporum</i>	(Bailey et al., 2006)	
		<i>T. harzianum</i>	(Suárez et al., 2005)	
		<i>T. reesei</i>	(Grinyer et al., 2007)	
	Xilanasas	<i>T. harzianum</i>	(Tseng, Liu, Yang, Lo, y Peng, 2008)	
		β -1,3-glucanasa	<i>T. harzianum</i>	(Tseng et al., 2008)
		β -1,6-glucanasa	<i>T. harzianum</i>	(Tseng et al., 2008)
		Cetoacil sintasa	<i>T. harzianum</i>	(Yao et al., 2016)
		β -1,4-mananasa	<i>T. virens</i>	(Chai, Abu Bakar, Mahadi, y Murad, 2016)
		Acetil-esterasa	<i>T. reesei</i>	(Kremnický, Mastihuba, y Côté, 2004)
Antraquinona		Crisofanol	<i>T. harzianum</i>	(Liu et al., 2016)
Péptido bioactivo	Peptaibiol	<i>T. isocyanide</i>	(Ren et al., 2013)	
	Tricorvina	<i>T. longibrachiatum</i>	(Ruiz et al., 2007)	
Antibiótico	Poliporinas	<i>T. polysporum</i>	(New et al., 1996)	
	Homothallin II	<i>T. harzianum</i>	(Faull, Graeme-Cook, y Pilkington, 1994)	
Ácido orgánico	A. propiónico	<i>T. hamatum</i>	(Baldwin et al., 1985)	
Policétido	Koningininos	<i>T. koningii</i>	(Lang et al., 2015)	
	Trichoharzin	<i>T. harzianum</i>	(Kobayashi et al., 1993)	

Tipo	Metabolito	Especie	Referencia
Terpeno	Harzian tetracíclico	<i>T. atroviridae</i>	(Adelin <i>et al.</i> , 2014)
	Citrinovirina	<i>T. citrinoviride</i>	(Liang, Miao, Song, Liu, y Ji, 2016)
Sesquiterpeno	Pestalotiopsina	<i>Trichoderma spp.</i>	(Yu <i>et al.</i> , 2015)
Micotoxina	Citocalasina	<i>T. gamsii</i>	(Chen <i>et al.</i> , 2014)
Alcohol	Etanol	<i>T. harzianum</i>	(Ghisalberti y Sivasithamparam, 1991)

Efecto antagónico

El mecanismo de acción de *Trichoderma spp.* como biocontrolador se basa en la hidrólisis de la pared celular del patógeno, gracias a las enzimas hidrolíticas exoquitinasas y β -1-3 glucanasas que produce extracelularmente; lo que resulta mortal, ya que la quitina es el principal componente de la pared celular de los hongos, correspondiendo alrededor del 80% (Clavijo y Cotes, 1998).

Para medir el efecto antagónico de *Trichoderma spp.* se utiliza por lo general, el método de cultivos duales (Larralde-Corona *et al.*, 2008), que consta de la confrontación de las

dos cepas en una caja de Petri con PDA, separadas aproximadamente 5cm, bajo unas condiciones de cultivo de 20-25 °C durante 120 h con un fotoperiodo 12:12 (luz:oscuridad). El porcentaje de Inhibición del Crecimiento (IC) de los patógenos se calcula contrastando su tasa de crecimiento en ausencia y en presencia de *Trichoderma spp.* en el medio de cultivo, siendo considerada como el 100 % la tasa de crecimiento del patógeno en el cultivo axénico (Guigón-López *et al.*, 2010).

En la tabla 3 se listan algunos de los patógenos inhibidos por *Trichoderma spp.*

Tabla 3. Fitopatógenos objetivo del Biocontrolador *Trichoderma spp.*

Fitopatógeno	Biocontrolador	Referencia
<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>T. koningii</i>	(Clavijo & Cotes, 1998)
	<i>T. harzianum</i>	(Tseng <i>et al.</i> , 2008)
<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>T. koningii</i>	(Clavijo & Cotes, 1998)
<i>Pythium splendens</i>	<i>T. koningii</i>	(Clavijo & Cotes, 1998)
<i>Moniliophthora roreri</i>	<i>T. ovalisporum</i> , <i>T. hamatum</i> , <i>T. harzianum</i>	(Bailey <i>et al.</i> , 2006)
	<i>T. ovalisporum</i> , <i>T. hamatum</i> , <i>T. harzianum</i>	(Bailey <i>et al.</i> , 2006; Evans <i>et al.</i> , 2003)
<i>Botrytis cinerea</i>	<i>T. harzianum</i>	(Liu <i>et al.</i> , 2016)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>T. citrinoviride</i>	(Liang <i>et al.</i> , 2016)
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>T. harzianum</i>	(Zhang <i>et al.</i> , 2016)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>T. citrinoviride</i>	(Liang <i>et al.</i> , 2016)
<i>Aspergillus niger</i>	<i>T. harzianum</i>	(Ghisalberti & Sivasithamparam, 1991)
	<i>T. koningii</i>	(Ghisalberti & Sivasithamparam, 1991)

CONSERVACIÓN

Su objetivo es la preservación de la pureza, la viabilidad, la capacidad de esporulación y la integridad genómica de la cepa (Smith y Ryan, 2004). El mantenimiento de la integridad

fenotípica y genómica de la cepa es de suma importancia, y puede verse afectada por malas técnicas de preservación (Ryan y Smith, 2004). Kuhls, Lieckfeldt y Börner (1995) notaron que cepas presumiblemente idénticas de

Trichoderma spp obtenidas de diferentes CRG tenían desviaciones en las huellas dactilares por Reacción en cadena de polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). Un científico con poca experiencia puede inadvertidamente trabajar con una cepa degenerada, producir resultados falsos y sacar conclusiones erróneas (Ryan y Smith, 2004). Fuentes no fiables de recursos genéticos fúngicos pueden provocar resultados desastrosos en términos económicos, ya que la cepa puede no ser estable genéticamente o puede estar mal identificada, ocasionando que seguramente no manifieste los resultados esperados tanto en velocidad de crecimiento, como de tipo y cantidad de metabolitos producidos. La necesidad de asegurar la estabilidad de las cepas para aplicaciones biotecnológicas es de suma importancia (Clutterbuck, 2004). Por tanto, los métodos de preservación empleados deben ser reproducibles y garantizar la integridad fenotípica y genómica de las cepas, o por lo menos minimizar su deterioro (Ryan y Smith, 2004).

Se reportan métodos de almacenamiento en glicerol 35 % v/v a 70 °C bajo cero (Larralde-Corona *et al.*, 2008), Agar Harina de Maíz (CMA, por sus siglas en inglés) a 5 °C (Sánchez López *et al.*, 2012), aceite mineral o agua destilada estéril (Gato, Rodríguez, y Elósegui, 2009), subcultivo continuo (repique o transferencia periódica), congelación y liofilización (Ryan, Smith, y Jeffries, 2000). No obstante, el método más adecuado para conservar esporas es la liofilización, pero no se recomienda para conservar micelio, ya que es difícil la

revitalización de las hifas, aunque se pueden añadir lioprotectores como suero, leche desnatada, inositol, glicerol, trehalosa y peptona al medio de suspensión para reducir los daños (Ryan y Smith, 2004). Se recomienda que si la cepa es para uso industrial se empleen métodos de conservación a largo plazo, como la liofilización y la criopreservación en nitrógeno líquido desde -140 a -196 °C, que preservan la estabilidad genética; aunque, debido a su alto costo, no se pueden implementar en laboratorios con recursos limitados (Gato, 2010; Ryan *et al.*, 2000).

CONCLUSIONES

Para la obtención de cepas puras con fines industriales se pasa por cuatro etapas: aislamiento, identificación, caracterización y conservación. En el aislamiento se debe emplear medios adecuados para garantizar la obtención de cultivos axénicos. En la identificación, los métodos tradicionales de observación colonial y miceliar arrojan resultados ambiguos, por ende, los métodos más fiables son los de biología molecular. La caracterización va muy ligada a la óptima identificación, ya que se pueden otorgar propiedades a una cepa o especie de forma errónea, generando resultados indeseados en sus aplicaciones. Finalmente, la conservación es un Punto Crítico de Control (PCC) porque influye en la integridad fenotípica y genómica de la cepa, poniendo en juego la viabilidad económica de la empresa que le haya adquirido.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adelin, E., Servy, C., Martin, M.-T., Arcile, G., Iorga, B. I., Retailleau, P., ... Ouazzani, J. (2014). Bicyclic and tetracyclic diterpenes from a *Trichoderma* symbiont of *Taxus baccata*. *Phytochemistry*, *97*, 55–61. <http://doi.org/10.1016/j.phytochem.2013.10.016>
- Arango, M., Ordoñez, N., Castañeda, E., & Restrepo, A. (1988). *Manual Hongos contaminantes del laboratorio*. Bogotá: Instituto Nacional de Salud y Corporación para Investigaciones Biológicas.
- Bailey, B., Bae, H., Strem, M., Roberts, D., Thomas, S., Crozier, J., ... Holmes, K. (2006). Fungal and plant gene expression during the colonization of cacao seedlings by endophytic isolates of four

- Trichoderma* species. *Planta*, 224(6), 1449–164. <http://doi.org/10.1007/s00425-006-0314-0>
- Baldwin, J. E., Bansal, H. S., Chondrogianni, J., Field, L. D., Taha, A. A., Thaller, V., ... Taylor, A. (1985). Biosynthesis of 3-(3'-isocyanocyclopent-2-enylidene) propionic acid by (*bon.*) bain. aggr. *Tetrahedron*, 41(10), 1931–1938. [http://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)96556-1](http://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)96556-1)
- Barnet, H. L., & Hunter, B. B. (1972). Illustrated Genera of Imperfect Fungi. *Mycologia*, 64(4), 930–932. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/3757954>
- Barnet, H. L., & Hunter, B. B. (1978). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (5th ed.). New York: MacMillan Pub. Company.
- Baroncelli, R., Zapparata, A., Piaggieschi, G., Sarrocco, S., & Vannacci, G. (2016). Draft Whole-Genome Sequence of *Trichoderma gamsii* T6085, a Promising Biocontrol Agent of Fusarium Head Blight on Wheat. *Genome Announc.*, 4(1), e01747–15. <http://doi.org/10.1128/genomeA.01747-15>
- Bissett, J. (1984). A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section Longibrachiatum sect. nov. *Canadian Journal of Botany*, 62(5), 924–931. <http://doi.org/10.1139/b84-131>
- Bissett, J. (1991). Una revisión del género *Trichoderma*. III. sección Pachybasium. *Canadian Journal of Botany*, 69(11), 2373–2417. <http://doi.org/10.1139/b91-298>
- Chai, S. Y., Abu Bakar, F. D., Mahadi, N. M., & Murad, A. M. A. (2016). A thermotolerant Endo-1,4- β -mannanase from *Trichoderma virens* UKM1: Cloning, recombinant expression and characterization. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 125, 49–57. <http://doi.org/10.1016/j.molcatb.2015.12.011>
- Chen, L., Liu, Y.-T., Song, B., Zhang, H.-W., Ding, G., Liu, X.-Z., ... Zou, Z.-M. (2014). Stereochemical determination of new cytochalasans from the plant endophytic fungus *Trichoderma gamsii*. *Fitoterapia*, 96, 115–122. <http://doi.org/10.1016/j.fitote.2014.04.009>
- Chet, I. (1987). *Trichoderma*: application, mode of action and potential as a biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi. In I. Chet (Ed.), *Innovative approaches to plant disease control* (pp. 137–160). New York: Wiley. <http://doi.org/10.1086/416163>
- Clavijo, A., & Cotes, A. M. (1998). Evaluación de la actividad quitinasa en procesos de control biológico de rhizoctonia solani y *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en tomate, mediante fitoinvigorización de semillas en presencia de *Trichoderma koningii*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 1(2), 58–66. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4808934>
- Clutterbuck, A. J. (2004). Stability and Instability of fungal genomes. In D. K. Arora (Ed.), *Handbook of Fungal Biotechnology* (2nd ed., pp. 69–80). New York: Marcel Dekker, Inc. Retrieved from http://fmedicine.ajums.ac.ir/_fmedicine/documents/Handbook_of_fungal_biotechnology_20130416_093503.pdf
- Demain, A. L., & Fang, A. (2000). The Natural Functions of Secondary Metabolites. In A. Fiechter (Ed.), *History of Modern Biotechnology I* (1st ed., pp. 1–39). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. http://doi.org/10.1007/3-540-44964-7_1
- Druzhinina, I., Kopchinskiy, A., Komoń, M., Bissett, J., Szakacs, G., & Kubicek, C. (2005). An oligonucleotide barcode for species identification in *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Fungal Genet Biol*, 42(10), 813–828. <http://doi.org/10.1016/j.fgb.2005.06.007>
- Druzhinina, I. S., & Kubicek, C. P. (2016). Chapter Two – Familiar Stranger: Ecological Genomics of the Model Saprotroph and Industrial Enzyme Producer *Trichoderma reesei* Breaks the Stereotypes. *Advances in Applied Microbiology*, 95, 69–147. <http://doi.org/10.1016/bs.aams.2016.02.001>
- Evans, H. C., Holmes, K. A., & Thomas, S. E. (2003). Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cocoa diseases. *Mycological Progress*, 2(2), 149–160.
- Faull, J. L., Graeme-Cook, K. A., & Pilkington, B. L. (1994). Production of an isonitrile antibiotic by an UV-induced mutant of *Trichoderma harzianum*. *Phytochemistry*, 36(5), 1273–1276. [http://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)89649-1](http://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)89649-1)

- Gams, W., & Bissett, J. (1998). Morphology and Identification of *Trichoderma*. In G. Harman & C. Kubicek (Eds.), *Trichoderma & Gliocladium, Enzymes, biological control and commercial applications* (2nd ed., pp. 1–34). London: Taylor & Francis.
- Gato, Y. (2010). Métodos de conservación y formulación de *Trichoderma harzianum* Rifai. *Revista Fitosanidad*, 14(3), 189–195.
- Gato, Y., Rodríguez, D., & Elósegui, O. (2009). *Trichoderma harzianum* Rifai cepa A-34: Métodos de conservación y evaluación de sus formulados. Universidad de La Habana.
- Ghisalberti, E. L., & Sivasithamparam, K. (1991). Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. *Soil Biology and Biochemistry*, 23(11), 1011–1020. [http://doi.org/10.1016/0038-0717\(91\)90036-J](http://doi.org/10.1016/0038-0717(91)90036-J)
- Grinyer, J., Kautto, L., Traini, M., Saucés, R. D., Junior, T., Bergquist, P., & Nevalainen, H. (2007). Proteome mapping of the *Trichoderma reesei* 20S proteasome. *Current Genetics*, 51(2), 79–88. <http://doi.org/10.1007/s00294-006-0108-8>
- Guigón-López, C., Guerrero-Prieto, V., Vargas-Albores, F., Carvajal-Millán, E., Ávila-Quezada, G. D., Bravo-Luna, L., ... Lorito, M. (2010). Identificación Molecular de Cepas Nativas de *Trichoderma* spp. su Tasa de Crecimiento in vitro y Antagonismo contra Hongos Fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28(2), 87–96. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092010000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Harman, G., Howell, C., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat Rev Microbiol*, 2(1), 43–56. <http://doi.org/10.1038/nrmicro797>
- Hawksworth, D. L. (2001). The magnitude of fungal diversity: the 1· 5 million species estimate revisited. *Mycological Research*, 105(12), 1422–1432. <http://doi.org/10.1017/S0953756201004725>
- Keller, N. P., Turner, G., & Bennett, J. W. (2005). Fungal secondary metabolism [mdash] from biochemistry to genomics. *Nat Rev Micro*, 3(12), 937–947. <http://doi.org/10.1038/nrmicro1286>
- Kobayashi, M., Uehara, H., Matsunami, K., Aoki, S., & Kitagawa, I. (1993). Trichoharzin, a new polyketide produced by the imperfect fungus *Trichoderma harzianum* separated from the marine sponge *Micale cecilia*. *Tetrahedron Letters*, 34(49), 7925–7928. [http://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)61513-7](http://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)61513-7)
- Kremnický, L., Mastihuba, V., & Côté, G. L. (2004). *Trichoderma reesei* acetyl esterase catalyzes transesterification in water. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 30(5), 229–239. <http://doi.org/10.1016/j.molcatb.2004.05.007>
- Kubicek, C., Komon-Zelazowska, M., & Druzhinina, I. (2008). Fungal genus *Hypocrea* / *Trichoderma*: from barcodes to biodiversity. *J Zhejiang Univ Sci B*, 9(10), 753–763. <http://doi.org/10.1631/jzus.B0860015>
- Kubicek, C. P., Herrera-Estrella, A., Seidl-Seiboth, V., Martinez, D. A., Druzhinina, I. S., Thon, M., ... Grigoriev, I. V. (2011). Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. *Genome Biology*, 12(4), 1–15. <http://doi.org/10.1186/gb-2011-12-4-r40>
- Kuhls, K., Lieckfeldt, E., & Börner, T. (1995). PCR-fingerprinting used for comparison of ex type strains of *Trichoderma* species deposited in different culture collections. *Microbiol Res.*, 150(4), 363–371. [http://doi.org/10.1016/S0944-5013\(11\)80017-0](http://doi.org/10.1016/S0944-5013(11)80017-0)
- Lang, B.-Y., Li, J., Zhou, X.-X., Chen, Y.-H., Yang, Y.-H., Li, X.-N., ... Zhao, P.-J. (2015). *Koninginins L and M, two polyketides from Trichoderma koningii 8662*. *Phytochemistry Letters* (Vol. 11).
- Larralde-Corona, C. P., Santiago-Mena, M. R., Sifuentes-Rincón, A. M., Rodríguez-Luna, I. C., Rodríguez-Pérez, M. A., Shirai, K., & Narváez-Zapata, J. A. (2008). Biocontrol potential and polyphasic characterization of novel native *Trichoderma* strains against *Macrophomina phaseolina* isolated from sorghum and common bean. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80, 167–177. <http://doi.org/10.1007/s00253-008-1532-0>

- Li, G.-H., Yang, Z.-S., Zhao, P.-J., Zheng, X., Luo, S.-L., Sun, R., ... Zhang, K.-Q. (2011). *Three new acorane sesquiterpenes from Trichoderma sp. YMF1.02647. Phytochemistry Letters* (Vol. 4).
- Liang, X.-R., Miao, F.-P., Song, Y.-P., Liu, X.-H., & Ji, N.-Y. (2016). Citrinovirin with a new norditerpene skeleton from the marine algicolous fungus *Trichoderma citrinoviride*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. <http://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.08.093>
- Lieckfeldt, E., Kuhls, K., & Muthumeenakshi, S. (1998). *Molecular taxonomy of Trichoderma and Gliocladium and their teleomorphs*. London: Taylor and Francis.
- Lieckfeldt, E., Samuels, G., Nirenberg, H., & Petrini, O. (1999). A morphological and molecular perspective of *Trichoderma viride*: is it one or two species? *Appl Environ Microbiol*, 65(6), 2418–228. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10347022>
- Liu, S.-Y., Liao, C.-K., Lo, C.-T., Yang, H.-H., Lin, K.-C., & Peng, K.-C. (2016). Chrysophanol is involved in the biofertilization and biocontrol activities of *Trichoderma*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 96, 1–7. <http://doi.org/10.1016/j.pmpp.2016.06.003>
- Martin, J. P. (1950). Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci*, 69(3), 215–232. <http://doi.org/10.1097/00010694-195003000-00006>
- Martinez, D., Berka, R. M., Henrissat, B., Saloheimo, M., Arvas, M., Baker, S. E., ... Westerholm-Parvinen, A. (2008). Genome sequencing and analysis of the biomass-degrading fungus *Trichoderma reesei* (syn. *Hypocrea jecorina*). *Nat Biotechnol*, 26, 553 – 560. <http://doi.org/10.1038/nbt1403>
- Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Herrera-Estrella, A., Schmoll, M., & Kenerley, C. M. (2013). *Trichoderma* Research in the Genome Era. *Annual Review of Phytopathology*, 51(1), 105–129. <http://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102353>
- New, A. P., Eckers, C., Haskins, N. J., Neville, W. A., Elson, S., Hueso-Rodríguez, J. A., & Rivera-Sagredo, A. (1996). Structures of polysporins A-D, four new peptaibols isolated from *Trichoderma polysporum*. *Tetrahedron Letters*, 37(17), 3039–3042. [http://doi.org/10.1016/0040-4039\(96\)00463-7](http://doi.org/10.1016/0040-4039(96)00463-7)
- Penttila, M., Limón, C., & Nevalainen, H. (2004). Molecular Biology of *Trichoderma* and Biotechnological Applications. In D. K. Arora (Ed.), *Mycology, Handbook of Fungal Biotechnology* (2nd ed., pp. 412–426). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Ren, J., Yang, Y., Liu, D., Chen, W., Proksch, P., Shao, B., & Lin, W. (2013). Sequential determination of new peptaibols asperelines G-Z12 produced by marine-derived fungus *Trichoderma asperellum* using ultrahigh pressure liquid chromatography combined with electrospray-ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* (Vol. 1309).
- Respinis, S. De, Vogel, G., Benagli, C., Tonolla, M., Petrini, O., & Samuels, G. J. (2010). MALDI-TOF MS of *Trichoderma*: a model system for the identification of microfungi. *Mycological Progress*, 9(1), 79–100. <http://doi.org/10.1007/s11557-009-0621-5>
- Rey, M., Llobell, A., Monte, E., Scala, F., & Lorito, M. (2004). 9 – Genomics of *Trichoderma*. In *Applied Mycology and Biotechnology* (Vol. 4, pp. 225–248). [http://doi.org/10.1016/S1874-5334\(04\)80012-1](http://doi.org/10.1016/S1874-5334(04)80012-1)
- Rifai, M. (1969). A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers*, 116(1), 1–56.
- Ruiz, N., Wielgosz-Collin, G., Poirier, L., Grovel, O., Petit, K. E., Mohamed-Benkada, M., ... Pouchus, Y. F. (2007). New Trichobrachins, 11-residue peptaibols from a marine strain of *Trichoderma longibrachiatum*. *Peptides*, 28(7), 1351–1358. <http://doi.org/10.1016/j.peptides.2007.05.012>
- Ryan, M. J., & Smith, D. (2004). Fungal genetic resource centres and the genomic challenge. *Mycological Research*, 108(12), 1351–1362. <http://doi.org/10.1017/S0953756204001650>
- Ryan, M. J., Smith, D., & Jeffries, P. (2000). A decision-based key to determine the most appropriate protocol for the preservation of fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 16(2), 183–186. <http://doi.org/10.1023/A:1008910006419>
- Sánchez López, V., Martínez Bolaños, L., Zavala González, E. A., & Ramírez Lepe, M. (2012). Nuevos registros de *Trichoderma crassum* para México y su variación morfológica en diferentes

- ecosistemas. *Revista Mexicana de Micología*, 36, 17–26. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802012000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=pt
- Saravanakumara, K., Raju, V., Boopathy, N. S., Li, Y., Kandasamy, K., & Chen, J. (2015). Anticancer potential of bioactive 16-methylheptadecanoic acid methyl ester derived from marine *Trichoderma*. *Journal of Applied Biomedicine*, 13(3), 199–212. <http://doi.org/10.1016/j.jab.2015.04.001>
- Smith, D., & Ryan, M. J. (2004). Current status of fungal collections and their role in biotechnology. In D. K. Arora (Ed.), *Handbook of Fungal Biotechnology* (2nd ed., pp. 527–538). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Species Fungorum. (2016). Index Fungorum. Retrieved September 4, 2016, from <http://www.speciesfungorum.org/>
- Suárez, M. B., Sanza, L., Chamorro, M. I., Rey, M., González, F. J., Llobell, A., & Monte, E. (2005). Proteomic analysis of secreted proteins from *Trichoderma harzianum*: Identification of a fungal cell wall-induced aspartic protease. *Fungal Genetics and Biology*, 42(11), 924–934. <http://doi.org/10.1016/j.fgb.2005.08.002>
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., & Kumar, S. (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol*, 28(10), 2731–2739. <http://doi.org/10.1093/molbev/msr121>
- Thongram, K., Sarangthem, I. D., Gourshyam, T., & Bharat, G. S. (2013). Genetic diversity and species pattern of *Trichoderma* and *Hypocrea* in Manipur using in silico analysis. *Bioinformatics*, 9(2), 106–111. <http://doi.org/10.6026 / 97320630009106>
- Tseng, S.-C., Liu, S.-Y., Yang, H.-H., Lo, C.-T., & Peng, K.-C. (2008). Proteomic Study of Biocontrol Mechanisms of *Trichoderma harzianum* ETS 323 in Response to *Rhizoctonia solani*. *J. Agric. Food Chem.*, 56(16), 6914–6922. <http://doi.org/10.1021/jf703626j>
- Valiño, E. C., Elías, A., Torres, V., Carrasco, T., & Albelo, N. (2004). Mejoramiento de la composición del bagazo de caña de azúcar por la cepa *Trichoderma viride* M5-2 en un biorreactor de Fermentación en Estado Sólido. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 38(2), 145–153. https://www.researchgate.net/profile/Verena_Torres/publication/237028159_Mejoramiento_de_la_composicin_del_bagazo_de_caa_de_azcar_por_la_cepa_Trichoderma_viride_M5-2_en_un_biorreactor_de_fermentacin_en_estado_slido/links/54e5d1fe0cf2cd2e028b33c2.pdf
- Verma, M., Brar, S. K., Tyagi, R. D., Surampalli, R. Y., & Valéro, J. R. (2007). Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*, 37, 1–20. <http://doi.org/10.1016 / j.bej.2007.05.012>
- Wada, S., Iida, A., Asami, K., & Fujita, T. (1996). Ion channel-forming property of trichorovin-XII, an 11-residue peptaibol from the fungus *Trichoderma viride*, in planar lipid bilayer membranes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 6(19), 2275–2278. [http://doi.org/10.1016/0960-894X\(96\)00410-6](http://doi.org/10.1016/0960-894X(96)00410-6)
- Wang, Y., Gao, B. L., Li, X. X., Zhang, Z. Bin, Yan, R. M., Yang, H. L., & Zhu, D. (2015). Phylogenetic diversity of culturable endophytic fungi in Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon* Griff), detection of polyketide synthase gene and their antagonistic activity analysis. *Fungal Biology*, 119(11), 1032–1045. <http://doi.org/10.1016/j.funbio.2015.07.009>
- Yang, D., Pomraning, K., Kopchinskiy, A., Aghchek, R. K., Atanasova, L., Chenthamara, K., ... Druzhinina, I. S. (2015). Genome Sequence and Annotation of *Trichoderma parareesei*, the Ancestor of the Cellulase Producer *Trichoderma reesei*. *Genome Announc.*, 3(4), e00885–15. <http://doi.org/10.1128/genomeA.00885-15>
- Yao, L., Tan, C., Song, J., Yang, Q., Yu, L., & Li, X. (2016). Isolation and expression of two polyketide synthase genes from *Trichoderma harzianum* 88 during mycoparasitism. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(2), 468–479. <http://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.01.004>
- You, J., Zhang, J., Wu, M., Yang, L., Chen, W., & Li, G. (2016). Multiple criteria-based screening of

- Trichoderma* isolates for biological control of *Botrytis cinerea* on tomato. *Biological Control*, 101, 31–38. <http://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.06.006>
- Yu, H., Li, W.-X., Wang, J.-C., Yang, Q., Wang, H.-J., Zhang, C.-C., ... Zhu, H.-J. (2015). Pestalotiopsis C, stereochemistry of a new caryophyllene from a fungus of *Trichoderma* sp. and its tautomerization characteristics in solution. *Tetrahedron*, 71(21), 3491–3494. <http://doi.org/10.1016/j.tet.2015.03.063>
- Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., & Mukherjee, P. K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma* – Chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews*, 30(2), 74–90. <http://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.05.001>
- Zhang, F., Ge, H., Zhang, F., Guo, N., Wang, Y., Chen, L., ... Li, C. (2016). Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* isolate T-aloe against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. *Plant Physiology and Biochemistry*, 100, 64–74. <http://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.12.017>

Influencia de la densidad y el título en el pickup de una venda con extracto de cebolla

Influence of density and title on pickup of a bandage with onion extract

Carlos Alfonso Santillán de la Torre¹, Julio Amilcar Pineda Insuasti²

¹ Universidad Técnica del Norte (UTN), Ibarra, Ecuador.

² Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

Autor para correspondencia: carlossadelato@hotmail.com

Recibido: octubre 21 de 2018

Aceptado: noviembre 15 de 2018

RESUMEN

Las vendas textiles se emplean usualmente en terapias de compresión, y son de especial interés las dosificadoras porque permiten al principio activo llegar rápido a la sangre con bajo riesgo de infección. Se realizó la formulación del apresto de extracto de cebolla con aditivos (fórmula magistral) y se estudió el tipo de tela de algodón que permitiera el mayor pick-up, siendo la franela la tela con mejores resultados.

PALABRAS CLAVE: acabado textil, análisis de procesos, vendas terapéuticas, pick up.

ABSTRACT

Textile bandages are usually used in compression therapies, and dosing machines are of special interest because they allow the active ingredient to reach the blood quickly with a low risk of infection. The formulation of the onion extract preparation with additives was made (master formula) and the type of cotton fabric that allowed the largest pick-up was studied. The flannel is the fabric with the better results.

KEYWORDS: textile finishing, process analysis, therapeutic bandages, pick up.

INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional abarca el uso ancestral de remedios a base de hierbas y suplementos dietéticos, intervenciones cuerpo-mente y acupuntura, entre otros. Es una parte importante de los sistemas de salud en todo el mundo pues según la Organización Mundial de la Salud (OMS) (AJose, 2007) el 80% de la población mundial depende de las plantas medicinales para sus necesidades de atención primaria de salud. También recibe los nombres de medicina alternativa debido a que en algunos casos sustituye a la medicina convencional (Isidoro, Huang, & Sheen, 2016).

Los médicos tradicionales recetan una combinación de hierbas llamadas *fórmulas*, las cuáles contienen múltiples compuestos y rutas metabólicas que sinérgicamente actúan para sanar una enfermedad (Wang, Zhang, Sun, Han, & Yan, 2016).

Aunque estas prácticas médicas se conocen desde la antigüedad, su uso ha aumentado últimamente debido principalmente al fracaso de la medicina convencional en el tratamiento de ciertas enfermedades (Isidoro et al., 2016). No es que se esté negando los aportes de la medicina convencional al diagnóstico y tratamiento de dichas enfermedades, sino que

se está reconociendo que los medicamentos sintéticos presentan reacciones tóxicas y efectos secundarios que no se pueden pasar por alto, por lo tanto, los medicamentos naturales presentan una alternativa más inocua y asequible para personas con bajos ingresos. En la ciencia moderna, en muchos casos se ha comprobado y certificado el saber popular a través de la farmacognosia, la fitoquímica y la biología molecular (Alonso, 2007).

La mayoría de los medicamentos convencionales se administran vía oral o intravenosa; el primer caso se ve limitado por la velocidad de absorción intestinal que varía dependiendo de la cantidad y tipos de alimentos consumidos, hora de ingesta, proximidad temporal con la defecación, etc.; mientras el segundo, aparte de ser doloroso presenta riesgos de infección por una inadecuada asepsia. Por lo tanto, la aplicación cutánea, es decir, directamente sobre la piel, es una opción más segura y sencilla (Zaffaroni, 1974). Sin embargo, los principios activos se encuentran convencionalmente contenidos en pomadas, cremas, polvos y linimentos, siendo muy difícil controlar la dosificación del principio activo, además es incómodo su uso porque se mancha y en caso de ser aplicado en un lugar visible da mala apariencia (Zaffaroni, 1973).

Las vendas terapéuticas dosificadoras de fármacos facilitan la aplicación de los principios activos al inmovilizarlos y dosificarlos, permitiendo su acción prolongada en la piel. Constan de depósito textil con el fármaco confinado en microcápsulas, superficie adhesiva y película de protectora (Zaffaroni, 1974; 1971).

El objetivo de este experimento es determinar la influencia de la densidad y el título en el pickup de la venda, utilizando el apresto formulado con extracto de cebolla.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo experimental se realizó en el laboratorio de Biotecnología del Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA) y los laboratorios de microbiología y textil de la Universidad Técnica del Norte, localizados en la ciudad de Ibarra - Ecuador (Ecuador), a una altitud de 2225 msnm y unas condiciones ambientales promedio de 18 °C de temperatura, $1,013 \times 10^5$ Pa de presión y 80 % de humedad relativa.

Material vegetal

Se empleó extracto de cebollas moradas (*Allium cepa* L.) con o sin cobertura externa, provenientes del mercado de la ciudad de Ibarra. El extracto se obtuvo por maceración dinámica operando con un tamaño de partícula de 13 Mesh ($1,59 \times 10^{-3}$ m), etanol 50% como solvente, relación droga:solvente 1:10, frecuencia de agitación de 15 rpm y tiempo de maceración de 72 h.

Equipo

Se empleó una balanza digital marca ACCULAB VIC-212, QUALITY modelo QVP-500, un microscopio trinocular (figura 29) marca LABOMED LX 400, 5 clases de telas (lienzo 1 y 2, crudo, franela, chalis) de algodón 100%, una regla de madera (figura 30), una lupa para contar hilos (figura 31), un shaker artesanal y un foulard (figura 33) artesanal diseñado por el CEBA.

Formulación del baño

El baño para la inmersión de las vendas presentó la siguiente composición: extracto de cebolla 87,9 % rico en sustancias bioactivas, vaselina líquida 2,0 % como vehículo de incorporación del fármaco, glicerina 5,0 % como emulsionante y suavizante, carboximetilcelulosa (CMC) 2,0 % como estabilizante y anti-deformante de la tela, fragancia de eucalipto 3,0 % y metil 0,1 % como preservante (Farmacopéia Brasileira., 1997).

Tejido textil

En vista de la importancia que están tomando las llamadas fibras ecológicas procedentes del reciclado de textiles o materiales celulósicos, se seleccionó el algodón como fibra de estudio (COTEC, 2014), que además de ser la de mayor uso para la elaboración de vendas, presenta naturaleza hidrófila, lo que favorece la absorción del baño (Capablanca-Francés, 2008).



Figura 1. Vista microscópica de fibra de algodón al 400x

Caracterización del tejido

Se tomaron muestras de tela de algodón con dimensiones de 5 cm x 5 cm, y determinaron las siguientes propiedades: densidad de urdimbre (U) y de trama (T), gramaje (G) de la muestra y título. Se realizaron 10 réplicas por cada tratamiento y los resultados obtenidos fueron promediados.

La densidad de urdimbre (DU) y de trama (DT) se midieron con el método de la ASM internacional (ASTM D3775-12, 2012) y la Norma Técnica Peruana NTP 231.031 (INACAL, Instituto Nacional de Calidad, 1970).

El peso por área de tejidos o gramaje (G) fue medido con el método de la ASM internacional (ASTM D3776 / D3776M-09a, 2013) y la Norma Técnica Peruana NTP 231.003 (INACAL, Instituto Nacional de Calidad, 1967); donde GCA es el gramaje con apresto y GSA es el

gramaje sin apresto; la diferencia entre los dos corresponde al apresto absorbido (AD).

La finura de los hilos fue medida por el método gravimétrico (figura 40) mediante el sistema de titulación indirecto con el Número Inglés del Algodón (*Nec*, por sus siglas en inglés) usualmente conocido como *Ne* (Lavado, 2012a). Siendo el título calculado por la ecuación 1 (Lavado, 2012b), el gramaje de la muestra en la balanza analítica y la densidad de urdimbre y trama con ayuda de la lupa cuentahilos. La designación de *Ne* indica cuántas madejas de 840 yardas (768,096 m) se necesitan en una libra (453.592 g).

$$Ne = 0.59 \frac{\text{Longitud en metros}}{\text{Peso en gramos}} \quad (1)$$

La tela seca fue pesada en la balanza técnica (figura 41), luego se introdujo en los rodillos del foulard artesanal, el cual había sido previamente cargado con el baño de inmersión, guardando una relación de baño de 1:10 g/ml. Posteriormente se pesó la tela con el apresto absorbido y se calculó el pickup, de acuerdo con la ecuación 2 (Lavado, 2012c).

$$Pickup(\%) = \frac{Ph - Ps}{Ps} * 100 \quad (2)$$

Donde *Ps* es el peso seco del textil y *Ph* es el peso húmedo del textil luego del foulardado.

Diseño experimental y tratamiento estadístico

Se realizó un diseño experimental de un solo factor categórico, en un bloque, con cinco niveles de estudio y 10 réplicas para cada uno, para un total de 50 tratamientos, con 45 grados de libertad (g. l.) para el error y un orden completamente aleatorizado, lo que aportará protección contra el efecto de variables ocultas. Se empleó el software estadístico STATGRAPHIS®, Centurion XV, versión 15.2.05. Se utilizó como unidad experimental una muestra de tela 100 % algodón con dimensiones de 5 cm x 5 cm (25

cm²). El pick up se seleccionó como variables respuesta. El factor de estudio seleccionado fue el tipo de tela. Como parámetros de operación se estableció el tipo de tela (tejido plano de algodón), la densidad de urdimbre y trama, la densidad de tejido o gramaje, el título de los hilos, la relación de baño 1:10 y la composición del apresto. Las condiciones ambientales y la presión de los cilindros del foulard se consideraron como factores de ruido.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Usando la lupa de contar hilos se encontró que las muestras de tela corresponden a tejidos planos tipo tafetán, es decir que la trama pasa alternativamente por encima y por debajo de cada hilo o conjunto de hilos en que se divide la urdimbre, formando un enrejado sencillo. Las características promedio de las telas

seleccionadas para el estudio se listan en la tabla 1 y las propiedades promedio se listan en la tabla 2. Se observa que el Chalis tiene el Ne mayor con 33 y el de menor Ne es el lienzo 1 con 9. Esta tabla 3, se presenta los diferentes estadísticos muestrales del Pickup en cada uno de los 5 niveles (Tipo de tela), lo que permite estimar o inferir las características de la población

Tabla 1. Características promedio de las telas

Muestra Nro.	Urdimbre	Trama
Lienzo1	0,0620	0,0620
Lienzo 2	0,0318	0,0326
Franela	0,0311	0,0696
Chalis	0,0178	0,0176
Crudo	0,0330	0,0320

Tabla 2. Propiedades promedio de las telas

Tipo	GSA (g/cm ²)	GCA (g)	AD (g)	DU (#hilos/cm ²)	DT (#hilos/cm ²)	Ne U	Ne T
Crudo	0,305	1,097	0,79	20	16	18	18
Lienzo 1	0,596	1,856	1,26	20	16	9	9
Lienzo 2	0,282	1,00	0,72	11	9	18	18
Franela	0,411	2,36	1,95	20	14	19	8
Chalis	0,277	0,97	0,70	29	25	33	33

Tabla 3. Resumen estadístico para Pickup

Tipo	Recuento	Media aritmética	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación	Mínimo	Máximo	Rango
Chalis	10	71,517	1,14547	1,60168%	69,47	73,43	3,96
Crudo	10	72,121	0,320744	0,44473%	71,47	72,61	1,14
Franela	10	82,559	0,450048	0,545123%	81,86	82,98	1,12
Lienzo 2	10	71,881	0,899129	1,25086%	70,71	73,53	2,82
Lienzo1	10	67,864	0,686751	1,01195%	66,45	68,66	2,21

En la tabla 4, se listan dos medidas de dispersión para cada corrida experimental, las cuales permiten identificar la forma en que se separan o aglomeran los valores con respecto a la media. Los resultados obtenidos para el crudo y la franela son los más precisos, ya que presentan una desviación estándar baja para el pick up entre réplicas, en contraste con la desviación entre los valores correspondientes a los lienzos y al chalis, que es casi 2 y 3 veces mayor, respectivamente. El lienzo 2 presenta una distribución sesgada a la derecha, es decir, con asimetría positiva, mientras que el resto de los datos están sesgados a la izquierda, es decir, con asimetría negativa. Por otro lado, la distribución de los datos para las telas crudo, lienzo 1 y chalis es leptocúrtica, donde el crudo presenta la mayor concentración de los datos en torno a la media y el chalis la menor. Para las telas lienzo 2 y franela, la distribución de los datos es platicúrtica, donde la franela presenta la menor concentración de los datos en torno a la media.

Tabla 4. Medidas de dispersión

Tipo	Sesgo	Curtosis Estandarizada
Chalis	-0,190566	0,113632
Crudo	-0,848343	0,527837
Franela	-0,855556	-0,761815
Lienzo 2	0,361669	-0,267051
Lienzo1	-1,00121	0,345244
Total	3,13133	-0,0992473

En la tabla 5, se presenta el Análisis De Varianzas (ANOVA, por sus siglas en inglés) simple o de un criterio de clasificación, que descompone la varianza de Pick up en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La intención principal es comparar las medias de los diferentes niveles, listadas en la tabla 12. Se establece como hipótesis nula que las medias de la variable de respuesta entre grupos son iguales, y como hipótesis alternativa el caso contrario. Con 95 % de confiabilidad, podemos indicar que existe una diferencia significativa

entre las muestras estudiadas, debido a que el valor P es menor que 0,005.

La razón-F es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos; para este caso es igual a 525,435 y señala que la variación de las medias de la velocidad de activación entre los grupos es grande, en contraste con la variación de dichas medias dentro de los grupos.

El valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, por lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa, es decir que, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de Pick up de un nivel de tipo de tela y otro, con un nivel del 95% de confianza. Según esto, los distintos niveles del factor producen efectos diferentes en la variable de respuesta.

Tabla 5. Analisis de varianza

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón -F	Valor-P
Entre grupos	1218,00	4	304,499	525,4	0,000
Intra grupos	26,07	45	0,579518		
Total (Corr.)	1244,07	49			

La tabla 6, resume la Prueba de Rangos Múltiples por el método de Diferencia Mínima Significativa (LSD) de Fisher, que permite determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, con un nivel de confianza del 95%. De la tabla se deduce que la franela es la mejor, con una media de Pickup de 82,55.

La parte inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los siete pares indica con un nivel del 95,0% de confianza, que existen diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Todos los pares que contienen a la franela son los que presentan la mayor diferencia entre sus elementos, por lo que se corrobora que la franela es la que presenta la mayor influencia

sobre el nivel de pick up. Los únicos pares que no presentan diferencia estadísticamente significativa son: chalis-crudo, chalis- lienzo 2 y crudo-lienzo 2, lo que indica que el empleo de cualquiera de estas tres telas genera un efecto similar en el pick up, contrario a lo que ocurre con el resto de pares. El crudo es una tela tejida pero no blanqueada, contrario al chalis y al lienzo 2, por lo que se puede deducir que el blanqueo de los tejidos no afecta el pick up del apresto.

En la parte superior de la salida se identifican tres grupos homogéneos según la alineación de las "X's" en columnas. Se observa que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el chalis, el crudo y el lienzo 2, apoyando las afirmaciones del párrafo anterior.

Tabla 6. Analisis de varianza

Tipo	Caso	Medi a (%)	Grupos Homogéneos
Lienzo1	10	67,86	X
Chalis	10	71,52	X
Lienzo 2	10	71,88	X
Crudo	10	72,12	X
Franela	10	82,55	X

El gráfico de medias muestra que evidentemente, el tratamiento con franela es el que permite el mayor pick up del apresto terapéutico, y que además su efecto en esta variable de respuesta es alto en contraste con los otros tratamientos.

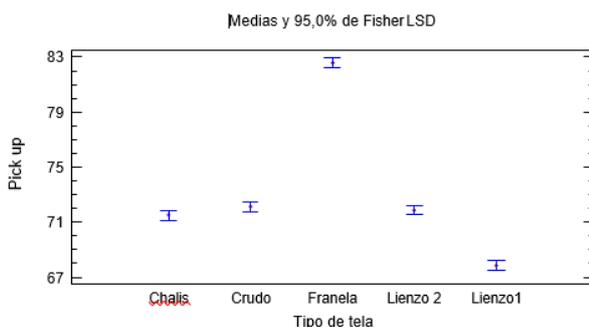


Figura 1. Gráfico de medias por tratamiento.

Los tratamientos 31 y 33, que corresponden a la franela, son los que presentan el mayor Pickup con 82,98%, mientras que el tratamiento 15, que corresponde a lienzo 1, es el de menor pickup con 66,45 %. El rango de pickup recomendado para los tejidos 100% algodón, es por lo general del 60-70 % (Hernández-Mendoza & Hernández-Hernández, 2016), pero puede llegar hasta el 93-100% cuando el principio activo se encuentra microencapsulado con o sin resina de adhesión (Abdel-Mohsen et al., 2012; Capablanca-Francés, 2008). Bolaños-Mediavilla (2017), alcanzaron un pickup del 80 % empleando una tela de camisa 100% CO con tejido tafetán y un baño compuesto por solución de agua, nava TTC, óxido de zinc y ácido fórmico.

En la tabla 10, se observa que varios valores se salen del rango de pickup recomendado, lo que puede deberse al contenido de CMC en el apresto. La carboximetilación otorga a las fibras de algodón propiedades como una mayor absorción de agua, suavidad y no adhesividad, que las hace aptas para el cubrimiento de heridas e inflamaciones. La mayor absorción de agua permite la retención de las sustancias bioactivas de la cebolla, mientras que la suavidad y la no adhesión disminuye el dolor al momento de retirar la venda. Además, al contacto con la piel, estas fibras carboximetiladas forman una capa de gel fibroso, lo que proporciona un entorno húmedo que acelera el proceso de cicatrización natural (Qin, 2016).

El lienzo 1, que tiene el mayor gramaje presenta el menor pickup; por su parte, la franela, que tiene el segundo mayor gramaje presenta el mayor pickup; y el resto de telas que tienen gramajes inferiores presentan un pickup intermedio. Esta no linealidad coincide con valores encontrados en la literatura para tejidos 100% CO: Pique, gramaje 215 g/m² y pickup 71%; Jersey, gramaje 115 g/m² y pickup 75%; Interlock, gramaje 210 g/m² y pickup 65% (Hernández-Mendoza & Hernández-

Hernández, 2016); jean, gramaje 407-430 g/m² y pickup 80%; tela de camisa, gramaje 117-123 g/m² y pickup 80% (Bolaños-Mediavilla, 2017); crudo, gramaje 220 g/m² y pickup 80 % (Ibrahim, Refaie, & Ahmed, 2010); Jacquard, gramaje 210 g/m² y pickup 93-95% (Capablanca-Francés, 2008). Podrían deducirse dos cosas: que el gramaje no influye en el pick up de apresto o que la influencia está representada por una función parabólica cóncava. Sin embargo, para afirmar esto es necesario hacer otros estudios.

Del mismo modo ocurre con el número de hilo Ne, ya que el lienzo 1 tiene el Ne y pick up más bajos; pero la franela por el contrario pese a presentar el mayor pick up tiene el mismo Ne que el lienzo 2 y el crudo, que presentan pick ups inferiores. Por otro lado, el chalis pese a tener el mayor Ne presenta un pick up semejante al lienzo 2 y al crudo. Aquí también se ve una no linealidad de los datos, concordando con Hernández-Mendoza y Hernández-Hernández (2016), quienes encontraron que el pique con Ne=24 presenta un pick up del 71 %, el jersey con un Ne=40 presenta un pick up del 75% y el interlock con Ne=36 presenta un pick up=65%.

En cuanto a la relación de engarce (U/T) se encuentra que corresponde a 1,25 para crudo; 1,35 para lienzo 1; 1,26 para lienzo 2; 1,53 para franela y 1,16 para chalis. No se observa linealidad con respecto a la eficiencia de extracción, de ser así, la franela tendría que tener la mayor U/T y el lienzo 1 la menor. Esto concuerda con Bolaños-Mediavilla (2017), quien obtuvo un mismo pick up del 80% tanto para la tela jean como para la tela de camisa, que presentaron U/T's diferentes, de 1,34 y 1,04 respectivamente. Se evaluó el pick up de

apresto por las telas, pero no su uniformidad, habiéndose comprobado en estudios anteriores que puede haber varias permeabilidades específicas en un mismo textil, dependiendo de la U/T (Rieber, Jiang, Deter, Chen, & Mitschang, 2013), ya que está relacionada con la tupidez, y cuando ésta es alta, se dificulta la difusión del apresto en la tela (Mañosa, 2008).

La composición del baño también podría afectar el pick up ya que la afinidad química del apresto con la tela condiciona la retención del baño y la viscosidad del mismo condiciona su ingreso y difusión en el tejido. En este trabajo se obtienen pick up's entre el 66-83% con un apresto compuesto por fragancia de eucalipto, glicerina, CMC, extracto de cebolla y vaselina líquida; Capablanca-Francés (2008) logró pick up's entre el 93-95% con un apresto de microcápsulas y resina acrílica; Hernández-Mendoza y Hernández-Hernández (2016) consiguieron pick up's entre el 65-75% con un apresto compuesto por Ceranina (suavizante), silicona, lubricante de resina, catalizador y ácido acético; Bolaños-Mediavilla (2017) obtuvo un pickup del 80% usando un apresto compuesto por solución de agua, nuva TTC, óxido de zinc y ácido fórmico; Ibrahim y colaboradores (2010) alcanzaron pick up's del 80% con un apresto de resina, agente humectante no iónico, ácidos orgánicos, Polietilenglicol (PEG), sales de sodio y/o magnesio; Abdel-Mohsen y colaboradores (2012) por su parte lograron pick up's del 95-100% con un apresto de ácido cítrico, hipofosfito sódico y nanopartículas de quitosano.

CONCLUSIÓN

La franela es la mejor tela para desarrollar la venda terapéutica, con un Pickup promedio del 82,559 %. Las características de la franela empleada en este estudio son: tejido tafetán,

gramaje promedio = 164,40 g/m², densidad de urdimbre promedio = 8 hilos/cm², densidad de trama promedio = 5 hilos/cm², Ne promedio = 18. Por otro lado, el lienzo 1 es la tela que

presenta el menor pick up promedio del 67,86%. En cuanto al lienzo 2, el

crudo y el chalis, no existe diferencia significativa en cuanto a su influencia sobre el pickup de sustancias bioactivas de cebolla.

REFERENCIAS

- Abdel-Mohsen, A. M., Abdel-Rahman, R. M., Hrdina, R., Imramovsk??, A., Burgert, L., & Aly, A. S. (2012). Antibacterial cotton fabrics treated with core-shell nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(5), 1245–1253. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.03.018>
- Ajose, F. O. (2007). Some Nigerian plants of dermatologic importance. *International Journal of Dermatology*, 46(1), 48–55. <https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2007.03466.x>
- Alonso, J. (2007). *Tratado de fitofármacos y nutracéuticos*. (E. O. Mestre, Ed.) (1st ed.). Rosario - Argentina: Corpus Editorial. Retrieved from <http://site.ebrary.com/lib/utnortesp/reader.action?docID=11087865&ppg=8>
- Bolaños-Mediavilla, S. A. (2017). Aplicación De Un Acabado Textil Con Nuva TTC Para Determinar El Grado De Repelencia Al Agua Y Grado De Protección De Rayos UV Con Óxido De Zinc En Tela 100% Algodón Para Ropa De Trabajo A La Intemperie. Universidad Técnica del Norte.
- Capablanca-Francés, L. (2008). Evaluación de la Adhesión y Permanencia de Microcápsulas sobre Tejidos de Algodón. Universitat Politècnica de València.
- 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=Ink&exprSearch=247021&indexSearch=ID>
- COTEC. (2014). 31 Textiles técnicos. Documento COTEC sobre oportunidades tecnológicas (1st ed.). Madrid: Gráficas Arias Montano, S. A.
- Hernández-Mendoza, M. A., & Hernández-Hernández, G. (2016). Análisis, Diagnóstico y Mejora de Procesos de Acabado Textil Usando El Foulard. Universidad Nacional de Ingeniería.
- Ibrahim, N. a., Refaie, R., & Ahmed, a. F. (2010). Novel Approach for Attaining Cotton Fabric with Multi-Functional Properties. *Journal of Industrial Textiles*, 40(1), 65–83. <https://doi.org/10.1177/1528083709349892>
- INACAL. Instituto Nacional de Calidad. NTP 231.003 Método de Ensayo para la Determinación del Peso por Metro Cuadrado. Método de la Muestra Pequeña (revisada el 2011) (1967).
- INACAL. Instituto Nacional de Calidad. NTP 231.031 TEJIDOS. Métodos de Ensayo para Determinar el Número de Hilos (revisada el 2011) (1970).
- Isidoro, C., Huang, C.-C., & Sheen, L.-Y. (2016). Publishing scientifically sound papers in Traditional and Complementary Medicine. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 6(1), 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2015.12.005>

- Lavado, F. E. L. (2012a). III. La industria textil y su control de calidad: Hilandería (2nd ed.). Retrieved from <https://archive.org/details/III.LITYSCDC>
- Lavado, F. E. L. (2012b). IV. La industria textil y su control de calidad: Tejeduría (2nd ed.). Retrieved from <https://archive.org/details/III.LITYSCDC>
- Lavado, F. E. L. (2012c). VI. La industria textil y su control de calidad: Ennoblecimiento textil (2nd ed.). Retrieved from <https://archive.org/details/III.LITYSCDC>
- Mañosa, F. (2008). Relación Entre Las Densidades De Urdimbre Y Trama Y Su Influencia En El Aspecto Superficial De Los Tejidos Con Ligamentos De Relieve. *Boletín Intexter (U.P.C)*, 7.
- Qin, Y. (2016). *Medical Textile Materials*. Medical Textile Materials. Cambridge: The Textile Institute - Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100618-4.05001-9>
- Rieber, G., Jiang, J., Deter, C., Chen, N., & Mitschang, P. (2013). Influence of textile parameters on the in-plane Permeability. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 52, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2013.05.009>
- Wang, X., Zhang, A., Sun, H., Han, Y., & Yan, G. (2016). Discovery and development of innovative drug from traditional medicine by integrated chinmedomics strategies in the post-genomic era. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 76, 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.11.010>
- Zaffaroni, A. (1971). US3598123 A. Estados Unidos, Estados Unidos. Retrieved from <https://www.google.com/patents/US3598123>
- Zaffaroni, A. (1973). US3731683 A. Estados Unidos. Retrieved from <https://www.google.com/patents/US3731683>
- Zaffaroni, A. (1974). US3797494 A. Estados Unidos. Retrieved from <https://www.google.com/patents/US3797494>

Beta-Glucanos de *Pleurotus* y sus efectos en la salud

Beta-Glucans from *Pleurotus* and its effects on health

Astrid Stefanía Duarte Trujillo¹, Julio Pineda Insuasti², Magdiel García Juárez³

¹ Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

² Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia.

³ Productora de Champiñones Carbonero-Jacales, Huayacocotla, México.

Autor para correspondencia: astrid.duarte@unillanos.edu.co

Recibido: octubre 15 de 2018

Aceptado: noviembre 25 de 2018

RESUMEN

Pleurotus es un género de hongos comestibles, que además de presentar propiedades nutricionales y gastronómicas tiene compuestos bioactivos que le otorgan un carácter medicinal. Se han reportado betaglucanos bioactivos con actividad biológica, los cuales se relacionan en este trabajo. Se encontró que la versátil estructura y actividad biológica de los betaglucanos hace todavía difícil su escalamiento a nivel industrial.

PALABRAS CLAVES: actividad biológica, inmunomodulación, nutraceutico.

ABSTRACT

Pleurotus is a genus of edible fungi, which in addition to presenting nutritional and gastronomic properties has bioactive compounds that give it a medicinal nature. Bioactive betaglucans with biological activity have been reported, which are related in this work. It was found that the versatile structure and biological activity of betaglucans still makes it difficult to scale at an industrial level.

KEYWORDS: biological activity, immunomodulation, nutraceutical.

INTRODUCCIÓN

La producción de setas comestibles está aumentando continuamente a una tasa que gira en torno al 25% por año debido al cambio cultural de los consumidores hacia hábitos de vida saludables. Para 2013 se reportó a nivel mundial una producción de alrededor de 10 millones de toneladas de setas frescas, siendo China el mayor productor con aproximadamente 7 millones de toneladas (Baggio et al., 2012).

El hongo comestible más cultivado en el mundo es el champiñón blanco (*Agaricus*

bisporus) con aproximadamente el 64% de la producción, seguido de la seta ostra (*Pleurotus* spp.) y el shiitake (*Lentinula edodes*). Se reporta una producción mundial de 1,5 millones de toneladas de setas ostra al año y sigue en aumento debido a la gran fuente de nutrientes y compuestos activos de alta eficiencia biológica que representan su micelio y basidioma (AMRC, 2014; Shah, Z. A., Ashraff, M. & Ishtiaq, 2004; Suárez & Nieto, 2016) En *Pleurotus* spp. se ha reportado actividad biológica inmunomoduladora, hipocolesterolémica, hipoglucémica, antiinflamatoria, prebiótica, analgésica, antioxidante, anticancerígena, antiviral,

antibacterial, reguladora de la presión sanguínea, entre otras que se deben a sus componentes activos.

La tasa de mortalidad mundial para el 2014 fue de aproximadamente 7,89 muertes/1.000 habitantes (CIA, 2014), lo que representa según cálculos de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2012) alrededor de 56 millones de personas. Un 23% de las muertes se ocasionaron por enfermedades transmisibles, principalmente por virus y bacterias, que según estadísticas tuvieron más impacto en países subdesarrollados y en vía de desarrollo; situación que se ve agravada por el auge de las enfermedades tropicales Zika y Chikungunya. Debido al gran impacto de éstas enfermedades sobre la humanidad es importante considerar el betaglucano del género *Pleurotus* como un inmunomodulador potencial en la industria farmacéutica para combatir dichas enfermedades, que no han sido tratadas efectivamente porque tras un mal uso a largo plazo de los medicamentos convencionales se ha creado resistencia microbiana por mutación genética (Gao, Zhou, Wang, & Xu, 2003; Mazodier & Davies, 1991).

El género *Pleurotus* es un Basidiomycota del orden de los Agaricales definido por Paul Kummer en 1871 (Knop, Yarden, y Hadar, 2015). Según el índice Fungorum ya se han investigado 202 especies (Corrêa, Brugnari, Bracht, Peralta, & Ferreira, 2016). Son apreciadas por su riqueza nutricional y su agradable sabor, de ahí sus usos en la gastronomía. Tienen proteínas de alta calidad, hidratos de carbono, vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina, calciferol), minerales (calcio, fósforo, hierro) y antioxidantes (compuestos fenólicos, tocoferol y ácido ascórbico), así como bajo porcentaje de grasa (Bonatti, Karnopp, Soares, & Furlan, 2004; Khatun, Islam, Cakilcioglu, Guler, & Chatterjee, 2015).

En el presente artículo se recopilan las principales investigaciones referentes a los

beta-glucanos de *Pleurotus* y sus efectos en la salud.

ESTRUCTURA

Los β -glucanos son polisacáridos no celulósicos constituidos por unidades de glucosa, presentes en cereales como la cebada y la avena, levaduras, hongos, algunas bacterias y algas marinas (Elizaquível et al., 2011; A. A. Khan et al., 2016; Reyes Suárez et al., 2008; Wood, 2007; Zhu, Du, Bian, & Xu, 2015). Al no ser degradables por enzimas humanas constituyen un tipo de fibra dietética (Zeković, Kwiatkowski, Vrvic, Jakovljević, & Moran, 2005). El β -glucano fúngico más popular es el lentinan, un anticancerígeno y antibiótico aislado de *Lentinula edodes* (Shiitake); mientras en el género *Pleurotus* se destaca el pleurán (β -1,3 glucano), a pesar de que el primero en reportarse fue el HA por Yoshioka, Tabeta, Saitô, Uehara y Fukuoka (1985) (Bohn & BeMiller, 1995). Por su parte, Carbonero y colaboradores (2012) extrajeron, purificaron y determinaron la estructura química del β -(1,3) glucano de *Pleurotus sajor-caju*, encontrando que su estructura es común en los basidiomicetes, pero con un grado de sustitución que varía con el hongo; para éste caso se encuentra sustituido en O-6 al lado de los extremos no reductores.

Zeković y colaboradores (2005) afirman que los betaglucanos fúngicos se conforman de una cadena principal de residuos de glucosa unidos por enlaces glucosídicos β -(1,3) con puntos de ramificación β - (1 \rightarrow 6), tal y como se describe en la figura 1. Pero Chen, Xu, Lin y Cheung (2014) encontraron que en *P. tuber-regium* los betaglucanos se encuentran formados por enlaces glucosídicos β -(1,4) en la columna vertebral y β - (1,6) en las cadenas laterales, pero pueden contener enlaces β -(1,3) tanto en las cadenas primarias como en las secundarias.

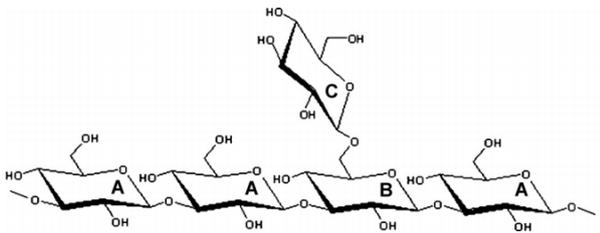


Fig. 1. Estructura química del (1,3)- β -glucano con ramificaciones (1,6) (Baggio et al., 2012).

Junto con la quitina, los betaglucanos constituyen los principales componentes de la pared celular de las células fúngicas (aproximadamente el 50% corresponde a β -glucanos) actuando como polisacáridos estructurales, aunque también pueden ser excretados al medio. Están unidos entre sí por enlaces de Nitrógeno en la capa intermedia de la pared celular y a veces forman complejos con la quitina en la capa interna. Poseen un alto nivel de eficiencia biológica, es decir, que tienen la habilidad de inducir la activación de los leucocitos para promover la respuesta del sistema inmunitario, e incrementar el número de linfocitos que protejan el organismo contra reacciones alérgicas. Además, participan en el metabolismo de grasas del cuerpo humano, conllevando a la disminución del colesterol total; y presentan actividad inmunomoduladora, anticancerígena, antimicrobiana (antibiótica, antiviral), hipocolesterolémica, hipoglucémica, antiinflamatoria y analgésica (Rop, Mlcek, & Jurikova, 2009; Suárez & Nieto, 2016).

Sus mecanismos de acción son poco conocidos, sin embargo algunos autores han demostrado que los β -glucanos pueden unirse a los receptores de glóbulos blancos e inducir respuesta inmune; su afinidad depende de su estructura en parámetros de fórmula química, composición, solubilidad y peso molecular (El Enshasy & Hatti-Kaul, 2013). Su estructura macromolecular depende tanto de la fuente como del método de aislamiento, el cual afecta la distribución y la longitud de las cadenas laterales. Todavía se desconoce qué estructura es causante de qué bioactividad, lo que sí se

sabe es que parámetros como la estructura primaria, la solubilidad, el grado de ramificación, la carga de sus polímeros y el peso molecular afectan la actividad biológica. Está comprobado que betaglucanos con grado de ramificación entre 0,20 a 0,33; peso molecular de 100 a 200 kDa; cadenas laterales sulfatadas y carboximetiladas; mayor solubilidad en agua, que es inversamente proporcional al grado de ramificación de las cadenas (menor a 100) y una estructura de triple hélice con grupos hidrófilos en la parte exterior son más activas (Zeković et al., 2005).

La insolubilidad en agua ya no es tan preocupante, pues se ha reportado su reversión cuando los betaglucanos de *Pleurotus* son sometidos a sulfatación porque adquieren una carga negativa que les permite interactuar con los hidronios del agua. Además, aumentan su longitud de cadena, grado de sustitución y radio de giro, lo que maximiza la superficie de interacción con cargas positivas (Zhang, Cheung, Ooi, & Zhang, 2004). Estudios de otra variedad de betaglucanos sugieren que la solubilidad también puede aumentar con sulfonilación, fosforilación o carboximetilación (Demleitner, Kraus, & Franz, 1992; Ohno, Suzuki, & Yadomae, 1986; Williams et al., 1991).

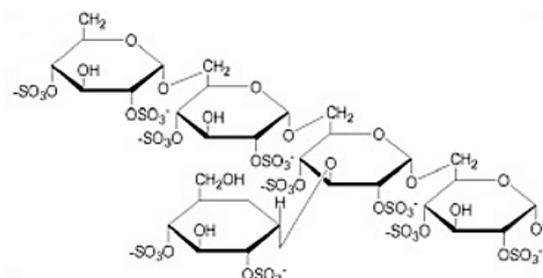


Fig. 1 Betaglucano sulfatado (Zhu, Du, & Xu, 2016).

CONTENIDO EN SETAS

El contenido de β -glucanos puede estar influenciado por muchos factores, como las especies, las condiciones de cultivo de hongos, el grado de madurez del cuerpo fructífero, el

contenido total de fibra dietética, entre otros (Zhu et al., 2015).

Manzi, Aguzzi y Pizzoferrato (2001) midieron el contenido de β -glucanos en *P. ostreatus*, encontrando que varía de 139 mg/100 g de hongo cuando está crudo a 218 mg/100 g de hongo cuando es sometido a cocción, aproximadamente el 3% y 4% de la Fibra Dietética Total (FDT) respectivamente. El aumento en la concentración de β -glucanos en el hongo se debería a la pérdida de agua que sufre la seta ostra durante dicho proceso térmico. Más tarde, estos mismos investigadores midieron el contenido de β -glucanos en *P. eryngii*, encontrando que corresponde a 414 mg/ 100 g de hongos cuando está fresco a 517 mg/ 100 g cuando es cocinado, aproximadamente el 9% y 8% de la Fibra Dietética Total (FDT), respectivamente. Una mayor cantidad de fibra implica un mayor

contenido de betaglucanos. (Manzi et al., 2004).

ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Los betaglucanos de *Pleurotus* spp presentan una amplia actividad biológica como se observa en la tabla 1, lo que hace visible su potencial en la industria farmacéutica como agentes terapéuticos. Sin embargo, sus variaciones estructurales (que afectan notablemente su actividad biológica) son impedimentos para su uso a nivel industrial, ya que como se mencionó anteriormente, se desconoce qué estructura es causante de qué bioactividad. Rice y colaboradores (2004) describieron la farmacocinética de tres betaglucanos altamente purificados y caracterizados tras administración intravenosa, encontrando que ésta varía de acuerdo con sus características fisicoquímicas.

Tabla 3. Estudios sobre la actividad biológica de beta-glucanos aislados de *Pleurotus* spp.

Actividad	Especie fúngica	Referencias
Analgésica	<i>P. pulmonarius</i>	Baggio et al. (2010, 2012); Smiderle et al. (2008)
Antialérgico	<i>P. ostreatus</i>	M. Jesenak, Hrubisko, Majtan, Rennerova, & Banovcin (2014)
Antibacteriana	<i>P. ostreatus</i> , <i>P. australis</i> , <i>P. florida</i>	Bergendiova, Tibenska y Majtan (2011); Kamilya, Ghosh, Bandyopadhyay, Mal & Maiti, (2006); Ren et al. (2014); Sen et al. (2013)
Anticancerígeno	<i>P. sajor-caju</i> , <i>P. ostreatus</i>	Carbonero et al. (2012); Lavi, Friesem, Geresh, Hadar, & Schwartz (2006)
Antiinflamatoria	<i>P. sajor-caju</i> , <i>P. pulmonarius</i> , <i>P. ostreatus</i>	Nosál'ová, Bobek, Cerná, Galbavý, & Stvrtina (2000); Silveira et al. (2014); Smiderle et al. (2008)
Antioxidante	<i>P. australis</i>	Bobek & Galbavy (2011); Ren et al. (2014)
Antitumoral	<i>P. tuber-regium</i>	Tao, Zhang, & Cheung (2006); Tao, Zhang, & Zhang (2009); Zhang, Cheung, Chiu, Wong, & Ooi, (2006). Zhang et al. (2004)
Antiviral	<i>P. tuber-regium</i>	Zhang et al. (2004)
Hipocolesterolemica y lipolítica	<i>Pleurotus</i> spp, <i>P. sajor-caju</i>	Bobek, Ozdín, & Mikus (1995); Kanagasabapathy, Chua, Malek, Vikineswary, & Kuppusamy (2014); Rop et al. (2009)

Actividad	Especie fúngica	Referencias
Inmunomoduladora	<i>P. nebrodensis</i> , <i>P. sajor-caju</i> , <i>P. ostreatus</i> , <i>P. florida</i>	Cui, Wang, Wang, Li, & Zhang, (2015); Jesenak et al. (2013); Kamilya et al. (2006); Rop et al. (2009); Rout, Mondal, Chakraborty, & Islam (2008); Silveira et al. (2014)
Prebiótico	<i>P. eryngii</i> , <i>P. ostreatus</i>	Li & Shah (2015); Synytsya et al. (2009)

CONTROVERSIAS

Estudios apresurados en 1998 afirmaron que el consumo de betaglucanos con fármacos no esteroides anti-inflamatorios podía causar la muerte, sin embargo, años más tarde se refutaron éstos resultados, demostrando que su combinación sólo disminuye un poco la actividad fagocítica del roedor sin llegar a ser letal (Takahashi, Ohno, Adachi, & Yadomae, 2001; Vetvicka & Vetvickova, 2009; S. Yoshioka, Ohno, Miura, Adachi, & Yadomae, 1998). También se afirma que la administración de betaglucanos particulados por vía intravenosa puede causar la formación de granulomas y hepatoesplenomegalia (di Luzio, Williams, McNamee, Edwards, & Kitahama, 1979); resultados que todavía no han sido contradichos.

Pese a tanta controversia, existen actualmente tres betaglucanos fúngicos clasificados por la U.S. Food and Drug Administration (FDA, 2008, 2010, 2012) como GRASS (Generally Recognized As Safe), calificación dada cuando la sustancia no presenta contraindicaciones ni efectos secundarios conocidos tras su uso. Estos betaglucanos provienen de *Saccharomyces cerevisiae*, *Ganoderma lucidum* y *Aureobasidium pullulans* (Pululán).

CUANTIFICACION

La gran diversidad de beta -glucanos hace que su cuantificación sea todavía muy difícil de estandarizar. Sin embargo, se enuncian los métodos de detección más comunes: El método enzimático o método McCleary (kit Megazyme) que es costoso, el método de fenol-ácido sulfúrico que es bastante inespecífico, el método de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) que es incompleto porque los anticuerpos no reconocen todos los betaglucanos, el método fluorimétrico con azul de anilina y el método colorimétrico con rojo Congo que tiene la mayor precisión (Semedo, Karmali, & Fonseca, 2015; Zhu et al., 2015).

CONCLUSIONES

Se han reportado betaglucanos bioactivos con actividad biológica inmunomoduladora, hipocolesterolémica, hipoglucémica, antiinflamatoria, prebiótica, analgésica, antioxidante, anticancerígena, antiviral, antibacterial, cardioprotectora, entre otras, que hacen este hongo un fármaco potencial. Sin embargo, la versátil estructura y actividad biológica de los betaglucanos hace todavía difícil su escalamiento a nivel industrial.

REFERENCIAS

- Adachi, Y., Ishii, T., Ikeda, Y., Hoshino, A., Tamura, H., Aketagawa, J., ... Ohno, N. (2004). Characterization of β -Glucan Recognition Site on C-Type Lectin, Dectin 1. *Infection and Immunity*, 72(7), 4159–4171. <http://doi.org/10.1128/IAI.72.7.4159-4171.2004>
- Agricultural Marketing Resource Center, A. (2014). Mushrooms profile. Retrieved from <http://www.agmrc.org/commodities-products/specialty-crops/mushrooms-profile/>

- Baggio, C. H., Freitas, C. S., Marcon, R., Werner, M. F. de P., Rae, G. A., Smiderle, F. R., ... Santos, A. R. S. (2012). Antinociception of β -D-glucan from *Pleurotus pulmonarius* is possibly related to protein kinase C inhibition. *International Journal of Biological Macromolecules*, *50*(3), 872–7. <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.10.023>
- Baggio, C. H., Freitas, C. S., Martins, D. F., Mazzardo, L., Smiderle, F. R., Sasaki, G. L., ... Santos, A. R. S. (2010). Antinociceptive effects of (1 \rightarrow 3),(1 \rightarrow 6)-linked β -glucan isolated from *Pleurotus pulmonarius* in models of acute and neuropathic pain in mice: evidence for a role for glutamatergic receptors and cytokine pathways. *The Journal of Pain: Official Journal of the American Pain Society*, *11*(10), 965–71. <http://doi.org/10.1016/j.jpain.2010.01.005>
- Battle, J., Ha, T., Li, C., Beffa, V. Della, Rice, P., Kalbfleisch, J., ... Williams, D. (1998). Ligand Binding to the (1 \rightarrow 3)- β -D-Glucan Receptor Stimulates NF κ B Activation, but Not Apoptosis in U937 Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *249*(2), 499–504. <http://doi.org/10.1006/bbrc.1998.9175>
- Bergendiova, K., Tibenska, E., & Majtan, J. (2011). Pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) supplementation, cellular immune response and respiratory tract infections in athletes. *European Journal of Applied Physiology*, *111*(9), 2033–2040. Retrieved from <http://link.springer.com/article/10.1007/s00421-011-1837-z>
- Bobek, P. (1998). Dose- and Time-Dependent Hypocholesterolemic Effect of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in Rats. *Nutrition*, *14*(3), 282–286. [http://doi.org/10.1016/S0899-9007\(97\)00471-1](http://doi.org/10.1016/S0899-9007(97)00471-1)
- Bobek, P., & Galbavy, S. (2001). Effect of pleuran (beta-glucan from *Pleurotus ostreatus*) on the antioxidant status of the organism and on dimethylhydrazine-induced precancerous lesions in rat colon. *British Journal of Biomedical Science*, *58*(3), 164–168. Retrieved from <http://search.proquest.com/openview/4308d566b47ec9c20b4b34e5967ed288/1?pq-origsite=gscholar>
- Bobek, P., Ozdín, O., & Mikus, M. (1995). Dietary oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) accelerates plasma cholesterol turnover in hypercholesterolaemic rat. *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, *44*(5), 287–291. Retrieved from <http://europepmc.org/abstract/MED/8869262>
- Bohn, J. A., & BeMiller, J. N. (1995). (1 \rightarrow 3)- β -d-Glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships. *Carbohydrate Polymers*, *28*(1), 3–14. [http://doi.org/10.1016/0144-8617\(95\)00076-3](http://doi.org/10.1016/0144-8617(95)00076-3)
- Bonatti, M., Karnopp, P., Soares, H. ., & Furlan, S. . (2004). Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chemistry*, *88*(3), 425–428. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.050>
- Brown, G. D., & Gordon, S. (2003). Fungal β -Glucans and Mammalian Immunity. *Immunity*, *19*(3), 311–315. [http://doi.org/10.1016/S1074-7613\(03\)00233-4](http://doi.org/10.1016/S1074-7613(03)00233-4)
- Brown, G. D., & Gordon, S. (2005). Immune recognition of fungal β -glucans. *Cellular Microbiology*, *7*(4), 471–479. <http://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2005.00505.x>
- Carbonero, E. R., Ruthes, A. C., Freitas, C. S., Utrilla, P., Gálvez, J., da Silva, E. V., ... Iacomini, M. (2012). Chemical and biological properties of a highly branched β -glucan from edible mushroom *Pleurotus sajor-caju*. *Carbohydrate Polymers*, *90*(2), 814–9. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.06.005>
- CENTRAL INTELLIGENCE AGENCY (CIA). (2014). The World Factbook. Retrieved from <https://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/fields/2066.html>
- Chan, G., Chan, W., & Sze, D. (2009). The effects of beta-glucan on human immune and cancer cells. *J Hematol Oncol*, *2*(25). <http://doi.org/10.1186/1756-8722-2-25>
- Charles, S. B. (2005). Dietary fiber, glycemic response, and diabetes. *Molecular Nutrition and Food*

Research, 49, 560–570.

- Chaves, V. E., Frasson, D., & Kawashita, N. H. (2011). Several agents and pathways regulate lipolysis in adipocytes. *Biochimie*, 93(10), 1631–40. <http://doi.org/10.1016/j.biochi.2011.05.018>
- Chen, L., Xu, W., Lin, S., & Cheung, P. C. K. (2014). Cell wall structure of mushroom sclerotium (*Pleurotus tuber regium*): Part 1. Fractionation and characterization of soluble cell wall polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 36, 189–195. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.09.023>
- Corrêa, R. C. G., 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. <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.012>
- Cui, H.-Y., Wang, C.-L., Wang, Y.-R., Li, Z.-J., & Zhang, Y.-N. (2015). The polysaccharide isolated from *Pleurotus nebrodensis* (PN-S) shows immune-stimulating activity in RAW264.7 macrophages. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 13(5), 355–60. [http://doi.org/10.1016/S1875-5364\(15\)30026-1](http://doi.org/10.1016/S1875-5364(15)30026-1)
- Demleitner, S., Kraus, J., & Franz, G. (1992). Synthesis and antitumour activity of sulfoalkyl derivatives of curdlan and lichenan. *Carbohydrate Research*, 226(2), 247–252. [http://doi.org/10.1016/0008-6215\(92\)84072-Z](http://doi.org/10.1016/0008-6215(92)84072-Z)
- di Luzio, N. R., Williams, D. L., McNamee, R. B., Edwards, B. F., & Kitahama, A. (1979). Comparative tumor-inhibitory and anti-bacterial activity of soluble and particulate glucan. *International Journal of Cancer*, 24(6), 773–779. <http://doi.org/10.1002/ijc.2910240613>
- El Enshasy, H. A., & Hatti-Kaul, R. (2013). Mushroom immunomodulators: unique molecules with unlimited applications. *Trends in Biotechnology*, 31(12), 668–77. <http://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.09.003>
- Elisashvili, V., Penninckx, M., Kachlishvili, E., Asatiani, M., & Kvesitadze, G. (2006). Use of *Pleurotus dryinus* for lignocellulolytic enzymes production in submerged fermentation of mandarin peels and tree leaves. *Enzyme and Microbial Technology*, 38(7), 998–1004. <http://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.08.033>
- Elizaquível, P., Sánchez, G., Salvador, A., Fisman, S., Dueñas, M. T., López, P., ... Aznar, R. (2011). Evaluation of yogurt and various beverages as carriers of lactic acid bacteria producing 2-branched (1,3)- β -D-glucan. *Journal of Dairy Science*, 94(7), 3271–8. <http://doi.org/10.3168/jds.2010-4026>
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, F. (2013). Statistics. Retrieved April 1, 2016, from <http://faostat3.fao.org/home/E>
- Gao, Y. H., Zhou, S., Wang, M., & Xu, A. (2003). Antibacterial and antiviral value of the genus *Ganoderma* P. Karst. Species (Aphyllphoromycetideae): A review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 5(3), 235–246. <http://doi.org/10.1615/InterJMedicMush.v5.i3.20>
- Jesenak, M., Hrubisko, M., Majtan, J., Rennerova, Z., & Banovcin, P. (2014). Anti-allergic effect of Pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) in children with recurrent respiratory tract infections. *Phytotherapy Research*, 28(3), 471–474.
- Jesenak, M., Majtan, J., Rennerova, Z., Kyselovic, J., Banovcin, P., & Hrubisko, M. (2013). Immunomodulatory effect of pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) in children with recurrent respiratory tract infections. *International Immunopharmacology*, 15(2), 395–9. <http://doi.org/10.1016/j.intimp.2012.11.020>
- Kamilya, D., Ghosh, D., Bandyopadhyay, S., Mal, B. C., & Maiti, T. K. (2006). In vitro effects of bovine lactoferrin, mushroom glucan and *Abrus* agglutinin on Indian major carp, catla (*Catla catla*) head kidney leukocytes. *Aquaculture*, 253(1-4), 130–139. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.07.038>

- Kanagasabapathy, G., Chua, K. H., Malek, S. N. A., Vikineswary, S., & Kuppusamy, U. R. (2014). AMP-activated protein kinase mediates insulin-like and lipo-mobilising effects of β -glucan-rich polysaccharides isolated from *Pleurotus sajor-caju* (Fr.), Singer mushroom, in 3T3-L1 cells. *Food Chemistry*, *145*, 198–204. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.051>
- Khan, A. A., Gani, A., Masoodi, F. A., Amin, F., Wani, I. A., Khanday, F. A., & Gani, A. (2016). Structural, thermal, functional, antioxidant & antimicrobial properties of β -d-glucan extracted from baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)-Effect of γ -irradiation. *Carbohydrate Polymers*, *140*, 442–50. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.01.003>
- Khan, M. A., & Tania, M. (2012). Nutritional and Medicinal Importance of *Pleurotus* Mushrooms: An Overview. *Food Reviews International*, *28*(3), 313–329. <http://doi.org/10.1080/87559129.2011.637267>
- Khatun, S., Islam, A., Cakilcioglu, U., Guler, P., & Chatterjee, N. C. (2015). Nutritional qualities and antioxidant activity of three edible oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.). *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, *72-73*, 1–5. <http://doi.org/10.1016/j.njas.2012.03.003>
- Knop, D., Yarden, O., & Hadar, Y. (2015). The ligninolytic peroxidases in the genus *Pleurotus*: divergence in activities, expression and potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *99*, 1025–1038.
- Lavi, I., Friesem, D., Geresh, S., Hadar, Y., & Schwartz, B. (2006). An aqueous polysaccharide extract from the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* induces anti-proliferative and pro-apoptotic effects on HT-29 colon cancer cells. *Cancer Letters*, *244*(1), 61–70. <http://doi.org/10.1016/j.canlet.2005.12.007>
- Li, S., & Shah, N. P. (2015). Effects of *Pleurotus eryngii* polysaccharides on bacterial growth, texture properties, proteolytic capacity, and angiotensin-I-converting enzyme-inhibitory activities of fermented milk. *Journal of Dairy Science*, *98*(5), 2949–61. <http://doi.org/10.3168/jds.2014-9116>
- Manzi, P., Aguzzi, A., & Pizzoferrato, L. (2001). Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chemistry*, *73*(3), 321–325. [http://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00304-6](http://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00304-6)
- Manzi, P., Marconi, S., Aguzzi, A., & Pizzoferrato, L. (2004). Commercial mushrooms: nutritional quality and effect of cooking. *Food Chemistry*, *84*(2), 201–206. [http://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00202-4](http://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00202-4)
- Massadeh, M., Fraija, A., & Fandib, K. (2010). Effect of Carbon Sources on The Extracellular Lignocellulolytic Enzymetic System of *Pleurotus Sajor-Caju*. *Jordan Journal of Biological Science*, *3*(2), 51–54. Retrieved from [http://www.jjbs.hu.edu.jo/files/v3n2/Effect of Carbon Sources on The Extracellular.pdf](http://www.jjbs.hu.edu.jo/files/v3n2/Effect%20of%20Carbon%20Sources%20on%20The%20Extracellular.pdf)
- Mazodier, P., & Davies, J. (1991). Gene transfer between distantly related bacteria. *Annual Review of Genetics*, *25*, 147–171.
- Nosál'ová, V., Bobek, P., Cerná, S., Galbavý, S., & Stvrtina, S. (2000). Effects of pleuran (beta-glucan isolated from *Pleurotus ostreatus*) on experimental colitis in rats. *Physiological research/Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, *50*(6), 575–581. Retrieved from <http://europepmc.org/abstract/med/11829318>
- Ohno, N., Suzuki, I., & Yadomae, T. (1986). Structure and antitumor activity of a D-1,3-glucan isolated from the culture filtrate of *Sclerotinia sclerotiorum* IF0 9395. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, *34*(3), 1362–1365. <http://doi.org/10.1248/cpb.34.1362>
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, O. (2012). Base de datos. Retrieved from <http://www.who.int/gho/database/es/>
- Ozment-Skelton, T. R., Goldman, Matthew P. Gordon, S., Brown, G. D., & Williams, D. L. (2006). Prolonged Reduction of Leukocyte Membrane-Associated Dectin-1 Levels following β -Glucan Administration. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *318*(2), 540–546. <http://doi.org/10.1124/jpet.106.102293>

- Palmieri, G., Giardina, P., Bianco, C., Fontanella, B., & Sannia, G. (2000). Copper Induction of Laccase Isoenzymes in the Ligninolytic Fungus *Pleurotus ostreatus*. *Applied And Environmental Microbiology*, 66(3), 920–924.
- Plank, D. W., & DelVecchio, A. J. (2006). Reduced trans fat product. Google Patents. Retrieved from <https://www.google.com/patents/US7105195>
- Reddy, G. V., Ravindra Babu, P., Komaraiah, P., Roy, K. R. R. M., & Kothari, I. L. (2003). Utilization of banana waste for the production of lignolytic and cellulolytic enzymes by solid substrate fermentation using two *Pleurotus* species (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*). *Process Biochemistry*, 38(10), 1457–1462. [http://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00025-6](http://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00025-6)
- 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. <http://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.01.003>
- Reyes Suárez, E., Bugden, S. M., Kai, F. B., Kralovec, J. A., Nosedá, M. D., Barrow, C. J., & Grindley, T. B. (2008). First isolation and structural determination of cyclic beta-(1->2)-glucans from an alga, *Chlorella pyrenoidosa*. *Carbohydrate Research*, 343(15), 2623–33. <http://doi.org/10.1016/j.carres.2008.07.009>
- Rice, P. J., Lockhart, B. E., Barker, L. A., Adams, E. L., Ensley, H. E., & Williams, D. L. (2004). Pharmacokinetics of fungal (1-3)-beta-D-glucans following intravenous administration in rats. *International Immunopharmacology*, 4(9), 1209–15. <http://doi.org/10.1016/j.intimp.2004.05.013>
- Rop, O., Mlcek, J., & Jurikova, T. (2009). Beta-glucans in higher fungi and their health effects. *Nutrition Reviews*, 67(11), 624–631. <http://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00230.x>
- Rout, D., Mondal, S., Chakraborty, I., & Islam, S. S. (2008). The structure and conformation of a water-insoluble (1->3)-, (1->6)-beta-D-glucan from the fruiting bodies of *Pleurotus florida*. *Carbohydrate Research*, 343(5), 982–7. <http://doi.org/10.1016/j.carres.2007.12.022>
- Semedo, M. C., Karmali, A., & Fonseca, L. (2015). A high throughput colorimetric assay of beta-1,3-D-glucans by Congo red dye. *Journal of Microbiological Methods*, 109, 140–8. <http://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.12.020>
- Sen, I. K., Mandal, A. K., Chakraborti, S., Dey, B., Chakraborty, R., & Islam, S. S. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles using glucan from mushroom and study of antibacterial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, 439–49. <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.09.019>
- Shah, Z. A., Ashraff, M. & Ishtiaq, M. (2004). Comparative study on cultivation and yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on the different substrates (wheat straw, leaves, sawdust). *Pak J Nut*, 3(3), 158–160.
- Silveira, M. L. L., Smiderle, F. R., Moraes, C. P., Borato, D. G., Baggio, C. H., Ruthes, A. C., ... Iacomini, M. (2014). Structural characterization and anti-inflammatory activity of a linear beta-D-glucan isolated from *Pleurotus sajor-caju*. *Carbohydrate Polymers*, 113, 588–96. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.057>
- Smiderle, F. R., Olsen, L. M., Carbonero, E. R., Baggio, C. H., Freitas, C. S., Marcon, R., ... Iacomini, M. (2008). Anti-inflammatory and analgesic properties in a rodent model of a (1->3), (1->6)-linked beta-glucan isolated from *Pleurotus pulmonarius*. *European Journal of Pharmacology*, 597(1-3), 86–91. <http://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.08.028>
- Suárez, C., & Nieto, J. (2016). Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles : una alternativa en la obtención de nutracéuticos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 30(1), 1–8. <http://doi.org/10.1016/j.riam.2012.03.011>
- Synytsya, A., Míčková, K., Synytsya, A., Jablonský, I., Spěváček, J., Erban, V., ... Čopíková, J. (2009). Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*:

- Structure and potential prebiotic activity. *Carbohydrate Polymers*, 76(4), 548–556. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.11.021>
- Takahashi, H., Ohno, N., Adachi, Y., & Yadomae, T. (2001). Association of immunological disorders in lethal side effect of NSAIDs on β -glucan-administered mice. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 31(1), 1–14. [http://doi.org/10.1016/S0928-8244\(01\)00228-0](http://doi.org/10.1016/S0928-8244(01)00228-0)
- Tao, Y., Zhang, L., & Cheung, P. C. K. (2006). Physicochemical properties and antitumor activities of water-soluble native and sulfated hyperbranched mushroom polysaccharides. *Carbohydrate Research*, 341(13), 2261–9. <http://doi.org/10.1016/j.carres.2006.05.024>
- Tao, Y., Zhang, Y., & Zhang, L. (2009). Chemical modification and antitumor activities of two polysaccharide-protein complexes from *Pleurotus tuber-regium*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 45(2), 109–15. <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2009.04.010>
- U.S. Food and Drug Administration (FDA). (2008). *Letter GRAS Notice No. GRN 000239*. Eagan. Retrieved from <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm153925.htm>
- U.S. Food and Drug Administration (FDA). (2010). *Letter GRAS Notice No. GRN 000309*. Houston. Retrieved from <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm218462.htm>
- U.S. Food and Drug Administration (FDA). (2012). *Letter GRAS Notice No. GRN 000413*. Alexandria. Retrieved from <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm319626.htm>
- Vetvicka, V., & Vetvickova, J. (2009). Beta-glucan-indomethacin combination produces no lethal effects. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 153(2), 111–116. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19771134>
- Williams, D. L., McNamee, R. B., Jones, E. L., Pretus, H. A., Ensley, H. E., Browder, I. W., & Di Luzio, N. R. (1991). A method for the solubilization of a (1 \rightarrow 3)- β -d-glucan isolated from *Saccharomyces cerevisiae*. *Carbohydrate Research*, 219, 203–213. [http://doi.org/10.1016/0008-6215\(91\)89052-H](http://doi.org/10.1016/0008-6215(91)89052-H)
- Wood, P. J. (2007). Cereal β -glucans in diet and health. *Journal of Cereal Science*, 46(3), 230–238. <http://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.06.012>
- Yoshioka, S., Ohno, N., Miura, T., Adachi, Y., & Yadomae, T. (1998). Inmunotoxicidad de beta-glucanos solubles inducidas por el tratamiento con indometacina. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 21(3), 171–179. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9718206>
- Yoshioka, Y., Tabeta, R., Saitô, H., Uehara, N., & Fukuoka, F. (1985). Antitumor polysaccharides from *P. ostreatus* (Fr.) quél.: Isolation and structure of a β -glucan. *Carbohydrate Research*, 140(1), 93–100. [http://doi.org/10.1016/0008-6215\(85\)85052-7](http://doi.org/10.1016/0008-6215(85)85052-7)
- Zeković, D. B., Kwiatkowski, S., Vrvic, M. M., Jakovljević, D., & Moran, C. A. (2005). Natural and Modified (1 \rightarrow 3)- β -D-Glucans in Health Promotion and Disease Alleviation. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25(4), 205–230. <http://doi.org/10.1080/07388550500376166>
- Zhang, M., Cheung, P. C. K., Ooi, V. E. C., & Zhang, L. (2004). Evaluation of sulfated fungal beta-glucans from the sclerotium of *Pleurotus tuber-regium* as a potential water-soluble anti-viral agent. *Carbohydrate Research*, 339(13), 2297–301. <http://doi.org/10.1016/j.carres.2004.07.003>
- Zhang, M., Cheung, P. C.-K., Chiu, L. C.-M., Wong, E. Y.-L., & Ooi, V. E.-C. (2006). Cell-cycle arrest and apoptosis induction in human breast carcinoma MCF-7 cells by carboxymethylated β -glucan from the mushroom sclerotia of *Pleurotus tuber-regium*. *Carbohydrate Polymers*, 66(4), 455–462. <http://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.03.031>

- Zhu, F., Du, B., Bian, Z., & Xu, B. (2015). Beta-glucans from edible and medicinal mushrooms: Characteristics, physicochemical and biological activities. *Journal of Food Composition and Analysis*, *41*, 165–173. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.01.019>
- Zhu, F., Du, B., & Xu, B. (2016). A critical review on production and industrial applications of beta-glucans. *Food Hydrocolloids*, *52*, 275–288.

Producción de carbonato de calcio precipitado a partir de piedra caliza

Production of precipitated calcium carbonate from limestone

Valeria Vaca Guevara¹, Julio Amilcar Pineda Insuasti², Ana Checa Ramírez¹

¹ Instituto Superior Tecnológico 17 de Julio, Urququi, Ecuador.

² Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA). Ibarra, Ecuador.

Autor para correspondencia: valevacag@gmail.com

Recibido: noviembre 15 de 2018

Aceptado: diciembre 26 de 2018

RESUMEN

Este trabajo describe el proceso de producción de Carbonato de Calcio Precipitado (CCP) por carbonatación. Se encontró que la purificación es el Punto Crítico de Control (PCC), ya que impurezas como la arenilla afectan las propiedades fisicoquímicas del producto y la viabilidad económica del proceso.

PALABRAS CLAVE: apagado de cal, carbonatación, CCP, lechada.

ABSTRACT

This work describes the process of production of Precipitated Calcium Carbonate (CCP, by its initials in Spanish) by carbonation. It was found that the purification is the Critical Control Point (PCC, by its initials in Spanish), since impurities such as grit affect the physicochemical properties of the product and the economic viability of the process.

KEYWORDS: Lime quench, carbonation, grout.

INTRODUCCIÓN

El carbonato de calcio (CaCO_3) es un producto natural obtenido de los yacimientos de calcita (cal viva), el cual es muy estable, y más si se compara con el aragonito y la vaterita, que teniendo la misma "fórmula química" presentan distinta estructura cristalina (Ramón, Blanquer, & Manuel). Los principales productos comerciales son el carbonato calcio natural molturado (GCC: ground calcium carbonate) y el carbonato calcio precipitado (PCC, precipitated calcium carbonate) (Maurer, Skrzypczak, Pedroso, & Spiegel, 2018). Se puede presentar comercialmente como producto de la molienda de la piedra caliza o como Carbonato de Calcio Precipitado (CCP), el cual

se considera de alta pureza; ambos compuestos son químicamente semejantes pero tienen diferencias en cuanto a la tecnología empleada para su elaboración y aplicación industrial (Bragagnini, Beltrán, Morea, Maldonado, & Toselli, 2014). (CCP), el cual posee un alto nivel de pureza, brillo y morfología controlada (Muñoz, 2013).

El CCP es un producto obtenido de la molienda de caliza o dolomía con pureza mínima del 97 % y tamaño de grano por debajo de 45 mm (Maurer, Skrzypczak, Pedroso, & Spiegel, 2018). Es un producto de importación dada a su aplicación en una amplia variedad de procesos como: elaboración de pinturas, papel, caucho, selladores, adhesivos, cosméticos, farmacia,

alimentos. Además puede ser usado como fortificante de calcio, aditivo para alimentos, agente control de pH, nutriente, acondicionador de masa, agente reafirmante, dentífricos, cosméticos, entre otros (Bragagnini, 2014). En la actualidad el 80 % de este producto está destinado a servir como carga y pigmento en la industria de papel. La demanda nacional de este producto es cubierta mediante importaciones, que se sitúan en torno a las 16 mil toneladas en los últimos años (Márquez, 2011).

La piedra caliza es un producto natural, que se constituye básicamente de calcita (caliza), aragonito y dolomita (dolomía), con porcentajes variables de impurezas (Hernández Guerrero, 2001). El grado de pureza de la piedra caliza depende del sitio en donde se localicen los yacimientos; por ejemplo, la Empresa Nacional de Minería (ENAMI) en el año 2014 determinó que en el proyecto ubicado en la provincia amazónica de Zamora Chinchipe la piedra caliza tenía un grado de pureza del 85 %, determinando un valor in-situ de 300 a 400 millones de dólares calculado en base a un precio internacional de 5 a 6 dólares por cada tonelada (Gaacia Del Cura, S. Ordoñez & Y J. A . Gonzalez Maatin, 1994).

La tecnología disponible a nivel internacional para la producción de CaCO_3 precipitado requiere de minerales de CaCO_3 mayores a 97 %, los cuales no se encuentran disponibles en Ecuador. En la región Amazónica e Intag se encuentran los yacimientos más importantes de minerales de CaCO_3 (Márquez, 2011). La Empresa Nacional Minera (Enami), calcula que en ese proyecto minero conocido como "Isimanchi" se encontrarían unos 67 millones de toneladas de roca caliza, con una pureza del 85 %; dichos recursos podrían tener un valor calculado entre 300 y 400 millones de dólares, tomando como base el precio internacional actual de la caliza que fluctúa entre los 5 y 6 dólares. El alto contenido de impurezas de este mineral es la principal limitante para ser utilizado como materia prima para producir CCP

con la tecnología disponible, la cual consta de las siguientes etapas: calcinación, hidratación y carbonatación (Javier, 2015).

Es típicamente deseable que el carbonato de calcio sea tan brillante como sea posible en estas aplicaciones de revestimiento de alta calidad. Sin embargo, es difícil retirar las impurezas finas de color oscuro que se introducen debido a la fuente de cal quemada inicial, que se utiliza habitualmente como material de partida en el procedimiento de precipitación de PCC (Alvarez-Aguilar, 2014). Dichas impurezas tienen un impacto negativo sobre las propiedades de grado de blancura y tono de los productos de reacción PCC resultantes después del procesado. Químicamente, una cal quemada es principalmente CaO , aunque los ejemplos de las impurezas encontradas habitualmente en la fuente de cal quemada incluyen pirita (sulfuro de hierro), óxidos de hierro y magnesio, óxidos de hierro y calcio, sulfuro de calcio y sílices cristalinas. A medida que el tamaño de partícula de las impurezas de color oscuro se reduce por pulverización su potencia de teñir de color aumenta drásticamente dando como resultado así pérdidas significativas en el grado de blancura global del producto (Por M . A. Gaacia, S. Ordoñez& y J. A . Gonzalez Maatin, 1994).

Existe limitado conocimiento con respecto al proceso de eliminación de residuos y la operación de reducción de tamaño de partícula. En cuanto a la reducción de tamaño de partículas existen algunos avances científicos, pero no se ha logrado optimizar los factores de tamaño de partícula y la eliminación de residuos, lo cual hace ineficiente la tecnología. El carbonato de calcio precipitado es uno de los compuestos más utilizados en industrias de papel, pintura, plásticos, etc.; siendo necesario que cumpla con las especificaciones exigidas tales como pureza, blancura y tamaño de partícula (Hernández y Hernández, 2009). Por tal razón, resulta de interés ampliar el estudio de las

distintas etapas de fabricación, evaluando el comportamiento de las principales variables de proceso. Se considera como etapas críticas el apagado y preparación de la lechada de cal, cuyas propiedades y condiciones de procesamiento afectan las características del producto final (Marcas, 2010).

Con este estudio se pretende formar la base teórica para el desarrollo de la tecnología en la producción de carbonato de calcio precipitado a escala de laboratorio.

PIEDRA CALIZA

La caliza es una roca compuesta por lo menos del 50 % de carbonato de calcio (CaCO_3), con porcentajes variables de impurezas, en su interpretación más amplia, el término incluye cualquier material calcáreo que contenga carbonato de calcio como mármol, creta, travertinos, coral y marga. Cada uno de los cuales poseen propiedades físicas distintas, sin embargo, generalmente se considera que la caliza es una roca calcárea estratificada compuesta principalmente de mineral calcita (ver figura 1), que por calcinación da la cal viva o cal pura también llamada cal viva está compuesta por óxido de calcio. Al tratar con agua se desprende grandes cantidades de calor y se forma hidróxido de calcio, que se vende comercialmente como un polvo blanco denominado cal apagada o cal muerta son rocas calizas de diversos grados de pureza (Hernández Guerrero, 2001). En la tabla 1 se relacionan las características básicas de las principales piedras calizas:

Tabla 1: Características de piedras calizas

Nombre mineralógico	Fórmula química	Peso molecular (gr/mol)	Peso específico (gr/cc)	Dureza (escala de Mohs)	Forma de los cristales
DOLOMITA	$\text{CaCO}_3 \cdot \text{MgCO}_3$	184,4	2,84	3,5 – 4,00	Romboédrica
CALCITA	CaCO_3	100,1	2,72	3,0	Romboédrica
MAGNESITA	MgCO_3	84,3	3,00	3,5 – 4,5	Romboédrica

Fuente:(Hernández Guerrero, 2001).

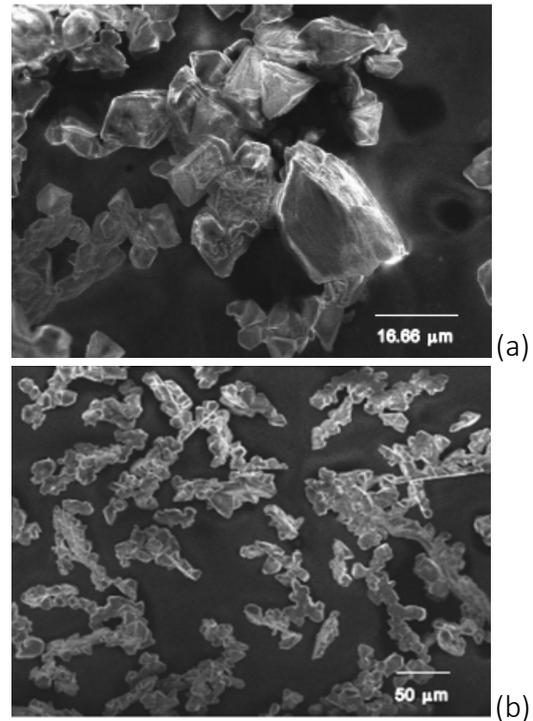
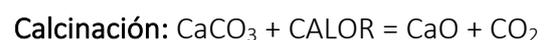


Figura 1: Micrografía electrónica de barrido de la nucleación (a) y formación longitudinal (b) de la calcita (Castro & Munevar, 2013).

MÉTODO DE OBTENCIÓN DE CCP

El CaCO_3 es obtenido por la molienda de la roca caliza y posterior purificación; se podría decir que se trata químicamente del mismo producto, la diferencia radica en la tecnología aplicada en el proceso de obtención y en las características del producto final, tales como pureza, brillo y morfología controlada. Normalmente, el carbonato de calcio precipitado obtenido por carbonatación del hidróxido de calcio muestra propiedades o pacificantes y efectos abrillantadores superiores cuando se usa como carga o pigmento de revestimiento en aplicaciones de papel en comparación con el carbonato de calcio natural triturado (Pohl, Rainer, & Primosch, 2017).

El CCP se obtiene por un proceso físico-químico, que consta de tres etapas: calcinación, hidratación o apagamiento y carbonatación.



Hidratación o apagamiento: $\text{CaO} + \text{H}_2\text{O} = \text{Ca(OH)}_2$

Carbonatación: $\text{Ca(OH)}_2 + \text{CO}_2 = \text{Ca(OH)}_2 + \text{CaCO}_3$ precipitado.

La calcinación consta de la descomposición de carbonato de calcio a óxido de calcio (cal viva) por adición de calor a 1000°C. Puede llevarse a cabo en hornos o reactores (en ocasiones denominados hornos de secado) de diversos diseños incluyendo hornos de cuba, hornos de secado rotatorios, hornos de múltiples fogones y reactores de lecho fluidizado (Pohl, 2017).

El método de hidratación de cal consiste en un proceso de adición de agua al óxido de calcio para producir hidróxido de calcio. Es una reacción exotérmica que genera una gran cantidad de calor (-65.2 [kJ/mol]). Cuando se adiciona la cantidad de agua justa se denomina "hidratación seca" y el producto es un polvo seco; mientras que cuando se usa agua en exceso se denomina "apagado" y el producto es una lechada. El proceso de apagado normalmente se hace con una gran cantidad de agua en exceso variando desde 3 a 6 partes de agua por 1 parte de CaO en relación peso a peso (Juan Pablo Morey Marticorena, 2016).

La carbonatación consta de la introducción de dióxido de carbono en una suspensión acuosa de hidróxido de calcio (Ca(OH)_2) denominada "lechada de cal" hasta precipitar el carbonato de calcio (Usedo, 2016). En la práctica, dicha suspensión de hidróxido de calcio tiene un contenido máximo de sólidos de hasta aproximadamente el 40 % en peso. Resulta difícil preparar y manipular la lechada de cal con un contenido de sólido superior al 30 % en peso sin la adición de sustancias reductoras de la viscosidad (Ministerio, Tzul, & Ics, 2016). La viscosidad de la lechada de cal puede variar dependiendo de la cal de procedencia, además de las condiciones del proceso que afectan el tiempo de sedimentación. Algunas veces la viscosidad crece con temperaturas de apagado de 82 °C y superiores a esta (Mohammad

Hassibi, 1999). En general se presume que la alta viscosidad es producto del bajo tamaño de partícula del hidróxido, la gran superficie específica y la relación de sedimentación. La viscosidad de la lechada cal puede variar entre 45 – 700 centipoises (Pohl, 2017).

La patente japonesa JP2007-161515 se refiere a un método para producir carbonato de calcio, en el que se reduce el contenido de impurezas, particularmente, el contenido de estroncio. El método comprende las siguientes etapas: 1) disolución de ácido clorhídrico, ácido nítrico, cloruro de amonio o nitrato de amonio en una suspensión acuosa de hidróxido de calcio; 2) precipitación de impurezas por adición de amoníaco acuoso y aumento del pH sobre 12; 3) separación sólido-líquido de las impurezas precipitadas y la disolución; 4) precipitación del carbonato de calcio por adición de dióxido de carbono en estado gaseoso; 5) recuperación del carbonato de calcio precipitado por decantación y secado (Pohl, 2017).

La patente ES2649468 T3 describe un método y una máquina de banda fibrosa para la producción en línea de lechada de cal en un proceso de producción de PCC. En dicho proceso, la cal se apaga a una temperatura de al menos 80 °C a 100°C, luego se limpia la lechada de cal producida mediante la separación de cantidades excesivamente grandes partículas de hidróxido de calcio inmediatamente y finalmente se inicia la carbonatación para la producción de PCC (Mohamad Hassibi & Singh, 2014).

SEPARACIÓN DE ARENILLA PRESENTE EN LA LECHADA DE CAL

Un problema importante en la preparación y la carbonatación de lechada de cal es la presencia de arenilla, que es un material particulado que se puede encontrar en la cal calcinada o la lechada de cal y puede incluir, entre otras cosas, cuarzo y carbonato de calcio no quemado. Estos compuestos, cuando están

presentes en la lechada de cal, pueden mostrar poca o ninguna reactividad frente al dióxido de carbono y, por lo tanto, deben eliminarse antes de la carbonatación de dicha lechada. El término "arenilla" o "fracción de arenilla" se puede definir como la fracción sobredimensionada retenida por un tamiz que tiene un tamaño de abertura especificado de 400 μm o más fino. Dependiendo del tamaño de abertura utilizado para el cribado, la fracción de arenilla puede representar del 3 al 8 % en peso del total de sólidos presentes en la lechada de cal (Maurer, 2018).

La arenilla muestra poca o ninguna reactividad en los procesos de carbonatación, y da lugar a una caída en el brillo del CCP y una distribución de tamaño de la partícula no deseada (Mohamad Hassibi & Singh, 2014). Además, la eliminación de arenilla no deseada puede dar lugar a un aumento en los costos de producción ya que, por un lado, el material de arenilla eliminado está incluido en el precio de compra del óxido de calcio o lechada de cal y, por otro lado, se puede incurrir en costes de eliminación significativos (Maurer, 2018).

Con el fin de superar este inconveniente, es bastante común eliminar la arenilla de la

lechada de cal previo a la carbonatación; por ejemplo, en un proceso de cribado aguas arriba. Se reporta tamices con tamaño de abertura de 400 μm o más fino para obtener la lechada de cal con un contenido reducido en arenilla y una o más fracciones de arenilla, las cuales se muelen y se someten al proceso de carbonatación, es decir, la introducción de dióxido de carbono para obtener carbonato de calcio precipitado (Pohl, Michael Y Schmölzer, 2015).

Todavía hoy, las fracciones de arenilla separadas de la lechada de cal se consideran material de desecho, en particular debido a su bajo brillo (R457) que en la mayoría de los casos está por debajo del 90 % o incluso por debajo del 80 % (Maurer, 2018).

CONCLUSIONES

El Carbonato de Calcio Precipitado (CCP) es un derivado de la piedra caliza con diversos usos industriales. Su producción se ve limitada por la presencia de arenilla en la cal calcinada o la lechada de cal, afectando las propiedades fisicoquímicas del producto final y la viabilidad económica del proceso.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez-Aguilar, A. S. (2014). Evaluación de la certificación de industria limpia en Tijuana: Indicadores de desempeño ambiental, 1–127. Retrieved from <http://www.prtr-es.es/data/images/Sumario-Ejecutivo-Cemento-final-CIRCA.pdf>
- Bragagnini, V. M., Beltrán, R. A., Morea, P., Maldonado, P., & Toselli, L. A. 2014. (2014). Analisis De Reactividad Y Comportamiento Térmico De Cales Industriales Para Producción De Carbonato De Calcio Precipitado, (1), 3–8. Retrieved from [http://ria.utn.edu.ar/bitstream/handle/123456789/2349/Análisis de reactividad y comportamiento térmico de cales industriales para producción de carbonato de calcio precipitado.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://ria.utn.edu.ar/bitstream/handle/123456789/2349/Análisis%20de%20reactividad%20y%20comportamiento%20térmico%20de%20cales%20industriales%20para%20producción%20de%20carbonato%20de%20calcio%20precipitado.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Campreci, E. (2010). Unicum, 207–212. Retrieved from <https://www.raco.cat/index.php/UNICUM/article/viewFile/287955/376099>
- Carvalho, E. A., & Almeida, S. L. M. (1997). Caulim e carbonato de cálcio: competição na indústria de papel. *Série Estudos e Documentos*, 41, 26. Retrieved from

<http://mineralis.cetem.gov.br/bitstream/cetem/266/1/sed-41.pdf>

Castro, H., & Munevar, Ó. (2013). Mejoramiento Químico De Suelos Ácidos Mediante El Uso Combinado De Materiales Encalantes. *Cient*, 16(2), 409–416. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v16n2/v16n2a15.pdf>

Crespo, B. O., Fernández, I. G., & Serrano, E. M. (2011). CARBONATO DE CALCIO COMO SUSTITUTO PARCIAL DEL DIOXIDO DE TITANIO, 1–9. Retrieved from http://www.redciencia.cu/geobiblio/paper/2011_Otano_Crespo_MIN5-P8.pdf

Do, B., Iguacu, A., Região, N. A., & Curitiba, M. D. E. (n.d.). (1, 2) , (1), 9120. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000001900>

Hassibi, M. (1999). Una Perspectiva General Del Apagado De La Cal Y Los Factores Que Afectan El Proceso. 3er Symposium Internacional Sorbalit, 1–19. Retrieved from https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/38686211/FactAfectanPreparacionLechadaCal.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1533087695&Signature=og4GQb7tTx5Db89Mn30HctshEjM%3D&response-content-disposition=inline%3Bfilename%3DFact_Afectan_Pr

Hassibi, M., & Singh, I. (2014). La preparación de la lechada de cal y su impacto en la eficiencia del proceso de flotación y costo de operación. I Congreso Internacional de Flotación de Minerales, 12. Retrieved from <http://www.agt.cl/mining/doc/d201410181231es.pdf>

Hernández Guerrero, C. J. (2001). Rocas calizas: Formación, ciclo del carbonato, propiedades, aplicaciones, distribución y perspectivas en la Mixteca Oaxaqueña. *Temas De Ciencia Y Tecnología*, 5, 3–14. Retrieved from <http://www.utm.mx/temas/temas-docs/ensayo1t14R.pdf>

Hernández y Hernández, M. de los Á. (2009). Estudios de precipitación de CaCO₃ como herramienta para entender los procesos de biomineralización, usando como modelo biológico la cáscara de huevo de gallina. Retrieved from <https://hera.ugr.es/tesisugr/17928138.pdf>

Javier, I. C. M. E. (2015). Diseño De Explotacion De Las Calizas Existentes El El Yacimiento "Isimanchi". Retrieved From File:///C:/Users/Yo/Downloads/T-Uce-0012-371.Pdf

Juan Pablo Morey Marticorena. (2016). Profesor Guía : Dr . Juan Patricio Ibañez Rivera Noviembre 2016, (November), 0–100. Retrieved from [file:///C:/Users/Yo/Downloads/MemoriaJuanPabloMorey_Octubre_2016Final\(2\).pdf](file:///C:/Users/Yo/Downloads/MemoriaJuanPabloMorey_Octubre_2016Final(2).pdf)

Lador, D., Xperime, S. E., Gándara, M. A. P., Foster, R. E., Petros, G., Margulis, R. G. B., & Grado, J. A. (2005). 4 5 6 1, 21(1), 5–15. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v21n1/0188-4999-rica-21-01-5.pdf>

Marcas, P. Y. (2010). 2 540 248, 1–15.

Márquez, M., Quintero, A., Sanz, A., Ramírez, V., Inostroza, C., & Chaparro, A. (2011). Efecto de la arginina 8%-carbonato de calcio y del fluoruro de sodio al 5% en la reducción de la hipersensibilidad dentinaria post terapia periodontal: ensayo clínico. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*, 4(1), 22–25. [https://doi.org/10.1016/S0718-5391\(11\)70061-1](https://doi.org/10.1016/S0718-5391(11)70061-1)

- Maurer, M., Skrzypczak, M., Pedroso, L. Y, & Spiegel. (2018a). 2 649 468. Retrieved From <https://Patentimages.Storage.Googleapis.Com/93/5e/34/82567fc38f84f1/Es2649468t3.Pdf>
- Maurer, M., Skrzypczak, M., Pedroso, L. Y, & Spiegel. (2018b). 2 649 468. Retrieved From <https://Patentimages.Storage.Googleapis.com/93/5e/34/82567fc38f84f1/ES2649468T3.pdf>
- Mesa-Lago, C. (2009). Disponible en: América Latina Hoy, 52, 41–61. <https://doi.org/1130-2887>
- Ministerio, N., Tzul, C. A., & Ics, R. (2016). Método de ensayo. Ensayos físicos de la cal viva, cal hidratada y piedra caliza. Correspondencia, (502).
- Muñoz, D. M. S. (2013). Desarrollo De Tecnologias Para La Produccion De Carbonato De Calcio Prcipitado A Partir De Minerales. Retrieved From https://Goreatacama.Gob.Cl/Wp-Content/Uploads/08-10-2013_17-43-56_79099576.Pdf
- Pohl, Michael Y Schmölzer, T. (2015). 2 549 029, 1–24. Retrieved From <https://Patentimages.Storage.Googleapis.Com/B1/C5/99/39328efb38a197/Es2549029t3.Pdf>
- Pohl, M., Rainer, C. Y, & Primosch, G. (2017). 2 606 004, 1–9.
- Por M . A. Gaacia Del Cura, S. Ordoñez, E. D., & Y J. A . Gonzalez Maatin. (1994). Rocas Industriales Yhttp://Www.limp.Org.Pe/Pptjm/Jm20140828_Calcesur.Pdf Ornamentales. Madrid. Retrieved From <https://core.ac.uk/download/pdf/157765719.pdf>
- Ramón, M., Blanquer, G., & Manuel, J. (n.d.). MINERALES CARBONATADOS Apellidos, nombre. Retrieved from https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/13677/carbonatos_revisado_definitivo.pdf?sequence=3
- Usedo, R. (2016). Estudio y análisis de la utilización de la cal para el patrimonio arquitectónico, 150. Retrieved from <https://riunet.upv.es:443/handle/10251/60200>

Producción de Fertilizante Orgánico a partir de Residuos de sangre del camal

Production of Organic Fertilizer from Red blood waste

Edwin Piedra Torres¹, Julio Amilcar Pineda Insuasti², Ana Checa¹

¹ Instituto Superior Tecnológico 17 de Julio, Urcuquí, Ecuador.

² Centro Ecuatoriano de Biotecnología del Ambiente (CEBA), Ibarra, Ecuador.

Autor para correspondencia: edwinpiedra3@gmail.com

Recibido: noviembre 27 de 2018

Aceptado: diciembre 28 de 2018

RESUMEN

La producción de fertilizantes orgánicos gana cada vez mayor importancia en el mercado gracias al cambio en patrones de consumo, por ello el objetivo de este trabajo es describir cómo reusar un material altamente contaminante como la sangre de ganado vacuno para elaborar un fertilizante orgánico rico en aminoácidos esenciales.

PALABRAS CLAVE: hidrolisis, acida, enzima, reactor.

ABSTRACT

The production of organic fertilizers is gaining increasing importance in the market thanks to the change in consumption patterns, so the aim of this paper is to describe how to reuse a highly polluting material such as cattle blood to produce an organic fertilizer rich in amino acids. essentials.

KEYWORDS: hydrolysis, acid, enzyme, reactor.

INTRODUCCIÓN

En el mundo se produce alimentos más que suficientes para toda la población mundial. Sin embargo, tras un descenso prolongado durante más de una década, el hambre en el mundo parece estar aumentando de nuevo, afectando a un 11 % de la población mundial. Se prevé que la población ascienda a unos 10 mil millones para 2050, por lo que la producción de alimentos tendrá que aumentar al menos un 50 % para satisfacer la demanda mundial (FAO, 2017).

La seguridad alimentaria es una condición compleja que requiere un enfoque holístico de las formas de malnutrición, la productividad e

ingresos de los agricultores, la resiliencia de los sistemas de producción de alimentos y el uso sostenible de la biodiversidad y los recursos genéticos (FAO, 2017).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura (FAO), la carne de cerdo es la más consumida, con un porcentaje de participación del 36 % en la ingesta mundial, seguida por la carne de aves de corral y de vacuno, con un 33 % y un 24 % respectivamente (Del, México, & El, 2016). Según el Instituto Nacional de Estadística y Censo (INEC), en Ecuador existen 4 millones cabezas de ganado vacuno, 1 millón de ganado porcino, 300 mil de ganado ovino y 50 mil de

ganado de otras especies (Instituto Nacional de Estadísticas y Censo, 2017).

El sacrificio animal genera subproductos y despojos que pueden ser aprovechados por diversas industrias tales como la agropecuaria, alimenticia, farmacéutica e incluso la cosmética (En, Rectificadora, & Centros, 2007). En los mataderos, aparte de los residuos derivados del despiece animal, se genera un importante caudal de sangre, que constituye un efluente muy contaminante con una demanda biológica de oxígeno (DBO5) entre 250.000 y 375.000 mg O₂/L (Rodríguez & Carmen, 2015); razón por la cual para evitar esta demanda de contaminación tan grande se ha planteado varias maneras de reusar la sangre desperdiciada, ya que contiene varias proteínas esenciales entre ellas las globulinas y la albúmina son las más importantes ya que regulan la permeabilidad de la sangre a través de membranas de los capilares.

La sangre animal puede ser aprovechada en la obtención de harina de sangre y/o plasma sanguíneo rico en proteínas y nutrientes. El plasma está compuesto en un 90 % de agua y 10 % de sólidos, de los cuales el 7 % corresponde a proteínas y el restante a materia orgánica no proteica (Salvador, Una, Para, Utilización, & Sangre, 2002). Pese a ello, la sangre animal es por lo general desperdiciada, ocasionando un gran impacto ambiental negativo debido a su vertimiento deliberado a las fuentes hídricas (En et al., 2007).

La incorporación de fertilizantes y abonos orgánicos con fines de bioremediación de suelos agrícolas es una práctica que ha recuperado importancia en los últimos años. Adicionalmente estos productos favorecen la rápida descomposición de la materia orgánica y la asimilación de elementos nutritivos, consumen poca energía, incrementan la fertilidad del suelo, no contaminan el ambiente, y favorecen el antagonismo y control biológico de organismos fitopatógenos.

Diferentes especies de plantas acumulan ciertos aminoácidos como la prolina, y los ácidos aspártico y glutámico para aumentar su tolerancia frente a las altas temperaturas. Similarmente, la prolina y glicina han demostrado ejercer una acción protectora frente a las bajas temperaturas. Junto a su acción protectora frente a situaciones de estrés para la planta, los aminoácidos juegan un papel relevante en varias funciones fisiológicas de la planta, como la fotosíntesis, la polinización y la absorción y transporte de nutrientes (Rodríguez & Carmen, 2015).

Es así que, la importancia de los fertilizantes orgánicos radica en sus altos contenidos de nitrógeno mineral y cantidades significativas de otros elementos nutritivos para las plantas. Dependiendo del grado aplicado, generan un aumento en los contenidos de materia orgánica del suelo, en la capacidad de retención de humedad y en el pH (Ramos & Terry, 2014).

Por lo general la mayoría de la sangre se usa en la producción de harina de sangre, ya que de este se pueden producir otros subproductos. Aunque la sangre residual puede también ser usada para otras cosas más como: ingrediente para preparar piensos para alimentación animal; aditivo en el acabado de la madera en unión con la harina de soya, resinas de fenol-formaldehído y resinas de urea-formaldehído; diluyente y adhesivo en diversos polvos insecticidas y fungicidas; extracción de albúmina de sangre para preparar colas resistentes al agua (Salvador et al., 2002).

Según el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Autónoma de México (UNAM), en el año 2009 se pudieron haber recuperado a escala mundial 138 millones de toneladas de sangre entre ovinos, caprinos, aves, bovinos y porcino; correspondiendo 54,54 millones a aves; 43,82 millones a porcinos; 33,83 millones a bovinos y 5,76 millones a ovinos y caprinos (Universitaria, 2018).

HARINA DE SANGRE

La harina de sangre es rica en uno de los aminoácidos más importantes para el desarrollo humano: la lisina. Este aminoácido suele ser un factor limitante en el crecimiento de muchos seres vivos y su contenido en los cereales (que constituyen el grueso de la alimentación del ganado) es bajo. Una de las proteínas más abundante en el plasma sanguíneo normal es la albúmina (80% fundamentalmente hemoglobina), que habitualmente constituye los dos tercios de las proteínas del plasma. Esta regla es aplicable para sangre de todo tipo de ganado (Lazaro, 2017; Salvador et al., 2002). La harina de sangre se obtiene por la deshidratación de la sangre con un rendimiento de 2,8 kg/animal sacrificado. Posee un alto coeficiente de digestibilidad que es del 99% (Lazaro, 2017).

La harina de sangre se utiliza como fertilizante debido a su acción rápida, alto contenido nitroso y aporte de hierro hémico. Éste último, tiene un efecto quelante que estabiliza los nutrientes del suelo mejorando su disponibilidad y absorción por parte de la planta (Rodríguez & Carmen, 2015). Es por ello que los fertilizantes orgánicos a partir de la sangre desechada constituyen una vía de aprovechamiento para los subproductos derivados de las industrias cárnicas y mataderos, y de los residuos de la actividad pesquera (Rodríguez & Carmen, 2015).

HIDROLISIS

Reacción química en la cual el agua interactúa con otros compuestos de los cuales resultan otros nuevos, más simples. En otras palabras, es la descomposición de compuestos orgánicos complejos en otros más sencillos mediante la acción del agua (Reacci, 2012). La hidrólisis se presenta como una alternativa que contribuye a la valorización de productos animales y vegetales, ya que por medio de transformaciones permite el cambio fisicoquímico de sus propiedades logrando un

mejor y mayor uso en las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica.

La obtención de un producto rico en aminoácidos libres a partir de residuos proteicos se puede llevar a cabo mediante hidrólisis química o enzimática (Rodríguez & Carmen, 2015). Actualmente existen varios tipos de hidrólisis como son:

Hidrólisis enzimática

Es aquella hidrólisis en la que actúan un grupo de enzimas llamadas hidrolasas, las cuales producen la ruptura de enlaces por agua según la siguiente reacción: $H-OH + R-R' \rightarrow R-H + R'-OH$ (Castro, Sandra; Heredia, Antonio; Jimenez, Manuel; Fernandez, n.d.). En este tipo de hidrólisis los aminoácidos generados están girando de manera levógira (gira hacia la izquierda), y por lo tanto, son biológicamente activos y asimilables. Aunque la concentración de aminoácidos obtenidos es baja (Rodríguez & Carmen, 2015). Es un método de costo elevado ya que requiere del control de pH y temperatura para evitar la inactivación de enzimas bioactivas (Salazar Posada, 2012).

Hidrólisis química ácida

Se basa en el empleo de catalizadores ácidos como ácido sulfuroso, clorhídrico, fosfórico, sulfúrico, entre otros, que transforman las cadenas complejas en otras más simples como por ejemplo la proteólisis (Oliva, 2003). La hidrólisis química da como resultados una mayor cantidad de aminoácidos libres totales, los cuales se encuentran girando de manera dextrógira (gira hacia a la derecha) y por lo tanto no son biológicamente activos (Rodríguez & Carmen, 2015). No obstante, el bajo pH provoca la destrucción de algunos aminoácidos (Salazar Posada, 2012). La asparagina y glutamina son transformados en ácido aspártico y glutámico, mientras que el triptófano y la cisteína se destruyen por completo (Álvarez García, Carlos; Rendueles De La Vega, Manuel Y Díaz Fernández, 2014). Se propone un proceso paralelo de hidrólisis ácida y alcali para detener las reacciones en las

que se pierde aminoácidos, y así al final obtener aminoácidos libres y péptidos sean posteriormente purificados (Rodríguez & Carmen, 2015).

Hidrólisis química básica

Esta hidrólisis se lleva a cabo con una base de NaOH diluido, en donde se sumerge el material lignocelulósico a una de temperatura de 60 °C por un tiempo de 24 horas. Se produce un hinchamiento de la biomasa y se obtienen reacciones como la saponificación (Sánchez Riaño, Gutiérrez Morales, Muñoz Hernández, & Rivera Barrero, 2010).

En la actualidad, la hemoglobina purificada puede ser hidrolizada siguiendo procesos enzimáticos, hidrólisis química ácida (con ácidos orgánicos o minerales), hidrólisis química básica o hidrólisis a muy altas presiones y temperaturas (Álvarez García, Carlos; Rendueles De La Vega, Manuel Y Díaz Fernández, 2014).

La hidrólisis proteica se realiza normalmente en un reactor, con control de variables, principalmente agitación, pH, temperatura y tiempo del proceso. El sustrato se disuelve o suspende en agua hasta que el pH y la temperatura se estabilizan; a continuación, se agrega la proteasa en caso de ser hidrólisis enzimática o algún tipo de ácido como ácido fosfórico o ácido sulfúrico en caso de ser

hidrólisis ácida. A medida que progresa la hidrólisis se produce una disminución del pH debido a la rotura de los enlaces peptídicos. En los casos de hidrólisis enzimática el pH debe ser mantenido en el óptimo de la enzima mediante la adición de base diluida. Para finalizar la hidrólisis proteica la enzima puede ser inactivada con calor, mediante una disminución del pH o con una combinación de ambos, o en su defecto puede ser retirada del medio mediante filtración. La proteína hidrolizada es finalmente precipitada y sometida a procesos de purificación (Rodríguez & Carmen, 2015).

Los procesos de hidrólisis se describen en las patentes (2 529 187) y (2 414 279). Por medio de cualquier de los procesos se puede llegar a obtención de aminoácidos libres de forma eficiente.

CONCLUSIONES

Los fertilizantes orgánicos a partir de sangre de camal son una alternativa muy eficiente para la nutrición vegetal, gracias a su alto contenido proteico y de hierro. Para que la nutrición sea eficiente es necesario hidrolizar las proteínas a aminoácidos, lo que aumenta la absorción. Deben realizarse en serie las diferentes hidrólisis para evitar la desnaturalización de las proteínas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez García, Carlos; Rendueles de la Vega, Manuel y Díaz Fernández, M. (2014). 2 414 279, (February).
Authority, F. D. (2014). Procedimiento para la producción de péptidos decolorados a partir de proteínas de origen animal, (March 2015). Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Carlos_Alvarez52/publication/273060045_Procedimiento_para_la_produccion_de_peptidos_decolorados_a_partir_de_proteinas_de_origen_animal/links/54f6d6b20cf2ca5efeff76ef/Procedimiento-para-la-produccion-de-peptidos-decolor
Asela, D., Del Puerto Rodríguez, M., Susana, D., Tamayo, S., Daniel, L., & Palacio Estrada, E. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 52(3), 372–387. https://doi.org/http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032014000300010
Benítez, R., Ibarz, A., & Pagan, J. (2008). Hidrolizados de proteína : procesos y aplicaciones Resumen.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, 42(2), 227–237. <https://doi.org/1851-6114>

Cabello Bravo, M. I. (2014). Química 3° a 4° medio., 450. Retrieved from https://educra.cl/wp-content/uploads/2015/04/Quimica_3y4_medio_2014-web.pdf

Castro, Sandra; Heredia, Antonio; Jimenez, Manuel; Fernandez, G. (n.d.). Hidrolisis.pdf. Retrieved August 21, 2018, from <https://docs.google.com/document/d/1nJKakJFJdmKwfHoteleU-kXNs7JQcaTeXQmRSU6IS0/mobilebasic>

Camacho, F., Guadix, E. M., & Prieto, C. A. (n.d.). Reacción De Hidrólisis. Retrieved from <https://www.unioviado.es/BIOTEC04/documents/Area18/18O2.pdf>.

Castro, Sandra; Heredia, Antonio; Jiménez, Manuel; Fernandez, G. (n.d.). Hidrolisis.pdf. Retrieved August 21, 2018, from <https://docs.google.com/document/d/1nJKakJFJdmKwfHoteleU-kXNs7JQcaTeXQmRSU6IS0/mobilebasic>

Chávez, M. C., Daniel, J., Mesa, B., Hernández, Y. T., Pérez, E. O., Prieto, A. S., ... Veterinaria, F. D. M. (2017). Nota Técnica Contenido de aminoácidos esenciales de un hidrolizado de proteína utilizado como suplemento en dieta de gallinas ponedoras, 29(1409190), 73–76.

Del, M., México, E. D. E., & El, D. (2016). No Title. Retrieved from <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/65781/TESIS-RMEM-03-16.pdf?sequence=3>

En, A., Rectificadora, U. N. a, & Centros, S. I. N. (2007). 8º Congreso Iberoamericano De Ingeniería Mecánica. 8º Congreso Iberoamericano De Ingeniería Mecánica, (18), 8. <https://doi.org/10.1016/j.riai.2012.02.005>

FAO. (2017). *El Estado de la Seguridad Alimentaria y la Nutrición en el mundo 2017*. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-l7695s.pdf>

Galarza, R., & Cairo, Y. (2013). Calidad nutricional de un producto extruido fortificado con dos niveles de hierro proveniente de harina de sangre bovina. *ECIPerú*, 10(1), 65–72.

García Hernández, J. L., Salazar Sosa, E., Orona Castillo, I., Fortis Hernández, M., & Trejo Escareño, H. I. (2010). *Agricultura Orgánica 3. Agricultura Orgánica. Tercera parte*

Gaviria Acosta, E., Benítez Benítez, R., Ienis, L., & Hoyos Concha, Jose L. (2015). Optimización de la hidrólisis enzimática de proteínas presentes en semillas de guandul (*Cajanus cajan*). *Biotechnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13(2), 114. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(13\)114-122](https://doi.org/10.18684/BSAA(13)114-122)

Guidi, A., & Arandia Quiroga, M. Z. (2010). Obtención de Pectina a Partir De la cascara de maracuya mediante Hidrólisis Ácida. *Journal Boliviano de Ciencias*, (4), 67–71. Retrieved from http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/jbc/v7n21/a14_v7n21.pdf

Instituto Nacional de Estadísticas y Censo. (2017). Índice_de publicacion_ESPAC_2017. Retrieved from <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas/>

Importancia, L. A., En, D. E. L. O. S. F., Agricultura, U. N. A., Productiva, A., & El, S. (n.d.). No Title, 1–4. Retrieved from <http://www.anffe.com/noticias/2008/2008-06-02-La-importancia-de-los-fertilizantes-en-una-agricultura-actual-productiva-y-sostenible/LA-IMPORTANCIA-DE-LOS-FERTILIZANTES.pdf>

Lazaro, A. (2017). Evaluación de la aceptabilidad de galletas nutricionales fortificadas a partir de harina de sangre de bovina para escolares de nivel primario que padecen anemia ferropénica, 133. Retrieved from <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/3015/lalarac.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Mab, C. (2017). *Plantas de beneficio animal*. Retrieved from <http://34.199.134.87/bitstream/handle/20.500.11786/33669/05887.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Oliva, J. (2003). *Efectos de los productos de degradación originados en la explosión por vapor de biomasa de chopo sobre Kluyveromyces marxianus*. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(03\)00220-5](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(03)00220-5).L
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura. (n.d.). ESS Website ESS : Seguridad alimentaria. Retrieved August 16, 2018, from <http://www.fao.org/economic/ess/ess-fs/es/>
- Pelcastre, V., Ramírez, S., Cruz, E. A., Hernández, M., Ruíz, A. K., & Vázquez, G. A. (2006). Aprovechamiento de Sangre Ovina para la Elaboración de un Sustituto de Empanizador, *10*(10), 1–3.
- Ramos, D., & Terry, E. (2014). Generalidades de los abonos orgánicos: importancia del bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas Review Generalities of the organic manures: Bocashi's importance like nutritional alternative for soil and plants. *Inca*, *35*(4), 52–59. <https://doi.org/1819-4087>
- Ramírez Lilido. (2006). La Volemia en animales domésticos. *Mundo Pecuario*, *1*, 4–5. Retrieved from http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/21950/2/articulo_2.pdf
- Reacci, L. (2012). Reacciones de, *3*, 1–9. Retrieved from <https://minificciones.files.wordpress.com/2012/08/13-reacciones-de-hidrc3b3lisis.pdf>.
- Rodríguez, A., & Carmen, M. Del. (2015). 2 529 187. Retrieved from <https://patentimages.storage.googleapis.com/8b/a8/ab/ee558754282415/ES2529187B1.pdf>
- Rodríguez, L., Gallardo, I., Nieblas, C., Medina, J., & Ortíz, W. (2015). Obtención de jarabes dextrinizados mediante hidrólisis enzimática del almidón de sorgo. *Revista Centro Azúcar*, *42*, 49–58. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/caz/v42n4/caz05415.pdf>
- Rojas López, M. D., Sánchez Uribe, J. D., & Londoño Vásquez, L. M. (2014). Una Estrategia de Innovación en Fertilizantes Orgánicos Mediante Lógica Difusa. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, *68*(1), 7423–7439. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v68n1.47829>.
- Salazar posada, C. (2012). Hidrólisis enzimática y su aplicación en alimentos, 35. Retrieved from www.tecnas.com.co
- Salvador, U. D. E. E. L., Una, E. D. E., Para, P., Utilización, E. Y., & Sangre, D. E. L. A. (2002). “elaboración de una propuesta para la eliminación y utilización de la sangre bovina provenientes de los rastros municipales de soyapango y mejicanos.” Retrieved from <http://ri.ues.edu.sv/6044/1/10103232.pdf>
- Sánchez Riaño, A. M., Gutiérrez Morales, A. I., Muñoz Hernández, J. A., & Rivera Barrero, C. A. (2010). Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos Bioethanol Production from agroindustrial lignocellulosic byproducts. *Tumbaga*, *5*, 61–91. Retrieved from <http://revistas.ut.edu.co/index.php/tumbaga/article/view/194/163>
- Senra, A. (2009). Impacto del manejo del ecosistema del pastizal en la fertilidad natural y sostenibilidad del suelo. *Avances En Linvestigacion Agropecuaria*, *13*(2), 3–15. Retrieved from <http://ww.ucol.mx/revaia/portal/pdf/2009/mayo/1.pdf>
- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M., & Haan, C. (2009). *La larga sombra del ganado problemas ambientales y opciones*. *Environmental Modeling and Assessment* (Vol. 14). <https://doi.org/10.1007/s10666-008-9149-3>
- Universitaria, C. (2018). La sangre animal en el mundo , Capitulo Uno, *1*, 1–18. Retrieved from <https://www.engormix.com/balanceados/articulos/sangre-animal-mundo-capitulo-t30697.htm>

Pleurotus ostreatus: una seta con potencial.

Pleurotus ostreatus: a mushroom with potential

Astrid Stefanía Duarte Trujillo¹, Julio Amilcar Pineda Insuasti², Magdiel García Juárez³, Camila Alejandra González Trujillo³

¹ Organización Micológica Internacional (OMI). Florencia, Colombia.

² Centro Ecuatoriano de Biotecnología y Ambiente (CEBA). Ibarra, Ecuador.

³ Productora de Champiñones Carbonero-Jacales. Veracruz, México.

⁴ Universidad de los Llanos. Villavicencio, Colombia.

Autor para correspondencia: stefan-ing.agroind@hotmail.com

Recibido: julio 15 de 2018

Aceptado: agosto 26 de 2018

RESUMEN

Pleurotus ostreatus es el segundo hongo más cultivado a nivel mundial, por ello, este artículo pretende abarcar información relacionada con su producción y propiedades medicinales. Se concluyó que es una seta con gran potencial en la industria farmacéutica, gracias a los diferentes metabolitos bioactivos que produce.

PALABRAS CLAVE: actividad biológica, FES, FEL, seta ostra.

ABSTRACT

Pleurotus ostreatus is the second most cultivated mushroom in the world, therefore, this article aims to cover information related to its production and medicinal properties. It was concluded that it is a mushroom with great potential in the pharmaceutical industry, due to the different bioactive metabolites that it produces.

KEYWORDS: biological activity, SSF, LSF, oyster mushroom.

INTRODUCCIÓN

La tasa de mortalidad mundial para el 2014 fue de aproximadamente 7,89 muertes por cada mil habitantes (CIA, 2014), lo que representa según cálculos de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2012) alrededor de 56 millones de personas. Un 23% de las muertes se ocasionaron por enfermedades transmisibles, principalmente las provocadas por virus y bacterias, que según estadísticas tuvieron más impacto en países subdesarrollados y en vía de desarrollo; situación que se ve agravada por el

auge de las enfermedades tropicales. A esto se suma el envejecimiento acelerado de la población y el aumento de la carga de enfermedades crónicas, lo que ha 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 (Valverde, Hernández-Perez, y Paredes-López, 2013)

La seta ostra (*Pleurotus spp.*), también llamada orellana, es el segundo hongo comestible más cultivado en el mundo, después del champiñón blanco (*Agaricus bisporus*), que abarca aproximadamente el 64% de la producción. Se reporta una producción mundial de orellanas de 1,5 millones de toneladas por año, que sigue en aumento debido a las propiedades nutricionales y medicinales que se le han otorgado (AMRC, 2014; Shah, Ashraff y Ishtiaq, 2004; Suárez y Nieto, 2016).

Pleurotus spp. produce varias sustancias bioactivas, dentro de las cuales Stamets (2002) destaca tres: la estatina (3-Hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A-reductasa), que al ser un análogo de la lovastatina promueve la disminución del colesterol en la sangre (Bobek, Ozdín, y Mikus, 1995); la ubiquitina, que es una proteína con acción inhibitoria sobre la actividad del VIH (Wang y Ng, 2000); y el pleurán, un β -glucano que es inmunomodulador (Milos Jesenak et al., 2013).

Dada la actividad inmunomoduladora de los betaglucanos de *Pleurotus spp.* se reconoce su potencial en la industria farmacéutica para combatir las enfermedades transmisibles, ya que tras un mal uso a largo plazo de los medicamentos convencionales los patógenos han mutado genéticamente y creado resistencia (Gao, Zhou, Wang, y Xu, 2003; Mazodier y Davies, 1991). Así mismo, los otros constituyentes del hongo representan una forma natural promisorio de contrarrestar las enfermedades crónicas debido a la versatilidad de actividades biológicas reportadas.

Bajo este contexto, el objetivo de este artículo es abarcar información relacionada con la producción y propiedades medicinales de *Pleurotus ostreatus* que promuevan su aprovechamiento.

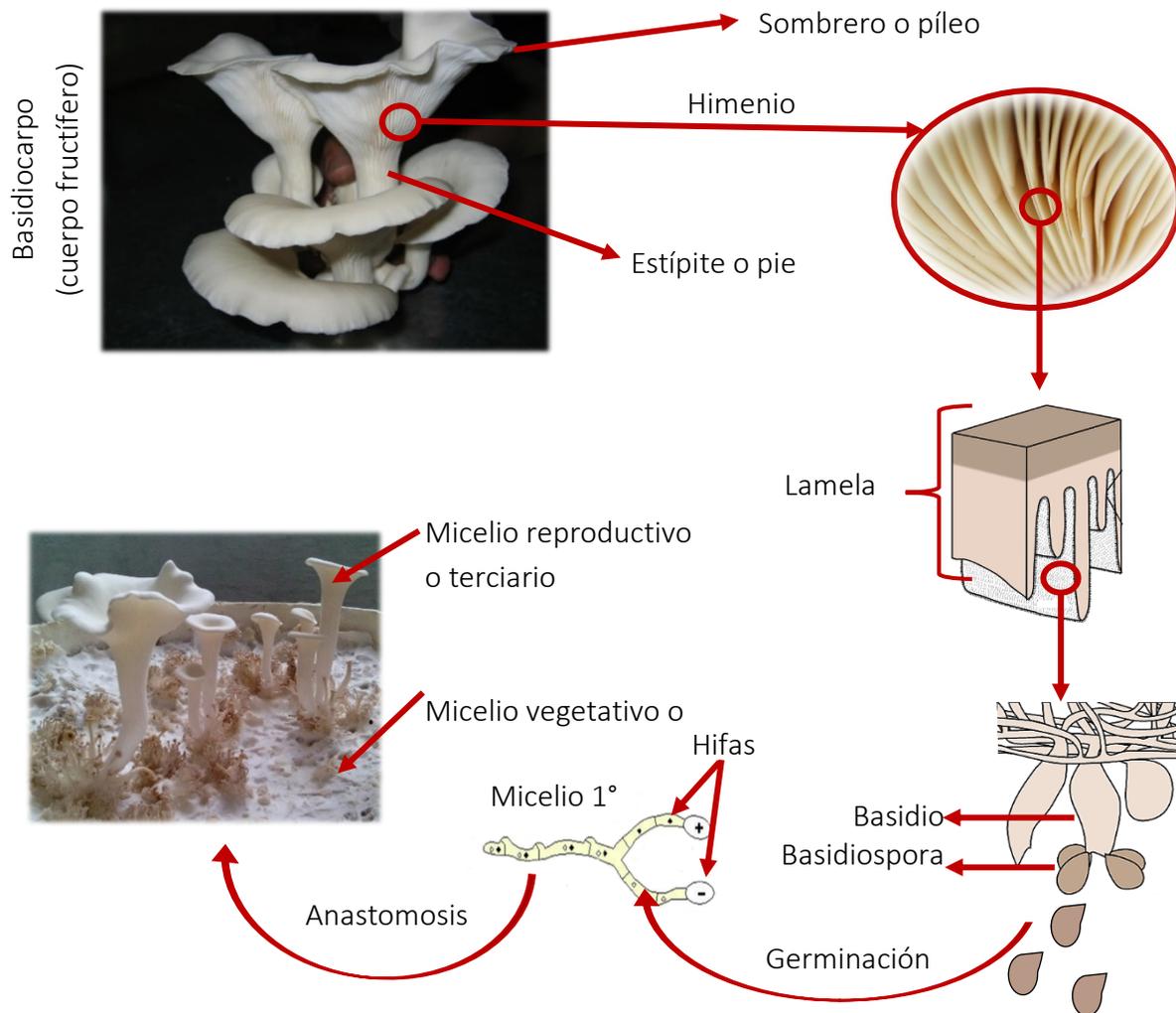
GENERALIDADES

Pleurotus es un género de hongos Basidiomycota del orden de los Agaricales definido por Paul Kummer en 1871 (Knop, Yarden, y Hadar, 2015). Generalmente se conocen como “setas ostra”, “gírgolas” u “orellanas”. Se pueden encontrar de forma natural en los bosques tropicales y subtropicales o producirse experimental y/o comercialmente (Bonatti, Karnopp, Soares, & Furlan, 2004). En la figura 1 se ilustra su ciclo de vida.

Las setas ostra son xilófagas, pertenecientes al grupo de hongos de pudrición blanca, que descompone la celulosa, hemicelulosa y lignina de la madera en componentes de bajo peso molecular que puedan ser asimilados para su crecimiento y reproducción (Elisashvili, Penninckx, Kachlishvili, Asatiani, y Kvesitadze, 2006). Por ende, son los principales organismos responsables del reciclaje de carbono en los ecosistemas. Como descomponedores primarios son capaces de colonizar diversos residuos vegetales gracias a su sistema enzimático de β -glucosidasas, celulasas, xilanasas, Lignin-peroxidasas (LIP), Manganeso- peroxidasas (MNP) y lacasas (Lac); éstas últimas en mayor proporción (Massadeh, Fraija, y Fandib, 2010; Palmieri, Giardina, Bianco, Fontanella, y Sannia, 2000; Reddy, Ravindra Babu, Komaraiah, Roy, y Kothari, 2003).

Debido al fácil cultivo de *Pleurotus spp.*, muchas de sus enzimas son producidas a escala industrial con aplicaciones en la industria de detergentes, almidón, bebidas, alimentos, industria textil, alimentación animal, pulpa y papel, cuero, productos químicos y productos biomédicos (Dumsday, 2008; Elisashvili et al., 2006).

Figura 1. Basidiocarpo de *Pleurotus* spp. y sus partes con el ciclo de vida.



FUENTE: diseño del autor, fotografías cortesía de Camilo Pineda Soto e ilustraciones tomadas de: <https://goo.gl/LXZv1h>, <https://goo.gl/qdDwTW>

ESPECIES

Según el índice Fungorum (www.speciesfungorum.org/) ya se han investigado 202 especies, aunque, las más reconocidas son *P. ostreatus* y *P. pulmonarius*, ya que son las más cultivadas (Corrêa *et al.*,

2016) y presentan tanto la mayor eficiencia de degradación de celulosa como el tiempo de producción más corto, según figuras 2 y 3.

Donde, cp: *P. corconucopiae*, cs: *P. cystidiosus*, dr: *P. dryinus*, er: *P. eryngii*, op: *P. opuntiae*, os: *P. ostreatus*, pl: *P. pulmonarius*.

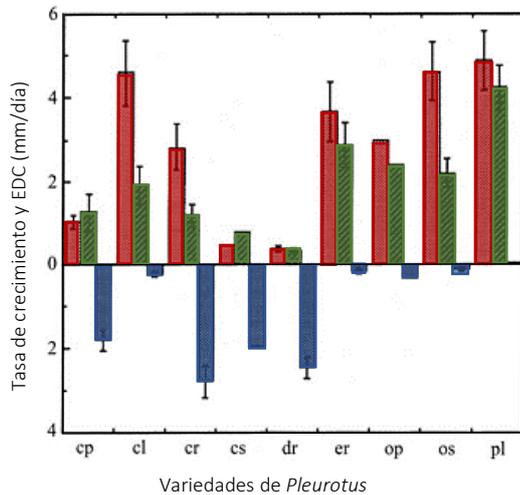


Figura 2. Tasas de crecimiento en PDA (□) y en CM (□), y Eficacia de Degradación de Celulosa (CDE) (□) de nueve especies de *Pleurotus* spp.

FUENTE: (Zervakis y Balis, 1996)

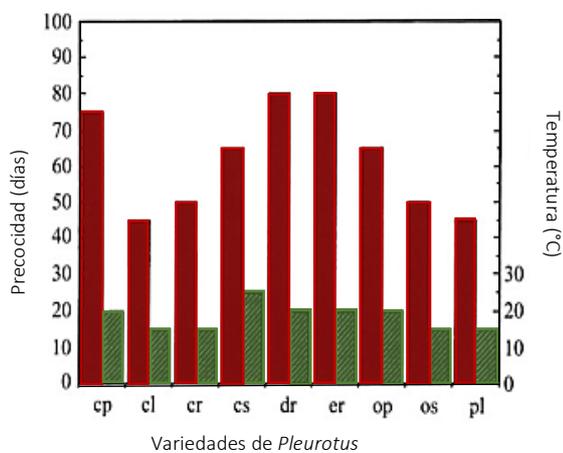


Figura 3. Precocidad (□) y temperatura óptima (□) para la producción del cuerpo fructífero de nueve especies de *Pleurotus* spp.

FUENTE: (Zervakis y Balis, 1996)

Pleurotus ostreatus

Morfológicamente, se caracteriza por tener un píleo plano a ligeramente convexo y semicircular, de color gris cálido a marrón (ver figura 4), con un tamaño que puede variar de 4 a 16 cm. Sus lamelas son delgadas y se encuentran en la parte inferior del píleo, donde se une al estípite. Su estípite o tallo puede ser liso o veloso, lateral o excéntrico, y medir entre 0,5 a 4,0 cm de grosor. Su carne es

firme, elástica, frágil, de color blanco a crema y sabor suave. Sus basidiosporas son cilíndricas, de pared delgada y unas medidas entre 6,5 a 15,5 μm de largo por 3,0 a 5,0 μm de ancho. Sus basidios, son también cilíndricos y de pared delgada, con apículos que miden entre 20 a 45 μm de largo por 4,0 a 8,5 μm de ancho. Sus micelios presentan crecimiento radial, coloración blanca a crema, y un aspecto denso y algodonosos (Zervakis y Balis, 1996).



Figura 4. Basidiocarpo de *P. ostreatus*.

FUENTE: cortesía de Camilo Pineda Soto

CULTIVO

Pleurotus spp. se cultiva comercialmente sobre aserrín, sin embargo la reducción de las zonas forestales, el aumento de la consciencia de protección de bosques y el alto costo de éste sustrato lignocelulósico ha provocado la incorporación de residuos agroindustriales como las pajas de arroz y de trigo, lo que implica un menor costo de adquisición y una disminución del impacto ambiental (Liang, Wu, Shieh, y Cheng, 2009). También se ha evaluado el crecimiento de estos hongos saprófitos en otros sustratos, ya sea individuales o combinados, tal y como se relaciona en la tabla 1. Esta forma de cultivo se denomina Fermentación en Estado Sólido (FES) (García-Rollan, 1998).

Tabla 1. Residuos agroindustriales empleados como sustrato de cultivo de *Pleurotus* spp

Sustratos	Especie fúngica	Referencias
Paja de arroz y médula de coco; individualmente como combinados con residuos de digestor de biogás (BDR).	<i>P. florida</i> <i>P. flabellatus</i> .	(Chanakya, Malayil y Vijayalakshmi, 2015)
Residuos de naranja	<i>P. pulmonarius</i>	(Elisashvili <i>et al.</i> , 2006; Inácio, Ferreira, Giatti, y Souza, 2015)
Hojuelas de salvado de trigo, cáscaras de banano, paja de arroz y café molido.	<i>P. ostreatus</i>	(El-Batal, ElKenawy, Yassin, y Amin, 2015)
Cartón y papel de oficina.	<i>P. ostreatus</i> <i>P. citrinopileatus</i>	(Fernandes, Barros, Martins, Herbert, y Ferreira, 2015; Kulshreshtha, Mathur, Bhatnagar, y Kulshreshtha, 2013)
Torta de semillas de <i>Jatropha curcas</i> .	<i>P. ostreatus</i> .	(da Luz <i>et al.</i> , 2013)
Serrín de madera de caucho	<i>P. pulmonarius</i>	(Abdullah, Ismail, Johari, y Annuar, 2013)
Malezas secas con paja de arroz.	<i>P. ostreatus</i> .	(Das y Mukherjee, 2007)
Paja de arroz y de banana.	<i>P. ostreatus</i> <i>P. sajor-caju</i> .	(Bonatti <i>et al.</i> , 2004)
Pasto, pulpa de café e hidróxido de calcio.	<i>P. ostreatus</i> .	(Hernández, Sánchez y Yamasaki, 2003)
Tallo de algodón, fibra de coco, rastrojo de sorgo.	<i>P. sajor-caju</i> <i>P. citrinopileatus</i> <i>P. platypus</i>	(Ragunathan y Swaminathan, 2003)
Hojas de avellana, de tilia y de álamo europeo, paja de trigo, serrín de papel de desecho.	<i>P. ostreatus</i>	(Yildiz <i>et al.</i> , 2002)
Paja de arroz, rastrojo de maíz, bagazo de caña de azúcar, la médula de coco y una mezcla de estos.	<i>P. sajor-caju</i> <i>P. platypus</i> <i>P. citrinopileatus</i> .	(Ragunathan <i>et al.</i> , 1996)
Hojas de <i>Morus alba</i> y <i>Ricinus communis</i> .	<i>P. sajor-caju</i> .	(Madan, Vasudevan y Sharma, 1987)
Paja de arroz suplementado con semillas de algodón.	<i>P. sajor-caju</i> .	(Bisaria, Madan, y Bisaria, 1987)
Cascarilla de arroz y paja de trigo suplementadas con piedra caliza molida y SLR	<i>P. cornucopiae</i>	(Royse, 2002)
Grano de trigo y paja de trigo	<i>P. ostreatus</i>	(Sainos, Díaz, Loera, Montiel, y Sánchez, 2006)

FUENTE: el autor

A escala laboratorio se prefiere la Fermentación en Estado Líquido (FEL), donde el micelio crece como una capa flotante en medio estático o como pellet en medio agitado. La FEL es más viable que la FES porque favorece la homogeneidad de la solución, el control de variables, la recuperación de productos, la reproducibilidad de los experimentos, la remoción de calor, la transferencia de gases, entre otros aspectos (Suárez y Nieto, 2016).

En la tabla 2 se listan los principales medios empleados para su cultivo en medio líquido.

Tabla 2. Medios empleados para la Fermentación en Estado Líquido de *Pleurotus* spp.

Medio de cultivo	Especie	Referencias
Caldo de Dextrosa – Saboraud	<i>P. cystidiosus</i>	(Bonatti <i>et al.</i> , 2004; Khatun, 2015), Cakilcioglu, Guler, y Chatterjee, 2015).
Caldo de Dextrosa de Patata	<i>P. ostreatus</i>	Por lo tanto, según Mori, Rathi, y Kondo, 2013) colaboradores (2015) son de alto valor
Extracto de levadura - azúcar marrón	<i>P. pulmonarius</i>	gastronómico (Aydin <i>et al.</i> , 2013)
Efluente textil	<i>P. flabellatus</i>	nutricéuticos (Yang, Li, Li, Li, y Li, 2009),
Vinazas y extractos líquidos de pulpa de café	<i>P. ostreatus</i>	cosmocéuticos, nutritivos, cosméticos, entre otros. (Perez, Sabor, Blaz, y Kuriyama, 2006)
Medio Extracto de Malta	<i>P. calyptratus</i>	(Eichlerová, Homolka, Lisá, y Nerud, 2005)
Medio Kirk	<i>P. calyptratus</i>	principalmente polisacáridos y glicoproteínas, de los cuales los predominantes son la quitina, la hemicelulosa, α -glucanos y β -glucanos, que al ser los constituyentes de la pared celular del actúan como fibra dietética (Khan y Tania, 2012).

Fuente: el autor

El cultivo de *Pleurotus* es de gran interés, ya que presenta menor tiempo de producción en comparación con otros hongos comestibles, presenta bajos costos de producción porque se emplean residuos agroindustriales como sustrato, y el hongo es resistente a plagas y enfermedades (Bonatti *et al.*, 2004).

VALOR NUTRICIONAL

Las setas ostra son apreciadas por su agradable sabor y rico contenido nutricional, el cual se ve influenciado por parámetros como el grado de desarrollo y las condiciones pre y post-cosecha, que justifican la variabilidad de los datos en las investigaciones, así se trabaje con las mismas especies (Bano, Rajarathnam, y Steinkraus, 1988).

Por lo general, estas setas presentan altas cantidades de proteínas, hidratos de carbono, minerales (calcio, fósforo, hierro) vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina, calciferol) y antioxidantes (compuestos fenólicos, tocoferol y ácido ascórbico). También presentan bajo contenido de lípidos, no obstante, son fuente significativa de ácidos grasos

(oleico y saturados, principalmente)

(Bonatti *et al.*, 2004; Khatun, 2015), Cakilcioglu, Guler, y Chatterjee, 2015).

Por lo tanto, según Mori, Rathi, y Kondo, 2013) colaboradores (2015) son de alto valor

gastronómico (Aydin *et al.*, 2013)

nutricéuticos (Yang, Li, Li, Li, y Li, 2009),

cosmocéuticos, nutritivos, cosméticos, entre otros. (Perez, Sabor, Blaz, y Kuriyama, 2006)

(Eichlerová, Homolka, Lisá, y Nerud, 2005)

principalmente polisacáridos y glicoproteínas, de los cuales los

predominantes son la quitina, la hemicelulosa, α -glucanos y β -glucanos,

que al ser los constituyentes de la pared celular del actúan como fibra dietética

(Khan y Tania, 2012).

Además, constituyen una alternativa para sustituir la carne en una dieta vegetariana, ya que contienen todos los aminoácidos esenciales para el ser humano, y su contenido de proteína cruda a pesar de ser inferior al de la

carne es superior al de la mayoría de alimentos vegetales (Kakon, Choudhury, y Shusmita, 2012).

VALOR MEDICINAL

La evidencia científica reconoce el valor medicinal otorgado por la medicina tradicional a *Pleurotus* spp., como productor de metabolitos con propiedades antibióticas, antivirales, anticancerígenas, antitumorales, antiinflamatorias, inmunomoduladoras e hipocolesterolémicas. Se ha aislado a partir de la biomasa fúngica una gran cantidad de compuestos como lectinas, polisacáridos, polisacáridos péptidos, complejos de polisacárido-proteína, terpenoides, policétidos, ácidos grasos, entre otros. De la gran variedad de polisacáridos (carbohidratos) producidos por *Pleurotus* son de gran interés los beta-glucanos, principalmente por su actividad inmunomoduladora, aunque recientemente se han conocido nuevas bioactividades (Gomes-Corrêa *et al.*, 2016).

Por otro lado, las orellanas pueden ser usadas para la expresión de vacunas de bajo costo, luego de transformación mediada por *Agrobacterium* o transformación de protoplastos mediada por electroporación o tratamiento con polietilenglicol/CaCl₂ (Pérez, Acevedo, Bibbins, Galván, y Rosales, 2015).

SUSTANCIAS BIOACTIVAS

Polisacáridos

Los polisacáridos más abundantes son quitina, hemicelulosas, α -glucanos, β -glucanos, mananos, xilanos y galactanos, que al igual que los polisacáridos originados de otros productos

alimenticios, contribuyen al proceso de digestión como fibras dietéticas solubles o insolubles, dependiendo de su estructura molecular y conformación (Synytsya *et al.*, 2009). Su bioactividad varía conforme a diferentes propiedades como la solubilidad en agua, el peso molecular, la velocidad de ramificación y la estructura (Wasser, 2002). La inmunidad se exhibe por una serie de glicanos que se extienden desde los homopolímeros hasta los heteropolímeros altamente complejos, siendo necesarios los enlaces β -1,3 y la estructura terciaria. La fuente principal de polisacáridos biológicamente activos parece ser las paredes celulares de hongos que consisten principalmente de complejos quitina-glucano, aunque la quitina no tenga actividad inmunomoduladora (Devi *et al.*, 2013; Synytsya *et al.*, 2009).

Los alfa-glucanos desempeñan múltiples funciones biológicas y tienen un inmenso potencial en las industrias de la salud, alimentos y cosméticos debido a sus efectos terapéuticos y su toxicidad relativamente baja (Shi, 2016). Algunos de los α -glucanos reportados en la literatura para son los siguientes: cadena lineal de glucosa unida por enlaces α -1,3 (Synytsya *et al.*, 2009); cadena lineal de glucosa unida por enlaces α -1,4; cadena principal de galactosa unida por enlaces α -1,3- α -1,6 (Palacios *et al.*, 2012); cadena principal de galactosa unida por enlaces α -1,6 con ramificaciones de glucosa α -1,2- α -1,6 (Sun y Liu, 2009), entre otros, las cuales han exhibido diferentes actividades biológicas: antioxidante (Zhang, Dai, Kong, y Chen, 2012), inmunomoduladora, antitumoral (Kong *et al.*, 2014), dislipidémica (Yan Zhang *et al.*, 2017), antidemencial (Yan Zhang *et al.*, 2016), antidiabética (Yan

y glutamina (Facchini *et al.*, 2014), antihipertensiva por el ácido γ -aminobutírico (L. Chen *et al.*, 2014), antioxidante por el glutatión (tripéptido formado por glutamato, cisteína y glicina) (Kalaras *et al.*, 2017).

Las lectinas son proteínas de origen no inmune o glicoproteínas, que son capaces de inducir la aglutinación celular, por lo que su principal función es mediar la respuesta inmunitaria (Brechtel, Wätzig, y Rüdiger, 2001). Se ha demostrado que las lectinas de *P. ostreatus* tienen actividad biológica inmunomoduladora (W. Gao *et al.*, 2013), antifatulenta (Brechtel *et al.*, 2001), antioxidante (Rana *et al.*, 2012), anticancerígena (específicamente hepatoma y carcinoma) (H. Wang, Gao, y Ng, 2000), supresora de la ingesta de alimentos (Kawagishi *et al.*, 2000), e inductora de la actividad fosfatasa, importante en la síntesis de proteínas y la calcificación del sistema óseo (Conrad y Rüdiger, 1994).

La glicoproteína con secuencia terminal del tipo ubiquitina expresa actividad inhibidora hacia la transcriptasa inversa del Virus de la Inmunodeficiencia Humana 1 (VIH-1), lo cual podría potenciarse mediante succinilación (H. X. Wang y Ng, 2000). Las glicoproteínas altamente glicosiladas o proteoglicanos, muestran actividad antitumoral (Facchini *et al.*, 2014) y prebiótica (Synytsya *et al.*, 2009).

Enzimas como la Catalasa (CAT), Superóxido Dismutasa (SOD), Glutatión Peroxidasa (Gpx) y Glutatión S-Transferasa (GST) presentan actividad antioxidante. Son capaces de aliviar la citotoxicidad causada por Tetracloruro de Carbono (CCl₄) en los riñones, el corazón y el cerebro (Jayakumar *et al.*,

2008). La lacasa presenta actividad antiviral frente al Virus de la Hepatitis C (VHC), mostrando una eficacia de aproximadamente el 50% (El-fakharany *et al.*, 2010) y degrada tanto el Bisfenol A (BPA) como las aflatoxinas, que son compuestos tóxicos y mutagénicos que contaminan los alimentos (Alberts *et al.*, 2009; C. Zhang *et al.*, 2015).

Lípidos

El ácido linoleico de *P. ostreatus* tiene la capacidad de absorber radicales de oxígeno e inhibir la Ciclooxygenasa (COX), por lo que influye positivamente en el perfil lipídico de los pacientes (Schneider *et al.*, 2011).

El ergosterol, esteroide precursor de la vitamina D2 (ergocalciferol) presente en la membrana celular, muestra actividad antiinflamatoria, antioxidante, cardiovascular, antimicrobiana y antitumoral (Facchini *et al.*, 2014; Hashim *et al.*, 2016). Derivados bioactivos del ergosterol como el ergosta-4,6,8,22-tetraen-3-1 y ésteres de ácidos grasos presentan actividad hipocolesterolemica (Chobot *et al.*, 1997).

Las hormonas esteroides como la testosterona, androstenediona, progesterona y sus productos metabólicos acetato de testosterona y testololactona tienen potencial como reguladores hormonales, ya que *P. ostreatus* expresa constitutivamente 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 β -HSD) (Plemenitaš *et al.*, 1999).

Las saponinas de *P. ostreatus* son importantes por su actividad biológica hipoglicémica (Tochukwu, Monago, & Chuku, 2016) y antioxidante (Unekwu, Adu, Makun, & Chidi, 2014).

Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos del hongo exhiben por lo general actividad antioxidante (Cilerdzic *et al.*, 2015), aunque también se reporta actividad biológica hipoglicémica (Tochukwu, Monago, y Chuku, 2016) y efectos inhibidores de tirosinasa, una enzima que cataliza la producción de melanina y de otros pigmentos de oxidación de la tirosina, los cuales provocan el oscurecimiento de la piel y/o la aparición de manchas (Alam *et al.*, 2010).

Los taninos hidrolizables como la catequina han mostrado actividad antioxidante (Unekwu *et al.*, 2014) e inmunomoduladora, siendo eficaces en la activación de macrófagos, la hematopoyesis y la estimulación de la inmunidad humoral (Llauradó *et al.*, 2016).

Diversos estudios han afirmado que tanto los flavonoides como las antocianinas (glucósidos de las antocianidinas) de *P. ostreatus* presentan actividad biológica hipoglicémica (Tochukwu *et al.*, 2016), mientras la miricetina presenta propiedades antioxidantes (Papaspayridi *et al.*, 2011). No obstante, una investigación realizada recientemente aseveró que los flavonoides no se producen en el reino fungi, ya que no se encuentran en las bases de datos genómicas secuencias que codifiquen chalcona sintasa o chalcona isomerasa (enzimas clave implicadas en la ruta biosintética del flavonoide), incluso en hongos completamente secuenciados; además, el 91% de las publicaciones efectuadas hasta la fecha utilizaron un método colorimétrico de cuantificación de flavonoides específico para plantas,

no para hongos (Gil-Ramírez *et al.*, 2016).

El ácido 4-hidroxi-benzoico, derivado fenólico del ácido benzoico, muestra potente actividad antioxidante, al igual que los ácidos hidroxicinámicos ferúlico y *p*-cumárico (Gasecka *et al.*, 2015; Papaspayridi *et al.*, 2011).

Terpenos

Los terpenos de *Pleurotus ostreatus* han mostrado actividad biológica antioxidante (Unekwu *et al.*, 2014). El escualeno (2,6,10,15,19,23-hexametiltetracosahexano) es un terpeno presente en *P. ostreatus* (Yusef, Threlfall, y Goodwin, 1965), con diversas funciones biológicas como la prevención del deterioro celular, la mejora de la inmunidad y la reducción del perfil lipídico, ya que es intermediario del colesterol (W. Zhang *et al.*, 2008).

La ubiquinona o Coenzima Q10 (2,3-dimetoxi-5-metil-6-decaprenil-1,4-benzoquinona) es un politerpeno también presente en *P. ostreatus* (Yusef *et al.*, 1965), que cumple dos funciones principales en el organismo: transportar electrones durante el metabolismo energético de la célula y servir como antioxidante, por lo que contrarresta el deterioro celular (Hathcock y Shao, 2006).

Vitaminas

P. ostreatus puede sintetizar las dos formas de vitamina B3, ácido nicotínico y nicotinamida, constituyendo per se un suplemento nutricional (Papaspayridi *et al.*, 2011). La vitamina B3 es una coenzima esencial implicada en las reacciones redox del metabolismo celular (W. P. Sun *et al.*, 2017).

Se reporta que *P. ostreatus* sintetiza Vitamina D en forma de ergocalciferol (D₂), lumisterol, tachysterol y 22-Dihidroergocalciferol (D₄), la cual juega un rol importante en la homeostasis ósea y neuromuscular del humano, así como en la protección cardiovascular (Huang, Lin, y Tsai, 2015; Krings y Berger, 2014; Taofiq *et al.*, 2017).

P. ostreatus produce también carotenoides como el β-caroteno y el licopeno (ψ-Caroteno), isoprenoides de gran importancia porque son supresores de radicales libres que evitan la oxidación del colesterol, reduciendo así el daño oxidativo de los tejidos (Vamanu, 2013).

Estatinas

P. ostreatus sintetiza policétidos como las estatinas. La lovastatina o mevinolina

es un tipo de estatina que inhibe la HMG-CoA reductasa (HMGCR), enzima que regula la velocidad de producción del colesterol, por lo que reduce el riesgo de enfermedades coronarias (S. Y. Chen *et al.*, 2012). A su vez, la inhibición de HMGCR controla la producción de mevalonato y metabolitos posteriores que recientemente se identificaron como implicados en el crecimiento y la apoptosis en muchos tipos de cáncer (Kim, Jang, Nam, y Kang, 2017).

CONCLUSIONES

Pleurotus spp. es una seta con gran potencial en la industria farmacéutica, gracias a los diferentes metabolitos bioactivos que produce. Además, su cultivo por Fermentación en Estado Sólido (FES) es económico, rápido y amigable con el medio ambiente.

REFERENCIAS

- Abdullah, N., Ismail, R., Johari, N. M. K., & Annuar, M. S. M. (2013). Production of liquid spawn of an edible grey oyster mushroom, *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél by submerged fermentation and sporophore yield on rubber wood sawdust. *Scientia Horticulturae*, *161*, 65–69. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.06.026>
- Agricultural Marketing Resource Center, A. (2014). Mushrooms profile. Retrieved from <http://www.agmrc.org/commodities-products/specialty-crops/mushrooms-profile/>
- 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>
- Alberts, J. F., Gelderblom, W. C. A., Botha, A., & van Zyl, W. H. (2009). Degradation of aflatoxin B1 by fungal laccase enzymes. *International Journal of Food Microbiology*, *135*(1), 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.07.022>
- Baggio, C. H., Freitas, C. S., Martins, D. F., Mazzardo, L., Smiderle, F. R., Sasaki, G. L., ... Santos, A. R. S. (2010). Antinociceptive effects of (1→3),(1→6)-linked β -glucan isolated from *Pleurotus pulmonarius* in models of acute and neuropathic pain in mice: evidence for a role for glutamatergic receptors and cytokine pathways. *The Journal of Pain : Official Journal of the American Pain Society*, *11*(10), 965–971. <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2010.01.005>
- Bano, Z., Rajarathnam, S., & Steinkraus, K. H. (1988). *Pleurotus* mushrooms. Part II . Chemical composition , nutritional value , post-harvest physiology , preservation , and role as human food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *27*(2), 87–158. <https://doi.org/10.1080/10408398809527480>
- Bergendiova, K., Tibenska, E., & Majtan, J. (2011). Pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) supplementation, cellular immune response and respiratory tract infections in athletes. *European Journal of Applied Physiology*, *111*(9), 2033–2040. Retrieved from <http://link.springer.com/article/10.1007/s00421-011-1837-z>
- Bisaria, R., Madan, M., & Bisaria, V. S. (1987). Biological efficiency and nutritive value of *Pleurotus sajor-caju* cultivated on different agro-wastes. *Biological Wastes*, *19*(4), 239–255. [https://doi.org/10.1016/0269-7483\(87\)90058-9](https://doi.org/10.1016/0269-7483(87)90058-9)
- Bobek, P., Ozdín, O., & Mikus, M. (1995). Dietary oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) accelerates plasma cholesterol turnover in hypercholesterolaemic rat. *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, *44*(5), 287–291. Retrieved from <http://europepmc.org/abstract/MED/8869262>
- Bonatti, M., Karnopp, P., Soares, H. ., & Furlan, S. . (2004). Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chemistry*, *88*(3), 425–428. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.050>
- Brechtel, R., Wätzig, H., & Rüdiger, H. (2001). The lectin from the mushroom *Pleurotus ostreatus*: A phosphatase-activating protein that is closely associated with an α -galactosidase activity: A part of this paper has been presented as a preliminary report at the 17th interlec. Meeting 1997 in Würzburg,. *Plant Science*, *160*(5), 1025–1033. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00349-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00349-1)

- CENTRAL INTELLIGENCE AGENCY (CIA). (2014). The World Factbook. Retrieved from <https://www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/fields/2066.html>
- Chanakya, H. N., Malayil, S., & Vijayalakshmi, C. (2015). Cultivation of *Pleurotus* spp. on a combination of anaerobically digested plant material and various agro-residues. *Energy for Sustainable Development*, 27, 84–92. <https://doi.org/10.1016/j.esd.2015.04.007>
- Chen, L., Xu, W., Lin, S., & Cheung, P. C. K. (2014). Cell wall structure of mushroom sclerotium (*Pleurotus tuber regium*): Part 1. Fractionation and characterization of soluble cell wall polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 36, 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.09.023>
- Chen, S. Y., Ho, K. J., Hsieh, Y. J., Wang, L. T., & Mau, J. L. (2012). Contents of lovastatin, γ -aminobutyric acid and ergothioneine in mushroom fruiting bodies and mycelia. *LWT - Food Science and Technology*, 47(2), 274–278. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.019>
- Chobot, V., Opletal, L., Jahodar, L., Patel, A. V., Dacke, C. G., & Blunden, G. (1997). ergosta-4,6,8,22-tetraen-3-one From the edible fungus, *Pleurotus ostreatus* (oyster fungus). *Nutrition*, 45(8), 1669–1671. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00249-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00249-5)
- Cilerdzic, J., Stajic, M., Vukojevic, J., Milovanovic, I., & Muzgonja, N. (2015). Antioxidant and Antifungal Potential of *Pleurotus ostreatus* and *Agrocybe cylindracea* Basidiocarps and Mycelia. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 17(2), 179–186. Retrieved from <http://www.ingentaconnect.com/content/ben/cpb/2015/00000016/00000002/art00010>
- Conrad, F., & Rüdiger, H. (1994). The lectin from *Pleurotus ostreatus*: Purification, characterization and interaction with a phosphatase. *Phytochemistry*, 36(2), 277–283. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)97061-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97061-4)
- da Luz, J. M. R., Paes, S. A., Torres, D. P., Nunes, M. D., da Silva, J. S., Mantovani, H. C., & Kasuya, M. C. M. (2013). Production of edible mushroom and degradation of antinutritional factors in jatropha biodiesel residues. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 575–580. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.006>
- Das, N., & Mukherjee, M. (2007). Cultivation of *Pleurotus ostreatus* on weed plants. *Bioresource Technology*, 98(14), 2723–2726. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.09.061>
- 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>
- Devi, K. S. P., Roy, B., Patra, P., Sahoo, B., Islam, S. S., & Maiti, T. K. (2013). Characterization and lectin microarray of an immunomodulatory heteroglucan from *Pleurotus ostreatus* mycelia. *Carbohydrate Polymers*, 94(2), 857–865. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.017>
- Dulay, R. M. R., Ray, K., & Hou, C. T. (2015). Optimization of liquid culture conditions of Philippine wild edible mushrooms as potential source of bioactive lipids. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(3), 409–415. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2015.04.003>
- Dumsday, G. (2008). Using biology to add value to waste lignin streams, 29(1), 21–24. Retrieved from <http://microbiology.publish.csiro.au/paper/MA08021.htm>
- Eichlerová, I., Homolka, L., Lisá, L., & Nerud, F. (2005). Orange G and Remazol Brilliant Blue R decolorization by white rot fungi *Dichomitus squalens*, *Ischnoderma resinsum* and *Pleurotus calyptratus*. *Chemosphere*, 60(3), 398–404. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.12.036>
- El-Batal, A. I., ElKenawy, N. M., Yassin, A. S., & Amin, M. A. (2015). Laccase production by *Pleurotus ostreatus* and its application in synthesis of gold nanoparticles. *Biotechnology*

- Reports*, 5, 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2014.11.001>
- El-fakharany, E. M., Haroun, B. M., Ng, T. B., & Redwan, E. M. (2010). Oyster Mushroom Laccase Inhibits Hepatitis C Virus Entry into Peripheral Blood Cells and Hepatoma Cells. *Protein & Peptide Letters*, 17(1), 1031–1039. <https://doi.org/10.2174/092986610791498948>
- Elisashvili, V., Penninckx, M., Kachlishvili, E., Asatiani, M., & Kvesitadze, G. (2006). Use of *Pleurotus dryinus* for lignocellulolytic enzymes production in submerged fermentation of mandarin peels and tree leaves. *Enzyme and Microbial Technology*, 38(7), 998–1004. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.08.033>
- Facchini, J. M., Alves, E. P., Aguilera, C., Gerna, R. M. M., Lange-Silveira, M. L., Wisbeck, E., & Furlana, S. A. (2014). Antitumor activity of *Pleurotus ostreatus* polysaccharide fractions on Ehrlich tumor and Sarcoma 180. *International Journal of Biological Macromolecules*, 68, 72–77. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2014.04.033>
- Fernandes, Â., Barros, L., Martins, A., Herbert, P., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Nutritional characterisation of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) P. Kumm. produced using paper scraps as substrate. *Food Chemistry*, 169, 396–400. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.027>
- Gao, W., Sun, Y., Chen, S., Zhang, J., Kang, J., Wang, Y., ... Kang, Y. (2013). Mushroom lectin enhanced immunogenicity of HBV DNA vaccine in C57BL/6 and HBsAg-transgenic mice. *Vaccine*, 31(18), 2273–2280. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.02.062>
- Gao, Y. H., Zhou, S., Wang, M., & Xu, A. (2003). Antibacterial and antiviral value of the genus *Ganoderma* P. Karst. Species (Aphyllorphomycetidae): A review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 5(3), 235–246. <https://doi.org/10.1615/InterJMedicMush.v5.i3.20>
- García-Rollan, M. (1998). *Cultivo de setas y trufas* (3rd ed.). Madrid: Mundi-Prensa libros. Retrieved from <http://setas.servidor-alicante.com/bibliografia/cultivo-de-setas-y-trufas-mariano-garcia-rollan>
- Gasecka, M., Mleczek, M., Siwulski, M., Niedzielski, P., & Kozak, L. (2015). The effect of selenium on phenolics and flavonoids in selected edible white rot fungi. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), 726–731. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.046>
- Gil-Ramírez, A., Pavo-Caballero, C., Baeza, E., Baenas, N., Garcia-Viguera, C., Marín, F. R., & Soler-Rivas, C. (2016). Mushrooms do not contain flavonoids. *Journal of Functional Foods*, 25, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.05.005>
- 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>
- Hashim, S. N. N. S., Schwarz, L. J., Danylec, B., Mitri, K., Yang, Y., Boysen, R. I., & Hearn, M. T. W. (2016). Recovery of ergosterol from the medicinal mushroom, *Ganoderma tsugae* var. *Janniae*, with a molecularly imprinted polymer derived from a cleavable monomer-template composite. *Journal of Chromatography A*, 1468, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.09.004>
- Hathcock, J. N., & Shao, A. (2006). Risk assessment for coenzyme Q10 (Ubiquinone). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 45(3), 282–288. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2006.05.006>
- Hernández, D., Sánchez, J. E., & Yamasaki, K. (2003). A simple procedure for preparing substrate for *Pleurotus ostreatus* cultivation. *Bioresource Technology*, 90(2), 145–150. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(03\)00118-4](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00118-4)

- 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>
- Inácio, F. D., Ferreira, R. O., Giatti, C., & Souza, M. De. (2015). Production of Enzymes and Biotransformation of Orange Waste by Oyster Mushroom, *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél., 5(1), 1–8. <https://doi.org/10.4236/aim.2015.51001>
- Jayakumar, T., Sakthivel, M., Thomas, P. A., & Geraldine, P. (2008). *Pleurotus ostreatus*, an oyster mushroom, decreases the oxidative stress induced by carbon tetrachloride in rat kidneys, heart and brain. *Chemico-Biological Interactions*, 176(2–3), 108–120. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.08.006>
- Jesenak, M., Hrubisko, M., Majtan, J., Rennerova, Z., & Banovcin, P. (2014). Anti-allergic effect of Pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) in children with recurrent respiratory tract infections. *Phytotherapy Research*, 28(3), 471–474. <https://doi.org/10.1002/ptr.5020>
- Jesenak, M., Majtan, J., Rennerova, Z., Kyselovic, J., Banovcin, P., & Hrubisko, M. (2013). Immunomodulatory effect of pleuran (β -glucan from *Pleurotus ostreatus*) in children with recurrent respiratory tract infections. *International Immunopharmacology*, 15(2), 395–399. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2012.11.020>
- Kakon, A., Choudhury, M. B. K., & Shusmita, S. (2012). Mushroom is an ideal food supplement. *Journal of Dhaka National Medical College & Hospital*, 18(1), 58–62. <https://doi.org/10.3329/jdnmch.v18i1.12243>
- Kalaras, M. D., Richie, J. P., Calcagnotto, A., & Beelman, R. B. (2017). Mushrooms : A rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione. *Food Chemistry*, 233, 429–433. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.109>
- Kawagishi, H., Suzuki, H., Watanabe, H., Nakamura, H., Sekiguchi, T., Murata, T., ... Nagata, T. (2000). A lectin from an edible mushroom *Pleurotus ostreatus* as a food intake-suppressing substance. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1474(3), 299–308. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(00\)00027-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(00)00027-1)
- Khan, A. A., Gani, A., Masoodi, F. A., Mushtaq, U., & Naik, A. S. (2017). Structural, rheological, antioxidant, and functional properties of β -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>
- Khan, M. A., & Tania, M. (2012). Nutritional and Medicinal Importance of *Pleurotus* Mushrooms: An Overview. *Food Reviews International*, 28(3), 313–329. <https://doi.org/10.1080/87559129.2011.637267>
- Khatun, S., Islam, A., Cakilcioglu, U., Guler, P., & Chatterjee, N. C. (2015). Nutritional qualities and antioxidant activity of three edible oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.). *NJAS - Wageningen Journal of Life Sciences*, 72, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.njas.2012.03.003>
- Kim, G., Jang, S.-Y., Nam, C. M., & Kang, E. S. (2017). Statin use and the risk of hepatocellular carcinoma in patients at high risk: a nationwide nested case-control study. *Journal of Hepatology*. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.10.018>
- Knop, D., Yarden, O., & Hadar, Y. (2015). The ligninolytic peroxidases in the genus *Pleurotus*: divergence in activities, expression and potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99, 1025–1038.
- Kong, F., Li, F. e., He, Z., Jiang, Y., Hao, R., Sun, X., & Tong, H. (2014). Anti-tumor and macrophage activation induced by alkali-extracted polysaccharide from *Pleurotus ostreatus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, 561–566. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.05.045>

- Krings, U., & Berger, R. G. (2014). Dynamics of sterols and fatty acids during UV-B treatment of oyster mushroom. *Food Chemistry*, *149*, 10–14. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.064>
- Kulshreshtha, S., Mathur, N., Bhatnagar, P., & Kulshreshtha, S. (2013). Cultivation of *Pleurotus citrinopileatus* on handmade paper and cardboard industrial wastes. *Industrial Crops and Products*, *41*, 340–346. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.04.053>
- Li, S., & Shah, N. P. (2015). Effects of *Pleurotus eryngii* polysaccharides on bacterial growth, texture properties, proteolytic capacity, and angiotensin-I-converting enzyme-inhibitory activities of fermented milk. *Journal of Dairy Science*, *98*(5), 2949–2961. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9116>
- Liang, Z.-C., Wu, C.-Y., Shieh, Z.-L., & Cheng, S.-L. (2009). Utilization of grass plants for cultivation of *Pleurotus citrinopileatus*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, *63*(4), 509–514. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.12.006>
- 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>
- Madan, M., Vasudevan, P., & Sharma, S. (1987). Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* on different wastes. *Biological Wastes*, *22*(4), 241–250. [https://doi.org/10.1016/0269-7483\(87\)90110-8](https://doi.org/10.1016/0269-7483(87)90110-8)
- Massadeh, M., Fraija, A., & Fandib, K. (2010). Effect of Carbon Sources on The Extracellular Lignocellulolytic Enzymetic System of *Pleurotus Sajor-Caju*. *Jordan Journal of Biological Science*, *3*(2), 51–54. Retrieved from [http://www.jjbs.hu.edu.jo/files/v3n2/Effect of Carbon Sources on The Extracellular.pdf](http://www.jjbs.hu.edu.jo/files/v3n2/Effect%20of%20Carbon%20Sources%20on%20The%20Extracellular.pdf)
- Mattila, P., Salo-Väänänen, P., Könkö, K., Aro, H., & Jalava, T. (2002). Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(22), 6419–6422. <https://doi.org/10.1021/jf020608m>
- Mazodier, P., & Davies, J. (1991). Gene transfer between distantly related bacteria. *Annual Review of Genetics*, *25*, 147–171.
- 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>
- 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
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, O. (2012). Base de datos. Retrieved from <http://www.who.int/gho/database/es/>
- Palacios, I., García-Lafuente, A., Guillamón, E., & Villares, A. (2012). Novel isolation of water-soluble polysaccharides from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus* mushrooms. *Carbohydrate Research*, *358*, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2012.06.016>
- Palmieri, G., Giardina, P., Bianco, C., Fontanella, B., & Sannia, G. (2000). Copper Induction of Laccase Isoenzymes in the Ligninolytic Fungus *Pleurotus ostreatus*. *Applied And Environmental Microbiology*, *66*(3), 920–924.
- Papaspyridi, L.-M., Aligiannis, N., Christakopoulos, P., Skaltsounis, A.-L., & Fokialakis, N. (2011). Production of bioactive metabolites with pharmaceutical and nutraceutical interest by submerged fermentation of *Pleurotus ostreatus* in a batch stirred tank bioreactor.

- Procedia Food Science*, 1(Icef 11), 1746–1752.
<https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.257>
- Patra, S., Patra, P., Maity, K. K., Mandal, S., Bhunia, S. K., Dey, B., ... Islam, S. S. (2013). A heteroglycan from the mycelia of *Pleurotus ostreatus*: Structure determination and study of antioxidant properties. *Carbohydrate Research*, 368, 16–21.
<https://doi.org/10.1016/j.carres.2012.12.003>
- Pérez-Martínez, A. S., Acevedo-Padilla, S. A., Bibbins-Martínez, M., Galván-Alonso, J., & Rosales-Mendoza, S. (2015). A perspective on the use of *Pleurotus* for the development of convenient fungi-made oral subunit vaccines. *Vaccine*, 33(1), 25–33.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.10.059>
- Pérez, S. R., Savón, R. C. B., Díaz, M. S., & Kourouma, A. (2006). Selección de cepas de *Pleurotus ostreatus* para la decoloración de efluentes industriales. *Revista Mexicana de Micología*, 23(9–15), 13–16.
- Plemenitaš, A., Kastelic-Suhadolc, T., Žigon, D., & Žakelj-Mavrič, M. (1999). Steroidogenesis in the fungus *Pleurotus ostreatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology*, 123(2), 175–179. [https://doi.org/10.1016/S0305-0491\(99\)00053-X](https://doi.org/10.1016/S0305-0491(99)00053-X)
- Purnomo, A. S., Mori, T., Putra, S. R., & Kondo, R. (2013). Biotransformation of heptachlor and heptachlor epoxide by white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 82, 40–44.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.02.013>
- Ragunathan, R., Gurusamy, R., Palaniswamy, M., & Swaminathan, K. (1996). Cultivation of *Pleurotus* spp. on various agro-residues. *Food Chemistry*, 55(2), 139–144.
[https://doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)00079-8](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)00079-8)
- Ragunathan, R., & Swaminathan, K. (2003). Nutritional status of *Pleurotus* spp. grown on various agro-wastes. *Food Chemistry*, 80(3), 371–375. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00275-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00275-3)
- Rana, T., Bera, A. K., Das, S., Bhattacharya, D., Pan, D., Bandyopadhyay, S., ... Das, S. K. (2012). *Pleurotus florida* lectin normalizes duration dependent hepatic oxidative stress responses caused by arsenic in rat. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(7–8), 665–671.
<https://doi.org/10.1016/j.etp.2010.12.010>
- Reddy, G. V., Ravindra Babu, P., Komaraiah, P., Roy, K. R. R. M., & Kothari, I. L. (2003). Utilization of banana waste for the production of lignolytic and cellulolytic enzymes by solid substrate fermentation using two *Pleurotus* species (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*). *Process Biochemistry*, 38(10), 1457–1462. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00025-6](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00025-6)
- Royse, D. J. (2002). Influence of spawn rate and commercial delayed release nutrient levels on *Pleurotus cornucopiae* (oyster mushroom) yield, size, and time to production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58(4), 527–531. <https://doi.org/10.1007/s00253-001-0915-2>
- Sainos, E., Díaz-Godínez, G., Loera, O., Montiel-González, A. M., & Sánchez, C. (2006). Growth of *Pleurotus ostreatus* on wheat straw and wheat-grain-based media: Biochemical aspects and preparation of mushroom inoculum. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 72(4), 812–815. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0363-0>
- Schneider, I., Kressel, G., Meyer, A., Krings, U., Berger, R. G., & Hahn, A. (2011). Lipid lowering effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in humans. *Journal of Functional Foods*, 3(1), 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2010.11.004>
- Shah, Z. A., Ashraff, M., & Ishtiaq, M. (2004). Comparative study on cultivation and yield

- performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on the different substrates (wheat straw, leaves, sawdust). *Pak J Nut*, 3(3), 158–160.
- Shi, L. (2016). Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 37–48. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.100>
- Suárez Arango, C., & Nieto, I. J. (2013). Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: Una alternativa en la obtención de nutraceuticos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 30(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2012.03.011>
- Suárez, C., & Nieto, J. (2016). Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles : una alternativa en la obtención de nutraceuticos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 30(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2012.03.011>
- Sun, W. P., Zhai, M. Z., Li, D., Zhou, Y., Chen, N. N., Guo, M., & Zhou, S. S. (2017). Comparison of the effects of nicotinic acid and nicotinamide degradation on plasma betaine and choline levels. *Clinical Nutrition*, 36(4), 1136–1142. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2016.07.016>
- Sun, Y., & Liu, J. (2009). Purification, structure and immunobiological activity of a water-soluble polysaccharide from the fruiting body of *Pleurotus ostreatus*. *Bioresource Technology*, 100(2), 983–986. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.036>
- Synnytsya, A., Mičková, K., Synnytsya, A., Jablonský, I., Spěváček, J., Erban, V., ... Čopíková, J. (2009). Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. *Carbohydrate Polymers*, 76(4), 548–556. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.11.021>
- Taofiq, O., Fernandes, Â., Barros, L., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). UV-irradiated mushrooms as a source of vitamin D 2 : A review. *Trends in Food Science & Technology*, In Press. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.10.008>
- 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>
- Tochukwu, N. A., Monago, C., & Chuku, L. (2016). Histological Effect of Combined Ethanol Extract of *Moringa oleifera* and *Pleurotus ostreatus* on the Pancreas of Alloxan-induced Diabetic Wistar Albino Rats. *Journal of Applied Life Sciences International*, 5(3), 1–8. <https://doi.org/10.9734/JALSI/2016/26108>
- Unekwu, H. R., Audu, J. A., Makun, M. H., & Chidi, E. E. (2014). Phytochemical screening and antioxidant activity of methanolic extract of selected wild edible Nigerian mushrooms. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(S1), S153–S157. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60431-X](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60431-X)
- 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>
- Vamanu, E. (2013). In vitro antioxidant and antimicrobial activities of two edible mushroom mycelia obtained in the presence of different nitrogen sources. *Journal of Medicinal Food*, 16(2), 155–166. <https://doi.org/10.1089/jmf.2012.0030>
- Wang, H., Gao, J., & Ng, T. B. (2000). A new lectin with highly potent antihepatoma and antisarcoma activities from the oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 275(3), 810–816. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.3373>
- Wang, H. X., & Ng, T. B. (2000a). Isolation of a novel ubiquitin-like protein from *Pleurotus*

- ostreatus mushroom with anti-human immunodeficiency virus, translation-inhibitory, and ribonuclease activities. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 276(2), 587–593. <https://doi.org/DOI 10.1006/bbrc.2000.3540>
- Wang, H. X., & Ng, T. B. (2000b). Isolation of a novel ubiquitin-like protein from *Pleurotus ostreatus* mushroom with antihuman immunodeficiency virus, translation-inhibitory, and ribonuclease activities. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 276(2), 587–593.
- Wasser, S. P. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl Microbiol Biotechnol*, 60, 258–274. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1076-7>
- Yang, Q., Huang, B., Li, H., Zhang, C., Zhang, R., Huang, Y., & Wang, J. (2012). Gastroprotective activities of a polysaccharide from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus* in rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(5), 1224–1228. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.03.020>
- Yang, Q., Li, C., Li, H., Li, Y., & Yu, N. (2009). Degradation of synthetic reactive azo dyes and treatment of textile wastewater by a fungi consortium reactor. *Biochemical Engineering Journal*, 43, 225–230. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.10.002>
- Yildiz, S., Yildiz, Ü. C., Gezer, E. D., & Temiz, A. (2002). Some lignocellulosic wastes used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom. *Process Biochemistry*, 38(3), 301–306. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(02\)00040-7](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00040-7)
- Yoshioka, Y., Tabet, R., Saitô, H., Uehara, N., & Fukuoka, F. (1985). Antitumor polysaccharides from *P. ostreatus* (Fr.) quél.: Isolation and structure of a β -glucan. *Carbohydrate Research*, 140(1), 93–100. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(85\)85052-7](https://doi.org/10.1016/0008-6215(85)85052-7)
- Yusef, H. M., Threlfall, D. R., & Goodwin, T. W. (1965). Some lipids of the oidia of *Pleurotus ostreatus*. *Phytochemistry*, 4(4), 559–562. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)86216-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86216-0)
- Zervakis, G., & Balis, C. (1996). A pluralistic approach in the study of *Pleurotus* species with emphasis on compatibility and physiology of the European morphotaxa. *Mycological Research*, 100(6), 717–731. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(96\)80205-X](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(96)80205-X)
- Zhang, C., Li, M., Chen, X., & Li, M. (2015). Edible fungus degrade bisphenol A with no harmful effect on its fatty acid composition. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 118, 126–132. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.04.020>
- Zhang, W., Zhang, X., Bi, D., Wang, X., Cai, Y., Dai, H., & Chen, S. (2008). Feeding with supplemental squalene enhances the productive performance in boars. *Animal Reproduction Science*, 104(2–4), 445–449. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.08.003>
- Zhang, Y., Dai, L., Kong, X., & Chen, L. (2012). Characterization and in vitro antioxidant activities of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51(3), 259–265. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.05.003>
- 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>
- Zhang, Y., Wang, Z., Jin, G., Yang, X., & Zhou, H. (2017). Regulating dyslipidemia effect of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* on fat-emulsion-induced hyperlipidemia rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 107–116. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.03.084>

Zhang, Y., Yang, X., Jin, G., Yang, X., & Zhang, Y. (2016). Polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* alleviate cognitive impairment in a rat model of Alzheimer's disease. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 935–941. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.008>

Instrucciones a los autores

TÍTULO EN ESPAÑOL

English title

Nombre y apellidos¹, Nombre y apellidos² (subrayar el responsable de la correspondencia)

¹Institución, ciudad, País

²Institución, ciudad, País

Autor para correspondencia:

Recibido: día/mes/año

Aceptado: día/mes/año

RESUMEN

Exponga el problema de investigación en una sola oración, si es posible; el método experimental, incluyendo los mecanismos, procedimientos de recopilación de datos, nombres de las pruebas; los hallazgos, incluyendo los niveles de significación estadística; y las conclusiones, implicaciones, recomendaciones y/o aplicaciones. Máximo 120 palabras.

PALABRAS CLAVE: no más de cinco, en orden alfabético, no incluidas en el título del trabajo. Debe basarse en tesauros de gran impacto como el oficial de la UNESCO, SKOS, CAB, EUROVOC, National Agricultural Library (USDA), AGROVOC, MeSH, entre otros específicos del área de estudio.

ABSTRACT

KEYWORDS:

INTRODUCCIÓN

La introducción presenta la teoría que sustenta la experimentación. Contiene el planteamiento del problema, el desarrollo de los antecedentes, fundamentación y objetivos. Las contribuciones enviadas a la revista deben abordar temáticas relacionadas con el desarrollo de la Bioeconomía con base Biotecnológica en los campos agrícola, alimentos, salud, ambiente, energías e industria.

Se aceptarán contribuciones de los siguientes tipos: revisión, de investigación, de reflexión, metodológicos, estudios de caso y notas breves. Se aceptarán solamente contribuciones inéditas, **no sometidas** al mismo tiempo a ninguna otra publicación impresa o digital. El envío de estas contribuciones supone el compromiso del autor a **ceder sus derechos** a la revista. Serán enviadas al correo electrónico biorrefinería.ceba@gmail.com y sometidas al sistema de revisión por pares, en la modalidad abierta al editor asociado, manteniendo el anonimato. Este recurso es inapelable.

Las contribuciones se escribirán en español o inglés con fuente Calibri Light, tamaño de 12 puntos, interlineado sencillo, un espacio entre párrafos y una extensión máxima de 8 páginas. El formato del papel debe ser A4, con márgenes de 2 cm a cada lado. El procesador de texto a utilizar será Microsoft Word. Los títulos se escribirán en negrita y mayúscula sostenida, mientras que los subtítulos tendrán sólo la primera letra en mayúscula. Las tablas deben crearse en Word y separarse únicamente con líneas horizontales. Las figuras (fotografías, gráficos, esquemas) deben insertarse en formato JPG con una resolución de 300 dpi y enviarse también como documento adjunto. Las tablas y figuras se citarán en el texto de acuerdo al orden de aparición y en el siguiente formato: Tabla 1, Fig. 1, Figs. 1 y 2, Fig. 1(A) (cuando una imagen se subdivide en varios recuadros), se insertarán en el lugar exacto de aparición y se acompañarán de su correspondiente título y pie de figura, respectivamente. El número de tablas y figuras no será superior a 5 para artículos y 3 para notas breves. Las unidades de medida a utilizar serán las especificadas en el Sistema Internacional de Unidades. Los separadores de decimales serán la coma para artículos en español y el punto para artículos en inglés. La estructura de los artículos de revisión es libre y notas breves, siempre y cuando no sobrepase las 10 páginas en el formato de fuente indicado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Informe en tiempo pretérito qué es lo que usted hizo y cómo lo hizo, incluyendo la descripción de participantes (muestras), Herramientas o materiales, método estadístico, diseño experimental (incluyendo nivel de confianza) y procedimiento. Identifique en el texto todos los reactivos utilizados (reseñando el nombre del fabricante y el país entre paréntesis), el modelo de cada equipo y el sitio de obtención del material biológico (incluyendo las coordenadas del sitio de recolección).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados responden a los objetivos planteados en el experimento, incluyendo el análisis estadístico y los hallazgos relevantes. Los resultados se pueden presentar en tablas y/o figuras, siendo preferibles las figuras. Las discusiones interpretan los resultados obtenidos con base en la teoría y los contrastan con los resultados de otros autores, se escriben en tiempo presente.

CONCLUSIONES

Las conclusiones responden al problema científico expuesto en la introducción el cual dio origen al experimento. Incluyen consecuencias, deducciones y generalizaciones que emanan de la evidencia aportada por los resultados y su interpretación. Sintetiza la idea planteada y los argumentos que se utilizaron para sustentarla. Evalúa lo planteado, señalando sus alcances y sus limitaciones. Plantea implicaciones o nuevos interrogantes al problema y recomendaciones. Escribir en tiempo presente.

AGRADECIMIENTO (opcional)

Se mencionarán las fuentes de financiación de los proyectos de investigación y/o apoyos recibidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Se aplicará la norma APA tanto para citación como para referenciación. Se recomienda usar un software.

Contacto: biorrefineria.ceba@gmail.com



EXTRACTO DE NONI BIODIVERSITY®

Ingredientes: extracto concentrado de NONI (*Morinda citrifolia*) 100 % puro, sin conservantes ni aditivos.

Presentación: 0,5 litros, 1 litro, 4 litros, 20 litros y 200 litros.

Aplicaciones: salud, suplementos, alimentos, cuidado personal, cosmética, fármacos y fitofármacos.

Propiedades¹

1. Combate infecciones /antimicrobiano (antraquinonas, la alizarina y el L-asperulósido)
2. Promueve la regeneración celular (alcaloide Xeronina)
3. Analgésico y antiinflamatorio
4. Mejora las defensas
5. Baja la presión arterial
6. Importante efecto antioxidante
7. Ayuda a prevenir el cáncer
8. Actividad antiparasitaria
9. Reduce las grasas en sangre
10. Ayuda a controlar la diabetes

Usos²

Abscesos, adicciones, alergias, analgésico (alivio del dolor), anti-helmíntico (elimina las lombrices y parásitos intestinales), antibacteriano, antifúngico, anti-inflamatorio, antiviral, estimulante del apetito, artritis, asma, aterosclerosis (endurecimiento de las arterias), déficit de atención con trastorno por hiperactividad, fracturas óseas, lesiones cerebrales, furúnculos, huesos fracturados, moretones, quemaduras, cáncer, carbuncos (aglomeraciones de furúnculos en la piel), enfermedad cardiovascular, sensibilidad química, síndrome de fatiga crónica, dolor crónico, resfriados, estreñimiento, cortaduras, depresión, diabetes, diarrea, problemas digestivos, trastornos de las articulaciones (dislocaciones), infecciones del oído, endometriosis (crecimiento del tejido endometrial fuera del útero), energía, fiebre, fibromialgia, usos alimenticios, úlceras gástricas, gota (inflamación de los pies), dolor de cabeza, hemorroides, hernia, hipertensión (presión arterial alta), deficiencia inmunológica, infecciones, inflamación, afecciones inflamatorias, influenza, repelente contra insectos, picor, lombrices intestinales, ictericia, alteración horaria por viaje en avión, dolor en las articulaciones, laxante, piojos, malaria, problemas menstruales, infecciones de la boca, esclerosis múltiple, dolores y molestias musculares, embarazo (dolor), reumatismo, sarna, senilidad, trastornos de los senos nasales, irritación de la garganta, llagas, esguinces, orzuelos, rigidez, estimulante (cerebro), picaduras de aguijón (pez piedra), dolor de estómago, hinchazón (abdominal), dolores dentales, tuberculosis, úlceras, trastornos del tracto urinario, problemas vasculares, medicina veterinaria, infecciones virales (polio), deficiencia de vitamina A, pérdida de peso, heridas.

Producido por: www.biodiversity.com.ec

Distribuido por: ECUANONI CIA. LTDA. www.ecuanoni.com, info.biodiversity@gmmail.com, cel. +593 99 837 7660, Ibarra/Ecuador

¹ <https://www.lifeder.com/beneficios-del-noni/>

² <https://holadoctor.com/es/hierbas-y-suplementos-a-z/noni-morinda-citrifolia>

**Misión:**

Producir y comercializar bioproductos, mediante la aplicación de las técnicas modernas de la bioingeniería, que permita el máximo aprovechamiento de los recursos de la biodiversidad ecuatoriana en el marco del Desarrollo Global Sustentable.

Visión:

Ofrecer un portafolio de bioproductos que contribuyan con el bienestar del ser humano y del planeta.

Valores:

integridad, calidad, responsabilidad, liderazgo, colaboración, diversidad.

Biodiversity® | Dirección: Periférico Sur s/n, San Antonio, www.biodiversity.com.ec, info@biodiversity.com.ec, Cel. 099 7589267, Ibarra-Ecuador



Tecnologías

- Producción de micelios (semillas) de hongos comestibles.
- Producción de champiñones (*Pleurotus* spp.).
- Producción de agro biológicos (*Trichoderma* spp.)
- Producción de saponinas esteroides.
- Producción de hecogenina (materia prima para producir la cortisona)
- Producción de suplementos alimenticios.
- Producción de extractos vegetales.
- Producción de alcaloides.
- Producción de bioles (agrobiológicos).
- Producción de bagazo hidrolizado para alimentación animal.
- Producción de aceites esenciales.
- Producción de biogás. Producción industrial de hongos frescos.
- Producción de hongos deshidratados.
- Producción de hongos en conservas.
- Producción de capsulas de hongos.
- Producción de Beta-Glucan.
- Producción de enzimas (lacasas, celulasas, amilasas, etc.).
- Producción de chicha de jora (de maíz).

