



Desarrollo de un prototipo de alimento funcional a base de polisacáridos de hongos macromicetos.

Fase I: análisis proximal y extracción de la fracción polisacárida

Lía Victoria Ocampo Báez

Universidad El Bosque

Facultad de Ciencias - Programa de Química Farmacéutica

Bogotá DC. – Abril 2023

**Desarrollo de un prototipo de alimento funcional a base de
polisacáridos de hongos macromicetos.**

**Fase I: análisis proximal y extracción de la fracción
polisacárida**

Lía Victoria Ocampo Báez

Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de:

Química Farmacéutica

Modalidad de trabajo de grado: Investigación

Director(a)

Angie Tatiana Robayo

Química Farmacéutica, M.Sc

Universidad El Bosque

Facultad de Ciencias - Programa de Química Farmacéutica

Bogotá DC. – Abril 2023

Hoja de identificación

Título:	<p>Desarrollo de un prototipo de alimento funcional a base de polisacáridos de hongos macromicetos.</p> <p>Fase I: análisis proximal y extracción de la fracción polisacárida</p>
Grupo de investigación:	No aplica
Línea de Investigación:	Bromatología
Institución (es) Participante (s):	<p>Universidad El Bosque</p> <p>Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A)</p>
Tipo de Investigación:	Investigación aplicada
Estudiantes:	Lía Victoria Ocampo Báez

Director:	Angie Tatiana Robayo Química Farmacéutica, M.Sc
Codirector:	Jorge Emilio Parra Amin Licenciado en Química, M.Sc, PhD.
Asesor:	Maria Angélica Velandia Química Farmacéutica. M.Sc

Dedicatoria

Al creador de todas las cosas, el que me ha dado fortaleza para continuar cuando he estado a punto de caer, por ello, con toda la humildad que mi corazón puede emanar, dedico primeramente este trabajo a Dios.

De igual forma dedico esta tesis a mi madre Mireya Baez, que con su demostración de una madre compasiva, ha sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles.

A mis mejores amigas Ana y Nicole, por estar siempre en los momentos importantes de mi vida, por compartir conmigo buenos y malos momentos, y que son su amor y apoyo me han ayudado a crecer.

A ti, que sé que desde donde estás siempre me cuidas y proteges, y que por tu ejemplo de perseverancia, constancia, lucha y superación que te caracteriza, me han mantenido siempre en pie.

Esta tesis es el resultado de lo que me han enseñado ustedes en la vida, gracias por confiar en mí y darme la oportunidad de culminar esta etapa de mi vida LAS AMO.

Agradecimientos

Primero y antes que nada, gracias a Dios, por estar junto a mi en cada paso, por fortalecer mi corazón y por haber puesto en el camino aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante mis estudios.

Agradezco a todas la autoridades de la Universidad El Bosque, en especial a la Química Farmacéutica y Magíster en Ciencias-Química Angie Robayo por su apoyo incondicional en el transcurso de esta tesis, también agradezco por su tiempo compartido y por impulsarme en el desarrollo de mi formación profesional y porque bajo su dirección, en calidad de Directora se culminó esta tesis, agradezco a Nicolas Mancera por su trabajo y por su gestión, sin lo cual no estarían las bases ni las condiciones para aprender los conocimientos.

A la Química Farmacéutica y Magíster en Ciencias-Farmacéuticas Maria Angélica Velandia, a el Lic en Química y Doctor en Ciencias-Química Jorge Emilio Parra, y a mi mejor amiga Nicole, por que cada una con sus aportaciones hicieron posible este proyecto, y por la gran calidad humana que me han demostrado con su amistad, se los agradezco desde el fondo de mi alma.

Finalmente a ti, Nicolás; la persona que llena mis días de felicidad, y que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional, siempre te llevaré en mi corazón, gracias por tu amor sin condiciones, Te amo.

Tabla de contenido

1. Introducción.....	1
2. Marco teórico.....	2
3. Planteamiento del problema.....	8
4. Pregunta de investigación.....	9
5. Objetivos.....	10
5.1 Objetivo general.....	10
5.2 Objetivos específicos.....	10
6. Metodología.....	11
6.1 Muestreo.....	11
6.2 Análisis proximal de los hongos macromicetos.....	12
6.2.1 Determinación de contenido de agua.....	12
6.2.2 Cenizas.....	12
6.2.3 Grasa total/Extracto etéreo.....	12
6.2.4 Proteína.....	13
6.2.5 Fibra dietaria total.....	13
6.2.6 Carbohidratos.....	14
6.3 Extracción y cuantificación de polisacáridos de hongos macromicetos.....	14
6.4 Caracterización preliminar de los polisacáridos.....	15
6.4.1 Determinación de pH.....	15
6.4.2 Caracterización reológica.....	15
7. Resultados y análisis de resultados.....	16
7.1 Análisis proximal.....	16
7.1.1 Humedad.....	16
7.1.2 Cenizas.....	17
7.1.3 Grasa/ Extracto etéreo.....	17
7.1.4 Proteínas.....	19
7.1.5 Fibra dietética.....	20
7.1.6 Carbohidratos.....	21
7.2 Extracción y cuantificación de polisacáridos.....	21
7.3 Caracterización preliminar de las fracciones polisacáridas.....	23
8. Consideraciones éticas.....	29
9. Conclusiones.....	30
10. Recomendaciones.....	31
11. Referencias bibliográficas.....	32

Listado de tablas

		Pág.
Tabla 1	Origen de las muestras empleadas en el estudio.	11
Tabla 2	Contenido de nutrientes en base seca de cuatro hongos macromicetos comestibles..	19
Tabla 3	Contenido de polisacáridos en base seca de cuatro hongos macromicetos comestibles	22
Tabla 4	Valores de pH de la fracción polisacárida de los hongos macromicetos en estudio.de las cuatros setas de estudio.	24

Listado de figuras

		Pág.
Figura 1	Tipos de fluidos en reología (Panchi,A.2013)	7
Figura 2	Curvas de viscosidad para un fluido Newtoniano (Steffe en 1992).	7
Figura 3	Ecuación de la regresión Herschel Buckley (76)	24
Figura 4	Curvas de viscosidad para la fracción polisacárida de <i>Hericiium erinaceus</i> (color negro) y <i>Pleurotus ostreatus</i> (color verde) . Viscosidad (η) vs tasa de corte($\dot{\gamma}$).	25
Figura 5	Curva de viscosidad para la fracción polisacárida de <i>Hericiium erinaceus</i> . Esfuerzo de corte (τ) vs tasa de corte ($\dot{\gamma}$).	26
Figura 6	Curva de viscosidad para la fracción polisacárida de <i>Pleurotus ostreatus</i> . Esfuerzo de corte (τ) vs tasa de corte ($\dot{\gamma}$).	27

Lista de Símbolos y abreviaturas

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

b.s: Resultados reportados en base seca.

b.h: Resultados reportados en base húmeda.

ECNT: Enfermedades crónicas no transmisibles

FDT: Fibra dietaria total

FP: Fracción polisacárida

GF: *Grifola frondosa* (nombre común: Maitake)

HE: *Hericiium erinaceus* (nombre común: Melena de león).

HMC: Hongos macromicetos comestibles.

LE: *Lentinula edodes* (nombre común: Shiitake).

PO: *Pleurotus ostreatus* (nombre común: Hongo ostra).

rpm: Revoluciones por minuto.

γ : Tasa de corte.

η : Viscosidad.

τ : Esfuerzo de corte.

ω -6: Omega 6

Resumen

El término seta se refiere a un macrohongo con un cuerpo fructífero distintivo, el cual puede ser hipogeo o epigeo y lo suficientemente grande para ser visto a simple vista, por lo tanto pueden ser fácilmente recolectados a mano. Las setas comestibles son hongos filamentosos superiores, generalmente de los filos Basidiomycota y Ascomycota, las cuales son ampliamente reconocidas por su riqueza nutricional, su bajo valor calórico, su sabor y sus propiedades nutraceuticas (1), dentro de las que podemos resaltar el fortalecimiento de la función inmunitaria, el equilibrio de los niveles sanguíneos de glucosa, la reducción del crecimiento de tumores y el riesgo de padecer cáncer (2).

Los beneficios de sus compuestos bioactivos han sido aprovechados en la medicina tradicional, a través del consumo de setas enteras, extractos de cuerpos fructíferos o micelio, y fracciones enriquecidas o compuestos aislados (3). Distintas investigaciones han logrado dilucidar que algunos polisacáridos de *Lentinula edodes*, *Trametes versicolor* y *Agaricus bisporus* pueden prevenir el cáncer de mama y de próstata, gracias a la inhibición de las enzimas 5-alfa-reductasa y aromatasa, responsables del crecimiento de los tumores cancerosos (12). Estudios más recientes demostraron que los polisacáridos de basidiomicetos pueden inhibir la proliferación celular a través de la inducción de la apoptosis, de tal manera que muchos de estos polisacáridos, como el Lentinan aislado de *Lentinula edodes*, ya se utilizan en la terapia contra el cáncer, específicamente en la prevención de la oncogénesis y la metástasis inducida químicamente (4).

Por tanto el objetivo principal de la presente investigación, en su primera parte busca determinar la composición proximal de cuatro especies de hongos cultivadas en la Sabana de Bogotá (*Lentinula edodes*, *Hericium erinaceus*, *Pleurotus ostreatus* y *Grifola frondosa*), siguiendo metodologías propias del análisis proximal de alimentos proporcionados por la AOAC (Asociación de Químicos Analíticos Oficiales por sus siglas en inglés), a partir de la determinación del contenido de nutrientes de las setas estudiadas; se destaca el alto contenido de proteínas (8-22%), alto contenido de fibra dietética (5-9%), además de su bajo porcentaje de grasa (1-4%). Adicionalmente, se determinó que el contenido de polisacáridos en estos cuatro hongos macromicetos comestibles se encuentra entre 1 y 21%. La caracterización reológica de esta fracción permitió clasificarlos como fluidos no-Newtonianos de tipo pseudoplásticos. Finalmente a partir de la información obtenida se pudo concluir que las setas estudiadas son

una buena alternativa alimenticia para incorporación en un alimento funcional, atendiendo a sus propiedades nutraceuticas y tecnologicas.

Palabras Clave

Lentinula edodes, Hericium erinaceus, Grifola frondosa, Pleurotus ostreatus, análisis proximal, polisacáridos, alimento funcional, caracterización reológica.

Abstract

The term mushroom refers to a macrofungus with a distinctive fruiting body, which may be hypogeous or epigeous and large enough to be seen with the naked eye, therefore they can be easily harvested by hand. Edible mushrooms are higher filamentous fungi, generally of the phyla Basidiomycota and Ascomycota, which are widely recognised for their nutritional richness, low calorific value, taste and nutraceutical properties (1), including strengthening immune function, balancing blood glucose levels, reducing tumor growth and cancer risk (2). The benefits of its bioactive compounds have been harnessed in traditional medicine, through the consumption of whole mushrooms, extracts of fruiting bodies or mycelium, and enriched fractions or isolated compounds (3). Research has shown that polysaccharides from *Lentinula edodes*, *Trametes versicolor* and *Agaricus bisporus* can prevent breast and prostate cancer by inhibiting the enzymes 5-alpha-reductase and aromatase, which are responsible for the growth of cancerous tumors (12). More recent studies have shown that polysaccharides from basidiomycetes can inhibit cell proliferation through the induction of apoptosis, such that many of these polysaccharides, such as Lentinan isolated from *Lentinula edodes*, are already used in cancer therapy, specifically in the prevention of oncogenesis and chemically induced metastasis (4).

Therefore, the main objective of this research, in its first part, is to determine the proximal composition of four species of mushrooms cultivated in the Sabana de Bogotá (*Lentinula edodes*, *Hericium erinaceus*, *Pleurotus ostreatus* and *Grifola frondosa*), following methodologies for the proximal analysis of food provided by the AOAC (Association of Official Analytical Chemists), based on the determination of the nutrient content of the mushrooms studied; The high protein content (8-22%), high dietary fiber content (5-9%) and low fat content (1-4%) are highlighted. In addition, the polysaccharide content of these four edible macromycete mushrooms was found to be between 1 and 21%. The rheological characterisation of this fraction allowed classifying them as non-Newtonian fluids of the pseudoplastic type. Finally, based on the information obtained, it was possible to conclude that the mushrooms studied are a good food alternative for incorporation into a functional food, due to their nutraceutical and technological properties.

Keywords

Lentinula edodes, *Hericium erinaceus*, *Grifola frondosa*, *Pleurotus ostreatus*, proximate analysis, polysaccharides, functional food, rheological characterisation.

1. Introducción

Las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) son afecciones prevalentes en países en desarrollo, siendo los factores socioeconómicos y educativos los más influyentes para el padecimiento de estas patologías (5). En Colombia, entre 2007 y 2017, se registraron 178.000 muertes por ECNT, lo que representa el 73% del total de muertes durante este periodo (6). De acuerdo con distintas investigaciones, la ingesta de determinados nutrientes y compuestos bioactivos es importante para reducir el progreso de trastornos musculoesqueléticos, la demencia, la pérdida de visión, las enfermedades cardiometabólicas durante el envejecimiento y el cáncer (7). En ese orden, los hongos macromicetos se consideran una buena fuente de nutrientes y compuestos bioactivos que promueven la salud, y hasta la fecha, se han identificado más de 2000 especies de setas comestibles y/o medicinales (8), las cuales han sido objeto de estudio para prevenir o aliviar ECNT como el cáncer y la depresión, y otras enfermedades como la diabetes o las enfermedades neurodegenerativas (9). De esta manera, una mejor comprensión de su valor nutricional en términos de contenido de proteínas, carbohidratos, ácidos grasos, vitaminas y minerales, así como de otros compuestos bioactivos, puede contribuir al desarrollo de alimentos funcionales para el mejoramiento de la salud, así como de una bioprospección exitosa de las setas con potencial citostático (10, 11).

Desafortunadamente, la escasa información sobre estos alimentos dificulta su aprovechamiento, no solamente desde el punto de vista nutricional, sino también desde su potencial para el desarrollo de alimentos funcionales con componentes biológicamente activos para contrarrestar los efectos del cáncer y otras enfermedades (12). En base a lo expuesto anteriormente, este trabajo investigativo proporciona las primeras bases para el desarrollo farmacéutico de un alimento funcional, que permita obtener un efecto potencialmente positivo en la salud, centrado en determinar las propiedades nutricionales de cuatro hongos macromicetos comestibles (*Lentinula edodes*, *Hericiium erinaceus*, *Pleurotus ostreatus*, *Grifola frondosa*), su contenido de polisacáridos y la caracterización reológica de esta fracción, con el objeto de generar información que servirá para futuros estudios, entre éstos, la validación del potencial citostático de la fracción polisacárida y su posterior incorporación en un alimento funcional.

2. Marco teórico

El Reino Fungi

Los hongos constituyen un Reino independiente del animal y el vegetal, es denominado el Reino Fungi, estos son organismos eucarióticos, usualmente plurinucleados y se reproducen por esporas (15). Su nutrición es heterótrofa y se alimentan por absorción mediante la liberación de enzimas, aunque no son organismos fotosintéticos, usualmente necesitan luz UV para la producción del cuerpo fructífero o seta (15).

Hongos macromicetos/setas

Son organismos vivos, pertenecientes al reino fungi, que forman cuerpos fructíferos (esporocarpos, setas) visibles a simple vista (23). Muchos macromicetos han sido utilizados por el ser humano como fuente de alimento y medicina durante miles de años, y algunas especies desempeñan un papel en las ceremonias tradicionales, a veces con efectos espirituales y de alteración de la mente. Otras especies como microhongos o micromicetos son hongos que tienen estructuras microscópicas productoras de esporas, son organismos eucariotas como mohos o levaduras (24). Los esporocarpos de los hongos contienen numerosos compuestos orgánicos biológicamente activos, así como productos secundarios de diversa naturaleza. Además, los hongos contienen minerales importantes para la nutrición humana y animal, así como elementos metálicos y metaloides potencialmente tóxicos. Muchas especies comestibles contienen selenio, un antioxidante que se encuentra en los hongos en mayor concentración que en otros alimentos de origen vegetal o animal (24).

Como seta, los hongos macromicetos se pueden definir a “aquellos hongos macroscópicos con un cuerpo fructífero productor de esporas que pueden encontrarse sobre la tierra (epigeo) o bajo tierra (hipogeo), y son lo suficientemente grandes para ser vistos a simple vista y recolectados a mano (15).

Algunos macromicetos producen esclerocios, que consisten en una densa masa de micelio enterrada en el sustrato y son utilizados en los países subtropicales y tropicales por el ser humano como fuente de alimento. Los esclerocios de algunos hongos contienen compuestos con actividad farmacológica y se utilizan en la medicina tradicional (22). Por otra parte, el micelio es capaz de absorber eficazmente diversos contaminantes ambientales, incluidos los compuestos organohalogenados persistentes, los metales pesados y los radionúclidos del sustrato, que posteriormente se acumulan en sus cuerpos fructíferos (14). En el caso de los

metales pesados, la posible toxicidad depende de la especie de seta así como de la bioquímica del elemento (18). El procesamiento y la conservación de las setas comestibles y medicinales pueden modificar su composición química (20).

Aplicaciones de los macromicetos

La aplicación de los hongos en la medicina se remonta al año 3000 a.C., cuando los macrohongos fueron utilizados para remediar enfermedades, especialmente en las terapias tradicionales orientales y tras el descubrimiento de la penicilina (1929), los hongos fueron considerados fuentes ricas en antibióticos naturales y otros compuestos bioactivos (25). Los hongos del filo Basidiomycota incluye organismos que producen esporas en una estructura en forma de varilla llamada basidio (basidiomicetos); el micelio es septado, dividido por paredes celulares, con septos perforados o paredes transversales (26). Los hongos del filo Basidiomycota incluyen más de 2500 especies conocidas, entre las que se encuentran hongos comestibles y medicinales (27). En relación a esto, macrohongos como el *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis officinalis* y muchos otros, se han utilizado para combatir enfermedades durante cientos de años en China, Japón, Corea y las regiones eslavas (17). Hoy en día, las moléculas constituyentes de los orgánulos de los macrohongos y los metabolitos secundarios se conocen como compuestos bioactivos, entre estos polisacáridos, glicoproteínas, terpenoides, ácidos grasos, proteínas, lectinas, etc. (18). En particular, pueden añadirse a la dieta y utilizarse por vía oral como nutracéuticos, ya que se consideran un enfoque seguro y útil como coadyuvantes en el tratamiento de enfermedades (19).

Polisacáridos en macromicetos

La glicobiología es la ciencia que estudia la estructura, la biosíntesis y la biología de los sacáridos que están ampliamente distribuidos en la naturaleza. La combinación de numerosos residuos de monosacáridos, a través de enlaces glucosídicos, forma estructuras cada vez más complejas denominadas polisacáridos (16). Varios tipos de polisacáridos se encuentran en la naturaleza, y los glicoconjugados como las glicoproteínas y glicolípidos son los más comunes (16).

Estudios recientes de Sun, Shi, Zheng, *et al* (2019) mostraron que los hongos, ya sean simples o complejos, tienen polisacáridos ampliamente distribuidos, en particular la quitina y los glucanos (20). Estos polisacáridos, junto con otros, se unen mediante enlaces intermoleculares formando una estructura polimérica compacta, que constituye toda la pared celular, responsable de las interacciones con el medio externo. Estos polisacáridos tienen propiedades variadas,

según el lugar de origen y la cepa estudiada y en general, actúan como importantes modificadores de la viscosidad, tanto en ambientes húmedos como secos. Además estos polímeros tienen características químicas interesantes, como la hiper-ramificación, la variedad de grupos químicos y diferentes pesos moleculares (20).

En los hongos, estos polisacáridos forman parte de la pared celular y son componentes predominantes, los cuales se han extraído, purificado y caracterizado. En los últimos años, numerosos estudios han contribuido a la comprensión de la glicobiología fúngica, en el área farmacológica, en tratamientos contra el cáncer con potencial actividad citostática (17). Está claro que, para la comunidad científica, los polisacáridos y los glucoconjugados obtenidos de los hongos tienen relevantes propiedades fisicoquímicas y estructurales, útiles para aplicaciones farmacológicas, alimentarias, entre otras (18).

Actividad citostática de los polisacáridos

La diversidad de los polisacáridos y sus derivados se refleja en sus mecanismos de acción. En general, existen dos mecanismos básicos de acción de los polisacáridos contra las células tumorales: acción indirecta (inmunoestimulación) y la acción directa (inhibición del crecimiento de las células tumorales e inducción de la apoptosis) (21). La acción indirecta se basa en la estimulación de los mecanismos de defensa del huésped, principalmente en la activación de los linfocitos T y B macrófagos y células asesinas naturales (NK); muchos hongos han demostrado estimular la producción de interferones (IFN), interleucinas (IL) y otras citoquinas (26). Algunos estudios han demostrado que los β -glucanos inducen la respuesta del organismo al unirse a los receptores de membrana de las células inmunológicamente competentes (28) y aumentan la capacidad de las células inmunitarias para reconocer células tumorales como extrañas y, por lo tanto, aumentan la eficacia de los mecanismos de defensa del huésped (29). Las propiedades inmunoestimulantes mejor documentadas se han descrito para los polisacáridos lentinan, el PSK y el esquizofilano (29). Estos inmunomoduladores (modificadores de la respuesta biológica) pueden ser agentes eficaces en el tratamiento y la prevención de enfermedades que implican disfunción inmunológica, entre ellas el cáncer y las enfermedades infecciosas. Por tanto, los investigadores médicos y clínicos están interesados en la inmunoterapia y el descubrimiento de nuevos inmunopotenciadores y compuestos con un potente potencial curativo sin efectos secundarios, resistencia patógena o que afecten a la división celular normal, especialmente para agentes anticancerígenos y antivirales (30). Así, los macrohongos comestibles (conocidos como hongos medicinales), pueden enriquecer la dieta tanto a nivel

nutricional como medicinal, a través de su consumo directo o bien, en un alimento funcional (29).

La mayoría de especies de setas comestibles están asociadas al otoño, verano, y primavera, esta estacionalidad limita su consumo en ciertas épocas del año. En las últimas décadas se ha incrementado el consumo y la producción de setas cultivables a nivel mundial, en especial el cultivo de *P. ostreatus* (Seta ostra) y *L. Edodes* (Shiitake)(43). Según Palacios (2015), en oriente los hongos han sido utilizados tradicionalmente desde la antigüedad para su consumo humano como para uso medicinal, y en las últimas décadas el mejor conocimiento del valor nutricional y funcional de estos hongos ha contribuido al aumento de este alimento como parte del consumo humano (40). Desde el punto de vista nutricional las setas comestibles son alimentos muy valiosos, estas constituyen una buena fuente de proteínas, fibra alimentaria y contienen un bajo contenido de grasas, por lo que son un excelente elemento para la elaboración de dietas equilibradas, hipocalóricas y antihipertensivas, adicionalmente son buena fuente de minerales y compuestos antioxidantes (44).

Por tanto, los hongos son una valiosa fuente de nutrientes y compuestos bioactivos, que los hacen ser grandes candidatos para ser considerados como "alimentos funcionales", entendiendo estos alimentos que además de proporcionar nutrientes, influyen de forma específica y positiva sobre ciertas funciones biológicas, mejorando el estado general de salud o bien, reduciendo el riesgo de padecer algunas enfermedades, como por ejemplo el cáncer (44). De las diferentes especies analizadas se observa que el contenido de nutrientes (análisis proximal) varía enormemente entre especies, debido a diferencias en la composición del suelo, condiciones ambientales, condiciones de recolección, tratamiento y conservación del lugar donde fueron obtenidas además de que el género o clasificación taxonómica también debe estar determinando la cantidad de nutrientes (44).

Alimento funcional

Los alimentos funcionales son aquellos que "afectan de forma benéfica a una o más funciones del organismo, más allá de los efectos nutricionales adecuados, de forma que se consigue una mejora del estado de salud y bienestar y/o una reducción del riesgo de enfermedad" (33). Para promover los alimentos funcionales disponibles en el mercado entre varios grupos de consumidores, es muy importante implementar una amplia campaña publicitaria junto con la educación sobre el tema, en este caso, el uso de hongos macromicetos (34). Estas acciones pueden disminuir los riesgos de enfermedades relacionadas con la dieta; haciendo énfasis en la formulación del alimento funcional (33).

Los alimentos funcionales se mencionaron por primera vez en Japón a mediados de los años 80. En los años siguientes, el interés por este tipo de alimentos se extendió a Estados Unidos y Europa (31). De acuerdo con la revista Colombiana de biotecnología de la Universidad Nacional, los alimentos funcionales pueden ser alimentos naturales, alimentos a los que se les ha adicionado, removido o modificado algún componente o a los que se les ha modificado la biodisponibilidad de alguno de ellos (33).

Los alimentos funcionales representan hoy en día una tendencia sólidamente asentada hacia la alimentación saludable en respuesta a los hábitos alimentarios erróneos a los que incita el modo de vida contemporáneo en relación con el consumidor y sus previas comorbilidades (36), teniendo en cuenta que el consumo de alimentos funcionales ya no es más una sofisticación propia de los países más desarrollados como Estados Unidos que cuenta con diferentes alimentos funcionales, la tendencia a su consumo en países de América Latina ha experimentado un aumento notable que, con el aporte de la biotecnología en productos de mayor calidad y menor costo, contribuyen a la integración social de hábitos alimenticios saludables (35). Son muchas las opciones para investigación y desarrollo en el área, que permita a biotecnólogos, químicos farmacéuticos y profesionales de la ingeniería de alimentos aprovechar las utilidades para dar valor agregado a estos alimentos cultivados en el país.

Comportamiento reológico de los polisacáridos

En los últimos años, muchos investigadores se han centrado en las propiedades reológicas de los polisacáridos (70). La reología es una rama de la mecánica, y los principales objetos de investigación son la deformación y el flujo de objetos sometidos a una fuerza externa (71). Por ejemplo en los polisacáridos, la reología se usa para la predicción de sus propiedades de gelificación o espesante que pueden ayudar a la fabricación, distribución, almacenamiento y consumo de productos alimentarios (72). En ese orden, un claro ejemplo es la goma xantan que posee los polisacáridos más estudiados y ampliamente utilizados en el mercado (73).

De acuerdo con Tovar (2010), para una mayor comprensión de los retos que se plantean en el estudio de las propiedades reológicas de los alimentos, existe una clasificación de los diversos alimentos fluidos, según su comportamiento reológico estos son fluidos no-Newtonianos y Newtonianos (75). Un fluido no-Newtoniano es aquel cuya viscosidad (esa resistencia a fluir) varía con la velocidad de deformación o cizallamiento que se le aplica (**figura 1**); es decir, se deforma en la dirección de la fuerza aplicada (76). Los fluidos no-Newtonianos se clasifican con

respecto a su comportamiento en el tiempo, es decir, pueden ser dependientes del tiempo o independientes del mismo (77).

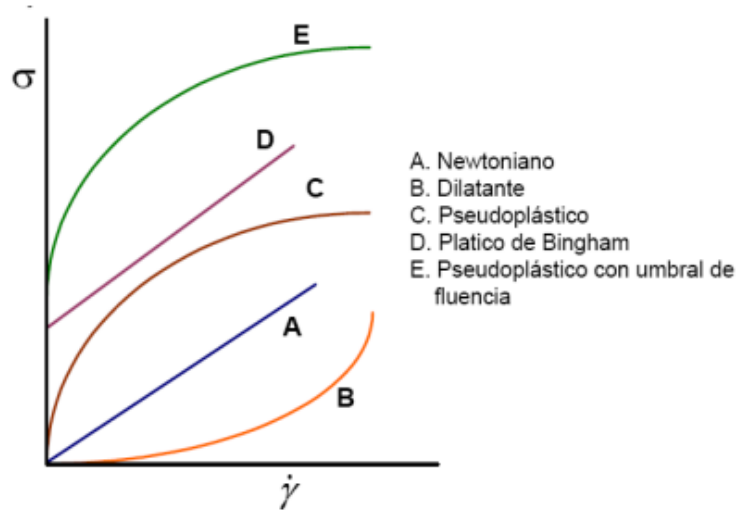


Figura 1. Tipos de fluidos en reología (Panchi,A.2013).

Por otro lado los fluidos Newtonianos son aquellos que obedecen la ley de Newton, es decir la curva de viscosidad es constante para cualquier velocidad de deformación aplicada, (figura 2) (77).

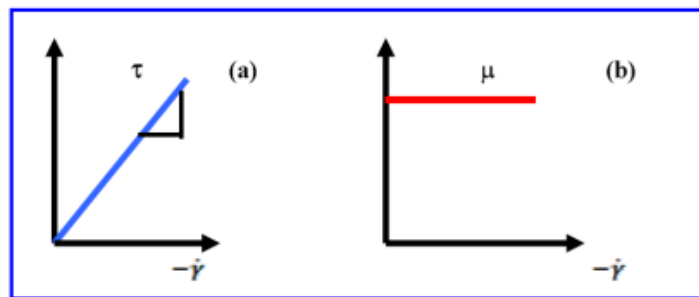


Figura 2. Curvas de viscosidad para un fluido Newtoniano (Steffe en 1992).

3. Planteamiento del problema

El cáncer abarca varios estadios de complicaciones médicas en poco tiempo, y expone a los a los pacientes a considerables limitaciones del sistema inmunitario (13). En el mundo, se han registrado más de 8,2 millones de muertes en los últimos años, y su padecimiento se ha asociado, principalmente, a varios factores de riesgo como el sedentarismo, las enfermedades autoinmunes, el tabaquismo, la exposición a sustancias tóxicas y el consumo de alimentos grasos (14). De acuerdo con la CDC (Centers for disease control and prevention), el tratamiento oncológico puede tener varias complicaciones, entre estas la neutropenia, el edema linfático, la trombosis venosa profunda y por supuesto el dolor crónico que causa la misma terapia farmacológica. Por esta razón, la búsqueda de alternativas terapéuticas o de coadyuvantes que fortalezcan el sistema inmunitario, es una tarea urgente en la cual, los productos naturales fúngicos han ganado especial interés, gracias a su capacidad para sintetizar distintos metabolitos con aplicaciones en el campo de la biología, la medicina, y la nutrición, entre ellos, polisacáridos con actividad citostática e inmunorreguladora (15).

En Colombia existe un creciente interés comercial y farmacológico en los hongos comestibles, y la notable escasez de estudios referentes a las especies cultivables incluidas en este trabajo (*Lentinula edodes*, *Hericiium Erinaceus*, *Pleurotus ostreatus*, y *Grifola Frondosa*) justifica el esfuerzo realizado en la búsqueda de información nutricional valiosa que permita identificar su contenido nutricional. Basándose en estos antecedentes, el estudio de los hongos macromicetos se convierte en una buena oportunidad de desarrollo farmacéutico con miras a la elaboración de un alimento funcional, que permita obtener un efecto potencialmente positivo en la salud. Más allá del mantenimiento de la salud y el buen estado nutricional, su consumo podría ser recomendado en pacientes que hayan sido diagnosticados con cáncer y que estén en tratamiento quimioterapéutico.

4. Pregunta de investigación

¿Cuáles son las propiedades nutricionales de *Lentinula edodes*, *Hericiium erinaceus*, *Grifola frondosa* y *Pleurotus ostreatus*, y cuál es su contenido de polisacáridos?

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Determinar las propiedades nutricionales de cuatro hongos macromicetos comestibles y su contenido de polisacáridos.

5.2 Objetivos específicos

1. Realizar el análisis proximal de los hongos macromicetos *Lentinula edodes*, *Hericium erinaceus*, *Grifola frondosa* y *Pleurotus ostreatus*, provenientes de cultivos comerciales de la sabana de Bogotá.
2. Cuantificar los polisacáridos de las cuatro setas seleccionadas, a través de metodologías previamente estandarizadas y reportadas en la literatura.
3. Realizar la caracterización preliminar de la fracción polisacárida de los hongos macromicetos comestibles en estudio.

6. Metodología

6.1 Muestreo

Las setas fueron adquiridas mediante un intercambio comercial con productores de hongos macromicetos y se obtuvieron dos tipos de muestras: el cuerpo fructífero fresco, en el caso de *Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus*, y por otro lado, *Hericium Erinaceus* y *Grifola frondosa*, que se encontraban liofilizadas y pulverizadas, y contaban con una presentación comercial definida. Este muestreo responde a la disponibilidad del cuerpo fructífero de la seta, ya que muchos de estos cultivos son estacionales, y no se encuentran disponibles en cualquier época del año. Además, son muy susceptibles a la contaminación microbiana, por lo que se someten al proceso de liofilización antes de su deterioro. La altitud de la sabana de Bogotá (Madrid y Tenjo) proporciona un clima frío semiárido y aquellos sitios localizados a mayor altura, poseen climas muy fríos húmedos y semihúmedos.

Tabla 1. Origen de las muestras empleadas en el estudio.

Muestra (Nombre científico)	Procedencia	Nombre común
<i>Lentinula edodes</i>	Setas Exóticas de Colombia (Madrid, Cundinamarca)	Shiitake
<i>Hericium erinaceus</i>	VITAL SETAS S.A.S*	Melena de león
<i>Pleurotus ostreatus</i>	King Setas S.A (Tenjo, Cundinamarca)	Hongo ostra
<i>Grifola frondosa</i>	VITAL SETAS S.A.S*	Maitake

* VITAL SETAS S.A.S por Qinshan Tang Health Industry building 13 N° 64 Suning Ave, Nanjing, Jiangsu, China. Importado por VITAL SETAS -Carrera 25 N°7A-22A. Medellín, Colombia.

6.2 Análisis proximal de los hongos macromicetos

6.2.1 Determinación de contenido de agua

El contenido de humedad fue determinado por pérdida de peso a temperatura constante, de aproximadamente 10 g de seta fresca (cuerpo fructífero), sobre cajas de petri previamente taradas a 105 °C. El ensayo se realizó siguiendo la metodología analítica descrita en el protocolo AOAC 925.45 Ed.18 (36) empleando una estufa de secado para deshidratar la muestra a 60°C hasta peso constante, un desecador para enfriar la muestra sin que pudiera absorber humedad del ambiente y una balanza analítica para realizar el pesaje de la muestra antes y después del análisis. La determinación se realizó por triplicado (36) y el contenido de humedad se calculó de acuerdo con las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ Materia seca} = \frac{\text{Peso de la seta seca (g)}}{\text{Peso inicial de la seta fresca (g)}} \times 100 \text{ (ec 1)}$$

$$\% \text{ de Humedad} = 100 - \% \text{ Materia seca (ec 2)}$$

6.2.2 Cenizas

Las cenizas de un alimento son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica y supone un método sencillo para determinar la calidad de ciertos alimentos en términos de su aporte de minerales (35). Se emplearon los hongos macromicetos liofilizados y pulverizados (aproximadamente 1g), los cuales se calcinaron a una temperatura de 600°C hasta conseguir un residuo de color blanco, de acuerdo con la metodología reportada por la AOAC 923.03 Ed.18- 2005 (37). El contenido de cenizas se calculó como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Cenizas (b. s.)} = \frac{\text{Peso del crisol con cenizas (g)} - \text{Peso del crisol vacío (g)}}{\text{Peso inicial de la seta}} \times 100 \text{ (ec 3)}$$

6.2.3 Grasa total/Extracto etéreo

Siguiendo el protocolo AOAC 920.39- 2003 (35), el contenido de grasa total fué determinado con ayuda de un extractor Soxhlet, a partir de 5 g de los hongos macromicetos previamente

liofilizados y pulverizados, empleando éter de petróleo como disolvente de extracción. La cantidad de grasa se calculó por diferencia de peso del hongo, antes y después de la extracción, y posterior secado del disolvente. Este valor fue corregido en función del contenido de humedad del alimento (38). El contenido de grasa total se calculó como se muestra en las siguientes ecuaciones:

$$\text{Peso del conjunto} = \text{Peso del dedal para soxhlet (g)} + \text{Peso de la seta (g)} \quad \text{(ec 4)}$$

$$\% \text{Grasa (b. s.)} = \frac{\text{Peso del conjunto antes de la extracción (g)} - \text{Peso del conjunto después de la extracción}}{\text{Peso de la seta (g)}} \times 100 \quad \text{(ec 5)}$$

6.2.4 Proteína

El contenido de proteína fue determinado siguiendo la metodología descrita en el protocolo AOAC 988.05 (37), el cual se basa en el método Kjeldahl para la cuantificación de nitrógeno orgánico contenido en el alimento. Aproximadamente 0,5 g de seta liofilizada fueron sometidos a descomposición de la materia orgánica bajo calentamiento a 420 °C con 15 mL de ácido sulfúrico concentrado, en presencia 6 g de catalizador de Sulfato de Cobre sin Selenio. Seguido a esto, se prosiguió a realizar una destilación durante 5 minutos sobre una fuente de hidróxido de sodio al 40 % y el destilado se recibió sobre una solución de ácido bórico al 4 % teñido con indicador Tashiro. El análisis experimental finalizó con una titulación en la que se empleó ácido clorhídrico 0,1 M previamente estandarizado hasta el viraje del indicador colorimétrico. El volumen de ácido clorhídrico consumido se expresó en % de nitrógeno total, y se aplicó el factor de conversión de 6,25 para calcular el % de proteína presente en la muestra (37,38). El análisis se realizó por duplicado (39) y se calculó como se muestra en las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{NT b. s.} = \frac{\text{Volumen gastado en la titulación} \times \text{normalidad del titulante} \times 14 \times 100}{\text{Peso inicial de la seta (g)} \times 10000} \quad \text{(ec 6)}$$

$$\% \text{Proteína} = \% \text{NT b. s.} \times \text{factor de conversión de nitrógeno a proteína (f)} \quad \text{(ec 7)}$$

6.2.5 Fibra dietaria total

La fibra dietaria total se define como los polisacáridos y lignina que no son digeridos por enzimas humanas (α -amilasa, α -amiloglucosidasa y proteasa) (37). El método AOAC 985.29 se fundamenta en aislar la fracción de interés por precipitación selectiva y posterior determinación de su peso. Para esto, cerca de 0,5 g de hongo liofilizado y desengrasado previamente, se

pesaron en un tubo Falcon de 50 mL y se adicionaron 25 mL de buffer fosfatos pH 6.0 junto con 50 µL de α-amilasa. El preparado se llevó a incubación a una temperatura de 90 °C con agitación vigorosa cada 5 minutos por un tiempo de 15 minutos. Posteriormente, las muestras se enfriaron hasta temperatura ambiente y se ajustó el pH mediante adición de hidróxido de sodio 0,1 M y ácido clorhídrico 0,1 M hasta lograr un valor de pH 7,5 ± 0,2. Luego, 50 µL de una solución de proteasa 2,5 mg/mL en buffer fosfatos preparada antes de su uso, fueron adicionados a los tubos Falcon que fueron incubados a 60 °C durante 30 minutos. A continuación, las muestras se llevaron a temperatura ambiente para ajustar el pH hasta un valor de 4,0 ± 0,6. El contenido de los tubos Falcon se adicionó sobre 100 mL de etanol al 95 % para permitir la precipitación de la fibra dietaria total durante 12 horas. Transcurrido ese tiempo, se realizó una filtración en crisoles con placa de vidrio sinterizado, utilizando papel filtro analítico (tamaño de poro de 5 µm). El precipitado fue transferido cuantitativamente y lavado, con ayuda de un sistema de vacío, con 10 mL de etanol al 78 % x 3 veces, seguido de 8 mL de acetona x 3 veces. Los residuos se sometieron a secado en una estufa a 60 °C durante 12 horas para luego registrar el peso del conjunto (37). La cantidad de fibra dietaria se calculó como se muestra en las siguientes ecuaciones:

$$\%FDT (b. s) = \frac{\text{peso de fibra (g)}}{\text{Peso inicial de seta (g)}} \times 100 \text{ (ec 8)}$$

$$\%FDT (b. s) \text{ corregida} = \%FDT b. s \left(\frac{100 - \%grasa/extracto\ etéreo}{100} \right) \text{ (ec 9)}$$

6.2.6 Carbohidratos

Los carbohidratos totales se determinaron por el método de diferencia (AOAC, 2000) (37) que consiste en restar al 100%, el resultado del porcentaje de ceniza (C), grasa (G) y proteínas (P), como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Carbohidratos totales (b. s)} = 100 - \% \text{ cenizas} - \% \text{ Grasa} - \% \text{ proteína (ec 10)}$$

6.3 Extracción y cuantificación de polisacáridos de hongos macromicetos

La extracción de los polisacáridos se llevó a cabo siguiendo la metodología reportada por Palacios (2015). Para esto, se utilizaron los hongos previamente liofilizados, con un aproximado de 12 g de cada hongo, y se sometió a extracción utilizando 80 mL de agua caliente a 96°C. Solamente se realizó una extracción acuosa líquido-sólido, para posteriormente permitir el

equilibrio térmico por una hora y posteriormente, filtrar al vacío, descartando el material particulado. Seguidamente se realizó una precipitación de polisacáridos con etanol 80 mL frío al 96% durante 24 horas. Transcurrido ese tiempo, se centrifugó en tubos falcon de 50 mL por 20 minutos a 14.000 rpm para obtener el sedimento que corresponde a los polisacáridos insolubles en etanol; el sobrenadante fue descartado. El sedimento denso y viscoso fue secado en estufa a 50°C por 40 min, y transcurrido este tiempo se dispuso en un contenedor para llevarlo a congelación a -20°C por dos semanas. Esta fracción obtenida es la que se usó en la caracterización reológica preliminar (40).

$$\% \text{ Polisacáridos (b. s.)} = \frac{\text{Peso de los polisacáridos secos obtenidos (g)}}{\text{Peso inicial de seta (g)}} \times 100 \text{ (ec 11)}$$

6.4 Caracterización preliminar de los polisacáridos

6.4.1 Determinación de pH

La cantidad de polisacáridos obtenidos de cada hongo macromiceto se pusieron en contacto con un papel indicador universal de pH antes de secar en estufa. La medición se realizó por duplicado (41).

6.4.2 Caracterización reológica

Para la evaluación reológica se empleó el total de la fracción polisacárida obtenida (aproximadamente 0,5 g de cada polisacárido), empleando la fracción polisacárida almacenada por dos semanas en congelación a -20°C, estas fracciones se descongelaron por 2 horas, se usó la metodología descrita por Jiménez R. (2022) en un reómetro AR-G2 Rheometer-TA Instruments, con geometría de placas paralelas de 20 mm de diámetro a una temperatura de 25°C procurando que la muestra a analizar quedará en la parte central de la placa. Se emplearon parámetros de velocidad de corte inicial de 0,1 s⁻¹ y una final de 100 s⁻¹, y un GAP de 0,5 mm. La medición se realizó una sola vez debido a la cantidad de fracción polisacárida (FP) obtenida (42).

7. Resultados y análisis de resultados

7.1 Análisis proximal.

En respuesta al planteamiento del primer objetivo que busca realizar un análisis proximal de las cuatro especies de hongos analizados, la **tabla 2** presenta los porcentajes de humedad, ceniza, grasa o extracto etéreo, proteínas, fibra dietaria total y carbohidratos determinados por protocolos aprobados y estandarizados por la AOAC.

7.1.1 Humedad.

En esta determinación, el contenido de humedad solamente se realizó a dos hongos frescos (*Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus*), pues la setas Maitake (*Hericium erinaceus*) y Melena de león (*Grifola frondosa*) fueron adquiridas como producto liofilizado por VITAL SETAS S.A.S debido a la disponibilidad de la seta y su cuerpo fructífero, por lo que los cultivos de estas setas son estacionales, es decir no se encuentran disponibles en cualquier época del año, la justificación de su porcentaje de humedad recae según lo reportado en la literatura (85%) (47). Al evaluar el contenido nutricional de los hongos macromicetos, el factor vital siempre reincide en el porcentaje de humedad y cómo se relaciona esta en su porcentaje en base seca, ya que afecta directamente el contenido nutrimental de los hongos (43). Según las publicaciones de Palacios (2015) , Barros *et al.* (2008) y Chang (2004), los hongos frescos contienen un alto porcentaje de humedad (85-95%), pero dependiendo de la época de cosecha, condiciones ambientales y sitio de cultivo, puede variar (40,43,44). En ese orden, después de la determinación de humedad de las dos especies en fresco analizadas, se tiene que, en promedio, sus valores de porcentaje de humedad son de $86,3415 \pm 1,0542$ para *Lentinula edodes* (LE) y $90,3772 \pm 0,1635$ para *Pleurotus ostreatus* (PO), es decir se encuentran dentro del rango reportado en la literatura (85-95%), esto puede relacionarse con sus protocolos de cultivo, como tipo de suelo o sustrato así como de las condiciones ambientales del lugar de cultivo; algo a destacar es que de donde fueron obtenidas estas dos muestras de setas el clima es frío, semiárido y con mucha humedad; por esta razón puede relacionarse el alto porcentaje de humedad obtenido después de la determinación (44). En conclusión los datos reportados por Baldam (2003), en su artículo publicado en la Revista Internacional de Hongos Medicinales, indica que estos valores tan altos de humedad son un indicio de que estos hongos no pueden ser conservados por largos periodos en estado fresco o almacenados en contenedores para su posterior consumo, cabe resaltar que se prefiere que la seta este liofilizada pues es susceptible

a contaminación microbiana debido a la alta cantidad de agua que incrementa y sostiene el crecimiento bacteriano (46).

7.1.2 Cenizas.

Por otra parte, los hongos macromicetos comestibles usualmente presentan alrededor del 5-12% de cenizas (47). La ceniza es el residuo inorgánico que queda después de haber eliminado el agua y la materia orgánica mediante calentamiento en presencia de agentes oxidantes, y que proporciona una medida de la cantidad total de minerales que contiene un alimento (47). El método de calcinación se basa en el hecho de que los minerales no se destruyen por el calentamiento, y que tienen una baja volatilidad en comparación con otros componentes de los alimentos. En ese orden, esta determinación da una idea aproximada del contenido mineral presente en sus cuerpos fructíferos, entendiéndose contenido mineral como macronutrientes (hierro, fósforo, potasio, calcio y magnesio) y micronutrientes (selenio, zinc, y manganeso) (48). Para la determinación de este ensayo, en los cuatro hongos en estudio, el contenido de cenizas en todas las especies analizadas presentan porcentajes dentro del rango reportado en la literatura (5-12%). Si se comparan, *Pleurotus ostreatus* (PO) es el hongo que presenta mayor cantidad de cenizas $9,0990 \pm 0,4401$ a diferencia de *Hericium erinaceus* (HE) $5,3687 \pm 0,0544$ que es el menor. Esto se relaciona con lo reportado por Ayaz, F *et al* (2011) donde los carpóforos de los hongos macromicetos comestibles se caracterizan por un alto nivel de constituyentes minerales como hierro (Fe) y magnesio (Mg), especialmente en la seta PO, donde su porcentaje suele estar entre el 8 y 10% y para HE, su porcentaje no supera el 6% (49). Este mismo autor afirma que el contenido de minerales está relacionado con el tipo de coloración del residuo al finalizar el ensayo; ya que un color blanco intenso, sugiere la oxidación propia del macronutriente hierro (Fe), característica que fue registrada en todas las especies estudiadas (48). A nivel fisiológico, el hierro es un mineral que desempeña muchas funciones en la salud humana, entre ellas, el apoyo al metabolismo, el crecimiento y la inmunidad. (47). El consumo de *Pleurotus ostreatus* puede garantizar a fisiológicamente, niveles adecuados de hierro (Fe) pues es un componente esencial de la hemoglobina y la mioglobina, responsables del transporte de oxígeno a los tejidos y músculos del cuerpo, previniendo enfermedades como la anemia o la fatiga (47).

7.1.3 Grasa/ Extracto etéreo.

La grasa alimentaria, es uno de los principales componentes de la dieta normal, y por tanto un estrecho regulador necesario para garantizar una homeostasis lipídica equilibrada (50). Por lo general, el contenido en lípidos de las especies de setas es bajo; en las setas frescas de

distintas especies la proporción de lípidos en base húmeda se encuentra en el rango de 1,75-15,5% (51). Según Barros *et al* (2007), el contenido de lípidos en los hongos se encuentra dentro del rango normal (2-6%) si este es determinado en base seca (b.s), pues al no relacionarlo con el porcentaje de humedad este suele ser el más certero y confiable (52). La **tabla 2** presenta los porcentajes de grasa promedio de los hongos de estudio, siendo el hongo HE el hongo con menor porcentaje de contenido lipídico $1,0141 \pm 0,0951$ en comparación con *Grifola frondosa* (GF) donde su porcentaje es $4,8495 \pm 0,4524$. De acuerdo con Kalač (2013), el contenido total de lípidos en los hongos macromicetos comestibles (HMC) aporta 350 kcal kg^{-1} , lo que representa un 15% del total de kilocalorías que se deben consumir en un día (60). Esto representa una buena fuente energética ya que su aporte calórico duplica el de las proteínas y el de los hidratos de carbono (60). Según Kalač (2013), la contribución nutricional de los lípidos de los hongos es limitada, sin embargo sólo el ácido linoleico (ω -6), un ácido graso poliinsaturado que reduce el nivel de colesterol y tiene propiedades antioxidantes, es el predominante en los hongos macromicetos. Este ácido graso está relacionado con una mejor salud cardiovascular y con un efecto anticancerígeno (60). De acuerdo con Gomez, A (2009), dicho efecto anticarcinogénico ha sido estudiado en relación con la prevención del cáncer mamario, pues su efecto es dosis-dependiente, y las ingestas que oscilan entre un 0,05% y un 2% de ácido linoleico, incrementan el efecto antioxidante, la respuesta inmunitaria, la inhibición de la angiogénesis y la metástasis, junto con un incremento de la apoptosis (81). Esto implica que el consumo de hongos macromicetos implementado en la dieta diaria puede ser efectivo como alimento funcional, pues posee propiedades antioxidantes que normalizan los niveles plasmáticos de colesterol, disminuyendo los riesgos de padecer enfermedades como la obesidad o el cáncer (81).

Tabla 2. Contenido de nutrientes en base seca de cuatro hongos macromicetos comestibles.

ANÁLISIS PROXIMAL						
Seta	% Humedad	% Cenizas	% Grasa/ extracto etéreo	% Proteína	% Fibra	% Carbohidratos
<i>Lentinula edodes</i>	86,3415 ± 1,0542	6,2656 ± 0,8460	2,7317 ± 0,8100	22,6875 ± 0,0141	9,5833 ± 0,2752	68,3152
<i>Hericium erinaceus</i>	85*	5,3687 ± 0,0544	1,0141 ± 0,0951	8,6875 ± 0,1838	8,1418 ± 1,2330	84,9297
<i>Pleurotus ostreatus</i>	90,3772 ± 0,1635	9,0990 ± 0,4401	3,0515 ± 0,5369	23,4688 ± 0,3889	3,8487 ± 0,8601	64,3807
<i>Grifola frondosa</i>	85*	6,5680 ± 0,4169	4,8495 ± 0,4524	10,8438 ± 0,0071	5,8436 ± 0,7695	77,7387

* corresponde a los valores tomados de la literatura, Barros et al. (2008) (44)

7.1.4 Proteínas.

Las proteínas de los hongos macromicetos comestibles tienen diversas actividades biológicas entre ellas su capacidad inmunomoduladora (55). En general, se ha documentado que las setas comestibles contienen entre un 19-35% de proteína en base seca (56), sin embargo, el contenido de estos compuestos bioactivos puede variar significativamente en función de diversos factores, como la cepa, el sustrato, el cultivo, las condiciones de almacenamiento y el procesado (56). Los resultados proteicos en las cuatro cepas de hongos analizados, se muestran en la **tabla 2**, en relación con su porcentaje para LE es de $22,6875 \pm 0,0141$, donde su rango se encuentra entre 9–25% (57), HE $8,6875 \pm 0,1838$ representado en un 7-19.9% (57), PO $23,4688 \pm 0,3889$ su porcentaje no supera el 10% (52), y finalmente GF $23,4688 \pm 0,3889$ representada por valores mayores al 13.8 % (58). Según Oyetayo, *et al* (2007), la importancia del contenido de proteínas en los hongos macromicetos depende de los tipos de aminoácidos que la forman; el ácido glutámico, la leucina, la arginina, el triptófano y el ácido aspártico son los aminoácidos más predominantes en las proteínas de origen fúngico (82). En un estudio realizado por Kalác (2009), se menciona que para una misma especie, la distribución y el contenido de proteínas puede ser diferente durante el desarrollo y zona de crecimiento de los cuerpos fructíferos completos, así mismo, el contenido de aminoácidos libres en materia seca de los hongos es bajo, correspondiente al 1%, también afirma que el aminoácido que se encuentra en mayor proporción es el L-triptófano especialmente en los carpóforos de los hongos macromicetos comestibles (59). El L-triptófano es un aminoácido de tipo indol precursor directo de la serotonina ("hormona de la felicidad"), es un compuesto que posee una actividad antioxidante debido a su capacidad para proteger estructuras celulares vitales, como las membranas celulares. (83). Hay que destacar que la presencia de L-triptófano en todos los

cuerpos fructíferos de las especies de setas aumenta sus valores dietéticos, lo que es de particular importancia en la dieta vegetariana, donde las setas ricas en derivados indólicos pueden constituir una alternativa a la carne roja (83). Si bien no se puede sustituir la proteína de origen animal como la carne roja o el huevo, los HMC pueden ser una fuente adicional de L-triptófano al incluirlos y combinarlos con proteína de origen animal (59).

7.1.5 Fibra dietética.

La fibra es aquella sustancia soluble o insoluble que no se puede digerir en el tracto digestivo. (60). La determinación de la fibra dietética total se basó en la digestión enzimática secuencial de la muestra de seta liofilizada con alfa-amilasa termoestable; proteasa y amiloglucosidasa, enzimas que no pueden digerir la fibra en el tracto gastrointestinal (60). Los hongos macromicetos en comparación con otras fuentes convencionales de fibra, como los cereales, las frutas, las legumbres y las verduras, han sido poco estudiados (61,62). De acuerdo con Liwen *et al* (2021), la fibra dietaria total (FDT) en los hongos macromicetos la constituye, principalmente, las paredes celulares. En setas como *Lentinula edodes* y *Grifola frondosa*, poseen una mezcla de componentes fibrilares que incluyen la quitina (un polímero de cadena recta (1→4)-β-ligada de N-acetil-glucosamina) y los polisacáridos como los (1→3)-β-D-glucanos. Generalmente el porcentaje de FDT en estas setas no supera el 10 % en b.s (63). En este trabajo investigativo si se comparan las dos especies referenciadas anteriormente (LE y GF) se tiene que para LE, su %FDT es de $9,5833 \pm 0,2752$ y para GF su %FDT es de $5,8436 \pm 0,7695$, se puede decir que estos se encuentran en el rango adecuado (no mayores al 10%) (63). Según Y.Z. Tao, *et al.*(2006), para las mismas especies de estudio (LE y GF) afirma que existe la presencia de polisacáridos como β-D-glucanos, estos adicionalmente pueden tener una serie contenidos fibrilares, otorgando otro gran beneficio relacionado con el consumo de fibra en general, junto con una reducción en la densidad energética y en la ingesta de grasa, ayudan a prevenir el desarrollo de diabetes y contribuyen a la reducción de peso corporal (64). Según Schulze MB, *et al* (2006), la fibra dietética actúa de dos maneras distintas: primero para prevenir las enfermedades cardiovasculares, pues ayuda a disminuir la absorción de grasa en el intestino manteniendo el colesterol en niveles saludables, y segundo ayuda a prevenir el cáncer de colon, pues la fibra disminuye el tiempo de contacto de las heces que pueden contener toxinas con las paredes del colon (84). En conclusión, el consumo de HMC puede proveer beneficios para la prevención y el tratamiento de enfermedades crónicas como las afecciones cardiovasculares y el cáncer, pues la fibra que contienen pueden disminuir las concentraciones del colesterol LDL, disminuyendo el riesgo de

obstrucción de las arterias coronarias y también pueden prevenir riesgo de padecer cáncer de colon gracias a su efecto laxante (84).

7.1.6 Carbohidratos.

En la materia seca de los HMC, los carbohidratos están presentes en mayor proporción y forman parte principal de su composición nutrimental, aproximadamente el 50-65%, aunque puede ser superior (65). Los carbohidratos son buenas fuente de alimento energético, en los hongos macromicetos destacan los polisacáridos como el glucógeno, la quitina, y los (1→3)-β-D-glucanos (66). Para las cuatro especies analizadas su porcentaje carbohidratos en b.s es mayor al 60%, es decir, concuerda con lo reportado en la literatura (50-65%); esto se debe a que los HMC tienen entre un 80 y 90% de quitina, un polisacárido estructural que protege a las células en condiciones de estrés ambiental (65). En ese orden, el contenido de carbohidratos varía según la fase de desarrollo, especie de hongo y parte del hongo a la que se realiza el análisis, pues la presencia de quitina y β-D-glucanos estos pueden variar (59).

Los resultados del presente estudio indican que las cuatro especies analizadas, son buena fuente de nutrientes entre los que se incluyen proteínas, carbohidratos, lípidos y minerales, así como de su alto contenido de humedad. En general, la composición proximal de estos hongos se encuentra dentro del rango establecido para hongos comestibles, determinando que LE, HE, PO,GF son alimentos idóneos para su consumo, y estas pueden ser complementarias en la dieta diaria (60).

7.2 Extracción y cuantificación de polisacáridos.

En respuesta al segundo objetivo de esta investigación que consiste en extraer y cuantificar la fracción polisacárida, la **tabla 3** presenta la extracción en base seca de las cuatro especies de hongos analizadas. En términos generales, los métodos de extracción de polisacáridos puede clasificarse en tres tipos principales: uno es el método convencional de extracción con disolventes, que utiliza agua caliente en primera instancia y precipitación con etanol; el segundo, que utiliza métodos físicos como microondas, ultrasonidos o ultra alta presión para extraer los polisacáridos; y el tercero, es el método de extracción asistida por enzimas (65). Así como lo indica Macharia JM, Zhang L, et al. (2022), la mayoría de estos compuestos bioactivos sigue sin explorarse, y de todos los compuestos biológicamente activos presentes en los hongos macromicetos comestibles, están los polisacáridos como los más abundantes (63). Algunos trabajos como monografías y artículos de revisión ponen de manifiesto un potencial bioactivo de estas moléculas para que sean utilizados en futuras investigaciones, siendo las

setas comestibles un alimento de alto valor en la industria alimentaria y farmacéutica, destacando los efectos antitumorales, inmunomoduladores, antioxidantes, antirradicales, antihipercolesterolémicos, antivirales, antibacterianos, antiparasitarios, antifúngicos, desintoxicantes, hepatoprotectores y antidiabéticos (65). Según Zhang, M, et al. (2007), la mayoría de polisacáridos de hongos con actividad biológica parecen estar relacionados con la pared celular y pertenecen en su mayoría al extenso y conocido grupo de los β -glucanos (66). En un estudio realizado por Zhang, Y., et al. (2011), un ejemplo de polisacárido obtenido de hongos macromicetos es el lentinan, derivado de LE el cual presenta una estructura común que consiste en una cadena principal con enlaces β -(1 \rightarrow 3) y ramificaciones en posición O-6, las cuales parecen ser claves para su actividad antitumoral, presentando una demostrada actividad inmunomoduladora (67).

Tabla 3. Contenido de polisacáridos en base seca de cuatro hongos macromicetos comestibles.

DETERMINACIÓN DE POLISACÁRIDOS	
Seta	%Polisacáridos
<i>Lentinula edodes</i>	1,1803 \pm 0,2255
<i>Hericiium erinaceus</i>	9,7182 \pm 0,2122
<i>Pleurotus ostreatus</i>	21,6459 \pm 1,6777
<i>Grifola frondosa</i>	7,2567 \pm 0,5041

A pesar que los estudios realizados sobre polisacáridos son numerosos y se encuentra información fácilmente en las plataformas de divulgación científica, la información encontrada sobre su método de extracción y cómo contribuye a ese porcentaje de contenido de polisacáridos, es contradictoria. Por ejemplo Zhu, F., Du, B., & Xu, B. (2014), afirman que la solución de extracto de polisacárido de hongo se precipita con etanol o acetona, después de una extracción acuosa con agua destilada caliente a 96°C para obtener los polisacáridos en bruto, pasando por procesos de centrifugación se permite el asentamiento de los polisacáridos, y de esta manera poderlos aislar de su matriz acuosa, para su posterior evaporación de solvente, seguido del congelamiento para su preservación (68). En una metodología similar reportada por Palacios, I. (2015) que por efectos de costos y compatibilidad fue la utilizada en este trabajo investigativo, una ventaja que tiene este tipo de extracción acuosa primaria en comparación con el de extracción asistida por métodos físicos (microondas, ultrasonido, entre

otras), es que esta extracción acuosa primaria tiene como fin eliminar compuestos fenólicos, ácidos grasos, monosacáridos, aminoácidos y otras moléculas de bajo peso molecular, pero esta no resulta del todo efectiva, para la extracción de polisacáridos de los cuatro hongos estudiados (LE,HE,PO,GF), pues de acuerdo con la **tabla 3**, la seta con mayor porcentaje de extracción es PO seguida de HE, que comparado con el estudio realizado por Zhang, Y.,*et al.*(2011) debió observarse ese mayor porcentaje en LE (68).

Es por esto que la selección de un método de extracción no sólo depende de la estructura de la pared celular, que en este estudio fue favorable para HE, sino también de diferentes parámetros fisicoquímicos, como: la temperatura, el pH y la fuerza iónica del disolvente (agua) a usar en la primera extracción líquido-sólido, además de el tamaño de las partículas sólidas o del polvo liofilizado de cada hongo utilizado para la extracción (69).

7.3 Caracterización preliminar de las fracciones polisacáridas.

Para finalizar, en respuesta al tercer objetivo específico una caracterización preliminar de los polisacáridos de LE,HE,PO,GF permiten una determinación de cómo es su pH, su viscosidad y asociado a esto si se trata de un fluido Newtoniano o no-Newtoniano, con el fin de determinar si pueden ser usados en productos como gomas o gelatinas, de tal manera que pueda proporcionar apoyo técnico para la investigación adicional sobre la formulación de un alimento funcional, pues es importante conocer las materias primas utilizadas, además que permiten mejorar la textura, el sabor y la sensación en boca de los alimentos que se consumen (73,72). En ese orden, debido a la cantidad de fracción polisacárida (FP) extraída de los hongos de estudio, se escogieron dos FP de acuerdo con su porcentaje de extracción (HE y PO) (**ver tabla 3**) a las que se les realizaron una determinación de pH y viscosidad .

El pH es un factor importante que muestra efecto sobre la viscosidad del polisacárido, es decir cuando el pH no se encuentra en rangos de 3,5 a 6,5, la densidad de carga de las moléculas de los polisacáridos puede cambiar, en consecuencia ocurren variaciones del comportamiento del polisacárido, y este cambio conduciría a la variación de las interacciones entre las moléculas, o a la alteración de la estructura de los polisacáridos otorgando propiedades diferentes no favorables para ser usados como agentes gelificantes (74). Por ejemplo si el resultado de la extracción se hace a un pH alcalino, la conformación de los polisacáridos helicoidales de los HMC se convierten en cadena flexibles, y por ende este cambio hace que las cadenas moleculares se contactaran entre sí a distancia, lo que provoca una disminución en la viscosidad, haciendo que su comportamiento sea más como un fluido Newtoniano, nada

favorable para la utilización en formulación donde se quiere comprobar que estos polisacáridos buenos agente gelificantes (75) . En reología se debe trabajar una temperatura y pH para reportar los datos obtenidos con el fin de tener unas variables fijas y hacer variaciones en la medición si es necesario (74), por defecto se trabajó a una temperatura de 25°C y en la **tabla 4** los pH presentan valores muy semejantes entre sí, estos toman valores entorno a 4, lo cual coincide con la mayoría de estudios realizados para este tipo de hongos (20,40).

Tabla 4. Valores de pH de la fracción polisacárida de los hongos macromicetos en estudio de las cuatros setas de estudio.

DETERMINACIÓN DEL pH DE LOS POLISACÁRIDOS	
Seta	pH
<i>Lentinula edodes</i>	5
<i>Hericiium erinaceus</i>	3
<i>Pleurotus ostreatus</i>	4
<i>Grifola frondosa</i>	4

Basándose en la información anterior, para comprender mejor el comportamiento de la viscosidad de estas fracciones las curvas se ajustaron a la regresión de Herschel Buckley (**Figura 3**). Este es un modelo generalizado de un fluido no-Newtoniano, en el que la tensión experimentada por el fluido se relaciona con la deformación de una manera complicada y no lineal (76).

$$\tau - \tau_0 = k(\dot{\gamma})^n$$

Donde:

τ : Esfuerzo cortante (Pa)

k : Coeficiente o índice de consistencia de flujo (Pa.sⁿ)

τ_0 : Umbral de fluencia (Pa)

$\dot{\gamma}$: Velocidad de deformación (1/s)

Figura 3. Ecuación de la regresión Herschel Buckley (76)

Según Bourne (2002) los indicadores que relacionan esta ecuación son tres parámetros : la consistencia k , el índice de flujo n , y el esfuerzo de cizallamiento t_0 . La consistencia es una simple constante de proporcionalidad, mientras que el índice de flujo mide el grado en que el fluido se está adelgazando o espesando. Si $t < t_0$ el fluido Herschel-Bulkley se comporta como un sólido, de lo contrario se comporta como un fluido Newtoniano. Ahora $\eta < 1$ el fluido es adelgazante, mientras que para $\eta > 1$ el fluido es espesante. Si $\eta = 1$ y $t_0 = 0$ quiere decir que su comportamiento es como un fluido Newtoniano (75.76) De acuerdo con la **Figura 4** que muestra la curva de cambio de viscosidad con el aumento de velocidad de cizallamiento se tiene que $\eta > 1$ el fluido es espesante, característica principal de un fluido no newtoniano.

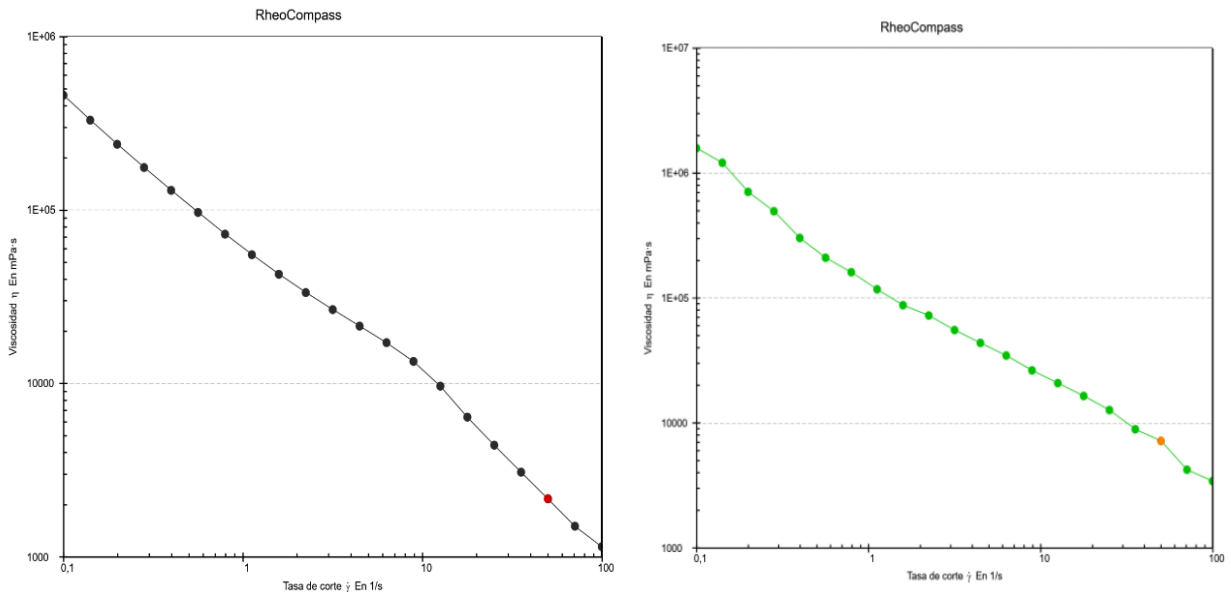


Figura 4. Curvas de viscosidad para la fracción polisacárida de *Hericium erinaceus* (color negro) y *Pleurotus ostreatus* (color verde) . Viscosidad (η) vs tasa de corte(γ).

Si se observa el dato de las gráficas de esfuerzo de corte (**figura 5 y 6**), estas no comienzan desde cero dando un resultado certero de que su comportamiento es No-Newtoniano, si se toma el primer punto de viscosidad para la FP de HE da un valor de $4,597E+0,5$ mPa/s y el último y es punto de la viscosidad 1149 mPa/s , mostrando una evidente zona de adelgazamiento por cizallamiento, esto sucede igual con la FP de PO, dónde el punto inicial de viscosidad es de $1,583E+0,6$ mPa/s y su punto final de viscosidad es de 3434 mPa/s .En comparación con la curva de viscosidad, la curva de tensión era opuesta, es decir la tensión de

la FP aumentó con el incremento de la velocidad de cizallamiento, y la curva de tensión era descendente a altas velocidades de cizallamiento (**Figura 4**), ambas FP mostraron este comportamiento ya que se debe al hecho de que las macromoléculas están orientadas a lo largo de la línea de corriente y la estructura abierta enredada no puede recuperarse a tiempo.

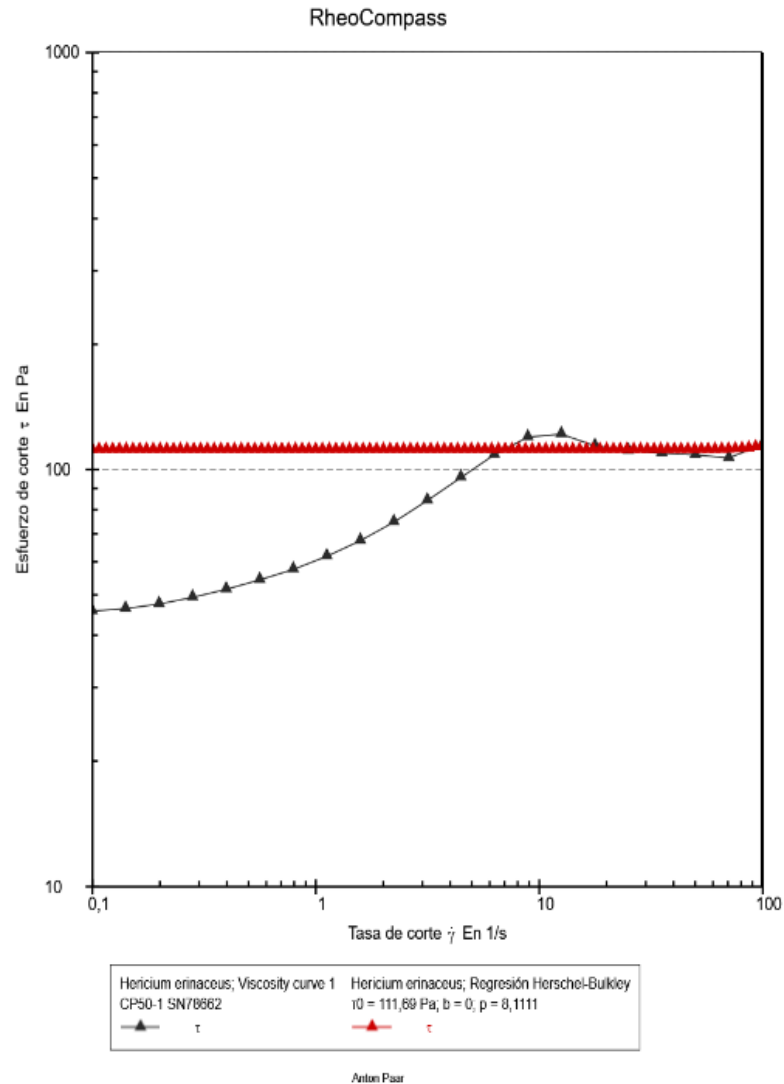


Figura 5. Curva de viscosidad para la fracción polisacárida de *Hericium erinaceus*. Esfuerzo de corte (τ) vs tasa de corte ($\dot{\gamma}$).

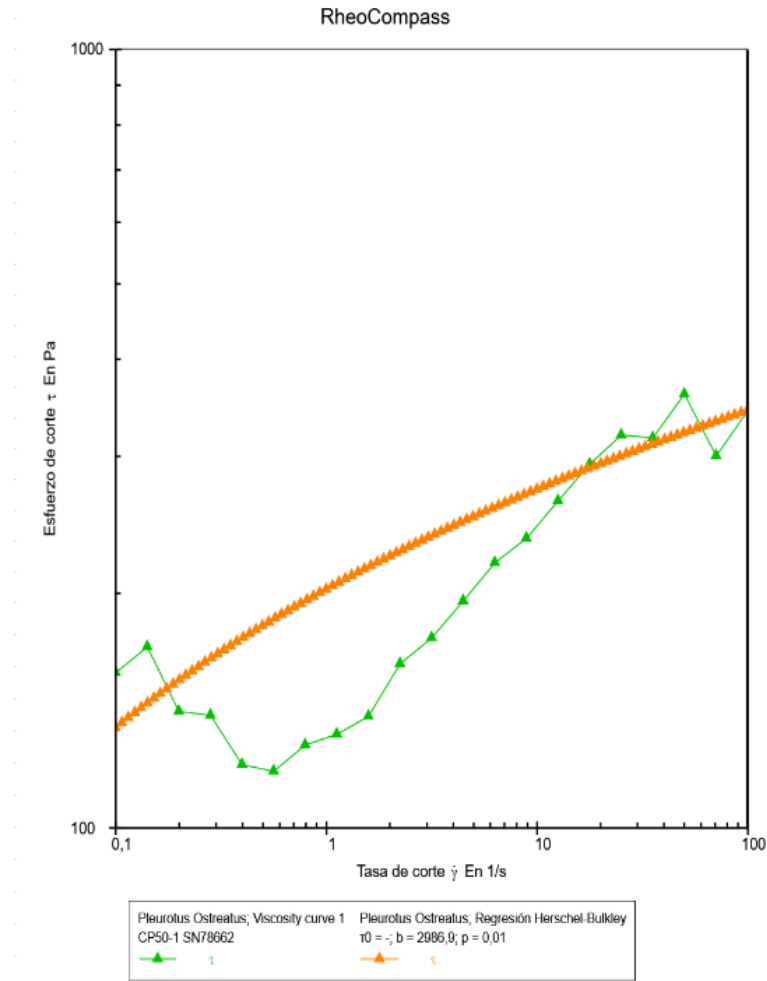


Figura 6. Curva de viscosidad para la fracción polisacárida de *Pleurotus ostreatus*. Esfuerzo de corte (τ) vs tasa de corte ($\dot{\gamma}$).

Para finalizar, según Xu, *et al.* (2016) estos fenómenos de adelgazamiento por cizallamiento pueden atribuirse a una estructura molecular fuerte y consolidada de los polisacáridos de acuerdo con su pH que se encuentra dentro del rango (3,5-6,5) HE y PO son clasificados como fluidos no- Newtonianos de tipo pseudoplástico, como se predijo por justificación bibliográfica , la viscosidad de cizallamiento constante disminuyó al aumentar la velocidad de cizallamiento y por ende el flujo es independiente del tiempo (79). Es decir dentro de los fluidos independientes del tiempo los pseudoplásticos se caracterizan porque la viscosidad aparente depende solamente de la temperatura, la composición del fluido y del esfuerzo cortante pero

nunca del tiempo de aplicación, por consiguiente la viscosidad se reduce con el incremento de las velocidades de deformación (o por el esfuerzo aplicados).

En conclusión, Muller (1973) señala que en los sistemas pseudoplásticos, la relación esfuerzo de corte y la relación de deformación no viene expresada por una línea recta, esto puede ser observado en las **figuras 5 y 6**, es decir a cada valor de esfuerzo de corte le corresponde un solo valor de relación de deformación, por lo que si n es mayor que 1, se produce espesamiento y el material de muestra es pseudoplástico, por lo que en un análisis final estos comportamientos de las FP analizadas previamente muestran una disminución de la viscosidad por acción de cizalla, independiente del tiempo lo que corresponde a un fluido no-Newtoniano de tipo pseudoplástico (80).

8. Consideraciones éticas

No aplica.

9. Conclusiones

Este trabajo investigativo proporcionó las primeras bases para el desarrollo farmacéutico de un alimento funcional centrado en determinar las propiedades nutricionales de cuatro hongos macromicetos comestibles (*Lentinula edodes*, *Hericiium erinaceus*, *Pleurotus ostreatus* y *Grifola frondosa*). En general, todas las setas estudiadas son alimentos con alto porcentaje de humedad en un rango de 85 a 90 %, donde de acuerdo con esta investigación el mayor porcentaje de agua se presenta en la seta *Pleurotus ostreatus* con un 90%. Se destaca el alto contenido de proteínas (8-22%). También es posible resaltar el alto contenido de fibra dietética (5-9%), donde el más bajo de ellos es *Pleurotus ostreatus*, además de su bajo porcentaje de grasa (1-4%). Adicionalmente, se determinó que el contenido de polisacáridos en estas especies analizadas se encuentran entre el 1 y 21% en base seca. Dentro de la caracterización de los polisacáridos, el pH es un factor importante que muestra el efecto la viscosidad del polisacárido, si el pH no se encuentra en rangos de 3,5 a 6,5, ocurren variaciones del comportamiento del polisacárido perdiendo esa viscosidad que los caracteriza; en ese orden, este cambio conduciría a la variación de las interacciones entre las moléculas, afectando su acción gelificante que puede generar desventajas a la hora de hablar de la formulación de un alimento funcional. La caracterización reológica de esta fracción permitió clasificarlos como fluidos no-Newtonianos de tipo pseudoplásticos. Finalmente, a partir de la información obtenida se pudo concluir que las setas estudiadas son una buena alternativa alimenticia para incorporación en un alimento funcional, atendiendo a sus propiedades nutraceuticas y tecnológicas.

10. Recomendaciones

En relación con el análisis proximal se recomienda realizar la cuantificación de minerales específicos, con el fin de complementar la información nutricional de estas especies estudiadas.

Se recomienda evaluar otros métodos de extracción, con el objetivo de determinar cuál método permite obtener las mayores cantidades de polisacáridos para cada hongo, y relacionado a esto, se recomienda llevar a cabo una caracterización reológica más amplia que permita conocer propiedades de viscosidad a diferentes pH que permita complementar la información necesaria para la formulación de un alimento funcional.

Es esencial desarrollar métodos más eficaces orientados a la industrialización de la extracción de polisacáridos biológicamente activos de hongos macromicetos, que tengan como fin la validación del potencial citostático de la fracción polisacárida y su posterior incorporación en un alimento funcional y como esta puede contribuir al tratamiento o prevención del cáncer.

11. Referencias bibliográficas

1. Hernández-Martínez, R.; Navarro-Blasco, I. (2015). Surveillance of aflatoxin content in dairy cow feedstuff from Navarra (Spain). *Anim. Feed Sci. Technol*, 200, 35–46
2. Roth GA, Abate D, Abate KH, Abay SM, Abbafati C, Abbasi N, et al. (2017) Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980–2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 2018; 392(10159): 1736–88. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32203-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32203-7)
3. Production, consumption and Marketing Edition: I Chapter: Nutritional and Medicinal values of Mushrooms Publisher: Directorate of Mushroom Research, Solan Editors: Manjit Singh, B.Vijai, Shwet Kamal G.C. Wakchaurae Project: Paddy straw genetic improvement
4. Kumar, P.; Chatli, M.K.; Mehta, N.; Singh, P.; Malav, O.P.; Verma, A.K. (2017). Meat analogues: Health promising sustainable meat substitutes. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*. 2017, 57, 923–932
5. Kong, Y.; Yang, X.; Ding, Q.; Zhang, Y.Y.; Sun, B.G.; Chen, H.T.; Sun, Y. (2017) Comparison of non-volatile umami components in chicken soup and chicken enzymatic hydrolysate. *Food Res. Int*. 2017, 102, 559–566
6. Kozarski, M.; Klaus, A.; Jakovljevic, D.; Todorovic, N.; Vunduk, J.; Petrović, P.; Niksic, M.; Vrvic, M.M.; Van Griensven, L. (2015) Antioxidants of edible mushrooms. *Molecules* 2015, 20, 19489–19525.
7. Hoeft B., Weber P., Eggersdorfer M. (2012) Micronutrients—A global perspective on intake, health benefits and economics. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 2012;82:316–320. doi: 10.1024/0300-9831/a000125.
8. Lemieszek M, Rzeski W. (2012). Anticancer properties of polysaccharides isolated from fungi of the Basidiomycetes class. *Wspolczesna Onkol.* 4:285–289. 10.5114/wo.2012.30055
9. Lang, M. (2020). Consumer acceptance of blending plant-based ingredients into traditional meat-based foods: Evidence from the meat-mushroom blend. *Food Qual. Prefer.* 2020, 79, 103758.
10. Bruins, M. J., Van Dael, P., & Eggersdorfer, M. (2019). The Role of Nutrients in Reducing the Risk for Noncommunicable Diseases during Aging. *Nutrients*, 11(1), 85. <https://doi.org/10.3390/nu11010085>

11. Zhuang C, Kawagishi C, Harry G. (2005). Glycoprotein with antidiabetic, antihypertensive, antiobesity and antihyperlipidemic effects from *Grifola frondosa* and a method for preparing sample. United States Patent Application, nº 7.214.778, 2005.
12. Nielsen, J.E., Beier, L., Otzen, D., Borchert, T.V., Frantzen, H.B., Andersen, K.V. and Svendsen, A. (1999), "Electrostatics in the active site of an α -amylase", *European J. Biochemistry*, Vol. 264, pp. 816-24.
13. Disis M. L. (2010). Immune regulation of cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 28(29), 4531–4538. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.27.2146>
14. Steck SE, Murphy EA.(2020). Dietary patterns and cancer risk. *Nat Rev Cancer*. 2020 Feb;20(2):125-138. doi: 10.1038/s41568-019-0227-4. Epub 2019 Dec 17. PMID: 31848467.
15. Stamets, P. (2000). "Growing gourmet and medicinal mushrooms". Canadá. McGraw-Hill. 25p.
16. Varki, A. (2017). Biological roles of glycans. *Glycobiology*, 27, (1), 3-49. <https://doi.org/10.1093/glycob/cww086>.
17. Deshpande, N., Wilkins, M. R., Packer, N., & Nevalainen, H. (2008). Protein glycosylation pathways in filamentous fungi. *Glycobiology*, 18, (8), 626-637. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwn044>
18. Wasser, S. P., & Weis, A. L. (1999). Medicinal properties of substances occurring in Higher Basidiomycetes mushrooms: current perspectives. *Int J Med Mushrooms*, 1, 31–62.
19. Wasser, S.P. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Appl Microbiol Biotechnol* , 60, 258–274.
20. Sun, Y., Shi, X., Zheng, X., Nie, S., & Xu, X. (2019). Inhibition of dextran sodium sulfate-induced colitis in mice by baker's yeast polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 207, 371-381. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.087>
21. Ruytinx, J., Kafle, A., Usman, M., Coninx, L., Zimmermann, S. D., & Garcia, K. (2020). Micronutrient transport in mycorrhizal symbiosis; zinc steals the show. *Fungal Biology Reviews*, 34, (1), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2019.09.001>.
22. Usuldin, S. R. A., Mahmud, N., Ilham, Z., Ikram, N. K. K., Ahmad, R., & Wan, W. A. A. Q. I. (2020). In-depth spectral characterization of antioxidative (1, 3)- β -D-glucan from the mycelium of an identified tiger milk mushroom *Lignosus rhinocerus* strain ABI in a stirred-tank bioreactor.

23. Department of Environmental Sciences and Public Health, University of Gdańsk, 63 Wita Stwosza Str., 80-308 Gdańsk, Poland
24. Faculty of Science and Technology, Athabasca University, Athabasca, Alberta, T9S 3A3, Canada
25. Mohammad-Fata Moradali; Hossein Mostafavi; Shirin Ghods; Ghorban-Ali Hedjaroude (2007). Immunomodulating and anticancer agents in the realm of macromycetes fungi (macrofungi). , 7(6), 0–724. doi:10.1016/j.intimp.2007.01.008
26. Liang J, Melican D, Cafro L, Palace G, Fiset L, *et al.*(1998) Enhanced clearance of a multiple antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* in rats treated with PGG-glucan is associated with increased leukocyte counts and increased neutrophil oxidative burst activity. *Int J Immunopharmacol* 1998;20:595–614.
27. Venkatesagowda, B. (2019). Enzymatic demethylation of lignin for potential biobased polymer applications. *Fungal Biology Reviews*, 33, (3-4), 190-224. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2019.06.002>.
28. Ross GD, Vetvicka V, Yan J, Xia Y, Vetvickova J.(1999). Therapeutic intervention with complement and beta-glucan in cancer. *Immunopharmacology* 1999; 42: 61-74.
29. Hamuro J, Chihara G. Lentinan. (1985). A T-cell oriented immunopotentiator: its experimental and clinical applications and possible mechanism of immune modulation. W: *Immunomodulation agents and their mechanisms*. Fenichel RL, Chirigos MA (eds.). Dekker, New York 1985; 409-3.
30. Burgaleta C, Territo MC, Quan SG, Golde DW. Glucanactivated macrophages: functional characteristics and surface morphology. *J Reticuloendothel Soc* 1978;23:195–204.
31. European Commission report on functional foods. European Union (2010). Available from: http://www.euro-sfaire.prd.fr/7pc/documents/1276590504_functional_foods_en_publi_ce.pdf (18.12.2015)
32. Llanes, Andrés (2015). Alimentos funcionales y biotecnología. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 17(1), 5–8. doi:10.15446/rev.colomb.biote.v17n1.50997
33. Barbosa J. (2020). Occurrence and Possible Roles of Polysaccharides in Fungi and their Influence on the Development of New Technologies. *Carbohydrate Polymers*, (), 116613–. doi:10.1016/j.carbpol.2020.116613
34. Trigos, A. (1998). Química de los Hongos. En “Producción de vitamina D2 a partir de hongos micromicetos: Aspectos científicos, técnicos y económicos”. Bogotá. Editor: Dr. Augusto Rivera Umaña. Editorial Guadalupe. 19p.

35. Melendez, S. (2003). Análisis de alimentos, fundamentos y técnicas. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de química. p. 36.
36. Mizuno, T. (1999). The extraction and development of antitumor-active polysaccharides from medicinal mushrooms in Japan (Review). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 1, 9-30.
37. AOAC method 925.45 Ed. 18 (2004). AOAC International: Official methods of analysis. USA
38. NTC 6383:2020. Determinación del contenido de fibra dietaria total (FDT) en los alimentos. Método enzimático / gravimétrico.
39. Garcia , E y Fernandez, I (2018) Determinación de proteínas de un alimento por el método Kjeldahl. Valoración con un ácido fuerte. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/16338/Determinaci%C3%B3n%20de%20proteinas.pdf>.
40. Palacios, I.(2015). “Extracción y caracterización de polisacáridos y estudio del perfil de compuestos volátiles en hongos comestibles”. Departamento de Biología Celular, Histología y Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad de Valladolid, España.
41. Setayesh, Z., Asoodeh, A. (2017). Biochemical Characterization of HL-7 and HL-10 Peptides Identified from Scorpion Venom of Hemiscorpius lepturus . *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 24(3), 421–430. doi:10.1007/s10989-017-9625-1
42. Jiménez, R. A., Millán, D., Sosnik, A., & Fontanilla, M. R. (2022). Aloe vera–eluting collagen I microgels: physicochemical characterization and in vitro biological performance. *Materials Today Chemistry*, 23. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2021.100722>
43. Chang, S.-T. and P.G. Miles. (2004)., MUSHROOMS: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact. 2nd ed, ed. B. Ratón: FL: CRC Press. 1-26.
44. Barros, L., et a (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology*, 2008. 46(8): p. 2742-2747.
45. Diez, V. A., & Álvarez, A. (2001). Compositional and Nutritional studies on two wild edible mushrooms from North West Spain. *Food Chemistry*, 75 (4), 417-442

46. Badalyan SM. (2003) Edible and medicinal higher Basidiomycetes mushrooms as a source of natural antioxidants. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 5, 153–163
47. Pavel, K. (2009). Chemical composition and nutritional value of European Species of Wild growing mushrooms: A review. *Food Chemistry* 113(1), 9-16
48. Bernás, E., Jaworska, G. & Lisiewska, Z. (2006). Edible mushrooms as a source of valuable constituents. *Acta Sci. Pol, Technolo. Aliment.*, 5 (1), 5-20.
49. Ayaz, F. A., Torun, H., Colak, A., Sesli, E., Milson, M. & Glew, R.H. (2011). Macro and Microelement Contents of Fruiting Bodies of Wild-Edible Mushrooms Growing in the East Black Sea Region of Turkey. *Food and Nutrition Sciences*, 2, 53-59
50. NIETO-RAMÍREZ, I. J., ROJAS-LUNA, R., & SUAREZ A., C. (2012). EVALUACIÓN DEL ESTÍPITE DE SHIITAKE COMO APORTANTE DE FIBRA Y BIOACTIVOS CON MIRAS A SU EMPLEO EN ALIMENTOS FUNCIONALES. *Vitae*, 19(1), S331-S333.
51. Hong JS, Kim YH, Lee KR, Kim MK, Cho CI, Part KKH. (2004) Composition of organic and fatty acid in *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes* and *Agaricus bisporus*. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 1988;20:100–105.
52. Barros L, Baptista P, Correia DM, Casal S, Oliveira B, Ferreira. (2007) ICFR. Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. *Food Chemistry*;105(1):140–145. [Google Scholar]
53. Greeshma, A., Sridhar, K. & Pavithra, M. (2018). Nutritional perspectives of an ectomycorrhizal edible mushroom *Amanita* of the southwestern India. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, 8 (1), 54-68
54. Pedneault, K., Angers, P. Gasselin, A. & Tweddell R. (2007). Fatty acid profiles of polar and non-polar lipids of *Pleurotus ostreatus* and *P. cornucopiae* var. *citrino-pileatus* grown at different temperatures. *Mycological Research*, 111, 1128-1234.
55. Pecora RP.(1989). Determination of protein in edible mushroom (*Boletus* spp). *Int J Food Sci Technol* 24(2):207–10.

56. Stilinovic, N.; Capo, I.; Vukmirovic, S.; Raskovic, A.; Tomas, A.; Popovic, M.; Sabo, A.(2020).Chemical composition, nutritional profile and in vivo antioxidant properties of the cultivated mushroom *Coprinus comatus*. *Royal Soc. Open Sci.* 2020, 7, 200900.
57. Morales, D.; Tejedor-Calvo, E.; Jurado-Chivato, N.; Polo, G.; Tabernerero, M.; Ruiz-Rodriguez, A.; Largo, C.; Soler-Rivas, C.(2019).In vitro and in vivo testing of the hypocholesterolemic activity of ergosterol- and beta-glucan-enriched extracts obtained from shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*). *Food Funct.* 2019, 10, 7325–7332.
58. Su, C.H.; Lai, M.N.; Lin, C.C.; Ng, L.T. (2016).Comparative characterization of physicochemical properties and bioactivities of polysaccharides from selected medicinal mushrooms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2016, 100, 4385–4393.
59. Kalač, P. (2009). Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chemistry*, 113 (1), 9-16.
60. Kalač, Pavel (2013). *A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 209–218. doi:10.1002/jsfa.5960
61. Fukushima, M.; Ohashi, T.; Fujiwara, Y.; Sonoyama, K.; Nakano, M.(2001). Cholesterol-lowering effects of maitake (*Grifola frondosa*) fiber, shiitake (*Lentinus edodes*) fiber, and enokitake (*Flammulina velutipes*) fiber in rats. *Exp. Biol. Med.* 2001, 226, 758–765.
62. Cohen, Nachshol; Cohen, Jacob; Asatiani, Mikheil D.; Varshney, Vinay K.; Yu, Hui-Tzu; Yang, Yi-Chi; Li, Yu-Hsuan; Mau, Jeng-Leun; Wasser, Solomon P. (2014). Chemical Composition and Nutritional and Medicinal Value of Fruit Bodies and Submerged Cultured Mycelia of Culinary-Medicinal Higher Basidiomycetes Mushrooms. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 16(3), 273–291. doi:10.1615/intjmedmushr.v16.i3.80
63. Liwen Wang;Margaret A. Brennan;Wenqiang Guan;Jianfu Liu;Hui Zhao;Charles S. Brennan; (2021). Edible mushrooms dietary fibre and antioxidants: Effects on glycaemic load manipulation and their correlations pre-and post-simulated in vitro digestion . *Food Chemistry*, (), –. doi:10.1016/j.foodchem.2021.129320

64. Y.Z. Tao, L. Zhang, P.C.K. Cheung. (2006). Physicochemical properties and antitumor activities of water-soluble native and sulfated hyperbranched mushroom polysaccharides, *Carbohydr. Res.* 3412261–2269
65. Macharia JM, Zhang L, et al. (2022) Are chemical compounds in medical mushrooms potent against colorectal cancer carcinogenesis and antimicrobial growth? *Cancer Cell Int.* 2022 Dec 1;22(1):379. doi: 10.1186/s12935-022-02798-2. PMID: 36457023; PMCID: PMC9714114.
66. Zhang, M., *et al.* (2007)., Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Trends in Food Science & Technology*, 2007. 18(1): p. 4-19.
67. Zhang, Y.,*et al.*(2011), Advances in lentinan: Isolation, structure, chain conformation and bioactivities. *Food Hydrocolloids.*25(2): p. 196-206.
68. Zhu, F., Du, B., & Xu, B. (2014). Preparation and Characterization of Polysaccharides from Mushrooms. *Polysaccharides*, 1–16. doi:10.1007/978-3-319-03751-6_10-1
69. Villares A, Mateo-Vivaracho L, Guillamón E.(2012).Structural features and healthy properties of polysaccharides occurring in mushrooms. *Agriculture* 2:452–471
70. Alves, V. D., Freitas, F., Costa, N., Carvalheira, M., Oliveira, R., Gonc, alves, M. P., et al. (2010). Effect of temperature on the dynamic and steady-shear rheology of a new microbial extracellular polysaccharide produced from glycerol byproduct. *Carbohydrate Polymers*, 79(4), 981–988.
71. Murray, B. S. (2002). Interfacial rheology of food emulsifiers and proteins. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 7(5), 426–431.
72. Velasco, S. E., Areizaga, J., Irastorza, A., Duenas, M. T., Santamaria, A., & Munoz, ~ M. E. (2009). Chemical and rheological properties of the -glucan produced by *Pediococcus parvulus* 2.6. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1827–1834
73. Choi, H., Mitchell, J. R., Gaddipati, S. R., Hill, S. E., & Wolf, B. (2014). Shear rheology and filament stretching behaviour of xanthan gum and carboxymethyl cellulose solution in presence of saliva. *Food Hydrocolloids*, 40, 71–75.

74. Xu, J.-L., Zhang, J.-C., Liu, Y., Sun, H.-J., & Wang, J.-H. (2016). Rheological properties of a polysaccharide from floral mushrooms cultivated in Huangshan Mountain. *Carbohydrate Polymers*, 139, 43–49. doi:10.1016/j.carbpol.2015.12.011
10.1016/j.carbpol.2015.12.011
75. Tovar, E., (2010). “Evaluación de las propiedades reológicas de pulpas de frutas y productos derivados en una planta procesadora de jugos”. Trabajo de grado presentado ante la Universidad del Oriente como requisito parcial para optar al Título de Ingeniero Químico. Universidad de Oriente. Núcleo de Anzoátegui. Escuela de Ingeniería y Ciencias Aplicadas. Departamento de Ingeniería Química.
76. Bourne M. (2002). Food texture and viscosity: Concept and measurement. Food Science and Technology, International Series. 2da. Edición, Academic Press. New York, U.S.A. pp. 73-93, 77, 229-242
77. Panchi, A.(2013). DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS REOLÓGICOS EN BEBIDAS DE FRUTAS CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SÓLIDOS SOLUBLES MEDIANTE EL USO DEL EQUIPO UNIVERSAL TA – XT2i. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS.
78. Hu, Hewen & Teng, Xu & Zhang, Shanshan & Liu, Tingting & Li, Xiao & Wang, Dawei. (2021). Structural Characteristics, Rheological Properties, and Antioxidant Activity of Novel Polysaccharides from “Deer Tripe Mushroom”. *Journal of Food Quality*. 2021. 1-12. 10.1155/2021/6593293.
79. S. B. Nair, A. N. Jyothi, M. S. Sajeew, and R. Misra. (2019) “Rheo-logical, mechanical and moisture sorption characteristics of cassava starch-Konjac glucomannan blend films,” *Starch - Stärke*, vol. 63, no. 11, pp. 728–739
80. R. Moorehouse, M. D. Walkinshaw, and S. Arnott, (2020).“Xanthan-gum-molecular conformation and interactions,” in *Extra-cellular Microbial Polysaccharides*, P. Sanford and A. Laskin,Eds., pp. 90–102, ACS Publications, Washington, DC, USA
81. Gomez, A.(2009). Ácido linoleico conjugado. Un nuevo ingrediente funcional. *Offarm*
<https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-acido-linoleico-conjugado-un-nuevo-13132747>.

82. Oyetayo, F. L.; Akindahunsi, A. A.; Oyetayo, V. O. (2007). Chemical Profile and Amino Acids Composition of Edible Mushrooms *Pleurotus sajor-caju*. *Nutrition and Health*, 18(4), 383–389. doi:10.1177/026010600701800407
83. Podkowa, A., Kryczyk-Poprawa, A., Opoka, W. *et al.*(2021). Culinary–medicinal mushrooms: a review of organic compounds and bioelements with antioxidant activity. *Eur Food Res Technol* 247, 513–533 . <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03646-1>
84. Schulze MB, Schulz M, Heidemann C, Schienkiewitz A, Hoffmann K, Boeing H. (2007). Fiber and magnesium intake and incidence of type 2 diabetes: A prospective study and meta-analysis. *Arch Intern Med* 2007; 167:956-65.