



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
POSGRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROALIMENTARIA

POTENCIAL NUTRACÉUTICO DE TRES ESPECIES DE HONGOS
SILVESTRES DE LA SIERRA NORTE DE PUEBLA

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

Presenta:

ING. KAREN ITZEL ESPEJEL SÁNCHEZ



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

Bajo la supervisión de: DRA. DIANA GUERRA RAMÍREZ

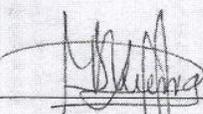


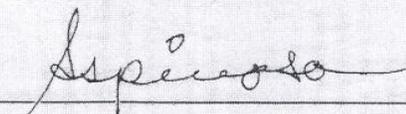
Chapingo, Estado de México, enero de 2018.

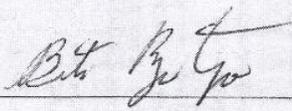
**POTENCIAL NUTRACÉUTICO DE TRES ESPECIES DE HONGOS
SILVESTRES DE LA SIERRA NORTE DE PUEBLA**

Tesis realizada por **Karen Itzel Espejel Sánchez** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

Directora: 
Dra. Diana Guerra Ramírez

Co-director: 
Dr. Teodoro Espinosa Solares

Asesor: 
Dr. Benito Reyes Trejo

Asesora: 
Dra. Maribel Pacheco Sánchez

ÍNDICE

ÍNDICE	ii
LISTA DE CUADROS.....	vii
ABREVIATURAS	viii
DEDICATORIA	ix
AGRADECIMIENTOS	x
DATOS BIOGRÁFICOS	xi
1 INTRODUCCIÓN.....	14
2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	15
2.1 Macromicetos	15
2.1.1 Importancia de los hongos	15
2.1.2 Consumo de hongos con potencial nutricional y alimenticio	17
2.1.3 Morfología y propiedades de los hongos estudiados	18
2.2 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante	19
2.2.1 Compuestos fenólicos	19
2.2.2 Antioxidantes	21
2.2.3 Valor nutracéutico de hongos	23
1.4 Carotenoides	24
2.5 Polisacáridos	25
2.6 Cinética de degradación de capacidad antioxidante en hongos silvestres comestibles durante tratamiento térmico.	27

2.6.1 Reacción Química	28
2.6.2 Rapidez de una reacción.....	29
2.5 Referencias	32
3 PROPIEDADES NUTRICIONALES Y NUTRACÉUTICAS de <i>L. indigo</i> , <i>R. flava</i> y <i>H. lactiflorum</i>	40
3.1 Introducción.....	42
3.2 Materiales y métodos	43
3.2.1 Instrumentación	43
3.2.2 Material vegetal	43
3.2.3 Análisis proximal.....	43
3.2.4 Extracción de polisacáridos	44
3.2.5 Evaluación de la capacidad antioxidante	45
3.2.6 Determinación de contenido de fenoles totales	47
3.2.7 Determinación de carotenoides	48
3.2.8 Análisis estadístico	48
3.3 Resultados y discusión	49
3.3.1 Análisis proximal.....	49
3.3.2 Extracción de polisacáridos	51
3.3.3 Fenoles totales	52
3.3.4 Capacidad antioxidante.....	54
3.4 Conclusiones.....	56
3.5 Referencias	57

4 CINÉTICA DE DEGRADACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN HONGOS SILVESTRES COMESTIBLES DURANTE TRATAMIENTO TÉRMICO	62
4.1 Introducción.....	64
4.2 Materiales y métodos.....	65
4.2.1 Material vegetal	65
4.2.2 Tratamiento térmico.....	65
4.2.3 Evaluación de la capacidad antioxidante después del tratamiento térmico.....	66
4.2.4 Determinación de fenoles totales después del tratamiento térmico ...	67
4.2.5 Análisis de datos.....	68
4.3 Resultados y discusión	68
4.4 Conclusión.....	78
4.5 Referencias	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representación de una reacción química.....	28
Figura 2.Aspecto de las gráficas obtenidas en el estudio de la cinética de reacciones.....	31
Figura 3. Gráficas que se ajustaron a una línea recta para deducir el orden de reacción.....	32
Figura 4. Diagrama de flujo de extracción de polisacáridos.....	45
Figura 5. Contenido total de fenoles y flavonoides totales en frutos de <i>L. indigo</i> y <i>R. flava</i>	54
Figura 6. Capacidad antioxidante por ABTS y FRAP.....	56
Figura 7. Estabilidad de fenoles totales en <i>L. indigo</i>	72
Figura 8. Estabilidad de fenoles totales en <i>R. flava</i>	72
Figura 9. Estabilidad de fenoles totales en <i>H. lactiflorum</i>	72
Figura 10.Estabilidad de actividad antioxidante por el método ABTS en <i>L. indigo</i>	75
Figura 11. Estabilidad de actividad antioxidante por el método ABTS en <i>R. flava</i>	75
Figura 12. Estabilidad de actividad antioxidante por el método ABTS en <i>H. lactiflorum</i>	75
Figura 13.Estabilidad de actividad antioxidante por el método FRAP en <i>L. indigo</i>	77
Figura 14. Estabilidad de actividad antioxidante por el método FRAP en <i>R. flava</i>	77
Figura 15.Estabilidad de actividad antioxidante por el método FRAP en <i>H. lactiflorum</i>	77

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Composición proximal de los hongos silvestres comestibles (base seca).....	51
Cuadro 2. Polisacáridos de los hongos silvestres comestibles (base seca).....	52
Cuadro 3. Capacidad antioxidante de los hongos silvestres comestibles (base seca).....	53
Cuadro 4. Actividad antioxidante de <i>L. indigo</i> , <i>R. flava</i> , <i>H. lactiflorum</i> , <i>A. bisporus</i> y <i>P. ostreatus</i> fresco y preparado para el consumo (base seca, n=3).	70
Cuadro 5. Parámetros determinados a partir de los datos experimentales de la degradación de fenoles totales en los hongos silvestres.	71
Cuadro 6. Parámetros determinados a partir de los datos experimentales de la degradación de capacidad antioxidante en los hongos silvestres por el método ABTS.....	74
Cuadro 7. Parámetros determinados a partir de los datos experimentales de la degradación de capacidad antioxidante en los hongos silvestres por el método FRAP.	76

ABREVIATURAS

CFT Contenido de fenoles totales

CT Carotenoides Totales

FT Flavonoides Totales

Co Concentración inicial

K constante de velocidad de reacción

Trolox Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico

TPTZ 2,4,6 tripiridil-s triazina

ABTS Ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6- sulfónico

FRAP Ferric ion Reducing Antioxidant Power

DEDICATORIA

A mi madre Verónica, por su amor, alegría, cariño y apoyo que siempre me ha brindado a pesar de todo, gracias por ser esa chispa en mi vida y enseñarme lo que es el amor incondicional.

A mi padre Noé, por su apoyo incondicional, consejos, amor y confianza que me transmite día a día, por enseñarme el sentido de la responsabilidad y honestidad, gracias por ser el mejor papá.

A Carlitos por ser ese pequeño compañero de vida que siempre está para escucharme y acompañarme cuando más lo necesito, por su amor y ternura.

A Noesito por ser ese gran amigo incondicional que siempre está para cacharme en todo momento, por su alegría y amor.

A mi abuelita Julia, por su amor y enseñanzas, porque a pesar de que no esté físicamente ahora, la llevo en mi corazón.

A Duy por ser ese ser increíble del cual eh aprendido tanto, gracias por tu compañía, amor incondicional y buenos momentos amigo mío.

Y a todas las personas que han llenado mi vida de amor, buenos momentos y aprendizaje.

Karen.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento que me otorgaron a través de la beca de estudios de posgrado.

A mi alma mater, la Universidad Autónoma Chapingo y en particular al Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria por haberme brindado la oportunidad de ampliar y mejorar mis conocimientos profesionales.

Al la Dra. Diana Guerra Ramírez por su disposición, consejos, apoyo, compromiso, orientación, alegría y por la confianza para realizar este trabajo de investigación.

Al Dr. Teodoro Espinosa Solares, por su apoyo, asesoría, orientación y compromiso para realizar este trabajo de investigación.

Al Dr. Benito Reyes Trejo por su tiempo, apoyo, compromiso y orientación en el laboratorio para realizar este trabajo de investigación.

A la Dra. Maribel Pacheco Sánchez por sus consejos, apoyo, asesoría, confianza y tiempo que me brindó durante el proceso de esta investigación.

Al laboratorio de Productos Naturales del Departamento de Preparatoria Agrícola y a las personas que laboran ahí, por brindarme el apoyo y confianza para usar sus instalaciones.

A mis compañeros de Maestría Dul, Frida, Chente, Jairo, Clau, Miriam, Lau, Alex, Bet y Magda, por todas nuestras vivencias y aprendizajes, gracias por todo.

A la señora Esperanza por su apoyo en los trámites para concluir ésta misión.

Y a todos los que de manera indirecta contribuyeron para concluir con éxito este trabajo.

Gracias.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre: Karen Itzel Espejel Sánchez

Fecha de nacimiento: 10 de abril de 1991

Lugar de nacimiento: Texcoco, Estado de México.

CURP: EESK910410MMCSNR00

Profesión: Ingeniero Agroindustrial

Cédula Profesional: 9938346

Desarrollo académico

Preparatoria: Preparatoria Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo.

Licenciatura: Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo.

RESUMEN GENERAL

POTENCIAL NUTRACÉUTICO DE TRES ESPECIES DE HONGOS SILVESTRES DE LA SIERRA NORTE DE PUEBLA

En este trabajo se estudiaron las propiedades nutricionales, el potencial nutraceutico y la estabilidad térmica de los compuestos fenólicos, de los cuerpos fructíferos de tres especies de hongos comestibles silvestres *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* y *Hypomyces lactiflorum*, colectados en Zacapoaxtla, Municipio de Puebla. Las propiedades nutricionales se determinaron mediante un análisis proximal por los métodos de la AOAC. El potencial nutraceutico fue evaluado cuantificando el contenido de fenoles, flavonoides y carotenoides totales. La capacidad antioxidante se evaluó con los ensayos ABTS y FRAP. La estabilidad térmica de los compuestos fenólicos se estudió mediante una cinética de degradación del contenido fenólico y capacidad antioxidante a 50 y 92°C. De acuerdo con los resultados, *R. flava* fue el hongo que presentó mayor cantidad de proteína (24.02%) y *L. indigo* el mayor contenido de fibra cruda (14.64%). Además, *R. flava* presentó el mayor contenido de fenoles y flavonoides totales (4.40 mg EAG g · bs⁻¹ y 2.25 mg EC g · bs⁻¹, respectivamente) y también una mayor capacidad antioxidante por los ensayos ABTS y FRAP (23.65 y 20.17 μmol ET g · bs⁻¹, respectivamente). Así mismo, los compuestos fenólicos de *R. flava* fueron los que mostraron menor estabilidad al tratamiento térmico al perder el 33% de fenoles totales. Sobre la base de los resultados globales, las tres especies contienen adecuada composición nutricional y potencial nutraceutico, con un alto contenido de fibra cruda, bajo porcentaje en grasas y alto contenido de antioxidantes.

Palabras clave: hongos comestibles silvestres, potencial nutraceutico, capacidad antioxidante, tratamiento térmico.

Tesis: Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo
Autor: Karen Itzel Espejel Sánchez
Director de Tesis: Dra. Diana Guerra Ramírez

GENERAL ABSTRACT

NUTRACEUTICAL POTENTIAL OF THREE SPECIES OF WILD MUSHROOMS OF THE NORTH SIERRA OF PUEBLA

In this work were studied the nutritional properties, the nutraceutical potential and the thermal stability of the phenolic compounds of the fruiting bodies of three wild edible mushroom species *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* and *Hypomyces lactiflorum* collected in Zacapoaxtla, Municipality of Puebla. The nutritional properties were determined by a proximal analysis by the AOAC methods. The nutraceutical potential was evaluated by quantifying the content of phenols, flavonoids and total carotenoids. Antioxidant capacity was evaluated with the ABTS and FRAP assays. The thermal stability of the phenolic compounds was studied through a kinetics of phenolic content degradation and antioxidant capacity at 50 and 92 ° C. According to the results, *R. flava* was the mushroom wich presented the highest amount of protein (24.02%) and *L. indigo* the highest content of crude fiber (14.64%). In addition, *R. flava* had the highest content of phenols and total flavonoids ($4.40 \text{ mg EAG } g \cdot bs^{-1}$ and $2.25 \text{ mg EC } g \cdot bs^{-1}$, respectively) and also a higher capacity antioxidant by the ABTS and FRAP assays (23.65 y $20.17 \text{ } \mu\text{mol ET } g \cdot bs^{-1}$) respectively. Likewise, the phenolic compounds of *R. flava* were those that showed less stability to the thermal treatment when losing 33% of total phenols. Based on the overall results, the three species contain adequate nutritional composition and nutraceutical potential, with a high content of crude fiber, low fat percentage and high antioxidant content.

Key words: wild edible mushrooms, nutraceutical potential, antioxidant capacity, heat treatment.

Thesis: Universidad Autónoma Chapingo

Author: Karen Itzel Espejel Sánchez

Advisor: Dra. Diana Guerra Ramírez

1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe un creciente interés por el estudio de especies comestibles silvestres para encontrar sus posibles usos, beneficios a la salud, fomentar su consumo y producción. En muchas partes de México, las setas comestibles silvestres han sido parte de la dieta humana durante mucho tiempo. *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* y *Hypomyces lactiflorum* son hongos silvestres comestibles que se distribuyen en las regiones boscosas del país, crecen sobre suelo y hojarasca de bosques de *Quercus-pinus*. En México son conocidos de diferentes maneras, dependiendo la zona, en Zacapoaxtla, Puebla, municipio donde fueron recolectados, *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* y *Hypomyces lactiflorum*, son conocidos como Hongo azul, escobetilla y hongo enchilado, respectivamente. Estos hongos son consumidos sólo en épocas de lluvias, que comprenden los meses de agosto y septiembre. Su precio promedio es de \$70 el kg, se encuentran disponibles en mercados locales del municipio. La manera de consumir es diversa, sin embargo, siempre son sometidos a tratamiento térmico.

Los cuerpos fructíferos de las tres especies, a pesar de ser estacionales, tienen una gran demanda y aceptabilidad en el mercado por su sabor, consistencia y color. Por lo tanto, sería conveniente su cultivo y producción para estimular las economías locales mediante la venta en fresco y de productos procesados, además este tipo de especies podrían ser una fuente de fotoquímicos en la industria de los alimentos, fármacos y cosméticos. Los objetivos de esta investigación fueron: evaluar las propiedades nutricionales y potencial nutracéutico de los frutos de *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* y *Hypomyces lactiflorum*; así como evaluar la estabilidad de sus compuestos fenólicos cuando son sometidos a tratamiento térmico.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Macromicetos

Los hongos son organismos que pertenecen al reino Fungi, no realizan la fotosíntesis, pueden ser micromicetos o macromicetos, unicelulares o pluricelulares, presentar estructuras filiformes segmentadas o no llamadas hifas. Los macromicetos, producen carpóforos más o menos conspicuos que son el cuerpo fructífero del hongo. Se pueden presentar en una gran variedad de formas desde el tipo bien conocido con sombrero y pie, hasta las especies con carpóforos a modo de ménsula o los que crecen planos como costras sobre los árboles. Pese a esta diversidad los carpóforos de algunos hongos pueden parecer muy similares y requieren un examen cuidadoso para su identificación, su función es la de producir esporas sexuales. Los hongos se dividen en tres grupos: ascomicetos, basidiomicetos y zigomicetos (Laessoe, 2005).

2.1.1 Importancia de los hongos

La estimación actual de especies de hongos en el mundo es de 1.5 millones, de los cuales hay 70 000 especies descritas. Aquel millón y medio de especies de hongos, junto con las bacterias, son los desintegradores primarios en la biosfera (Raven, 1995). Con respecto a la diversidad de hongos en México, se estima que existen 200,000 especies (Guzmán, 1998). En el país se han descrito al menos 6000 de ellas, 2000 son micromicetos y 4000 son macromicetos, incluyendo líquenes y mixomicetos (Tovar, 2001). Los hongos comestibles pueden ser lignícolas, parásitos y micorrízicos. Los primeros crecen sobre madera o sustratos leñosos; descomponen los restos orgánicos que se acumulan en la naturaleza. Su acción conduce la formación de sustratos cuyas moléculas son utilizadas por los vegetales para su crecimiento y desarrollo. Transforman y reciclan la materia orgánica, junto con las bacterias. Son recolectados en forma silvestre y ampliamente valorizados al ser cultivados (Miralles, 2005). Los hongos parásitos viven o colonizan otros hongos o vegetales, donde viven a expensas de ellos (Lastra, 2001). Los micorrízicos se desarrollan en simbiosis con las raíces de la planta, ésta recibe del hongo los nutrientes, minerales y agua, y el hongo obtiene de la planta, carbohidratos y vitaminas que él por sí mismo es

incapaz de sintetizar. Se estima que entre el 90 y el 95% de las plantas terrestres presentan micorrizas de forma habitual (Wang & Qiu, 2006). De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-1994 están reconocidas 59 especies de hongos en extinción. Los hongos silvestres comestibles son recolectados para la alimentación y beneficio económico en más de 80 países en todo el mundo. En Asia los hongos comestibles tienen la fama de poseer propiedades medicinales. Durante los últimos 50 años, la gran mayoría de los avances en la medicina se han dado a partir de organismos como los mohos, levaduras y hongos (FAO, 2005). México es el principal productor de hongos en América Latina y estiman que en el período 1995-2001 se produjo el 58.6% del total de hongos comestibles provenientes de esta región, seguido de Chile con un 17.6% y Brasil con un 10.6%. Hoy en día esta actividad es importante social, económica y ecológicamente; se generan alrededor de 1500 empleos directos e indirectos, el monto de sus operaciones tiene un valor superior a los 70 millones de dólares, se estimula el cultivo de hongos lignícolas y programas de forestación para hongos micorrizicos (Morcillo y Sánchez, 2008). En México los hongos silvestres comestibles con más demanda y buscados son: *Amanita caesarea* (yema, tomatate, amarillo), *A. rubescens* (mantecado), *Lactarius deliciosus* (enchilado), *L. indigo* (azul), *Morchella spp.* (elotito, mazorquita, colmena, chipotle), *Boletus aff edulis* (pambazo, panadero, cema), *B. erithropus*, *B. luridus* (galambo, hongorado), *Suillus spp.* (panzas de encino, pancita), *Cantharellus cibarius* (duraznillo), *Gomphus floccosus* (corneta, corneta de oyamel), *Lyophyllum descastes* (clavitos, xolete), *Ramaria flava* y *Ramaria spp* (patitas de pájaro, escobetas), entre otros (Zamora, 1999). La recolección de hongos por comunidades rurales es llevada a cabo principalmente como una actividad extra a la agricultura, asociada a otras actividades de recolección (leña, plantas medicinales y otros productos no maderables) como una estrategia de sobrevivencia (Martínez-Carrera et al., 2002).

Se ha reportado el uso de algunas especies de hongos, con fines terapéuticos, para el tratamiento de la hipertensión, como diurético y para la reducción del colesterol (Guzmán, 1998).

2.1.2 Consumo de hongos con potencial nutricional y alimenticio

Aunque los hongos no constituyen una porción significativa de la dieta humana, en los últimos años se ha observado un aumento en el consumo. De hecho, los hongos silvestres han sido un manjar popular en muchos países, principalmente en Europa central y oriental (Kalac & Svoboda, 2000; Alonso et al., 2003; Agrahar-Murugkar & Subbulakshmi, 2005), ya que añaden sabor y textura a una comida (Vaughan & Geissler, 1997). Estudios anteriores han indicado que las especies de hongos comestibles son altamente nutritivas, su valor nutricional se compara favorablemente con el de la carne, los huevos y la leche (Mdachi et al., 2004), presentan un buen equilibrio de vitaminas, como la tiamina, riboflavina, ácido ascórbico y vitamina D2 y un buen contenido de proteínas, así como un alto contenido de minerales. Son pobres en calorías y grasas y contienen cantidades apreciables de fibra dietética (Agrahar-Murugkar et al., 2005; Mattila et al., 2000; Manzi et al., 1999; Mattila et al., 2002). Sin embargo, las características nutricionales pueden ser modificadas por las condiciones de cultivo, riego, fructificación y almacenamiento, que influyen en su composición química (Manzi et al., 1999; Mattila et al., 2002). Los hongos comestibles se caracterizan por una corta vida útil (1-3 días a temperatura ambiente), vinculados a la ocurrencia de cambios poscosecha. Estos cambios se deben al alto contenido de humedad de los carpóforos y a la actividad de las enzimas, como la proteasa o polifenol oxidasa, responsable de la disminución de proteínas y azúcares y de las reacciones de oscurecimiento durante el almacenamiento (Manzi et al., 1999). Las composiciones de aminoácidos de proteínas de hongos son comparables a las proteínas animales (Flegg & Maw, 1997; Gruen & Wong, 1982), que es de particular importancia para contrarrestar un alto consumo de proteínas de origen animal, especialmente en los países desarrollados. Además, los hongos comestibles característicamente contienen muchos compuestos bioactivos diferentes, como eritadenina y compuestos fenólicos (Mattilda et al., 2001; Barros et al., 2008; Barros et al., 2007). Hoy en día, las enfermedades cardiovasculares son una de las principales causas de muerte en muchos países industrializados. Así, (Mensink et al., 2003) han subrayado que las enfermedades

cardiovasculares tienen una etiología multifactorial causada principalmente por la aterosclerosis y han identificado biomarcadores de riesgo potencial como el metabolismo lipídico y lipoproteico, la función hemostática, el daño oxidativo, el metabolismo de la homocisteína y la presión arterial. La acción hipocolesterolémica de los hongos comestibles ha sido descrita en un trabajo temprano por (Kaneda & Tokuda, 1996), que estudiaron las propiedades de disminución del colesterol de *Lentinus edodes*, *Auricularia polytricha*, *Flammulina velutipes* y *Agaricus bisporus*. Además, algunos hongos han mostrado efecto hipotensor cuando la presión arterial ya es alta (Kabir et al., 1987; Kabir et al., 1988; Kabir et al., 1989). Por otro lado, la presencia de compuestos antioxidantes (Cheung et al., 2003; Wong et al., 2009) y antiinflamatorios (Jose y Janardhanan, 2000; Khohno et al., 2008) en hongos podría ser clínicamente relevante en el manejo de las complicaciones de la salud del corazón y la circulación. Hay algunos componentes de hongos involucrados en la prevención o tratamiento de enfermedades cardiovasculares (proteínas, lípidos, vitaminas, fibras, compuestos fenólicos y minerales). Sin embargo, los mecanismos implicados aún no están completamente aclarados.

2.1.3 Morfología y propiedades de los hongos estudiados

Lactarius indigo, la forma de su carpóforo sombrero tiene un tamaño similar a los niscalos, en su máximo crecimiento puede alcanzar los 15 cm de diámetro, siendo lo más habitual encontrarlos entre 5 y 10 cm. De forma convexa en su nacimiento, pronto plana y umbilicada, para finalmente adoptar una forma de embudo con una fuerte depresión central. Superficie no separable de color azul añil en los ejemplares jóvenes, se va decolorando con la edad hacia tonos azul pálidos con matices grisáceos. Posee zonas concéntricas de un azul más intenso, y su borde es bastante regular e involuto en los ejemplares jóvenes, posee láminas adnatas o ligeramente decurrentes de color azul añil, algo grisáceo de viejas, frecuentemente manchadas de azul intenso por el látex o de verde cuando este se seca. Sus láminas son apretadas y con laminillas. Pie lleno y macizo de joven, luego cavernoso, corto o de tamaño proporcionado al sombrero, está ensanchado junto al sombrero y algo más atenuado en la base,

casi radicante y concoloro. Carne blanquecina o grisáceo pálido, manchada de azul sobre todo hacia el margen. Exuda un látex de color azul que al secarse adopta tonos verdosos. Olor fúngico fuerte y sabor dulce no acre. Esta seta forma micorriza con pinos y robles, creciendo sobre todo durante el otoño. No hay estudios de su existencia en el continente europeo (Gerrit, 2000).

Ramaria flava es un basidiocarpo de 70-90 mm de alto, de color amarillo naranja ramas superiores ramificadas. Pie de 10-20 X 28- 30 mm, de color amarillo naranja. Esporas de 8.4-9.3 X 7-4.6 μ m, elipsoide, de pared celular finamente rugosa. Crece sobre suelo y hojarasca de bosques de *Quercus-pinus*. Se puede recolectar en los meses de agosto y septiembre. Es una especie ampliamente distribuida en los bosques del Norte y Sur de México donde las comunidades rurales la recolectan para su consumo y la ponen en venta en los mercados locales (García et al., 1998).

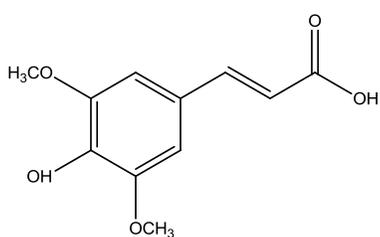
Hypomyces lactiflorum es un hongo macroscópico, parásito, crece siempre cubriendo completamente un basidiocarpo, su color varía de naranja a naranja intenso, que cuando está maduro presenta una tonalidad ligeramente blanca, lo cual indica la liberación de las esporas. Las ascosporas son de 35-43 X 6.5 micras fusiformes, de pared celular rugosa, septada. Son recolectados sobre basidiocarpos de los géneros *Lactarius* y *Russula*, encontrados en bosques de *Pinus* durante los meses de agosto y septiembre. *H. lactiflorum* se encuentra ampliamente distribuida en los bosques de México y es uno de los hongos más apreciados en el centro del país debido a su sabor. (Rogerson y Samuels, 1994).

2.2 Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante

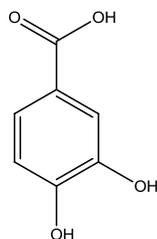
2.2.1 Compuestos fenólicos

En las plantas los compuestos fenólicos son de distribución universal proveen defensa a las plantas y hongos, contra herbívoros o patógenos; otros participan en el soporte mecánico, en la atracción de polinizadores y dispersantes de frutos; en la absorción de la radiación ultravioleta dañina o en la reducción del crecimiento de las plantas cercanas competidoras (Taiz y Zeiger, 2006). Los compuestos fenólicos exhiben una amplia gama de efectos biológicos que

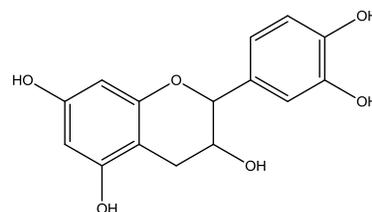
incluyen acciones antibacterianas, antiinflamatorias, antialérgicas, hepatoprotectoras, antitrombóticas, antivirales, anticancerígenas y vasodilatadoras (Soobrattee et al., 2005); muchas de estas funciones biológicas se han atribuido a su actividad de eliminación de radicales libres y antioxidantes. Entre los compuestos fenólicos, los flavonoides son el grupo más común y ampliamente distribuido en las plantas y se ha demostrado que son altamente eficaces para eliminar distintos tipos de moléculas oxidantes, incluyendo el oxígeno singlete y varios radicales libres, que posiblemente están involucrados en el daño del ADN y la promoción de tumores (Marchand, 2002). Diversas metodologías se han utilizado para cuantificar los compuestos bioactivos en las frutas, uno de los principales es el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu que estima la cantidad de fenoles totales (Charles et al., 2011). El ensayo Folin-Ciocalteu tiene ciertas ventajas sobre los ensayos para determinar la capacidad antioxidante total en que este es más simple, rápido, sólido y no requiere equipo especializado (Berker et al., 2013). Los principales compuestos fenólicos presentes en los hongos silvestres comestibles como el *B. edulis*, *B. frostii*, *G. lucidum*, *B. luridus* y *S. imbricatus*, son el ácido sinápico (1), protocatecuico (2) y la catequina (3) (Yahia et al., 2017).



(1)



(2)

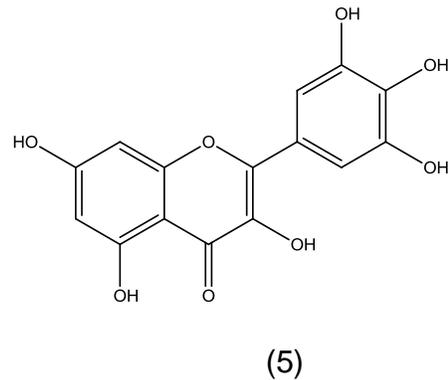
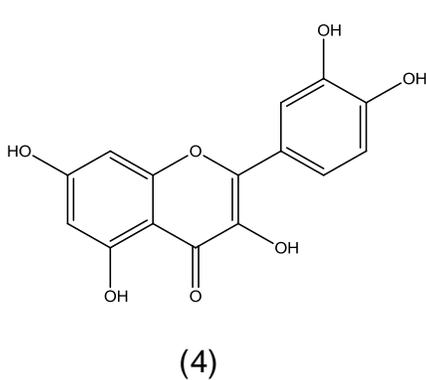


(3)

Flavonoides

Los flavonoides son compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética de la dieta humana. Se encuentran en vegetales, semillas, frutas y en bebidas como vino y cerveza. Se han identificado más de 5.000 flavonoides

diferentes. Aunque los hábitos alimenticios son muy diversos en el mundo, el valor medio de ingesta de flavonoides se estima como 23 mg/día, siendo la quercitina (4) el predominante con un valor medio de 16 mg/día. En un principio, fueron consideradas sustancias sin acción beneficiosa para la salud humana, pero más tarde se demostraron múltiples efectos positivos debido a su acción antioxidante y eliminadora de radicales libres. Aunque diversos estudios indican que algunos flavonoides poseen acciones prooxidantes, éstas se producen sólo a dosis altas, constatándose en la mayor parte de las investigaciones la existencia de efectos antiinflamatorios, antivirales o antialérgicos, y su papel protector frente a enfermedades cardiovasculares, cáncer y diversas patologías (Martínez et al., 2002). Estudios realizados en diversos hongos silvestres como el *B. edulis*, *B. frostii*, *G. lucidum*, *B. luridus* y *S. imbricatus*, muestran la myricetina (5) como uno de los principales flavonoides presentes en éstos frutos (Yahia et al., 2017).



2.2.2 Antioxidantes

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son bastante reactivos y tienden a captar un electrón de otras moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una reacción en cadena que destruye las células (oxidación). La vida media biológica del radical libre es

de microsegundos, pero tienen la capacidad de reaccionar con cualquier sustancia que este a su alrededor provocando daños a moléculas, membranas celulares, tejidos (Avello et al., 2006). Un antioxidante es una molécula capaz de inhibir la oxidación de otras moléculas. En términos de alimentos, un antioxidante ha sido definido como una sustancia que cuando está presente en baja concentración comparada con la del sustrato oxidable retrasa o inhibe significativamente la oxidación de dicho sustrato (Gülçin, 2012). El mantenimiento del equilibrio entre la producción de radicales libres y las defensas antioxidantes es una condición esencial para la función normal de los organismos (Valko et al., 2007). El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de oxígeno reactivo y la capacidad de un sistema biológico de desintoxicar fácilmente los intermedios reactivos o reparar fácilmente el daño resultante (Machlin & Bendich, 1987). Las alteraciones en este estado redox normal pueden causar efectos tóxicos a través de la producción de peróxidos y radicales libres que dañan todos los componentes de la célula, incluyendo proteínas, lípidos y ADN, lo que conduce a su modificación e inhibición de su función normal (Fu et al., 1998; Ridnour et al., 2005, Valko et al., 2007). En los seres humanos, el estrés oxidativo puede tener causas naturales tales como procesos extremos de ejercicio o inflamación, o causas no naturales como la presencia de xenobióticos en el organismo o provocar situaciones relacionadas con varias enfermedades, como varios tipos de cáncer (Valko et al., 2006), diabetes (Valko et al., 2007), cirrosis (Wei et al., 2004), enfermedades cardiovasculares (aterosclerosis, insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio) (Shah y Channon, 2004), trastornos neurológicos y síndrome de fatiga crónica. Sin embargo, el estrés oxidativo a corto plazo también puede ser importante en la prevención del envejecimiento por inducción de un proceso denominado mitohormesis (Barja, 2004). Considerando que el 70% de las enfermedades crónicas y los costos relacionados pueden ser evitados, el conocimiento sobre las especies reactivas de oxígeno y el control de su sobreproducción es crucial (Ferreira et al., 2009). Este control puede lograrse manteniendo buenos niveles de antioxidantes y eliminadores de radicales libres, aumentando la calidad de la

dieta (mayor consumo de hortalizas, leguminosas y frutas) o evitando comportamientos que conducen a una mayor producción de ROS, como tabaco, excesiva exposición a contaminantes ambientales y xenobióticos (Lachance et al., 2001). Sin embargo, las EROS pueden ser beneficiosas, ya que son utilizadas por el sistema inmunológico como una forma de atacar y matar a los patógenos. Algunos productos naturales con actividad antioxidante pueden ser útiles para ayudar al sistema defensas endógenas, siendo utilizados como nutraceuticos.

2.2.3 Valor nutraceutico de hongos

Los hongos son una fuente de agentes biologicamente activos y terapéuticamente útiles, debido a sus propiedades medicinales, incluyendo capacidad antioxidante e inhibición del crecimiento de células tumorales (Mizuno, 1995; Wasser, 2002; Ferreira et al., 2010).

Algunos hongos poseen compuestos fenólicos con propiedades analgésicas, anti-inflamatorias, antioxidantes, protectoras del sistema cardiovascular, antivirales, e hipoglucemiantes (Royse y May, 2003). En particular los hongos silvestres contienen diferentes antioxidantes como los compuestos fenólicos, tocoferoles, ácido ascórbico y carotenoides, que podrían extraerse con el propósito de ser utilizados como ingredientes funcionales, la prevención de enfermedades crónicas relacionadas con el estrés oxidativo (Ferreira et al., 2009). Los hongos constituyen una fuente poco explorada de nuevos productos farmacéuticos de gran alcance. Con uso potencial para la elaboración de alimentos funcionales. Los compuestos con potencial antitumoral identificados hasta ahora en los hongos pueden clasificarse según su peso molecular, incluyendo compuestos de bajo peso molecular (como las quinonas, cerebrósidos, isoflavonas, catecoles, aminas, triacilgliceroles, sesquiterpenos, esteroides, germanio orgánico y selenio), así como los compuestos de peso molecular alto que incluyen a homo y heteroglucanos, glicanos, glicoproteínas, glicopéptidos, proteoglicanos, proteínas y complejos ARN-proteína). Este tipo de compuestos previenen la tumorectomía y también suprimen el crecimiento de tumores establecidos (Fulda, 2010). En China, Japón, Corea, Rusia, Estados

Unidos y Canadá se conocen especialmente hongos con propiedades potencialmente útiles contra los cánceres del estómago, esófago, pulmones, etc (Ferreira et al., 2010).

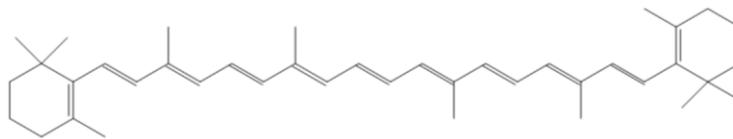
1.4 Carotenoides

Desde el punto de vista químico, los carotenoides (pigmentos vegetales liposolubles que proporcionan gran parte del color de la naturaleza) son compuestos poliisoprenicos, compuestos contituidos por ocho unidades isoprenicas. Existen alrededor de 600 compuestos del grupo carotenoide que pueden clasificarse como carotenos o carotenoides (presentando en la estructura sólo átomos de carbono e hidrógeno) y xantofilas, que son compuestos hidrocarbonados oxigenados que tienen al menos un átomo de oxígeno, hidroxilo, ceto, epoxi, metoxi o grupos carboxilo.

La última categoría forma apocarotenoides, de dimensiones más pequeñas, típicamente formado por escisión de carotenoides. En las plantas verdes, los carotenoides se encuentran en los cloroplastos, como parte del sistema de biosíntesis, pero son más numerosos, visibles y coloridos en las raíces, las frutas y las flores (Zhao et al., 2014). Los carotenoides vegetales son los pigmentos vegetales de mayor abundancia. Son los más extendidos de todos los pigmentos vegetales. En el reino animal, estos pigmentos proceden de alimentos de origen vegetal. Se pueden encontrar en estado libre o en combinación con carbohidratos (carotenoproteidos, glicósidos de carotenoides). Los pigmentos carotenoides se dispersan en todos los órganos o sin clorofila (hojas, frutos, tallos, bulbos, semillas, etc.). Debido a la estructura hidrocarbonada, los pigmentos carotenoides son sustancias hidrófobas, solubles sólo en disolventes orgánicos, aceites y grasas. Desde el punto de vista químico, los pigmentos carotenoides se caracterizan por una estructura que presenta enlaces dobles conjugados, determinando la naturaleza insaturada y por lo tanto pueden causar las reacciones de oxidación y auto oxidación (al aire libre), la capacidad de absorción de la radiación luminosa, etc. de los carotenoides está determinada por su estructura química y propiedades enumeradas anteriormente. Los carotenoides,

así como los terpenos, los esteroides, el fitol, la vitamina K, la vitamina E, etc., presentan como unidad estructural repetitiva un isopreno activado que puede formar cadenas hidrocarbonadas de tipo carotenoide, esteroide. Los carotenoides (6) son tetra terpenos constituidos por múltiples unidades isoprenoides con un anillo de ciclohexano sustituido e insaturado en cada uno de los extremos. La propiedad de absorber luz se deriva de la presencia de 7 o más enlaces dobles conjugados con posibilidad de absorber luz visible, con colores que van del amarillo al rojo. La cadena poliénica de los carotenoides es altamente reactiva y rica en electrones. En presencia de oxidantes fácilmente se forman radicales libres de vida corta.

Los radicales libres como el oxígeno singlete $\cdot O_2$ e hidroxilo $\cdot OH$ son especies altamente reactivas capaces de iniciar la peroxidación de lípidos, inactivar proteínas, o causar daño molecular de ADN o ARN. (Butnariu y Coradini, 2012).



(6)

2.5 Polisacáridos

Los carbohidratos han demostrado poseer propiedades biológicas interesantes en términos de prevención y tratamiento de enfermedades comunes. Varios polisacáridos que muestran una estructura de tipo β -glucano se consideran modificadores de respuesta biológica valiosos por su capacidad para estimular las células inmunitarias, ayudar en la curación de heridas y ayudar a prevenir infecciones (Dai et al., 2012). Los hongos pueden considerarse una fuente valiosa de carbohidratos bioactivos. En este campo, varios polisacáridos y carbohidratos bioactivos se han extraído de estos materiales (Rop, Mlcek, y Jurikova, 2009). Los polisacáridos de hongos y glucanos son fibras que tienen numerosas funciones biológicas informadas (Rahar et al., 2011). El efecto beneficioso de los antioxidantes se debe a su capacidad para destruir especies

reactivas de oxígeno que dañan el ADN y las proteínas esenciales. Las actividades antioxidantes de los polisacáridos in vivo suelen ir acompañadas de un aumento de las actividades en las enzimas oxidativas del hígado (catalasa, glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa) y un aumento de los niveles de glutatión y malondialdehído (Xiao et al., 2012; Kozarski et al., 2015). Los siguientes estudios seleccionados muestran que las propiedades inmunoestimulantes antioxidantes y concurrentes de los polisacáridos de hongos contribuyen a sus bioactividades: Las propiedades antioxidantes e inmunoestimulantes de un polisacárido aislado de los hongos *Cordyceps militaris* parecen ser responsables de la supresión del crecimiento in vivo del melanoma en un ratón modelo (Lee y Hong, 2011; Zhu et al., 2014). Un polisacárido de hongos *Hericium erinaceus* tenía una fuerte actividad antioxidante in vitro y ratones protegidos contra el daño hepático inducido por el tetracloruro de carbono (Zhang, 2012). Un polisacárido del hongo medicinal *Clitocybe maxima* mejoró la respuesta inmune e inhibió las células tumorales en ratones (Hu et al., 2015). Un extracto de *Agaricus blazei* mejoró la respuesta inmune provocada por la vacuna de ADN contra la fiebre aftosa (Chen y Shao, 2006). Aunque los hongos son una fuente potencial de compuestos antiinflamatorios (Chan et al., 2015; Elsayed et al., 2014; Mishra et al., 2012), no es posible saber con certeza en qué medida los polisacáridos contribuyen a sus funcionalidades biológicas. Además, parece que solo se dispone de información limitada sobre la base química de las numerosas bioactividades de los polisacáridos de hongos (USDA, 2016). Aunque las actividades biológicas de los polisacáridos parecen estar relacionadas con su estructura o propiedades de conformación (Huang y Nie, 2015), un revisor de una revista señaló que las capacidades de los polisacáridos para unirse a aminoácidos, péptidos, proteínas, polifenoles, esteroides, etc. también podrían afectar sus actividades biológicas. Sin embargo, los estudios citados sugieren el valor potencial de los polisacáridos como aditivos alimentarios antioxidantes, inmunoestimuladores y antiinflamatorios.

2.6 Cinética de degradación de capacidad antioxidante en hongos silvestres comestibles durante tratamiento térmico.

Además de los componentes nutricionales, se han encontrado en hongos comestibles, se han encontrado cantidades importantes de compuestos bioactivos. El contenido y el tipo de sustancias biológicamente activas pueden variar considerablemente en los hongos comestibles; sus concentraciones de estas sustancias se ven afectadas por las diferencias en la tensión, sustrato, cultivo, etapa de desarrollo, edad, condiciones de almacenamiento, procesamiento y prácticas de cocción (Mattila et al., 2001; Barros et al., 2007). Las sustancias bioactivas que se encuentran en los hongos pueden dividirse en metabolitos secundarios (ácidos, terpenoides, polifenoles, sesquiterpenos, alcaloides, lactonas, esteroides, agentes quelantes de metales, análogos de nucleótidos y vitaminas), glicoproteínas y polisacáridos, principalmente β -glucanos (Vaz et al., 2010). Los hongos frescos rara vez se consumen crudos, más comúnmente están cocidos, fritos, estofados, esterilizados o marinados. Sin embargo, información sobre los diferentes métodos de preparación para el consumo y el almacenamiento después del tratamiento afecta parámetros de calidad particulares como el contenido de vitaminas y propiedades antioxidantes es carente. Procesamiento de productos alimenticios, incluidos productos térmicos tratamiento, puede influir significativamente en el valor nutricional. En el caso de las verduras, los cambios son principalmente causados por gelatinización del almidón y un aumento en la digestibilidad de la proteína, pero también hay cambios adversos: pérdida de vitaminas, antioxidante compuestos o lixiviación de sustancias solubles que se producen mientras hierve en agua (Kalogeropoulos et al., 2007; Faller y Fiahlo 2009; Perla et al. 2012). El modelado cinético podría ser empleado para predecir la influencia del procesamiento en parámetros críticos de calidad durante el procesamiento de alimentos (Patras et al., 2011). Los consumidores prefieren productos alimenticios de alta calidad, sobre todo naturales. Sin embargo, los productos alimenticios a menudo se procesan, y algunas propiedades nutricionales y de salud tal como la actividad antioxidante se puede perder a través del procesamiento térmico. La exposición

al oxígeno, la luz y el calor puede reducir el efecto antioxidante propiedades. El tratamiento térmico es uno de los más ampliamente métodos utilizados para preservar y extender la vida útil de alimentos. También es uno de los factores más importantes que afectan la estabilidad de antocianinas y otros compuestos fenólicos. Los resultados de estudios previos muestran que existe una necesidad para preservar el contenido de fenoles totales, que contribuyen a la actividad antioxidante, durante el procesamiento térmico, almacenamiento prolongado y períodos de vida útil.

2.6.1 Reacción Química

El estudio de las reacciones químicas puede encararse desde el punto de vista termodinámico con el fin de establecer las condiciones en las cuáles estas pueden ocurrir en forma espontánea. La cinética química, por el contrario, estudia la velocidad de estas transformaciones y se preocupa por conocer el mecanismo de la reacción, es decir como son las etapas que llevan a los reactivos desde la condición de reactivos a la de productos, incluyendo un conocimiento tan detallado como sea posible sobre los posibles intermediarios que pueden formarse durante la reacción, así como también conocer los factores que son relevantes y controlan la velocidad del proceso (Mathews, 2010).

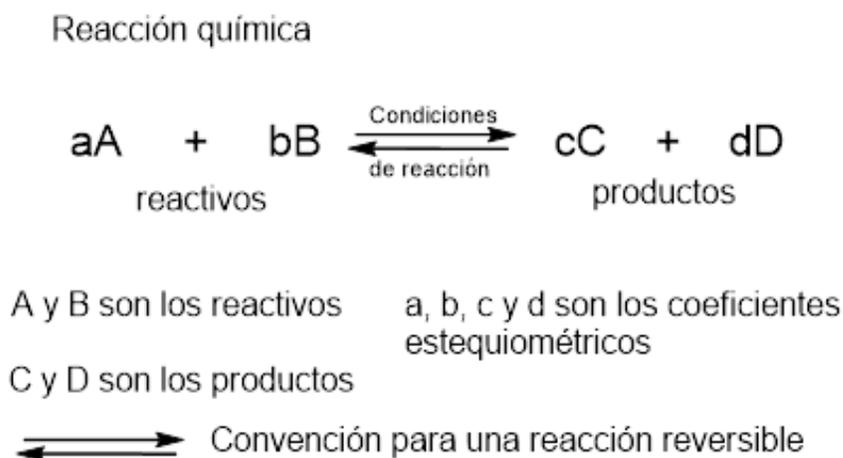


Figura 1. Representación de una reacción química.

Los estudios asociados con la cinética de las reacciones químicas tienen importancia desde el punto de vista básico como aplicado. Desde el punto de

vista fundamental, es relevante obtener información sobre todos los factores que influyen sobre la velocidad de la reacción. El conocimiento detallado de estos factores (concentración de reactivos, productos, temperatura, presión, características y propiedades del medio donde se lleva a cabo la reacción, etc.) es importante para el control cinético de procesos aplicados. En cinética química es necesario definir los conceptos de velocidad de una reacción química, ley de velocidad, orden de reacción cuando corresponda y establecer el mecanismo de una reacción identificando las etapas y su molecularidad a través de las cuales evoluciona temporalmente el sistema durante el proceso. Las tres primeras definiciones son magnitudes experimentales que se determinan sobre la base de cambios macroscópicos, mientras que el mecanismo es normalmente una hipótesis que debe ser objeto de verificación experimental y/o herramientas teóricas (normalmente basadas en la mecánica cuántica molecular) (Capparelli, 2013).

2.6.2 Rapidez de una reacción

La rapidez con la que una sustancia disminuye o aumenta su concentración con respecto al tiempo, ha sido estudiada ampliamente, aunque es conocida erróneamente como, velocidad de una reacción química. La medida de la velocidad requiere de la determinación de la concentración instantánea (C_0 , C_t y C_f) de las distintas especies, al tiempo de inicio (tiempo cero o t_0), durante el proceso (t_n) y al final de la reacción (t_f). Se habla que es necesario determinar el perfil de concentraciones de reactivos o productos a medida que la reacción progresa en el tiempo. La concentración de las especies participantes puede evaluarse por métodos químicos o físicos. En el primer caso, se hace necesaria la medida de la concentración, muestreando en un tiempo determinado, una parte del proceso para su posterior análisis con técnicas analíticas convencionales (titulación, gravimetría, RMN, HPLC, etc.). En el segundo tipo de análisis, se requiere que la concentración de alguna o todas las especies presentes en el sistema sean proporcionales a alguna otra propiedad física, básicamente que sea fácil de medir, una función lineal y sencilla como la concentración, absorbancia, fluorescencia, etc (Mathews, 2010).

La velocidad o rapidez de las reacciones químicas abarca un amplio intervalo de órdenes de tiempo. Existen reacciones muy lentas que pueden estudiarse siguiendo el cambio de concentraciones con respecto al tiempo con un cronómetro estándar como método convencional para monitorear la evolución temporal del proceso. Estas son reacciones que ocurren en tiempos superiores a las decenas de minutos hasta horas, días o en escalas de tiempo superiores. Por otro lado, existen otras reacciones que son suficientemente rápidas y para las cuales los métodos convencionales no son aplicables y debe recurrirse al registro digital de los cambios de concentración como función del tiempo. En estos casos, las reacciones pueden iniciarse y completarse en tiempos muy breves, por ejemplo, en segundos, milisegundos, microsegundos, o aún en escala de tiempos inferiores (Capparelli, 2013). La rapidez o velocidad de una reacción química es afectada por cambios en las concentraciones de reactivos y productos, por la temperatura, la presión, si en la misma participan especies polares o iónicas en fase líquida la velocidad también es afectada por la fuerza iónica del medio, y a esto debe sumarse la posibilidad del efecto de superficies. Los procesos cinéticos pueden ocurrir en sistemas homogéneos o heterogéneos. La ley de velocidad debe describir en forma precisa cómo estos factores influyen la velocidad del proceso. En general esta ley es una función del tipo $F \propto (c, T, P, I, V, A)$, donde c representa todas las concentraciones que realmente afectan el proceso, T y P corresponden a la temperatura y presión, I a la fuerza iónica en caso de corresponder, V y A indican como el volumen del reactor y la superficie intervienen en esta ley (Mathews, 2010).

2.6.3. Orden de una reacción química

En el estudio de la cinética de reacciones, lo que prácticamente se debe hacer es indagar la manera en la que se comportan dichas reacciones, mismas que se han clasificado desde el punto de vista de la cinética química como reacciones de a) Orden cero, b) Primer orden, c) Segundo orden y d) De orden complejo. Una de las maneras prácticas más empleadas para conocer el orden de dichas reacciones, consiste en construir una gráfica de concentración vs tiempo y de

acuerdo con la forma de dicha gráfica se presupone un orden específico, como se muestra en la figura 2.

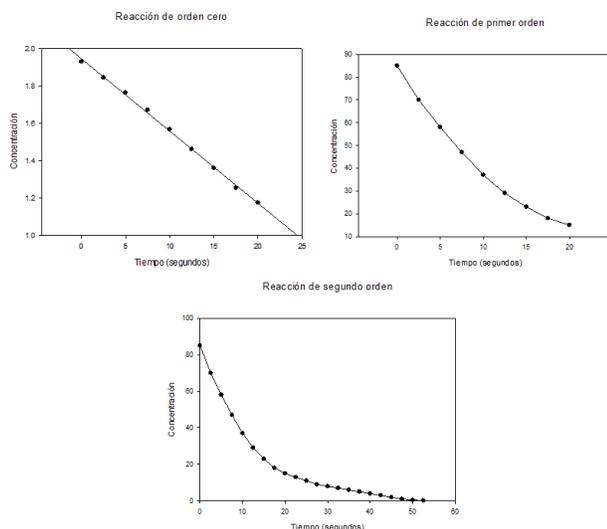


Figura 2. Aspecto de las gráficas obtenidas en el estudio de la cinética de reacciones.

Cuando la gráfica de concentración vs tiempo produce una recta, entonces se trata de una reacción de orden cero ($n=0$). Al efectuar una serie de transformaciones, por ejemplo, la gráfica del \ln de la concentración vs tiempo al dar una línea recta entonces es probable que dicha reacción sea de primer orden ($n=1$), en tanto que, al graficar el inverso de la concentración vs tiempo se obtiene una línea recta entonces presumiblemente se trata de una reacción de segundo orden ($n=2$). Una vez que se determina el orden de la reacción, se emplearán las siguientes ecuaciones para obtener valores importantes como lo es la k , dependiendo el caso:

$$C_A = -kt + C_{A0} \dots \dots \dots \text{Orden cero}$$

$$\ln C_A - \ln C_{A0} = -kt \dots \dots \dots \text{Primer orden}$$

$$\frac{1}{C_A} - \frac{1}{C_{A0}} = kt \dots \dots \dots \text{Segundo orden}$$

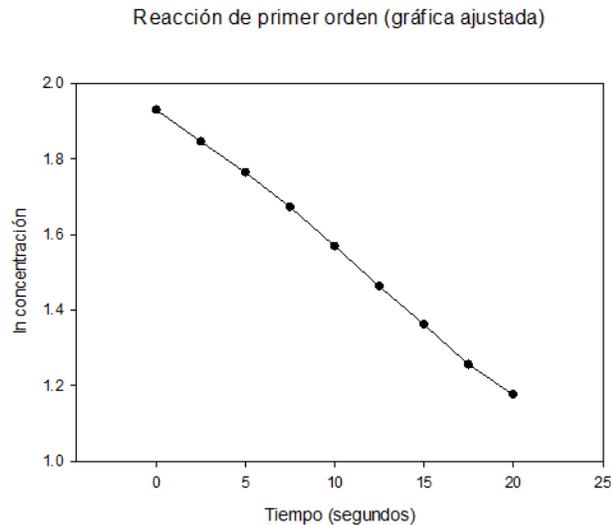


Figura 3. Gráfica que se ajustó a una línea recta para deducir el orden de reacción

2.5 Referencias

Alonso, J.; Garcia, M. A.; Pérez-López, M.; Melgar, M. J. (2003). The concentrations and bioconcentration factors of copper and zinc in edible mushrooms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol*, 44, 180-188.

Alzorqi, I.; Sudheer, S.; Lu, T.J.; Manickam, S. (2016). Ultrasonically extracted β -D-glucan from artificially cultivated mushroom, characteristic properties and antioxidant activity. *Ultrason. Sonochem.*

Avello, M; Suwalsky, Mario. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección II Semestre (pp. 161-172). Atenas 496.

Atkins P.W. (1985). *Fisicoquímica*. Oxford University Press.

Bao, X. F., Wang, X. S., Dong, Q., Fang, J. N., & Li, X. Y. (2002). Structural features of immunologically active polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*, 59(2), 175–181. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00450-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00450-2)

Barja G. (2004). Free radicals and aging. *Trends in Neurosciences Journal*, 27:595-600.

Barros L., Baptista P., Correia D. M., Casal S., Oliveira B., and Ferreira I. C. F. R. (2007). Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. *Food Chemistry*, vol. 105, no. 1, pp. 140–145.

- Barros L., Ferreira M.J., Queiros B., Ferreira C.F.R., Baptista P. (2007). Total phenols, beta-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chem.*, 103:413–419.
- Barros L, Cruz T, Baptista P, Estevinho LM, Ferreira ICFR. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food Chem Toxicol*, 46:2742–7.
- Berker, K. I., Ozdemir Olgun, F. A., Ozyurt, D., Demirata, B., & Apak, R. (2013). Modified Folin–Ciocalteu antioxidant capacity assay for measuring lipophilic antioxidants. *J.A. and food chem.*, 61(20), 4783-4791.
- Butnariu, M., & Coradini, C. Z. (2012). Evaluation of Biologically Active Compounds from *Calendula officinalis* Flowers using Spectrophotometry. *Chem. Central Journal*, 6, 1–7. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-6-35>
- Capparelli , Alberto Luis. (2013). *Fisicoquímica básica. - 1a ed. - La Plata : Universidad Nacional de La Plata. E-Book.ISBN 978-950-34-0972-5*
- Chan, P.M.; Tan, Y.S.; Chua, K.H.; Sabaratnam, V.; Kuppusamy, U.R. (2015). Attenuation of inflammatory mediators (TNF and nitric oxide) and up-regulation of IL-10 by wild and domesticated basidiocarps of *Amauroderma rugosum* (Blume & T. Nees) Torrend in LPS-stimulated RAW264.7 cells. *PLoS ONE* 2015, 10, e0139593.
- Chen, L.; Shao, H. (2006). Extract from *Agaricus blazei* Murill can enhance immune responses elicited by DNA vaccine against foot-and-mouth disease. *Vet. Immunol. Immunopathol*, 109, 177–182.
- Cheng, J.H.; Tsai, C.L.; Lien, Y.Y.; Lee, M.S.; Sheu, S.C. (2016). High molecular weight of polysaccharides from *Hericium erinaceus* against amyloid-induced neurotoxicity. *BMC Complement. Altern. Med.*, 16, 170.
- Cheung LM, Cheung PCK, Ooi VEC (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem.* 81:249255.
- Cui, H.Y.; Wang, C.L.; Wang, Y.R.; Li, Z.J.; Chen, M.H.; Li, F.J.; Sun, Y.P. (2015). *Pleurotus nebrodensis* polysaccharide PN-S) enhances the immunity of immunosuppressed mice. *Chin. J. Nat. Med.*, 13, 760–766.
- Dai, H., Han, X. Q., Gong, F. Y., Dong, H., Tu, P. F., & Gao, X. M. (2012). Structure elucidation and immunological function analysis of a novel β -glucan from the fruit bodies of *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries. *Glycobiology*, 22(12), 1673–1683. <https://doi.org/10.1093/glycob/cws099>
- Diplock, A. T. -Aggett, P. J. -Ashwell, M. -Bornet, F. -Fern, E. B. -Roberfroid, M. B.: (1999). Scientific concepts of functional foods in Europe – Consensus document. *Br. J. Nutr.*, 81, pp. S1-S27.
- Elsayed, E.A.; El Enshasy, H.; Wadaan, M.A.; Aziz, R. (2014). *Mushrooms: A*

- potential natural source of anti-inflammatory compounds for medical applications. *Mediat. Inflamm.*, 805841.
- Faller, A.L.K. and Fiahlo, E. (2009). The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Res Int.* 42, 210–215.
- Fang, L.; Zhang, Y.; Xie, J.; Wang, L.; Zhang, H.; Wei, W.; Li, Y. (2016). Royal Sun medicinal mushroom, *Agaricus brasiliensis* (Agaricomycetidae), derived polysaccharides exert immunomodulatory activities in vitro and in vivo. *Int. J. Med. Mushrooms*, 18, 123–132.
- FAO. 2005. Usos tradicionales y contemporáneos de los hongos como alimento o medicina, <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/008/y5489s/y5489s00.pdf>
- Ferreira ICFR, Barros L, Abreu RMV. (2009). Antioxidants in Wild Mushrooms. *Curr. M. Chem.*, 16:1543-156.
- Ferreira ICFR, Vaz JA, Vasconcelos MH, Martins A. (2010). Compounds from wild mushrooms with antitumour potential. *A. A. Med. Chem.*, 10:424-436.
- Flegg PB, Maw G. (1997). Mushrooms and their possible contribution to the world. *M. Journal*, 48: 395-403.
- Friedman, M. (2015). Chemistry, nutrition, and health-promoting properties of *Hericium erinaceus* (Lion's Mane) mushroom fruiting bodies and mycelia and their bioactive compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 63, 7108–7123.
- Fu S, Davies MJ, Stocker R, Dean RT. (1998). Evidence for roles of radicals in protein oxidation in advanced human atherosclerotic plaque. *Biochemical J.*, 333:519-525.
- Fulda S. (2010). Modulation of Apoptosis by Natural Products for Cancer Therapy - Review. *Planta Medica*, 76:1075–1079.
- Gruen, F.H. and M.W. Wong. (1982). Distribution of cellular amino acids, proteins and total nitrogen during fruit body development in *Flammuling velutipes*. *Can. J. Bot.*, 160: 1339-1342.
- Huang, X.; Nie, S. (2015). The structure of mushroom polysaccharides and their beneficial role in health. *Food Funct.*, 6, 3205–3217.
- Hu, S.H.; Cheung, P.C.; Hung, R.P.; Chen, Y.K.; Wang, J.C.; Chang, S.J. (2015). Antitumor and immunomodulating activities of exopolysaccharide produced by Big Cup culinary-medicinal mushroom *Clitocybe maxima* (Higher Basidiomycetes) in liquid submerged culture. *Int. J. Med. Mushrooms*, 17, 891–901.
- Jose N, Janardhanan KK (2000). Antioxidant and antitumor activity of *Pleurotus florida*. *Curr. Sci.* 79: 941-943.
- Kabir Y, Yamaguchi M, Kimura S. (1987). *J Nutr Sci Vitaminol*, 33:341–6.

- Kabir Y, Kimura S, Tamura T. (1988). *J Nat Sci Vitaminol*, 34:433–8.
- Kabir Y, Kimura S. (1989). *J Nat Sci Vitaminol*, 34:433–8.
- Kalac, P.; Svoboda, L. (2000). A review of trace element concentrations in edible mushrooms. *Food Chem.*, 69, 273-281.
- Kalogeropoulos, N., Mylona, A., Chiou, A., Ioannou, M.S. and Andrikopoulos, N.K. (2007). Retention and distribution of natural antioxidants (α -tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after shallow frying of vegetables in virgin olive oil. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 40, 1008–1017.
- Kaneda T, Tokuda S. (1966). Effect of various mushroom preparations on cholesterol levels in rats. *J Nutr.*90:371–376.
- Khohno K, Miyake M, Sano O, Osamu S, Tanaka-Kataoka M, Yamamoto S, et al. (2008). *Biol Pharm Bull*, 31:1938–45.
- Kozarski, M.; Klaus, A.; Jakovljevic, D.; Todorovic, N.; Vunduk, J.; Petrovic, P.; Niksic, M.; Vrvic, M.M.; van Griensven, L. (2015). Antioxidants of edible mushrooms. *Molecules*, 20, 19489–19525.
- Lachance PA, Nakat Z, Jeong WS. (2001). Antioxidants: an integrative approach. *Nutrition*, 17:835-838.
- Laessoe, T. (2005). *Manual de Identificación de Hongos*. Omega. Barcelona, España.
- Lastra Menéndez. (2001). *Bosques naturales de Asturias*. Universidad de Oviedo. Asturias, España.
- Lee, J.S.; Hong, E.K. (2011). Immunostimulating activity of the polysaccharides isolated from *Cordyceps militaris*. *Int. Immunopharmacol*, 11, 1226–1233.
- Machlin LJ, Bendich A. (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB Journal*, 1:441-445.
- Manzi, P.; Gambelli, L.; Marconi, S.; Vivanti, V.; Pizzoferrato, L. (1999). Nutrients in edible mushrooms: an inter-species comparative study. *Food Chemistry*, 65, 477-482.
- Marchand, L. L. (2002). Cancer preventive effects of flavonoidssa review. *Biomed. Pharmacother*, 56, 296–301.
- Martínez-Carrera, C., P. Morales, E. Pellicer-González, H, León, A. Aguilar, P. Ramírez, P. Ortega, A. Largo, M. Bonilla, M. Gómez. (2002). Studies on the traditional management and processing of matsutake mushrooms in Oaxaca, México. *Mic. A. Int.* 14: 25-42.
- Mattila, P.; Suonpa“a“, K.; Piironen, V. (2000). Functional properties of edible mushrooms. *Nutrition*, 16, 694-696.
- Mattila P., Konko K., Eurola M. (2001). Contents of vitamins, mineral elements,

- and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 49, no. 5, pp. 2343–2348.
- Mattilda P, Könkö K, Eurola M, Pihlava JM, Astola J, Vahteristo L, et al. (2001). *J Agric Food Chem.*, 49: 2343-2348.
- Mattila, P.; Salo-Vaänaänen, P.; Koönko, K.; Aro, H.; Jalava, T. (2002). Basic composition and amino acid contents of mushrooms cultivated in Finland. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 64196422.
- Mathews C.K., Holde K.E. y Aher K.G. (2010). *Bioquímica. 3º Edic.* Pearson educación, S.A., Madrid. ISBN: 978-84-7829-053-6.
- Mdachi, S. J. M.; Nkunya, M. H. H.; Nyigo, V. A.; Urasa, I. T. (2004). Amino acid composition of some Tanzanian wild mushrooms. *Food Chemistry*, 86, 179-182.
- Mensink RP, Aro A, Den Hond, E, German JB, Griffin BA, Ter Meer H-U, Mutanen M, Pannemans D, Stahl W. (2003). PASSCLAIM - Diet-related cardiovascular disease. *Eur. J. Nutr.* 42 (suppl. 11), 1/6-1/27.
- Miralles Bellver Lourdes. (2005). *Agentes Medioambientales*. Mad. S. L. Sevilla, España.
- Mishra, S.K.; Kang, J.H.; Kim, D.K.; Oh, S.H.; Kim, M.K. (2012). Orally administered aqueous extract of *Inonotus obliquus* ameliorates acute inflammation in dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. *J. Ethnopharmacol*, 143, 524–532.
- Mizuno T. (1995). Bioactive biomolecules of mushrooms: Food function and medicinal effect of mushroom fungi. *Food Reviews International*, 11:7-21.
- Morcillo M., Sánchez M. (2008). *Cultivo de setas y desarrollo rural en Nicaragua*. Barcelona, España: Micología forestal & aplicada.
- Mu, H.; Zhang, A.; Zhang, W.; Cui, G.; Wang, S.; Duan, J. (2012). Antioxidative properties of crude polysaccharides from *Inonotus obliquus*. *Int. J. Mol. Sci.*, 13, 9194–9206.
- Nobili S, Lippi D, Witort E, Donnini M, Bausi L, Mini E, Capaccioli S. (2009). Natural compounds for cancer treatment and prevention. *Pharm. Res.*, 59: 365–378.
- García Jiménez Jesús, Pedraza Kamino Diana, Silva Barrón Carlos, Andrade Melchor Rosa Laura, Castillo Tovar José. (1998). *Hongos del estado de Querétaro*. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.
- Gerrit J. Keizer. (2000). *La enciclopedia de las setas*.
- Guzmán, G.(1998). *La Diversidad Biológica en Iberoamérica*. Acta Zoologica Mexicana, Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, México.
- Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch. of*

tox., 86(3), 345-391.

- Patras, A., Brunton, N.P., Tiwari, B.K. & Butler, F. (2011). Stability and degradation kinetics of bioactive compounds and color in strawberry jam during storage. *Food Bio. Tech.*, 4, 1245–1252.
- Perla, V., Holm, D.G. and Jayanty, S.S. (2012). Effects of cooking methods on polyphenols, pigments and antioxidant activity in potato tubers. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 45, 161–171.
- Raven P. (1995). What is biological diversity and why is important to us? *Environmental Review* 2, <http://www.environmentalreview.org/archives/vol02/raven.html>.
- Rahar, S., Swami, G., Nagpal, N., Nagpal, M.A., Singh, G.S. (2011). Preparation, characterization, and biological properties of β -glucans. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.*, 2, 94–103.
- Ridnour LA, Isenberg JS, Espey MG, Thomas DD, Roberts DD, Wink DA. (2005). Nitric oxide regulates angiogenesis through a functional switch involving thrombospondin-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102:13147-13152.
- Rogerson, C.T., Samuels, G.J.(1994). Agaricolous Species of *Hypomyces*. *Mycologia* 86: 839-866.
- Rop, O., Mlcek, J., & Jurikova, T. (2009). Beta-glucans in higher fungi and their health effects. *Nut. Rev.*, 67(11), 624–631. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00230.x>
- Royse, D. J., B. May. (2003). Multilocus enzyme electrophoresis for the genetic analysis of edible mushrooms. In: *Genetics and breeding of edible mushrooms* (Eds. Chang, S. T., J. A. Buswell, P. G. Miles). Gordon and Breach Science Publishers. The Netherlands, pp. 225-248.
- Samanta, S.; Nandi, A.K.; Sen, I.K.; Maity, P.; Pattanayak, M.; Devi, K.S.P.; Khatua, S.; Maiti, T.K.; Acharya, K.; Islam, S.S. (2015). Studies on antioxidative and immunostimulating fucogalactan of the edible mushroom *Macrolepiota dolichaula*. *Carbohydr. Res.*, 413, 22–29.
- Shah AM, Channon KM. (2004). Free radicals and redox signalling in cardiovascular disease. *Heart.*; 90:486-487.
- Soobrattee, M. A.; Neergheen, V. S.; Luximon-Ramma, A.; Aruoma, O. I.; Bahorun, T. (2005). Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. *Mutat. Res.*, 579, 200–213.
- Taiz, L., Zeiger, E. (2006). *Fisiología vegetal*, Universitat Jaume, Castellón de la Plana, España.
- Tovar, V. J. A. (2001). Qué tan diversos son los hongos. *Memorias del IV Congreso Mexicano de Etnobiología*. Asociación Etnobiológica Mexicana

(AEM). México.

- U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 28. Available online: <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl> (accessed on 28 April 2016).
- Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*; 160:1-40.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Bio. Cell Bio.*; 39:44-84.
- Vaughan, J. G.; Geissler, C. A. (1997). In *The New Oxford Book of Food Plants*; Oxford University Press: New York, p 196.
- Vaz J. A., Heleno S. A., Martins A., Almeida G. M., Vasconcelos M. H., and Ferreira I. C. F. R. (2010). Wild mushrooms *Clitocybe alexandri* and *Lepista inversa*: in vitro antioxidant activity and growth inhibition of human tumour cell lines. *Food and Chem Tox.*, vol. 48, no. 10, pp. 2881–2884.
- Wang, X.M.; Zhang, J.; Wu, L.H.; Zhao, Y.L.; Li, T.; Li, J.Q.; Wang, Y.Z.; Liu, H.G. (2014). A mini-review of chemical composition and nutritional value of edible wild-grown mushroom from China. *Food Chem.*, 151, 279–285.
- Wang, B., Qiu Y.L.(2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Springer*, 16:299-366.
- Wasser SP. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumour and immunomodulating polysaccharides. *Applied M. and Bio.*, 60:258–274.
- Wei MY, Cassano PA, Kritchevsky S, Harris TB, Holvoet P, Crapo RO, Jensen R, Newman AB, Bauer DC. . (2004). Oxidized LDL, antioxidants and pulmonary disease. *FASEB Journal*; 18: A908-A908.
- Wong JY, Chye FY. (2009). *J Food Composition Anal*, 22:269–77.
- Xiao, J.H.; Xiao, D.M.; Chen, D.X.; Xiao, Y.; Liang, Z.Q.; Zhong, J.J. (2012). Polysaccharides from the medicinal mushroom *Cordyceps taii* show antioxidant and immunoenhancing activities in a D-galactose-induced aging mouse model. *Evid. Based Complement. Altern. Med.*, 2012, 273435.
- Yahia, E. M., Gutiérrez-Orozco, F., & Moreno-Pérez, M. A. (2017). Identification of phenolic compounds by liquid chromatography-mass spectrometry in seventeen species of wild mushrooms in Central Mexico and determination of their antioxidant activity and bioactive compounds. *Food Chem.*, 226, 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.044>
- Yin, X.; You, Q.; Zhou, X. (2015). Complex enzyme-assisted extraction, purification, and antioxidant activity of polysaccharides from the Button Mushroom, *Agaricus bisporus* (Higher Basidiomycetes). *Int. J. Med.*

Mushrooms, 17, 987–996.

- Zhang, Z.; Lv, G.; Pan, H.; Pandey, A.; He, W.; Fan, L. (2012). Antioxidant and hepatoprotective potential of endo-polysaccharides from *Herichium erinaceus* grown on tofu whey. *Int. J. Biol. Macromol*, 51, 1140–1146.
- Zhu, L.; Tang, Q.; Zhou, S.; Liu, Y.; Zhang, Z.; Gao, X.; Wang, S.; Wang, Z. (2014). Isolation and purification of a polysaccharide from the caterpillar medicinal mushroom *Cordyceps militaris* (Ascomycetes) fruit bodies and its immunomodulation of RAW 264.7 macrophages. *Int. J. Med. Mushrooms*, 16, 247–257.
- Zhao, S., Tuan, P., Kim, J., Park, W., Kim, Y., Arasu, M., ... Park, S. (2014). Molecular Characterization of Carotenoid Biosynthetic Genes and Carotenoid Accumulation in *Lycium chinense*. *Molecules*, 19(8), 11250–11262. <https://doi.org/10.3390/molecules190811250>.
- Zhao, Y.M.; Song, J.H.; Wang, J.; Yang, J.M.; Wang, Z.B.; Liu, Y.H. (2016). Optimization of cellulase-assisted extraction process and antioxidant activities of polysaccharides from *Tricholoma mongolicum* Imai. *J. Sci. Food Agric*.
- Zamora-Martínez, M.C. (1994). Guía tecnológica para la recolecta y propagación del hongo blanco de ocote (*Tricholoma magnivelare*). Guía tecnológica No. 3 SARH/INIFAP. México, D.F. 28p.

3 PROPIEDADES NUTRICIONALES Y NUTRACÉUTICAS de *L. indigo*, *R. flava* y *H. lactiflorum*.

RESUMEN

Los hongos comestibles silvestres representan una alternativa alimentaria por su contenido proteico y potencial nutraceutico, por lo tanto, es importante el estudio de dichas propiedades en especies de uso común. En este trabajo se determinaron las propiedades nutricionales y nutraceuticas de los cuerpos fructíferos *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* y *Hypomyces lactiflorum* y, colectados en el municipio de Zacapoaxtla, Puebla. Las propiedades nutricionales se evaluaron mediante el análisis proximal y el potencial nutraceutico fue evaluado cuantificando fenoles, flavonoides y carotenoides totales y la capacidad antioxidante mediante los ensayos ABTS y FRAP. El análisis proximal demostró que la proteína cruda fue uno de los componentes principales de la materia seca, siendo superior en los frutos *Ramaria flava* (24.02% bs) y *Lactarius indigo* (23.29% bs). La fibra cruda fue otro componente importante y *L. indigo* presento el porcentaje mayor (14.64%). El contenido fenólico también fue superior en *R. flava* (4.40 mg EAG g · bs⁻¹), lo cual corresponde con su mayor capacidad antioxidante (23.65 y 20.17 μmol ET g · bs⁻¹), respectivamente. Los resultados globales de este estudio demuestran que el consumo de *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* y *Hypomyces lactiflorum* pueden ser benéficas para los consumidores y que son una fuente de antioxidantes.

Palabras clave: Capacidad antioxidante, fenoles totales, *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* y *Hypomyces lactiflorum*.

Tesis: Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo
Autor: Karen Itzel Espejel Sánchez
Director de Tesis: Dra. Diana Guerra Ramírez

NUTRICIONAL AND NUTRACEUTICAL PROPERTIES IN *L. indigo*, *R. flava* y *H. lactiflorum*.

SUMMARY

Wild edible mushrooms represent a food alternative because of their protein content and nutraceutical potential, therefore, the study of these properties in commonly used species is important. In this work the nutritional and nutraceutical properties of the fruiting bodies *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* and *Hypomyces lactiflorum*, collected in the municipality of Zacapoaxtla, Puebla, were determined. The nutritional properties were evaluated by proximal analysis and the nutraceutical potential was evaluated by quantifying phenols, flavonoids and total carotenoids and the antioxidant capacity by the ABTS and FRAP assays. The proximal analysis showed that the crude protein was one of the main components of the dry matter, being superior in the fruits *Ramaria flava* (24.02% bs) and *Lactarius indigo* (23.29% bs). Raw fiber was another important component and *L. indigo* presented the highest percentage (14.64%). The phenolic content was also higher in *R. flava* ($4.40 \text{ mg EAG g} \cdot \text{bs}^{-1}$), which corresponds to its greater antioxidant capacity (23.65 y $20.17 \mu\text{mol ET g} \cdot \text{bs}^{-1}$), respectively. The overall results of this study show that the consumption of *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* and *Hypomyces lactiflorum* can be beneficial for consumers and that they are a source of antioxidants.

Key words: Antioxidant capacity, total phenols, *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* and *Hypomyces lactiflorum*.

Thesis: Universidad Autónoma Chapingo

Author: Karen Itzel Espejel Sánchez

Advisor: Dra. Diana Guerra Ramírez

3.1 Introducción

Los hongos se definen como macromicetos con cuerpos fructíferos distintivos y visibles que pueden crecer por encima o por debajo del suelo (Miles y Chang, 1997). Desde tiempos antiguos muchas culturas de la humanidad han utilizado hongos como alimento y medicina. Hoy en día, los hongos cultivados y silvestres comestibles, utilizados directa o indirectamente como alimento, han sido claramente separados de los hongos medicinales (FAO, 2017). El valor nutricional de los hongos se debe a su contenido, relativamente alto de proteínas, fibra cruda, vitaminas y minerales y a su bajo nivel de grasa (Bano y Rajarathnam, 1988; Manzi et al., 1999; Mattilda et al., 2001; Barros et al., 2008).

Los hongos comestibles se consumen en muchos países del mundo, no sólo por su textura y sabor, sino también por sus características químicas y medicinales (Tomoda et al., 1986). En México, desde la época prehispánica, han sido un alimento alternativo para diversas comunidades. Son una fuente de proteínas (21.7-23.9%, en base seca) con un balance adecuado de vitaminas (A, B1, B2, B6, B12, C, D2, D3, niacina, pro-vitamina D2) minerales (Fe, K, P, Cu, Se, Ca, Mg, Mn, Zn) y fibra dietética (43.3 g/100g) (Martínez-Carrera et al., 2010). Los hongos acumulan una variedad de metabolitos secundarios incluyendo compuestos fenólicos, polipéptidos, terpenos, esteroides, etc., además, los fenólicos de hongos son excelentes antioxidantes (Li et al., 2005). Los compuestos fenólicos presentes en frutas y vegetales son los principales compuestos bioactivos que se han asociado con la inhibición del aterosclerosis y el cáncer. La bioactividad de los compuestos fenólicos puede estar relacionada con su capacidad para quelar metales, inhibir la lipoxigenasa y eliminar los radicales libres (Mallavadhani et al., 2006; Carmen y Xin, 2004; John, 2005). Por lo que el consumo de frutas, vegetales, vinos tintos y jugos proporciona protección contra diversas enfermedades, incluyendo el cáncer y enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares. Los antioxidantes contenidos en este tipo de alimentos eliminan los radicales libres, responsables del daño oxidativo de los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos (Halliwell y Gutteridge, 1984; Chang y Hayes, 1978). El objetivo de este estudio fue determinar las propiedades

nutricionales, potencial nutracéutico y así evaluar la estabilidad de compuestos bioactivos después de tratamiento térmico de los frutos de *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* y *Hypomyces lactiflorum* colectados en el municipio de Zacapoaxtla, Puebla.

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Instrumentación

La medición de absorbancias para cuantificar los fenoles totales y evaluar la actividad antioxidante se llevó a cabo en un lector de microplacas (Biotek Instruments Inc., Winooski, VT, USA), equipado con bombas de inyección automática y el software de análisis de datos Gen5TMdata.

3.2.2 Material vegetal

Los hongos silvestres (*L. indigo*, *R. flava* y *H. lactiflorum*,) fueron colectados en la Sierra Norte de Puebla, en la comunidad de La Loma, Zacapoaxtla, estado de Puebla en julio de 2016. Se realizó una colecta de 20 especies, de los cuales fueron seleccionados las tres especies estudiadas, debido a que son las especies más abundantes. Los frutos, fueron liofilizados y conservados en congelación hasta su análisis.

3.2.3 Análisis proximal

La composición proximal de los hongos liofilizados fue determinada por triplicado de acuerdo con los métodos de la (AOAC, 1990). El contenido de proteína cruda de las muestras se estimó mediante el método de macro-Kjeldhal, la materia orgánica fue digerida con una mezcla catalizadora conteniendo H_2SO_4 concentrado. El contenido de nitrógeno así determinado se multiplicó por un factor de 6.25 para llegar a la cantidad de proteína cruda. Los lípidos totales fueron estimados, a través de una extracción continua con éter etílico utilizando aparato de extracción Soxhlet. El tiempo de extracción fue de 6 horas, después el éter se evaporó en un rotavapor y el residuo se secó (100°C, 30 min), enfrió y pesó. La fibra cruda se estimó mediante el método de (Van Soest, 1967), a través de métodos de digestión con ácido sulfúrico 0.255 N y NaOH 0.313 N. El contenido de cenizas se determinó mediante la combustión del material vegetal

a 550° C durante 3 h. La humedad se estimó colocando la muestra en una cápsula de porcelana a peso constante a 105 °C por 5 horas.

3.2.4 Extracción de polisacáridos

Los polisacáridos fueron extraídos mediante la metodología descrita por (Palacios et al., 2012). Una muestra liofilizada de cada uno de los hongos (10g) fue sometida a extracciones sucesivas (ver Figura 1). Para extraer compuestos de bajo peso molecular se llevó a cabo una extracción con metanol a 60 °C durante 8 h, transcurrido dicho tiempo, la mezcla se filtró, el residuo fue sometido a extracción con 20 mL de agua destilada (25 °C, 24 h) para obtener los polisacáridos solubles bajo estas condiciones. La mezcla de extracción se centrifugó (4000 rpm, 4 °C). El sobrenadante claro fue separado y el residuo se extrajo con 20 mL de agua (100°C, 24 h). Nuevamente el sobrenadante fue centrifugado y el residuo se extrajo finalmente con 20 mL de una disolución acuosa de NaOH (1 M;100 °C; 24 h), el sobrenadante fue separado por centrifugación, el residuo se desechó. Los sobrenadantes de las tres extracciones (agua fría, agua caliente y NaOH caliente) fueron precipitados con etanol en una proporción de 2:1 (v/v), después de centrifugar, cada uno de los residuos fueron re disueltos en agua destilada. Finalmente, en cada una de las soluciones, las proteínas se precipitaron con ácido tricloroacético (20%, p/v) y se centrifugaron para dar un sobrenadante claro. Se añadió NaCl (1%, p / v) y los polisacáridos se precipitaron con etanol/agua (2: 1 v / v) durante 24 h. Los extractos se centrifugaron y los sólidos se lavaron con acetona para dar los polisacáridos brutos.

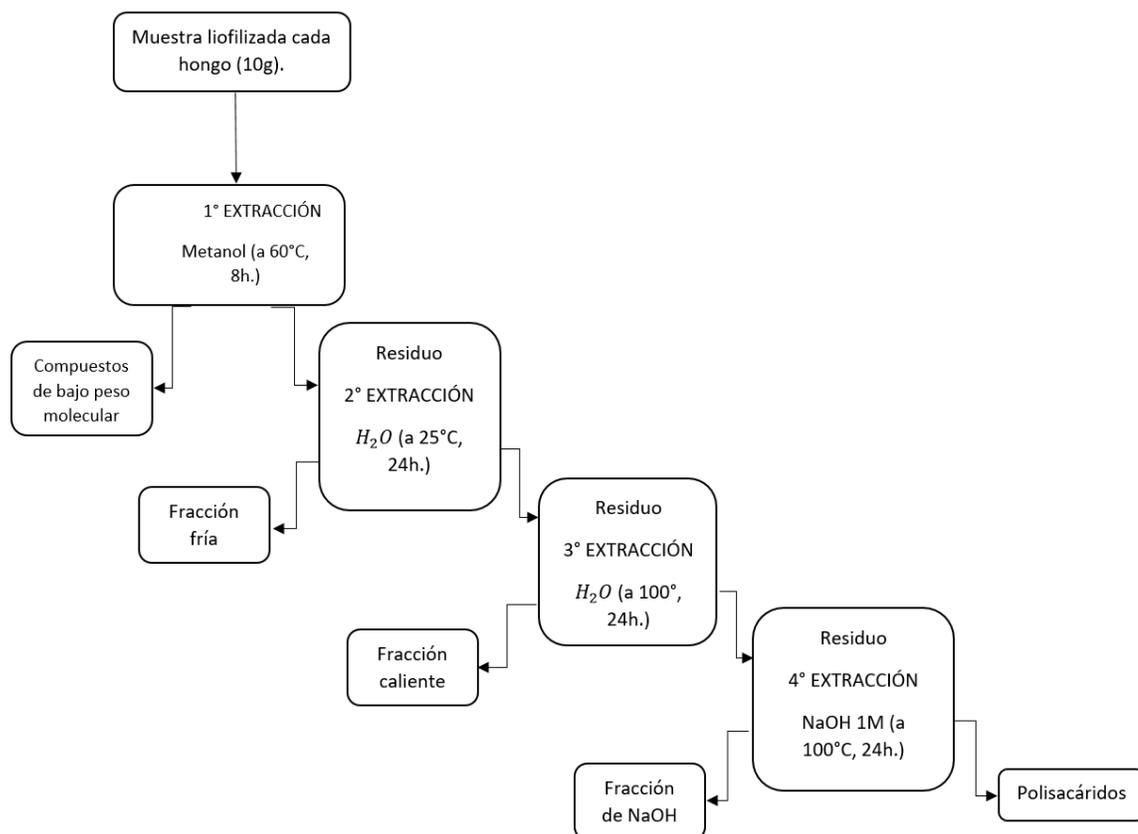


Figura 4. Diagrama de flujo de extracción de polisacáridos.

3.2.5 Evaluación de la capacidad antioxidante

Preparación de los extractos

Una muestra de cada uno de los hongos previamente liofilizados y molidos (0.500 ± 0.005 g) se mezcló con 5 mL de una disolución de metanol al 80 %. Después se ajustó el pH a 3.03 ± 0.05 con HCl 5 %, la mezcla se agitó en vortéx (1000 rpm, 3 min), se sonicó (15 min) y se agitó (150 rpm, 30 min). Finalmente, se sonicó (15 min) y fue centrifugada (2500 rpm, 15 min). El sobrenadante se aforó a 5 mL. A partir de esta mezcla se cuantificaron el contenido de fenoles y flavonoides totales y la capacidad antioxidante. Cada muestra fue analizada por triplicado.

3.2.5.1 Reactivos

El reactivo de Folin-Ciocalteu, el ácido gálico, el carbonato de sodio anhidro, el ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (Trolox), la catequina, el 2,4,6 tripiridil-s triazina (TPTZ), el acetato de sodio, el ácido acético glacial, el ácido clorhídrico y el cloruro férrico hexahidratado fueron adquiridos de Sigma Aldrich.

3.2.5.2 Ensayo de FRAP

La capacidad antioxidante fue determinada por el método FRAP (poder antioxidante reductor del hierro) de acuerdo con el procedimiento de Benzie y Strain, (1996) adaptado a microplacas. Para la solución FRAP se prepararon las siguientes disoluciones: buffer de acetato 300 mM (4.624 g $C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$ y 18.2 mL $C_2H_4O_2$) pH 3.6, TPTZ (2,4,6 Tripiridil-s triazina) 10 mM en 40 mL de HCl, y 20 mM de solución $FeCl_3 \cdot 6H_2O$. La solución FRAP fue preparada al momento de su uso mezclando 10 mL de buffer de acetato; 1 mL de solución TPTZ y 1 mL de solución $FeCl_3 \cdot 6H_2O$. La curva de calibración se obtuvo a partir de una disolución de Trolox con una concentración 998 μM , de esta se tomaron alícuotas para obtener disoluciones con las siguientes concentraciones: 3.84, 7.68, 11.52, 15.36, 23.05, 30.7, 38.4, 46.1 μM . En una microplaca de 96 pozos se mezclaron, en cada pozo, 20 μL de extracto o 20 μL de las diferentes disoluciones de Trolox, 180 μL de solución FRAP y 60 μL de agua (el agua fue dispensada automáticamente con los inyectores del equipo), como blanco, se inyectaron 260 μL de solución FRAP. Las mediciones se hicieron por cuatuplicado. El equipo se programó para agitar durante 30 s, 10 minutos después la absorbancia fue leída a 513 nm. Los resultados se expresaron como $\mu mol Trolox g_{bs}^{-1}$. Con los datos obtenidos se generó una curva de calibración usando las concentraciones de Trolox en el rango mencionado. La ecuación obtenida de la curva tipo fue utilizada para determinar la actividad antioxidante de la muestra.

3.2.5.3 Ensayo de ABTS

El ensayo de ABTS se llevó a cabo por el método de Re et al., (1999) adaptado a microplacas. Se prepararon las disoluciones de ABTS 7.4 mM y una disolución de persulfato de sodio 2.6 mM de las cuales se mezclaron volúmenes iguales (10

mL cada una) y se dejaron incubar a temperatura ambiente durante 16 horas en un lugar oscuro. Una vez transcurrido dicho tiempo se tomaron 600 μL de la mezcla y se aforaron a 10 mL con metanol puro. En la microplaca de 96 pozos se colocaron 20 μL de la curva o del extracto del fruto de feijoa y se inyectaron automáticamente con el equipo 180 μL de la disolución ABTS, como blanco se ocuparon 200 μL de la disolución ABTS. La disminución de la absorbancia fue registrada a 734 nm por espacio de 10 minutos. La curva de calibración de trolox se preparó en un rango de 4.99 a 59.93 μM . Los resultados se expresaron en micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra en base seca ($\mu\text{mol ET g}_{\text{bs}}^{-1}$).

3.2.6 Determinación de contenido de fenoles totales

Los fenoles totales fueron cuantificados por el método de Folin-Ciocalteu adaptado a microplacas (Singleton y Rossi, 1965). La curva de calibración se obtuvo a partir de una disolución de ácido gálico con una concentración de 0.5 mg EAG mL^{-1} , de ésta se tomaron alícuotas para obtener disoluciones con las siguientes concentraciones: 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14, 0.16, 0.18, 0.2 y 0.22 mg EAG mL^{-1} . En una microplaca de 96 pozos se mezclaron, en cada pozo, 25 μL de extracto o 25 μL de las diferentes diluciones de ácido gálico. Posteriormente a cada pozo de la placa se adicionaron 125 μL de agua destilada y 20 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido 1:10 con agua destilada) y 30 μL de Na_2CO_3 al 20 %. El agua y el reactivo de Folin-Ciocalteu se adicionarán automáticamente haciendo uso del sistema de inyección automática del equipo de microplacas. Después, las mezclas de reacción se dejaron en la obscuridad durante 30 minutos y se leyeron las absorbancias a 760 nm. Las mediciones se hicieron por cuatuplicado. Los resultados del contenido de fenoles totales se expresaron en miligramos de fenoles equivalentes a ácido gálico por gramo de muestra en base seca (mg EAG $\text{g}_{\text{bs}}^{-1}$). Con los datos obtenidos se generó una curva de calibración usando las concentraciones de ácido gálico en el rango mencionado. La ecuación obtenida de la curva tipo fue utilizada para determinar la concentración de fenoles totales en la muestra.

3.2.6.1 Determinación de flavonoides

Los flavonoides totales fueron determinados de acuerdo con el método de (Kubola y Siriamornpun, 2011) adaptado a microplacas. Se mezclaron 0.5 mL de extracto de cada uno de los hongos, 2.5 mL de agua destilada y 0.15 mL de disolución de NaNO₂ al 5%. Después de 6 minutos, se añadieron 0.3 mL de AlCl₃·6H₂O al 10 %. La mezcla anterior se dejó reposar durante 5 minutos y enseguida se añadió 1 mL de NaOH al 5%. La mezcla se agitó en vortéx (3000 rpm, 3 min). Finalmente se transfirieron 200 µL de cada muestra a los pozos de la microplaca y se midió la absorbancia a 510 nm en un lector de microplacas. Las mediciones se hicieron por cuadruplicado. Los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de catequina por gramo de muestra en base seca (mgEC gbs⁻¹). El intervalo de la curva de calibración de catequina fue de 0.7 a 34.5 µg mL⁻¹. La ecuación obtenida de la curva tipo fue utilizada para determinar la concentración de flavonoides totales en la muestra.

3.2.7 Determinación de carotenoides

Los carotenoides fueron determinados para *Hypomyces lactiflorum* de acuerdo con el procedimiento de (Camargo et al., 2015). La muestra liofilizada y protegida de la luz. (0,2 g) fue mezclada con 10 mL de una solución de hexano/acetona (6:4, v/v). Y se extrajo sucesivamente en vortex (1 min) y en incubadora (9 min). Después la mezcla se filtró y las absorbancias a 450nm se leyeron inmediatamente con un espectrofotómetro. Los resultados se expresaron como mg de β-caroteno por gramo de muestra en base seca. La curva de calibración se obtuvo a partir de una disolución β-caroteno (1mg·mL⁻¹) en hexano-acetona (6:4, v/v), de la cual se tomaron alícuotas para obtener las siguientes concentraciones: 0.0005, 0.001, 0.0015, 0.002, 0.0025, 0.003, 0.0035 y 0.0040 mg * mL⁻¹.

3.2.8 Análisis estadístico

Los experimentos se condujeron de acuerdo a un diseño completamente al azar con tres repeticiones. Aplicándose análisis de varianza y comparación de medias de tratamientos (Tukey, 0.05) mediante el paquete estadístico SAS (versión 9.4).

3.3 Resultados y discusión

3.3.1 Análisis proximal

La composición proximal de los hongos comestibles silvestres analizados se muestra en el Cuadro 1. De acuerdo con (Breene, 1990), el contenido de humedad para los hongos frescos se encuentra en el intervalo de 85-95 %, por lo que el porcentaje de humedad de los hongos estudiados está acorde con lo descrito, además no hay diferencias estadísticas significativas de esta variable entre las tres especies. El contenido de cenizas de *R. flava* (7.77%) fue estadísticamente diferente y bajo en comparación con *H. lactiflorum* (15.06%) y *L. indigo* (12.93%). El contenido de ceniza de diferentes hongos es generalmente del 0,18-15,73% de la materia seca. Los cuerpos fructíferos de los hongos se caracterizan por un alto nivel de elementos minerales bien asimilados, los principales componentes minerales en hongos son Na, K, Ca, Mg, P, S y elementos como As, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, Mo, Mn, Ni, Pb, Se, Zn entre otros forman constituyentes menores (Bano y Rajarathanum, 1982; Bano et al., 1981). Se ha encontrado que el contenido mineral de los hongos silvestres comestibles es mayor que los cultivados (Mattilla et al., 2001). Por otro lado, el contenido de fibra dietética de los hongos estudiados fue mucho mayor en comparación con *A. bisporus* (1.98%) y *P. ostreatus* (4.10%), reportado por (Manzi et al., 2001). La fibra dietética en hongos muestra niveles más altos de fibra dietética insoluble (2.28-8.99%) que la fibra dietética soluble (0.32-2.20%) (Manzi et al., 2004; Manzi y Pizzoferrato, 2001). Una variable importante para los hongos es el contenido de proteína cruda, *H. lactiflorum* presentó una diferencia significativa, con el menor porcentaje de proteína (20.20%), pero superior a lo descrito para hongos comerciales (Jaworska et al., 2015), sin embargo (Silva y Lo, 1997) reportaron a *R. flava* (14.47%) y *L. indigo* (13.42%) colectados en Querétaro, México, con menor contenido de proteína cruda a los estudiados en este trabajo, lo cual pudo ser consecuencia, de los diferentes sustratos en los que crecieron los hongos, ya que Bano y Rajarathnam, (1982) reportaron que el contenido de proteína de los hongos depende de la composición del sustrato, el tamaño del píleo, el tiempo de cosecha y las especies de hongos. La proteína es un constituyente importante

de los hongos (Agrahar-Murugkar y Subbulakshmi, 2005; Wani et al., 2010). Los hongos en general tienen un mayor contenido de proteína que la mayoría de las otras verduras (Bano y Rajarathnam, 1988). Sobre una base de peso seco, las especies estudiadas contienen de 20 a 24% de proteínas en comparación con 7.3% en arroz, 12.7% en trigo, 38.1% en soja y 9.4% en maíz (Crisan y Sands, 1978; Bano y Rajarathnam, 1988). Verma et al. (1987) informaron que los hongos son muy útiles para los vegetarianos porque contienen algunos aminoácidos esenciales que se encuentran en las proteínas animales. La digestibilidad de las proteínas de *Pleurotus* es como la de las plantas (90%), mientras que la de la carne es del 99% (Bano y Rajarathnam, 1988). Respecto al contenido de grasa, los cuerpos fructíferos de *R. flava*, mostraron diferencia significativa con el menor contenido de grasa (1.20%) y fue menor que el reportado por (Silva & Lo, 1997) para *R. flava* (2.09%) y *L. indigo* (4.25%); frutos colectados en el Estado de Querétaro. Comparando los hongos del presente estudio con otras especies como con *A. bisporus* (0.33%) y *P. ostreatus* (0.36%) reportadas por (Manzi et al., 2001) respecto al contenido de grasa; resultaron mayores en sus porcentajes *R. flava*, *H. lactiflorum* y *L. indigo* (Cuadro 1). Los hongos comestibles proporcionan bajas cantidades de grasa. En general, los ácidos grasos insaturados son predominantes sobre los ácidos grasos saturados, especialmente el ácido palmítico (C16: 0), el ácido oleico (C18: 1) y el ácido linoleico (C18: 2) (Barros et al., 2007; Diez y Alvarez, 2001). En general las tres especies aportan una alta cantidad de carbohidratos respecto al contenido de lípidos y fibra, siendo estos de gran importancia, ya que son la principal fuente de energía para el cuerpo. El perfil de macronutrientes, reveló que los hongos silvestres son una fuente de proteínas vegetales y con un bajo contenido de grasa (Cuadro 1), estas propiedades han sido descritas para otros hongos silvestres comestibles (Aletor, 1995; Longvah y Deosthale, 1998).

Es importante destacar que las características de crecimiento, estado de la etapa y poscosecha puede influir en la sustancia química composición y el valor nutricional de los hongos comestibles (Kalač, 2013).

Cuadro 1. Composición proximal de los hongos silvestres comestibles (base seca)

	Cenizas (%)	Proteína cruda (%)	Lípidos totales (%)	Fibra cruda (%)	Carbohidratos totales (%)
<i>Lactarius indigo</i>	12.93 $a^z \pm 1.79$	23.29 $a \pm 1.30$	3.19 $a \pm 0.25$	14.64 $a \pm 0.22$	45.95 $c \pm 0.00$
<i>Ramaria flava</i>	7.77 $b \pm 0.46$	24.02 $a \pm 0.42$	1.20 $b \pm 0.34$	7.58 $c \pm 0.09$	59.43 $a \pm 0.00$
<i>Hypomyces lactiflorum</i>	15.06 $a \pm 0.03$	20.27 $b \pm 0.78$	2.67 $a \pm 0.15$	12.08 $b \pm 0.36$	49.92 $b \pm 0.00$

Z = Valores con letras iguales dentro de cada columna son estadísticamente iguales (HSD de Tukey, $p \leq 0.05$)

3.3.2 Extracción de polisacáridos

Los polisacáridos son metabolitos que aportan diversos beneficios a la salud, aumentan la respuesta inmune, tienen efectos antitumorales, propiedades anti-inflamatorias y antioxidantes, entre otros (Bao et al., 2002; Ruthes et al., 2013; Wasser, 2003). En diversas investigaciones se han aislado e identificado polisacáridos en hongos, en los que se encontró que poseen importantes propiedades para la salud humana, de ésta manera se extrajeron y aislaron los polisacáridos de los hongos en estudio para determinar la presencia y cantidad de éstos. El rendimiento total de polisacáridos en los hongos en estudio se muestra en el Cuadro 2, en los tres hongos hubo presencia de polisacáridos, sin embargo, *H. lactiflorum* contiene un porcentaje más alto (8.5%), en relación al contenido de fibra cruda, mientras que *R. flava* es el que posee el menor contenido (0.90%). El rendimiento de polisacárido de cada fracción (frío, caliente y NaOH acuoso caliente) para *H. lactiflorum* fue 0.8 %, 6.3 % y 3.1 %, para *L. indigo* fue 0.11%, 0.45% y 1.2% y para *R. flava* fue de 0.01%, 0.007% y 0.6% (peso / peso, peso en seco), respectivamente. (Li, 2017) reportó a *R. botrytis* con un rango de polisacáridos de 0 a 40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, datos inferiores a los obtenidos en el presente trabajo, no obstante, la extracción de polisacáridos fue distinta. Los β -glucanos representan de 4 a 13% de la fibra dietética total de la pared celular

con una variabilidad de las fracciones de fibra dietética dependiendo de las especies de hongos, por lo que se espera que los polisacáridos extraídos son en su mayoría éste tipo de polisacáridos. En este contexto, los polisacáridos β -glucanos de los hongos se consideran compuestos funcionales porque parecen estimular la respuesta inmunomoduladora, modular la inmunidad humoral y celular y por lo tanto tener un efecto beneficioso en la lucha contra las infecciones, además de esas sustancias también presentan hipocolesterolémico (Wasser y Weis, 1999). Sin embargo, en éste estudio los polisacáridos no fueron identificados, sólo aislados.

Cuadro 2. Polisacáridos de los hongos silvestres comestibles (base seca).

	Fibra cruda (%)	Polisacáridos ($mg \cdot g^{-1}$)	Polisacáridos (%)
<i>Lactarius índigo</i>	14.64	179.1	1.22
<i>Ramaria flava</i>	7.58	65.7	0.86
<i>Hypomyces lactiflorum</i>	12.08	1025.3	8.48

3.3.3 Fenoles totales

Las propiedades antioxidantes de los hongos en estudio fueron determinadas conjuntamente con dos hongos comerciales: *champiñones* y *setas*, para hacer una comparación del potencial nutracéutico entre especies silvestres y cultivadas. En el Cuadro 3 se observa que el contenido fenólico total de *R. flava* ($4.40 \text{ mg EAG}_{\text{gbs}}^{-1}$) fue mayor con respecto a las otras dos especies silvestres, sin embargo, al comparar con hongos comerciales se encontró que en los champiñones es superior ($6.81 \text{ mg EAG}_{\text{gbs}}^{-1}$). En otros estudios se encontró que el contenido de fenoles totales en *L. indigo* ($56.50 \text{ mg GAE}/100 \text{ g base seca}$), *H. lactiflorum* ($36.44 \text{ mg GAE}/100 \text{ g base seca}$) y *R. flava* ($53.75 \text{ mg GAE}/100 \text{ g base seca}$) fue superior, éstas muestras fueron colectadas en el estado de Querétaro, México (Yahia et al., 2017). Las diferencias observadas en este

estudio podrían deberse a las condiciones de crecimiento y al método de extracción, por ejemplo (Yahia et al., 2017) hicieron la determinación del contenido fenólico total a partir de un extracto de hexano/diclorometano (1:1, v/v), mientras que en el estudio se hizo la extracción con metanol al (80%). De este modo, el disolvente de extracción tiene un efecto importante (Pumtes et al., 2014). Los compuestos fenólicos exhiben una amplia gama de propiedades fisiológicas, como antialérgico, antiaterogénico, antiinflamatorio, antimicrobiano, efectos antitrombóticos, cardioprotectores y vasodilatadores (Ferreira et al., 2009). Los compuestos fenólicos brindan protección contra varios trastornos degenerativos, que incluyen disfunción cerebral, cáncer, y enfermedades cardiovasculares. Esta propiedad está relacionada con su capacidad para actuar como antioxidantes; ellos pueden eliminar radicales libres y especies reactivas de oxígeno. El proceso de oxidación es esencial para organismos vivos; es necesario para la producción de energía. Sin embargo, la generación de radicales libres ha sido implicado en varias enfermedades humanas. Los compuestos fenólicos en hongos muestran una excelente capacidad antioxidante (Ames et al., 1993).

Cuadro 3. Capacidad antioxidante de los hongos silvestres comestibles (base seca)

	CFT (mg EAG g_{bs}^{-1})	CT (mg E β -C $\cdot g_{bs}^{-1}$)	FT (mg EC $\cdot g_{bs}^{-1}$)	ABTS (μ mol ET $\cdot g_{bs}^{-1}$)	FRAP (μ mol ET $\cdot g_{bs}^{-1}$)
<i>L. índigo</i>	2.92 c ^Z \pm 0.00	-----	0.83 b \pm 0.05	10.42 c \pm 0.02	9.03 c \pm 0.00
<i>R. flava</i>	4.40 b \pm 0.00	-----	2.25 a \pm 0.04	23.65 b \pm 0.02	20.17 a \pm 0.02
<i>H. lactiflorum</i>	2.98 c \pm 0.04	0.117	-----	5.78 e \pm 0.03	3.75 d \pm 0.02
<i>A. bisporus</i>	6.81 a \pm 0.03	-----	-----	26.64 a \pm 0.04	18.79 b \pm 0.03
<i>P. ostreatus</i>	1.57 d \pm 0.01	-----	-----	7.47 d \pm 0.01	2.47 e \pm 0.01

Z= Valores con letras iguales dentro de cada columna son estadísticamente iguales (HSD de Tukey, $p \leq 0.05$).

Los resultados sugieren que el 51.1% de los compuestos fenólicos en *R. flava* son flavonoides y el 28.5% en *L. indigo*, mientras que el *H. lactiflorum* no mostró presencia de flavonoides totales. Emin y Mugla, (2014) reportaron a *R. flava* con 0.86 mg EC_{g_{bs}}⁻¹ de FT. Así mismo, (Yahia et al., 2017) reportaron a *L. indigo* con 0.1227 (mg catequina g⁻¹) y a *R. flava* con 0.346 (mg catequina g⁻¹), datos inferiores a los estudiados en el presente estudio.

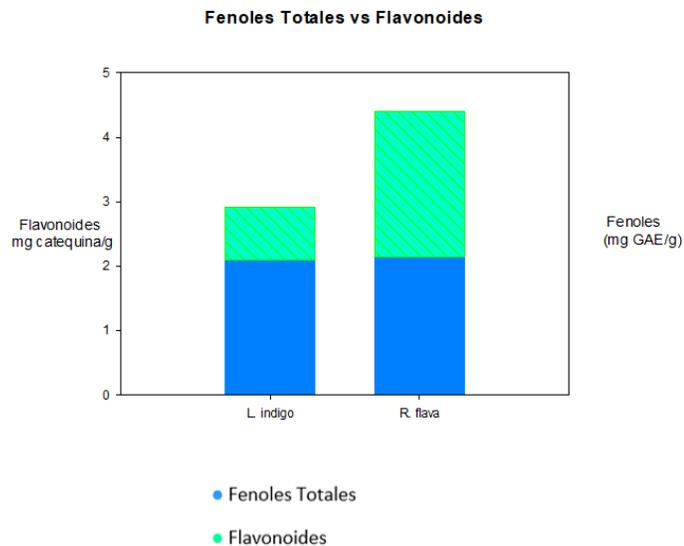


Figura 5. Contenido total de fenoles y flavonoides totales en frutos de *L. indigo* y *R. flava*.

Por otro lado, se cuantificó el contenido total de carotenoides en *H. lactiflorum* ya que fue el único que resultó con presencia de estos compuestos. Los carotenoides son pigmentos amarillos, rojos o anaranjados que se propagan tanto en el mundo vegetal como en el animal. Ellos vinieron con clorofila verde en hojas y hierbas y están presentes en muchas flores, frutas, semillas o raíces. Se sintetizan sólo en plantas. Los pigmentos carotenoides son carotenoides vegetales, son los más extendidos de todos los pigmentos vegetales (Butnariu & Coradini, 2012). El *H. lactiflorum* (0.117mg E β -C \cdot g_{bs}⁻¹) posee carotenoides debido a su color rojo del fruto, mientras que a *R. flava* y *L. indigo* no se les determinó por sus colores blanco y azul, respectivamente.

3.3.4 Capacidad antioxidante

El ensayo FRAP puede ser comparado con ABTS porque utilizan el mismo mecanismo de transferencia de electrones (Ozgen et al., 2006). Las tres especies

presentaron diferencia significativa por los dos ensayos en capacidad antioxidante. Los dos métodos se usaron para evaluar la capacidad antioxidante de cada uno de los hongos, los valores más altos corresponden a *R. flava* y están una relación directa con el contenido de fenoles totales. Comparando a *R. flava* con hongos comerciales, resultó con mayor capacidad antioxidante que los “Setas” pero menor que los “Champiñones” por el mismo método de extracción y por ambos métodos (ABTS y FRAP). De acuerdo con estudios realizados, *R. flava* contiene $2.77 \pm 0.53 \mu\text{mol ET} \cdot \text{g}_{\text{bs}}^{-1}$ y *L. delicious* $0.56 \pm 0.01 \mu\text{mol ET} \cdot \text{g}_{\text{bs}}^{-1}$, valores menores a los obtenidos en el presente estudio. Debido a que existen pocos estudios de *L. indigo*, es posible compararlo con *L. delicious* debido a que son de la misma especie (Emin y Mugla, 2014). No se encontraron estudios que reporten capacidad antioxidante de *H. lactiflorum* por lo cual es de gran importancia mostrar con el presente estudio, el potencial nutracéutico de esta especie, sin embargo, al compararlo con las otras dos especies estudiadas y hongos comerciales como el “Champiñón” y “Setas”, es el que menor capacidad antioxidante tuvo (5.78 y $3.75 \mu\text{mol ET} \cdot \text{g}_{\text{bs}}^{-1}$) mediante los métodos ABTS y FRAP. Cabe mencionar que, por su color y sabor, es uno de los hongos silvestres más consumidos en la zona de Zacapoaxtla, Puebla. Los hongos *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* y *Hypomyces lactiflorum* contienen cantidades significativas de compuestos antioxidantes. Los antioxidantes inhiben la actividad de los radicales libres y tienen efectos beneficiosos sobre el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades. Las propiedades antioxidantes de los hongos se deben principalmente a su alto contenido de fenoles (Gil et al., 2000).

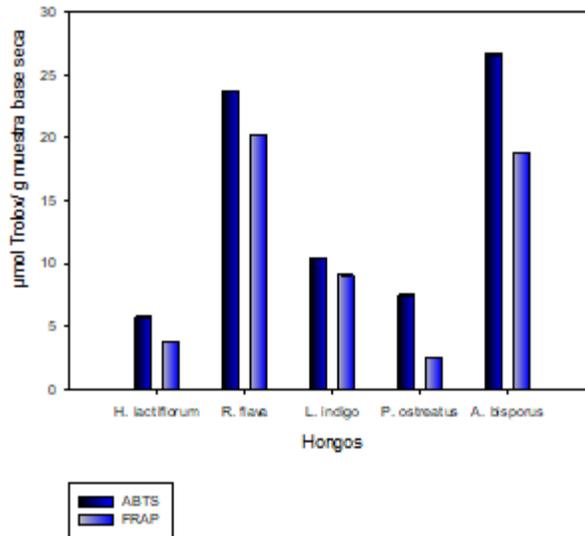


Figura 6. Capacidad antioxidante por ABTS y FRAP

3.4 Conclusiones

En el municipio de Zacapoaxtla, localizado en la de Sierra de Puebla, las condiciones climáticas propician el desarrollo de una gran diversidad cuerpos fructíferos de hongos silvestres. El contenido de proteína reportado para los hongos comestibles silvestres estudiados fue mayor que el encontrado en los hongos comerciales como el champiñón (*Agaricus bisporus*) (24.43 %), además contienen un importante porcentaje de minerales, carbohidratos y fibra cruda. El contenido de polisacáridos fue mayor en *H. lactiflorum* (8.48%). El contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de las tres especies es elevado en comparación con el hongo “Seta” (7.47 μmol Trolox/ g muestra). Sobre la base de los resultados globales, las tres especies contienen adecuada composición química y nutricional, con un destacado contenido de proteína y bajo porcentaje en grasas. Así como son una fuente importante de compuestos bioactivos (polifenoles) que al ser consumidos podrían ser benéficos para la salud humana y la prevención de enfermedades.

3.5 Referencias

- Akdaş, S., & Başlar, M. (2015). Dehydration and Degradation Kinetics of Bioactive Compounds for Mandarin Slices Under Vacuum and Oven Drying Conditions. *J. Food Proc. Pres.*, 39(6), 1098–1107. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12324>
- Agrahar-Murugkar D, Subbulakshmi, G (2005). Nutritional value of edible wild mushrooms collected from the Khasi hills Meghalaya. *Food Chem.* 89:599-603.
- Ames B. N., Shigenaga M. K., and Hagen T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 90, no. 17, pp. 7915–7922.
- AOAC. (1990). AOAC Official Methods of Analysis. *Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C., 15th*(Volume 1), 136–138.
- Bano Z, Bhagya S, Srinivasan KS (1981). Essential amino acid composition and proximate analysis of Mushroom, *Pleurotus florida*. *Mushrooms News Lett. Trop.* 1:6-10.
- Bano Z, Rajarathanam S (1982). *Pleurotus* mushrooms as a nutritious food. In: *Tropical mushrooms -Biological nature and cultivation methods*. Chang ST, Quimio TH (eds). The Chinese University press, Hongkong. pp. 363-382.
- Bano Z, Rajarathanam S (1988). *Pleurotus* mushroom part II. Chemical composition, nutritional value, post harvest physiology, preservation and role as human food. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 27:87-158.
- Bao, X. F., Wang, X. S., Dong, Q., Fang, J. N., & Li, X. Y. (2002). Structural features of immunologically active polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*, 59(2), 175–181. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00450-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00450-2)
- Barros L., Ferreira M.J., Queiros B., Ferreira C.F.R., Baptista P. (2007). Total phenols, beta-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chem.*103:413–419.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Breene, W. M. (1990). Nutritional and Medicinal Value of Specialty Mushrooms. *J. Food Prot.*, 53(10), 883–899. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-53.10.883>
- Butnariu, M., & Coradini, C. Z. (2012). Evaluation of Biologically Active Compounds from *Calendula officinalis* Flowers using Spectrophotometry. *Chem. Cen. J.*, 6, 1–7. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-6-35>
- Camargo, L., Xavier, V., Alves, J., Flach, A., & Ruffo, S. (2015). *Scientia Horticulturae* Bioactive compounds and antioxidant activity in pre-harvest

- camu-camu [*Myrciaria dubia* (H . B . K .) Mc Vaugh] fruits, 186, 223–229.
- Dai, H., Han, X. Q., Gong, F. Y., Dong, H., Tu, P. F., & Gao, X. M. (2012). Structure elucidation and immunological function analysis of a novel β -glucan from the fruit bodies of *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries. *Glycobiology*, 22(12), 1673–1683. <https://doi.org/10.1093/glycob/cws099>
- Daba A. S. and Ezeronye O. U. (2003). Minireview. Anti-cancer effect of polysaccharides isolated from higher basidiomycetes mushrooms. *African J. Biotech*, vol. 2, pp. 272– 278, 2003.
- Diez, V. A., y Alvarez, A. (2001). Estudios de composición y nutrición de dos hongos silvestres comestibles del noroeste de España. *Food Chem*, 75, 417 - 422.
- Emin, M., & Mugla, D. (2014). The Cooking Effect on Two Edible Mushrooms in Anatolia : Fatty Acid Composition , Total Bioactive Compounds , Antioxidant and Anticholinesterase Activities The Cooking Effect on Two Edible Mushrooms in Anatolia : Fatty Acid Composition , Total Bioactive C. *R. Nat. Prod.*, 8(2), 1–7.
- Eyarkai Nambi, V., Gupta, R. K., Kumar, S., & Sharma, P. C. (2016). Degradation kinetics of bioactive components, antioxidant activity, colour and textural properties of selected vegetables during blanching. *J. Food Sci. Tech.*, 53(7), 3073–3082. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2280-2>
- Ferreira I. C. F. R., Barros L., and Abreu R.M. V. (2009). Antioxidants in wild mushrooms. *Current Medicinal Chemistry*, vol. 16, no. 12, pp. 1543–1560.
- Finimundy T. C., Gambato G., Fontana R. (2013). Aqueous extracts of *Lentinula edodes* and *Pleurotus sajor-caju* exhibit high antioxidant capability and promising in vitro antitumor activity. *Nutr Res*, vol. 33, no. 1, pp. 76–84.
- Jaworska, G., Pogoń, K., Bernaś, E., & Duda-Chodak, A. (2015). Nutraceuticals and Antioxidant Activity of Prepared for Consumption Commercial Mushrooms *A garicus bisporus* and *P leurotus ostreatus*. *J. Food Q.*, 38(2), 111–122. <https://doi.org/10.1111/jfq.12132>
- Jaworska, G., Pogoń, K., Bernaś, E., & Duda-Chodak, A. (2015). Nutraceuticals and antioxidant activity of prepared for consumption commercial mushrooms agaricus bisporus and pleurotus ostreatus. *J. Food Q.*, 38(2), 111–122. <https://doi.org/10.1111/jfq.12132>
- Kalač P. (2013). A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms,” *J. Food Q.* , vol. 93, no. 2, pp. 209–218.
- Kawagishi, H., Inagaki, R., Kanao, T., Mizuno, T., Shimura, K., Ito, H., ... Nakamura, T. (1989). *Agaricus blazei*. *Amino Acids*, 186, 267–273.
- Kubola, J., & Siriamornpun, S. (2011). Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food Chemistry*, 127(3), 1138–1145.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.115>

- Kuroda, H. (200AD). NII-Electronic Library Service. *Biol Pharm Bull.* <https://doi.org/10.1248/cpb.37.3229>
- Longvah, T., & Deosthale, Y. G. (1998). Compositional and nutritional studies on edible wild mushroom from northeast India. *Food Chem.*, 63(3), 331–334. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00026-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00026-0)
- Manzi, P., Aguzzi, A., y Pizzoferrato, L. (2001). Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chem.*, 73(3), 321–325. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00304-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00304-6)
- Manzi, P.; Gambelli, L.; Marconi, S.; Vivanti, V.; Pizzoferrato, L. (2004). Nutrients in edible mushrooms: an inter-species comparative study. *Food Chem.*, 65, 477-482.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Flavonoids: Properties and antioxidizing action | Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. *Nut. Hosp.*, 17(6).
- Mattila P, Konko K, Eurola M, Pihlawa JM, Astola J, Vahteristo Lietaniemi V, Kumpulainen J, Valtonen M, Piironen V (2001). Contents of vitamins, mineral elements, and some phenolic compounds in cultivated mushrooms. *J. Agric. Food Chem.* 49: 2343-2348.
- McIntosh M., Stone B. A., and Stanisich V. A. (2005). Curdlan and other bacterial (1→3)-β-D-glucans. *App Microb and Biotech*, vol. 68, no. 2, pp. 163–173.
- Nanba, H., Hamaguchi, A., & Kuroda, H. (1987). The chemical structure of an antitumor polysaccharide in fruit bodies of *Grifola frondosa* (maitake). *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 35(3), 1162–1168. <https://doi.org/10.1248/cpb.35.1162>
- Ozgen, M., Reese, R. N., Tulio, A. Z., Scheerens, J. C., & Miller, A. R. (2006). Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. *J. Agri. Food Chem.*, 54(4), 1151–1157. <https://doi.org/10.1021/jf051960d>
- Palacios, I., García-Lafuente, A., Guillamón, E., & Villares, A. (2012). Novel isolation of water-soluble polysaccharides from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus* mushrooms. *Car. Research*, 358, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2012.06.016>
- Pigatto, G., Lodi, A., Aliakbarian, B., Converti, A., da Silva, R. M. G., & Palma, M. S. A. (2013). Phenol oxidation by mushroom waste extracts: A kinetic and thermodynamic study. *Bioresource Tech.*, 143, 678–681. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.069>
- Pumtes, P., Rojsuntornkitti, K., Kongbangkerd, T., & Jittrepotch, N. (2016). Effects of different extracting conditions on antioxidant activities of *Pleurotus*

- flabellatus. *Int. Food Res. J.*, 23(1), 173–179.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A. ., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant Activity Applying an Improved Abts Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rop, O., Mlcek, J., & Jurikova, T. (2009). Beta-glucans in higher fungi and their health effects. *Nut. Rev.*, 67(11), 624–631. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00230.x>
- Ruthes, A. C., Rattmann, Y. D., Malquevicz-Paiva, S. M., Carbonero, E. R., Córdova, M. M., Baggio, C. H., ... Iacomini, M. (2013). *Agaricus bisporus* fucogalactan: Structural characterization and pharmacological approaches. *Car. Pol.*, 92(1), 184–191. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.08.071>
- Sasaki, T., & Takasuka, N. (1976). Further study of the structure of lentinan, an anti-tumor polysaccharide from *Lentinus edodes*. *Car. Res.*, 47(1), 99–104. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)83552-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)83552-1)
- Silva, I., & Lo, M. G. (1997). Proximate Chemical Composition , Free Amino Acid Contents , and Free Fatty Acid Contents of Some Wild Edible Mushrooms from Quere ´ taro , Me ´ xico. *J. Agri. Food Chem.*, 45(11), 4329–4332. <https://doi.org/10.1021/jf970640u>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(48), 144–158. <https://doi.org/10.1098/rspa.1963.0204>
- Van Soest, P. J. (1967). Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. *J. A. Sci.*, 26, 119–128. <https://doi.org/10.2134/jas1967.261119x>
- Wang, Y., & Xu, B. (2014). Distribution of Antioxidant Activities and Total Phenolic Contents in Acetone , Ethanol , Water and Hot Water Extracts from 20 Edible Mushrooms via Sequential Extraction. *A. J. Nut. and Food Sci.*, 2(1), 1–5.
- Wani B.A., Bodha R.H., Wani A.H. (2010). Nutritional and medicinal importance of mushrooms. *J. Med. Plants Res.* 4(24): 2598-2604..
- Wasser S.P., Weis A.L. (1999). Therapeutic effects of substances occurring in higher basidiomycetes mushrooms: a modern perspective, *Crit. Rev. Immunol.* 19; 65–96.
- Wasser, S. (2003). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *App. Microb. Biotech.*, 60(3), 258–274. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1076-7>
- Yahia, E. M., Gutiérrez-Orozco, F., & Moreno-Pérez, M. A. (2017). Identification of phenolic compounds by liquid chromatography-mass spectrometry in seventeen species of wild mushrooms in Central Mexico and determination

of their antioxidant activity and bioactive compounds. *Food Chem.*, 226, 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.044>

Zhao, S., Tuan, P., Kim, J., Park, W., Kim, Y., Arasu, M., ... Park, S. (2014). Molecular Characterization of Carotenoid Biosynthetic Genes and Carotenoid Accumulation in *Lycium chinense*. *Molecules*, 19(8), 11250–11262. <https://doi.org/10.3390/molecules190811250>

Zhou, L., Cao, Z., Bi, J., Yi, J., Chen, Q., Wu, X., & Zhou, M. (2016). Degradation kinetics of total phenolic compounds, capsaicinoids and antioxidant activity in red pepper during hot air and infrared drying process. *Int. J. Food Sci. & Tech.*, (51), 842–853. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13050>

4 CINÉTICA DE DEGRADACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN HONGOS SILVESTRES COMESTIBLES DURANTE TRATAMIENTO TÉRMICO

RESUMEN

Este estudio determinó el efecto del tratamiento térmico en compuestos bioactivos (fenoles totales) de los hongos silvestres *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* y *Hypomyces lactiflorum* a las temperaturas de 50 y 92 °C y a los tiempos de 0, 10, 20, 30, 40, y 50 minutos. El cambio en fenoles totales y capacidad antioxidante mediante los ensayos de FRAP y ABTS de las muestras fue evaluado al aumentar la temperatura y tiempo de tratamiento térmico. Se determinó el modelo cinético de primer orden para aquellas reacciones. La velocidad de reacción fue mayor a 92 °C para todos los casos. La degradación de la capacidad antioxidante en *R. flava* durante el tratamiento térmico fue mayor comparado con las otras dos especies. La actividad antioxidante de *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* y *Hypomyces lactiflorum* disminuyó a medida que aumentó la temperatura y el tiempo de tratamiento térmico.

Palabras clave: fenoles totales, capacidad antioxidante, tratamiento térmico.

Tesis: Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Karen Itzel Espejel Sánchez

Director de Tesis: Dra. Diana Guerra Ramirez

KINETICS OF DEGRADATION OF ANTIOXIDANT CAPACITY IN EDIBLE WILD MUSHROOMS DURING HEAT TREATMENT

ABSTRACT

This study determined the effect of heat treatment on bioactive compounds (total phenols) of wild mushrooms *Lactarius indigo*, *Ramaria flava* and *Hypomyces lactiflorum* at temperatures of 50 and 92 ° C and at times of 0, 10, 20, 30, 40, and 50 minutes. The change in total phenols and antioxidant capacity by the FRAP and ABTS assays of the samples was evaluated by increasing the temperature and time of heat treatment. The first-order kinetic model was determined for those reactions. The reaction rate was higher at 92 ° C for all cases. The degradation of the antioxidant capacity in *R. flava* during the heat treatment was greater compared with the other two species. The antioxidant activity of *Ramaria flava*, *Hypomyces lactiflorum* and *Lactarius indigo* decreased as temperature and time of heat treatment increased.

Key words: total phenols, antioxidant capacity, heat treatment.

Thesis: Universidad Autónoma Chapingo

Author: Karen Itzel Espejel Sánchez

Advisor: Dra. Diana Guerra Ramírez

4.1 Introducción

Los hongos frescos rara vez se consumen crudos, comúnmente están cocidos, fritos, esterilizados o marinados. Sin embargo, información sobre cómo diferentes métodos de preparación para el consumo y el almacenamiento después del tratamiento afecta parámetros de calidad particulares como el contenido de vitaminas y propiedades antioxidantes es carente. El procesamiento de productos alimenticios, incluidos productos con tratamientos térmicos, puede influir significativamente en el valor nutricional. En el caso de las verduras, los cambios son principalmente causados por gelatinización del almidón y un aumento en la digestibilidad de la proteína, pero también hay cambios adversos: pérdida de vitaminas, compuestos antioxidantes o lixiviación de sustancias solubles que se producen mientras hierven en agua (Kalogeropoulos et al., 2007; Faller y Fiahlo 2009; Perla et al. 2012). Debido a que los frutos frescos son perecederos y vulnerables a microorganismos, oxígeno y otros factores, tienen una corta vida útil y consumos estacionales. Por lo tanto, los métodos de conservación de alimentos son necesarios para aumentar la vida útil y permitir el consumo durante todo el año. Como el tratamiento térmico es un proceso complejo que incluye la transferencia simultánea de calor y humedad, se necesitan modelos matemáticos para determinar la cinética química (Sharma et al, 2003). Algunas propiedades cualitativas de los alimentos, como el valor nutritivo, el color y las propiedades funcionales, pueden reducirse durante el proceso del tratamiento térmico. Como se mencionó anteriormente, las propiedades funcionales y terapéuticas y la calidad del color de los alimentos están relacionadas con su contenido fenólico y flavonoides. Estos valiosos nutrientes no son estables al calor y pueden degradarse durante el tratamiento térmico, particularmente a altas temperaturas (Leonid et al., 2006). La degradación de estos compuestos debe tomarse en consideración para optimizar los parámetros del proceso. Se ha estudiado el efecto del tratamiento térmico en *Agaricus bisporus* y *Pleurotus ostreatus* a 98°C durante 90 segundos en Polonia, sus resultados arrojaron una disminución del 38-79% en su capacidad antioxidante (Jaworska et al., 2015), para *Lactarius delicious* hubo una pérdida del 55% en el contenido de fenoles totales después

del tratamiento térmico (Öztürk et al., 2013), sin embargo, no se han llevado a cabo investigaciones que describan la cinética de degradación de la capacidad antioxidante de los hongos de este estudio. Por lo tanto, no hay información disponible en la literatura que describe el efecto del tratamiento térmico de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de *L. indigo*, *R. flava* y *H. lactiflorum*. Por lo tanto, la cinética de degradación de estos compuestos bioactivos durante el tratamiento térmico a distintos tiempos (0, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 min) y a dos temperaturas (50 y 92°C), debe estudiarse para determinar las condiciones óptimas de tratamiento. El presente estudio se centra en la estabilidad de degradación de los compuestos bioactivos en los frutos, así como en el comportamiento cinético de su tratamiento térmico. El objetivo de este estudio es investigar el efecto de la temperatura y tiempo de tratamiento térmico sobre la capacidad antioxidante y el contenido fenólico total de los hongos para determinar el comportamiento de dichos compuestos.

4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Material vegetal

Los hongos silvestres (*L. indigo*, *R. flava* y *H. lactiflorum*) fueron colectados en la Sierra Norte de Puebla, en el municipio de Zacapoaxtla, estado de Puebla en julio de 2016. Los frutos, fueron liofilizados y conservados en congelación hasta su análisis.

4.2.2 Tratamiento térmico

La estabilidad térmica de los fenoles totales y la capacidad antioxidante se estudió (a 50 y 92°C) y (a 0, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 min). Las muestras de hongo (0.5 g) se transfirieron a tubos Pyrex con agua destilada (6 mL). Las muestras se colocaron en baño de agua termostático precalentado a las temperaturas y tiempos estudiados. Cuando la mezcla alcanzó la temperatura deseada, se retiraron las muestras del baño de agua caliente y se enfrió inmediatamente sumergiéndose en un baño de agua con hielo para detener la reacción, se repitió el mismo procedimiento en intervalos de tiempo (10 min).

Se liofilizaron las muestras y se analizaron para determinar el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante.

4.2.3 Evaluación de la capacidad antioxidante después del tratamiento térmico

4.2.3.1 Preparación de los extractos

Una muestra de cada uno de los hongos con tratamiento previamente liofilizados (0.500 ± 0.005 g) se mezclaron con 5 mL de una disolución de metanol al 80 %. Después se ajustó el pH a 3.03 ± 0.05 con disoluciones de HCl 5 %, la mezcla se agitó en vortéx (1000 rpm, 3 min), se sonicó (15 min) y se agitó (150 rpm, 30 min). Finalmente, se sonicó (15 min) y fue centrifugado (2500 rpm, 15 min). El sobrenadante se aforó a 5 mL. A partir de esta mezcla se cuantificaron el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante. Cada muestra fue analizada por triplicado.

4.2.3.2 Ensayo de FRAP después del tratamiento térmico

La capacidad antioxidante fue determinada por el método FRAP (poder antioxidante reductor del hierro) de acuerdo con el procedimiento de (Benzie & Strain, 1996) adaptado a microplacas. Para la solución FRAP se prepararon las siguientes disoluciones: buffer de acetato 300 mM (4.624 g $C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$ y 18.2 mL $C_2H_4O_2$) pH 3.6, TPTZ (2,4,6 Tripiridil-s triazina) 10 mM en 40 mL de HCl, y 20 mM de solución $FeCl_3 \cdot 6H_2O$. La solución FRAP fue preparada al momento de su uso mezclando 10 mL de buffer de acetato; 1 mL de solución TPTZ y 1 mL de solución $FeCl_3 \cdot 6H_2O$. La curva de calibración se obtuvo a partir de una disolución de Trolox con una concentración $998 \mu M$, de esta se tomaron alícuotas para obtener disoluciones con las siguientes concentraciones: 3.84, 7.68, 11.52, 15.36, 23.05, 30.7, 38.4, $46.1 \mu M$. En una microplaca de 96 pozos se mezclaron, en cada pozo, 20 μL de extracto o 20 μL de las diferentes disoluciones de Trolox, 180 μL de solución FRAP y 60 μL de agua (el agua fue dispensada automáticamente con los inyectores del equipo), como blanco, se inyectaron 260 μL de solución FRAP. Las mediciones se hicieron por cuatuplicado. El equipo se programó para agitar durante 30 s, 10 minutos después la absorbancia fue leída a 513 nm. Los resultados se expresaron

como $\mu\text{mol Trolox g}_{\text{bs}}^{-1}$. Con los datos obtenidos se generó una curva de calibración usando las concentraciones de Trolox en el rango mencionado. La ecuación obtenida de la curva tipo fue utilizada para determinar la actividad antioxidante en la muestra.

4.2.3.3 Ensayo de ABTS después del tratamiento térmico

El ensayo de ABTS se realizó mediante la metodología descrita por (Re et al., 1999) adaptado a microplacas. Se prepararon las disoluciones de ABTS 7.4 mM y una disolución de persulfato de sodio 2.6 mM de las cuales se mezclaron volúmenes iguales (10 mL cada una) y se dejaron incubar a temperatura ambiente durante 16 horas en un lugar oscuro. Una vez transcurrido este tiempo se tomaron 600 μL de la mezcla y se aforaron a 10 mL con metanol puro. En la microplaca de 96 pozos se colocaron 20 μL de la curva o del extracto del fruto de feijoa y se inyectaron automáticamente con el equipo 180 μL de la disolución ABTS, como blanco se ocuparon 200 μL de la disolución ABTS. La disminución de la absorbancia fue registrada a 734 nm por espacio de 10 minutos. La curva de calibración de trolox se realizó en un rango de concentración de 4.99 a 59.93 μM . Los resultados se expresaron en micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra en base seca ($\mu\text{mol ET g}_{\text{bs}}^{-1}$).

4.2.4 Determinación de fenoles totales después del tratamiento térmico

Los fenoles totales fueron cuantificados por el método de Folin-Ciocalteu adaptado a microplacas (Singleton and Rossi, 1965). La curva de calibración se obtuvo a partir de una disolución de ácido gálico con una concentración de 0.5 mg EAG mL^{-1} , de ésta se tomaron alícuotas para obtener disoluciones con las siguientes concentraciones: 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.14, 0.16, 0.18, 0.2 y 0.22 mg EAG mL^{-1} . En una microplaca de 96 pozos se mezclaron, en cada pozo, 25 μL de extracto o 25 μL de las diferentes diluciones de ácido gálico. Posteriormente a cada pozo de la placa se adicionaron 30 μL de Na_2CO_3 al 20 %, 125 μL de agua destilada y 20 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido 1:10 con agua destilada). El agua y el reactivo de Folin-Ciocalteu se adicionarán automáticamente haciendo uso del sistema de inyección automática del equipo de microplacas. Después, la microplaca, con las mezclas de reacción, se dejó en

la obscuridad durante 30 minutos y se leyeron las absorbancias a 760 nm. Las mediciones se hicieron por cuatuplicado. Los resultados del contenido de fenoles totales se expresaron en miligramos de fenoles equivalentes a ácido gálico por gramo de muestra en base seca ($\text{mg EAG g}_{\text{bs}}^{-1}$). Con los datos obtenidos se generó una curva de calibración usando las concentraciones de ácido gálico en el rango mencionado. La ecuación obtenida de la curva tipo fue utilizada para determinar la concentración de FT en la muestra.

4.2.5 Análisis de datos

Para determinar la cinética química de los hongos silvestres durante el proceso de tratamiento térmico es indispensable determinar el orden de las reacciones para cada uno de los experimentos que se realizaron (Cuadro 4). La pérdida de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en los frutos de hongos se calculó mediante la ecuación estándar, dada a continuación.

$$C_A = C_{A0} \cdot e^{-kt}$$

donde C_A es la concentración en el tiempo t , C_{A0} es la concentración en el tiempo 0, k es la constante de velocidad (por segundo), y t es el tiempo de tratamiento térmico (en segundos), de ésta manera se obtuvo el valor de k para cada tratamiento.

Para determinar el orden de la reacción se graficó la concentración vs tiempo, se ajustó la gráfica aplicando \ln a la concentración y finalmente se graficó \ln de la concentración vs tiempo (segundos), obteniendo una reacción de primer orden.

4.3 Resultados y discusión

En general, con base en los datos en el Cuadro 4, se encontró que cada una de las especies estudiadas disminuyó tanto el contenido de fenoles totales como capacidad antioxidante en comparación con el hongo fresco. *L. índigo* tuvo un 32% de pérdida de fenoles totales a 92°C, mientras que a 50°C un 20%, *R. flava* un 32% a 92°C y 20% a 50°C y *H. lactiflorum* un 47% a 92°C y 14% a 50°C, como se observa, los compuestos fenólicos a la temperatura de 92°C, se conservaron en mayor proporción en las dos primeras especies. Los compuestos fenólicos

son sensibles al tratamiento térmico; se puede observar una disminución significativa en el contenido de polifenoles durante la cocción y freimiento de muchas verduras (Kalogeropoulos et al., 2007; Faller y Fiahlo 2009; Perla et al. 2012), se debe a la alta actividad de la fenol oxidasa y la fenol peroxidasa. Las enzimas se activan inmediatamente después de que el tejido se interrumpe y conduce a los cambios en el contenido y la reactividad de compuestos fenólicos (Czapski y Szudyga 2000).

Por otro lado, la capacidad antioxidante por el método ABTS, *L. índigo* perdió un 20% a 50°C y un 28% a 92°C, *R. flava* 20% y 33% y *H. lactiflorum* 14% y 30%, respectivamente. Por el método FRAP, la capacidad antioxidante de *L. índigo* disminuyó el 18% a 50°C y 26% a 92°C, *R. flava* 25% y 73% y *H. lactiflorum* 24% y 38%, respectivamente. De manera global, a mayor temperatura y tiempo, la estabilidad de los compuestos antioxidantes no se mantuvo estable, se observó que las tres especies estudiadas en fresco tenían mayor actividad antioxidante que con tratamiento térmico. Las reducciones fueron comparables para las tres especies de hongos analizadas con hongos comerciales; Champiñón y Setas en Cracovia, Polonia, Jaworska et al., (2015) informaron que el tratamiento térmico de setas para el consumo condujo a pérdidas significativas del total de fenoles totales en un 38-79%. En el caso de los champiñones, también, el tratamiento preliminar influye significativamente en el contenido de compuestos fenólicos (ver Cuadro 4.).

Cuadro 4. Actividad antioxidante de *L. indigo*, *R. flava*, *H. lactiflorum*, *A. bisporus* y *P. ostreatus* fresco y preparado para el consumo (base seca, n=3).

Especie	Tratamiento	Fenoles totales (mg EAG g_{bs}^{-1})	Capacidad	Capacidad
			antioxidante ABTS ($\mu\text{mol ET} \cdot g_{bs}^{-1}$)	antioxidante FRAP ($\mu\text{mol ET} \cdot g_{bs}^{-1}$)
<i>L. indigo</i>	50°C, 0 min	2.92	10.42	9.06
	50°C, 60 min	2.33	8.26	7.43
<i>L. indigo</i>	92°C, 0 min	2.93	10.25	9.06
	92°C, 60 min	2.00	7.35	6.73
<i>R. flava</i>	50°C, 0 min	4.32	23.61	20.18
	50°C, 60 min	3.45	18.81	15.02
<i>R. flava</i>	92°C, 0 min	4.41	23.57	20.18
	92°C, 60 min	3.03	15.72	5.37
<i>H. lactiflorum</i>	50°C, 0 min	2.98	5.77	3.76
	50°C, 60 min	2.57	4.94	2.85
<i>H. lactiflorum</i>	92°C, 0 min	2.92	5.80	3.75
	92°C, 60 min	1.53	4.07	2.31
<i>A. Bisporus</i> (Jaworska et al., 2015)	98°C, 0 min	4.83	0.373	0.332
	98°C, 1.5 min	3.00	0.185	0.155
<i>P. ostreatus</i> (Jaworska et al., 2015)	98°C, 0 min	7.08	0.301	0.236
	98°C, 1.5 min	2.47	0.140	0.121

La temperatura estuvo altamente correlacionada con las pérdidas de antioxidantes tales como fenoles totales. Los tratamientos térmicos de vegetales consistente en cocinar o freír en una pequeña cantidad de aceite contribuye a disminuir la actividad antioxidante hasta 95% dependiendo del material, método y duración del tratamiento térmico (Faller y Fiahlo 2009; Perla et al. 2012).

Cuadro 5. Parámetros determinados a partir de los datos experimentales de la degradación de fenoles totales en los hongos silvestres.

Especie	Tratamiento	Repeticiones	R^2	C_{A0} (promedio) (mg EAG g_{bs}^{-1})	K (promedio)
<i>L. indigo</i>	50°C	1	0.9641	2.99	$6.49 \times 10^{-5} c^Z$
		2	0.9681		
		3	0.9744		
<i>L. indigo</i>	92°C	1	0.9965	2.92	$10 \times 10^{-5} b$
		2	0.9965		
		3	0.9940		
<i>R. flava</i>	50°C	1	0.9919	4.36	$6.31 \times 10^{-5} c$
		2	0.9848		
		3	0.9861		
<i>R. flava</i>	92°C	1	0.9871	4.34	$10 \times 10^{-5} b$
		2	0.9889		
		3	0.9866		
<i>H. lactiflorum</i>	50°C	1	0.9927	2.99	$3.95 \times 10^{-5} d$
		2	0.9921		
		3	0.9898		
<i>H. lactiflorum</i>	92°C	1	0.9827	3.00	$17 \times 10^{-5} a$
		2	0.9807		
		3	0.9818		

Z= Las letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes en $\alpha = 0.05$.

n=3. DMS= 0.248×10^{-5}

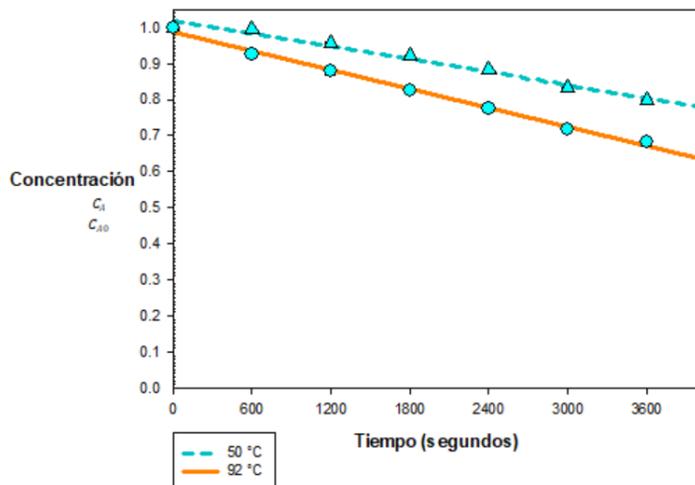


Figura 7. Estabilidad de fenoles totales en *L. indigo*

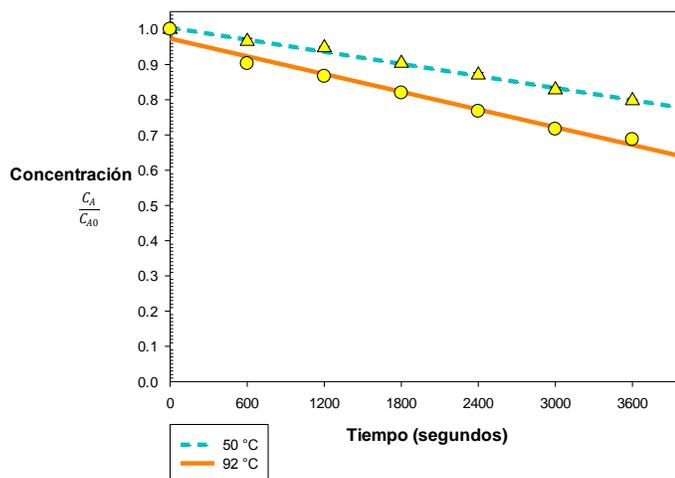


Figura 8. Estabilidad de fenoles totales en *R. flava*

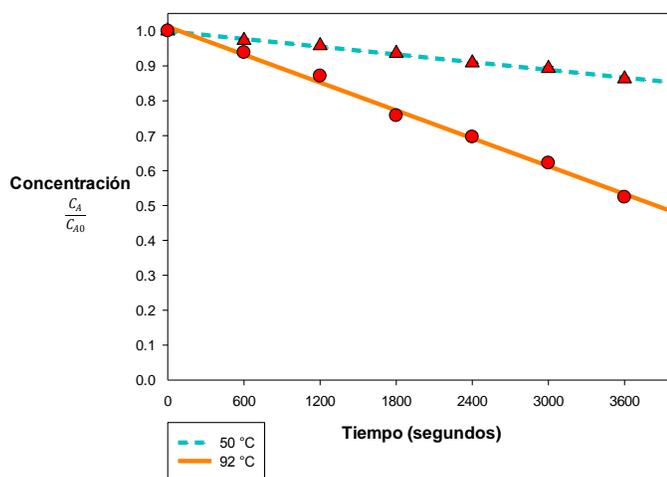


Figura 9. Estabilidad de fenoles totales en *H. lactiflorum*

Los valores de coeficientes de determinación fueron superiores a 0.98, excepto para *L. indigo* a 50 °C fue de 0.96, lo que indica un buen dato para el modelo cinético de primer orden. Nuestros resultados coinciden con los de los estudios anteriores que informaron el modelo de reacción de primer orden para la degradación térmica de fenoles totales (Zhou et al., 2016). Como era de esperar, la tasa de degradación de los fenoles totales aumentó al aumentar el tiempo y temperatura de calentamiento. Como se muestra (cuadro 5), los valores k aumentaron a medida que aumentaba la temperatura y tiempo de cocción. Los valores k para la degradación de contenido fenólico total, cambiaron entre 0.3329 para *L. indigo*, 4×10^{-5} para *R. flava* y 1.305×10^{-4} para *H. lactiflorum* entre las dos temperaturas estudiadas. Es decir, el contenido fenólico a las temperaturas de 50 y 92°C durante 60 minutos, se redujo en un 21 y 31% en *L. indigo*, 20 y 31% en *R. flava* y 15% y 48% en *H. Lactiflorum*, respectivamente.

Los resultados indican que la degradación de los componentes fenólicos en *R. flava* durante el tratamiento térmico fue mayor comparado con las otras dos especies. La degradación de diferentes productos puede cambiar dependiendo las condiciones de tratamiento, tales como cantidad fenólica total, temperatura y tiempo de proceso, entre otros.

Comparando con hongos comestibles, Pigatto et al., (2013) reportaron a *A. bisporus* a temperaturas de 10 a 60°C durante 100 minutos, lo cual tuvo el mismo comportamiento que los frutos de hongos estudiados en el presente trabajo, las altas temperaturas aceleran la velocidad de degradación de los compuestos fenólicos totales. Y comparándolo con verduras como la berenjena, Eyarkai et al., (2016) reportaron el efecto del tratamiento térmico (70, 75, 80, 85 y 90°C durante 15 minutos) en compuestos bioactivos (fenoles totales), lo que resultó que los fenoles totales se degradaron con el aumento de la temperatura y tiempo.

Cuadro 6. Parámetros determinados a partir de los datos experimentales de la degradación de capacidad antioxidante en los hongos silvestres por el método ABTS.

Especie	Tratamiento	Repeticiones	R^2	C_{A0} (promedio) ($\mu\text{mol ET} \cdot \text{g}_{\text{bs}}^{-1}$)	K (promedio)
<i>L. indigo</i>	50°C	1	0.9829	10.58	$6.61 \times 10^{-5} d^Z$
		2	0.9830		
		3	0.9845		
<i>L. indigo</i>	92°C	1	0.9752	10.21	$8.92 \times 10^{-5} c$
		2	0.9771		
		3	0.9750		
<i>R. flava</i>	50°C	1	0.9823	23.67	$5.84 \times 10^{-5} e$
		2	0.9823		
		3	0.9851		
<i>R. flava</i>	92°C	1	0.9904	23.30	$10 \times 10^{-5} a$
		2	0.9891		
		3	0.9912		
<i>H. lactiflorum</i>	50°C	1	0.9858	5.79	$4.30 \times 10^{-5} f$
		2	0.9909		
		3	0.9926		
<i>H. lactiflorum</i>	92°C	1	0.9936	5.74	$9.47 \times 10^{-5} b$
		2	0.9936		
		3	0.9903		

Z= Las letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes en $\alpha = 0.05$.
n=3. DMS= 0.222×10^{-5}

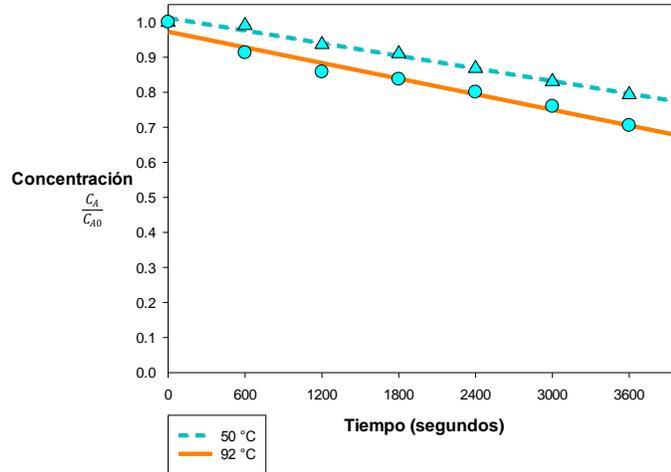


Figura 10. Estabilidad de actividad antioxidante por el método ABTS en *L. indigo*

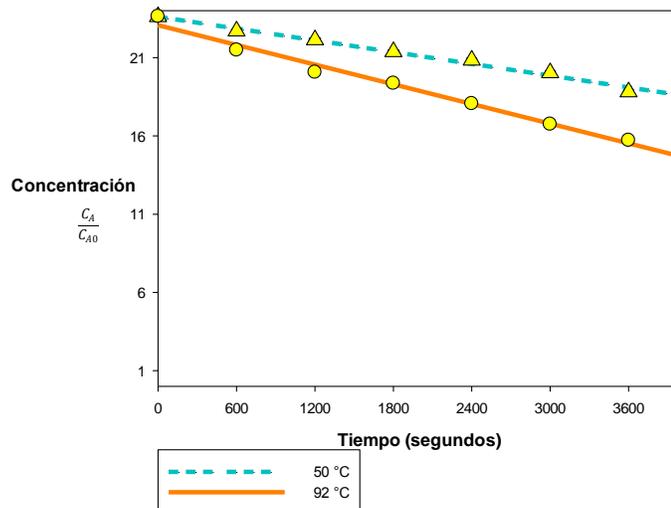


Figura 11. Estabilidad de actividad antioxidante por el método ABTS en *R. flava*

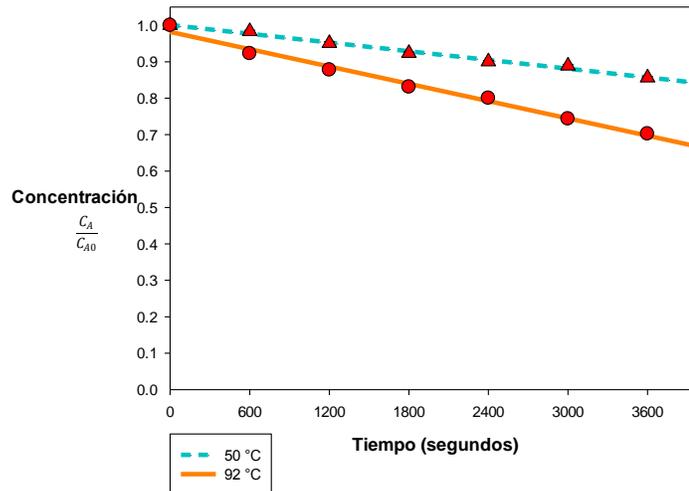


Figura 12. Estabilidad de actividad antioxidante por el método ABTS en *H. lactiflorum*

Cuadro 7. Parámetros determinados a partir de los datos experimentales de la degradación de capacidad antioxidante en los hongos silvestres por el método FRAP.

Especie	Tratamiento	Repeticiones	R^2	C_{A0} (promedio) ($\mu\text{mol ET} \cdot \text{g}_{\text{bs}}^{-1}$)	K (promedio)
<i>L. indigo</i>	50°C	1	0.9767	9.1	$5.16 \times 10^{-5} f^z$
		2	0.9836		
		3	0.9848		
<i>L. indigo</i>	92°C	1	0.9905	9.05	$8.22 \times 10^{-5} c$
		2	0.9856		
		3	0.9901		
<i>R. flava</i>	50°C	1	0.9426	20.2	$7.78 \times 10^{-5} d$
		2	0.9426		
		3	0.9385		
<i>R. flava</i>	92°C	1	0.9602	21.2	$30 \times 10^{-5} a$
		2	0.9600		
		3	0.9600		
<i>H. lactiflorum</i>	50°C	1	0.9749	3.84	$7.49 \times 10^{-5} e$
		2	0.9660		
		3	0.9781		
<i>H. lactiflorum</i>	92°C	1	0.9936	3.78	$10 \times 10^{-5} b$
		2	0.9910		
		3	0.9930		

Z= Las letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes en $\alpha = 0.05$.
 $n=3$. DMS = 0.217×10^{-5}

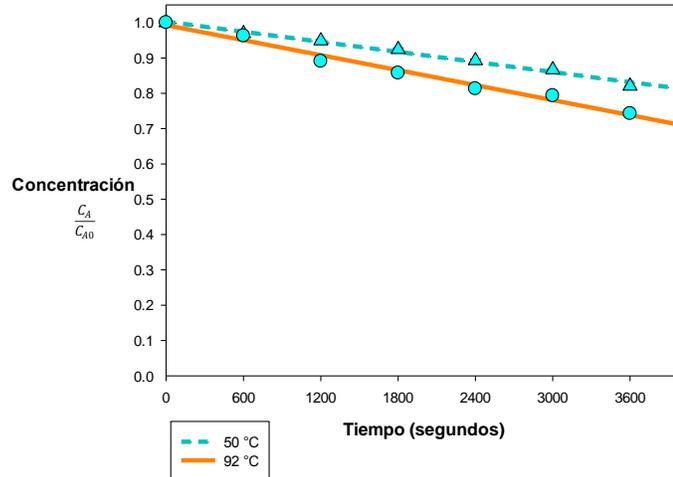


Figura 13. Estabilidad de actividad antioxidante por el método FRAP en *L. indigo*

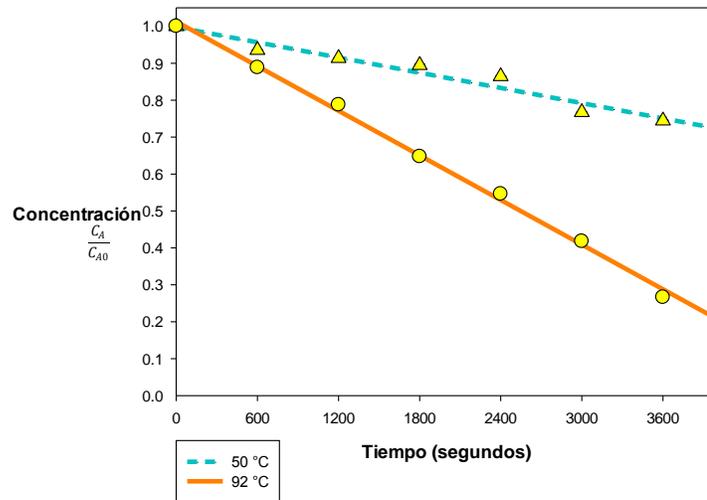


Figura 14. Estabilidad de actividad antioxidante por el método FRAP en *R. flava*

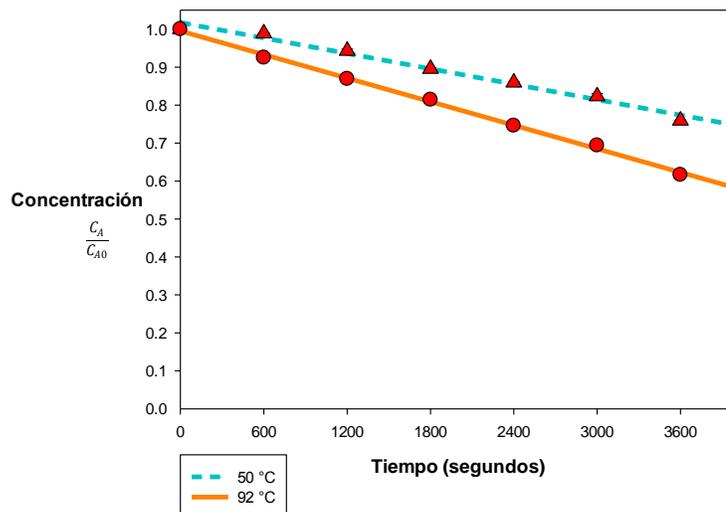


Figura 15. Estabilidad de actividad antioxidante por el método FRAP en *H. lactiflorum*

La actividad antioxidante de los frutos de hongos silvestres disminuyó durante el calentamiento, tendencia vista por ambos métodos. Los valores de coeficientes variaron, teniendo 0.93 como menor para *R. flava* a 50°C por el método FRAP, sin embargo, de manera general indica buenos datos para el modelo cinético de primer orden. La tasa de degradación de la capacidad antioxidante aumentó al aumentar el tiempo y temperatura de calentamiento. Como se observa en los Cuadros 6 y 7, los valores k aumentaron a medida que aumentaba la temperatura y tiempo de cocción. La capacidad antioxidante a la temperatura de 50°C durante 60 minutos, se redujo en un 25-29% en *L. indigo*, 20-25% en *R. flava* y 14-24% en *H. Lactiflorum* por ambos métodos. Mientras que para la temperatura de 92°C durante 60 minutos se redujo en un 25-29% en *L. indigo*, 33-74% en *R. flava* y 30-78% en *H. Lactiflorum* por ambos métodos. Los resultados indican que por el método FRAP hubo una mayor degradación de la capacidad antioxidante, lo cual se puede deber a los coeficientes de correlación, ya que fueron más bajos, sin embargo, los tres hongos siguen la misma tendencia que la degradación de fenoles totales. La degradación de la capacidad antioxidante en *R. flava* durante la cocción fue mayor comparado con las otras dos especies. En la literatura, hay algunos estudios que informan cómo la capacidad antioxidante cambió durante el tratamiento térmico, Pigatto et al., (2013) reportaron a *A. bisporus* a temperaturas de 10 a 60°C durante 100 minutos, lo cual tuvo el mismo comportamiento que los fenoles totales, a altas temperaturas se acelera la velocidad de degradación de la capacidad antioxidante. Y comparando con la berenjena, (Eyarkai Nambi, Gupta, Kumar, & Sharma, 2016) reportaron el efecto del tratamiento térmico (70, 75, 80, 85 y 90°C durante 15 minutos) en capacidad antioxidante lo que resultó un aumento en la degradación.

4.4 Conclusión

En este estudio se evaluó la cinética de la degradación de fenoles totales y la capacidad antioxidante de tres hongos silvestres. Se descubrió que los fenoles totales son más susceptibles a la temperatura de 92°C, obteniendo a *H. lactiflorum* a 92°C con el mayor valor de k (17×10^{-5}), por lo que se concluye que de las tres especies es el hongo en el que son menos estables los fenoles

totales al tratamiento térmico. La actividad antioxidante disminuyó a medida que aumentó la temperatura y tiempo de cocción de los frutos silvestres, mediante los dos métodos (ABTS y FRAP) el valor más alto de k (10×10^{-5} y 30×10^{-5} , respectivamente), fue para *R. flava* lo que indica que fue el hongo que presentó mayor degradación de capacidad antioxidante.

4.5 Referencias

- Akdaş, S., & Başlar, M. (2015). Dehydration and Degradation Kinetics of Bioactive Compounds for Mandarin Slices Under Vacuum and Oven Drying Conditions. *J. Food Proces. Preser.*, 39(6), 1098–1107. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12324>
- AOAC. (1990). AOAC Official Methods of Analysis. *Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C., 15th*(Volume 1), 136–138.
- Bao, X. F., Wang, X. S., Dong, Q., Fang, J. N., & Li, X. Y. (2002). Structural features of immunologically active polysaccharides from *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*, 59(2), 175–181. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00450-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00450-2)
- Breene, W. M. (1990). Nutritional and Medicinal Value of Specialty Mushrooms. *J. Food Prot.*, 53(10), 883–899. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-53.10.883>
- Butnariu, M., & Coradini, C. Z. (2012). Evaluation of Biologically Active Compounds from *Calendula officinalis* Flowers using Spectrophotometry. *Chem. Cen. J.*, 6, 1–7. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-6-35>
- Camargo, L., Xavier, V., Alves, J., Flach, A., & Ruffo, S. (2015). Scientia Horticulturae Bioactive compounds and antioxidant activity in pre-harvest camu-camu [*Myrciaria dubia* (H . B . K .) Mc Vaugh] fruits, 186, 223–229.
- Czapski, J. and Szudyga, K. (2000). Frozen mushrooms quality as affected by strain, flush, treatment before freezing, and time of storage. *J. Food Sci.* 64, 722–725.
- Dai, H., Han, X. Q., Gong, F. Y., Dong, H., Tu, P. F., & Gao, X. M. (2012). Structure elucidation and immunological function analysis of a novel β -glucan from the fruit bodies of *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries. *Glycobiology*, 22(12), 1673–1683. <https://doi.org/10.1093/glycob/cws099>
- Emin, M., & Mugla, D. (2014). The Cooking Effect on Two Edible Mushrooms in Anatolia : Fatty Acid Composition , Total Bioactive Compounds , Antioxidant and Anticholinesterase Activities The Cooking Effect on Two Edible

Mushrooms in Anatolia : Fatty Acid Composition , Total Bioactive C. *Rec. Nat. Prod.*, 8(2), 1–7.

- Eyarkai Nambi, V., Gupta, R. K., Kumar, S., & Sharma, P. C. (2016). Degradation kinetics of bioactive components, antioxidant activity, colour and textural properties of selected vegetables during blanching. *J. Food Sci. Tech.*, 53(7), 3073–3082. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2280-2>
- Faller, A.L.K. and Fiahlo, E. (2009). The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Res Int.* 42, 210–215.
- Jaworska, G., Pogoń, K., Bernaś, E., & Duda-Chodak, A. (2015). Nutraceuticals and Antioxidant Activity of Prepared for Consumption Commercial Mushrooms *A garicus bisporus* and *P leurotus ostreatus*. *J. Food Qual.*, 38(2), 111–122. <https://doi.org/10.1111/jfq.12132>
- Kalogeropoulos, N., Mylona, A., Chiou, A., Ioannou, M.S. and Andrikopoulos, N.K. (2007). Retention and distribution of natural antioxidants (α -tocopherol, polyphenols and terpenic acids) after shallow frying of vegetables in virgin olive oil. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 40, 1008–1017.
- Kawagishi, H., Inagaki, R., Kanao, T., Mizuno, T., Shimura, K., Ito, H., ... Nakamura, T. (1989). *Agaricus blazei*. *Amino Acids*, 186, 267–273.
- Kuroda, H. (200AD). NII-Electronic Library Service. *Biol Pharm Bull.* <https://doi.org/10.1248/cpb.37.3229>
- Longvah, T., & Deosthale, Y. G. (1998). Compositional and nutritional studies on edible wild mushroom from northeast India. *Food Chem.*, 63(3), 331–334. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00026-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00026-0)
- Manzi, P., Aguzzi, A., & Pizzoferrato, L. (2001). Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chem.*, 73(3), 321–325. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00304-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00304-6)
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Flavonoids: Properties and antioxidant action | Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. *Nut. Hosp.*, 17(6).
- Nanba, H., Hamaguchi, A., & Kuroda, H. (1987). The chemical structure of an antitumor polysaccharide in fruit bodies of *Grifola frondosa* (maitake). *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 35(3), 1162–1168. <https://doi.org/10.1248/cpb.35.1162>
- Ozgen, M., Reese, R. N., Tulio, A. Z., Scheerens, J. C., & Miller, A. R. (2006). Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. *J. Agric. Food Chem.*, 54(4), 1151–1157. <https://doi.org/10.1021/jf051960d>

- Palacios, I., García-Lafuente, A., Guillamón, E., & Villares, A. (2012). Novel isolation of water-soluble polysaccharides from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus* mushrooms. *Carb. Res*, *358*, 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2012.06.016>
- Perla, V., Holm, D.G. and Jayanty, S.S. (2012). Effects of cooking methods on polyphenols, pigments and antioxidant activity in potato tubers. *Lebensm.-Wiss. Technol.* *45*, 161–171.
- Pigatto, G., Lodi, A., Aliakbarian, B., Converti, A., da Silva, R. M. G., & Palma, M. S. A. (2013). Phenol oxidation by mushroom waste extracts: A kinetic and thermodynamic study. *Bio. Tech.*, *143*, 678–681. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.069>
- Pumtes, P., Rojsuntornkitti, K., Kongbangkerd, T., & Jittrepotch, N. (2016). Effects of different extracting conditions on antioxidant activities of *Pleurotus flabellatus*. *Int.Food Res J.*, *23*(1), 173–179.
- Rop, O., Mlcek, J., & Jurikova, T. (2009). Beta-glucans in higher fungi and their health effects. *Nut. Rev.*, *67*(11), 624–631. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00230.x>
- Ruthes, A. C., Rattmann, Y. D., Malquevicz-Paiva, S. M., Carbonero, E. R., Córdova, M. M., Baggio, C. H., ... Iacomini, M. (2013). *Agaricus bisporus* fucogalactan: Structural characterization and pharmacological approaches. *Carb. Pol.*, *92*(1), 184–191. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.08.071>
- Sasaki, T., & Takasuka, N. (1976). Further study of the structure of lentinan, an anti-tumor polysaccharide from *Lentinus edodes*. *Carb. Res.*, *47*(1), 99–104. [https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)83552-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(00)83552-1)
- Sawyer, Clair N., Mccarty, Perry L y Parkin, Gane F. (2000). *Química para ingeniería Ambiental*. 4 ed. Colombia: Mc Graw Hill, 713 p.
- Silva, I., & Lo, M. G. (1997). Proximate Chemical Composition , Free Amino Acid Contents , and Free Fatty Acid Contents of Some Wild Edible Mushrooms from Quere ´ taro , Me ´ xico. *J. Agri. Food Chem.*, *45*(11), 4329–4332. <https://doi.org/10.1021/jf970640u>
- Van Soest, P. J. (1967). Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. *J. An. Sci.*, *26*, 119–128. <https://doi.org/10.2134/jas1967.261119x>
- Wang, Y., & Xu, B. (2014). Distribution of Antioxidant Activities and Total Phenolic Contents in Acetone , Ethanol , Water and Hot Water Extracts from 20 Edible Mushrooms via Sequential Extraction. *A. J. Nut. Food Sci*, *2*(1), 1–5.
- Wasser, S. (2003). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *App. Microb. and Biotech.*, *60*(3), 258–274. <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1076-7>

- Yahia, E. M., Gutiérrez-Orozco, F., & Moreno-Pérez, M. A. (2017). Identification of phenolic compounds by liquid chromatography-mass spectrometry in seventeen species of wild mushrooms in Central Mexico and determination of their antioxidant activity and bioactive compounds. *Food Chem.*, 226, 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.044>
- Zhao, S., Tuan, P., Kim, J., Park, W., Kim, Y., Arasu, M., ... Park, S. (2014). Molecular Characterization of Carotenoid Biosynthetic Genes and Carotenoid Accumulation in *Lycium chinense*. *Molecules*, 19(8), 11250–11262. <https://doi.org/10.3390/molecules190811250>
- Zhou, L., Cao, Z., Bi, J., Yi, J., Chen, Q., Wu, X., & Zhou, M. (2016). Degradation kinetics of total phenolic compounds, capsaicinoids and antioxidant activity in red pepper during hot air and infrared drying process. *Int. J. Food Sci. & Tech.*, (51), 842–853. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13050>