



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

---

---

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL  
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE  $\beta$ -GLUCANOS  
EXTRAÍDOS A PARTIR DE *Pleurotus ostreatus*

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA



**APROBADA**



Presenta:

Lizbeth León Avendaño

Bajo la supervisión de: Landy Hernández Rodríguez, Doctora.

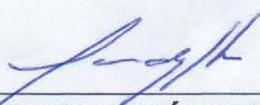


Chapingo, Estado de México, noviembre de 2021

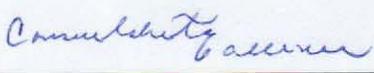
**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE  $\beta$ -GLUCANOS  
EXTRAÍDOS A PARTIR DE *Pleurotus ostreatus***

**Tesis realizada por Lizbeth León Avendaño 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**

**DIRECTOR:**

  
\_\_\_\_\_  
**DRA. LANDY HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ**

**ASESOR:**

  
\_\_\_\_\_  
**DRA. CONSUELO SILVIA OLIVIA LOBATO CALLEROS**

**ASESOR:**

  
\_\_\_\_\_  
**DRA. ANGÉLICA ROMÁN GUERRERO**

**ASESOR:**

  
\_\_\_\_\_  
**M.C. EDUARDO SANTIAGO ELENA**

## CONTENIDO

LISTA DE CUADROS .....	v
LISTA DE FIGURAS .....	vi
AGRADECIMIENTOS.....	viii
DATOS BIOGRÁFICOS.....	ix
1 INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
2 ANTECEDENTES .....	4
2.1 HONGOS SUPERIORES .....	4
2.1.1 Género <i>Pleurotus</i> .....	5
2.1.2 <i>Pleurotus Ostreatus</i> PoB.....	9
2.1.3 Condiciones de crecimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	10
2.2 COMPOSICIÓN DE <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	12
2.2.1 $\beta$ -glucanos.....	15
2.3 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN .....	17
2.4 ALIMENTOS FUNCIONALES.....	19
2.5 PROPIEDADES FUNCIONALES .....	20
2.6 PROPIEDADES TÉRMICAS .....	23
2.7 LITERATURA CITADA .....	25
3 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE $\beta$ -GLUCANOS EXTRAÍDOS A PARTIR DE <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	32
3.1 RESUMEN.....	32
3.2 ABSTRACT.....	33
3.3 INTRODUCCIÓN.....	34

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
3.4.1 Ubicación del trabajo.....	36
3.4.2 Materiales.....	36
3.4.3 Cultivo de <i>P. ostreatus</i> PoB .....	36
3.4.4 Acondicionamiento del material fúngico .....	37
3.4.5 Extracción de polisacáridos crudos.....	37
3.4.6 Extracción y purificación de los $\beta$ -glucanos.....	38
3.4.7 Análisis químico proximal.....	38
3.4.8 Determinación de color .....	43
3.4.9 Determinación de las propiedades funcionales.....	43
3.4.10 Actividad antioxidante .....	45
3.4.11 Calorimetría diferencial de barrido (DSC) .....	47
3.4.12 Análisis de microestructura .....	47
3.4.13 Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR)47	
3.4.14 Curvas de flujo .....	48
3.4.15 Análisis de datos .....	48
3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	49
3.5.1 Cultivo de <i>Pleurotus ostreatus</i> PoB.....	49
3.5.2 Composición químico proximal y rendimientos de los $\beta$ -glucanos	49
3.5.3 Determinación de color .....	52
3.5.4 Propiedades funcionales .....	53
3.5.5 Actividad antioxidante .....	58
3.5.6 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) .....	61

3.5.7	Microestructura.....	63
3.5.8	Medición de Infrarrojos por Transformada de Fourier (FTIR) .....	64
3.5.9	Curvas de flujo .....	65
3.6	CONCLUSIONES .....	68
3.7	AGRADECIMIENTOS.....	68
3.8	LITERATURA CITADA .....	69

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de <i>P. ostreatus</i> .....	6
Cuadro 2. Macronutrientes de <i>P. ostreatus</i> .....	8
Cuadro 3. Estructuras de $\beta$ -glucanos según su origen .....	16
Cuadro 4. Concentraciones empleadas para la determinación de glucosa .....	42
Cuadro 5. Rendimientos de crecimiento de <i>P. ostreatus</i> PoB .....	49
Cuadro 6. Composición químico proximal y pureza de los $\beta$ -glucanos extraídos .....	50
Cuadro 7. Coeficiente de inhibición (IC50) de los $\beta$ -glucanos extraídos.....	61
Cuadro 8 Valores medios de los parámetros del modelo de Herschel-Bulkley.	67

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura morfológica general del género <i>Pleurotus sp.</i> .....	7
Figura 2. Ciclo reproductivo de <i>Pleurotus sp.</i> .....	7
Figura 3. Estructura de $\beta$ -glucanos según su origen.....	17
Figura 4. Diagrama esquemático de la estrategia experimental. ....	35
Figura 5. Curva estándar de proteína (ASB).....	41
Figura 6. $\beta$ -glucanos extraídos a 50, 70 y 91 °C.....	52
Figura 7. Poder de hinchamiento (PH) de $\beta$ -glucanos extraídos a 50 (G <sub>50</sub> ), 70 (G <sub>70</sub> ) y 91 °C(G <sub>91</sub> ). ....	54
Figura 8. Capacidad de unión de la grasa (CUG) de $\beta$ -glucanos extraídos a 50 (G <sub>50</sub> ), 70 (G <sub>70</sub> ) y 91 °C(G <sub>91</sub> ).....	55
Figura 9. Capacidad emulsificante (CE) de $\beta$ -glucanos extraídos a 50 (G <sub>50</sub> ), 70 (G <sub>70</sub> ) y 91 °C(G <sub>91</sub> ). ....	57
Figura 10. Estabilidad de la emulsión (EE) de $\beta$ -glucanos extraídos a 50 (G <sub>50</sub> ), 70 (G <sub>70</sub> ) y 91 °C(G <sub>91</sub> ). ....	57
Figura 11. Efecto antioxidante de $\beta$ -glucanos sobre el radical DPPH. Diferente letra (a-b) denotan diferencia significativa entre las muestras. ....	59
Figura 12. Efecto antioxidante de los $\beta$ -glucanos sobre el radical ABTS. Diferente letra (a-b) denotan diferencia significativa entre las muestras. ....	60
Figura 13. Curvas de calentamiento DSC de $\beta$ -glucanos extraídos a 50 (G <sub>50</sub> ), 70 (G <sub>70</sub> ) y 91 °C(G <sub>91</sub> ). ....	62
Figura 14. Micrografías ópticas de $\beta$ -glucanos extraídos a 50 (a), 70 (b) y 91 °C (c).....	63
Figura 15. Espectro FTIR de $\beta$ -glucanos extraídos a 50 (G <sub>50</sub> ), 70 (G <sub>70</sub> ) y 91 °C(G <sub>91</sub> ) de <i>P. ostreatus</i> PoB. ....	65
Figura 16. Curvas de flujo de $\beta$ -glucanos extraídos a 50 (G <sub>50</sub> ), 70 (G <sub>70</sub> ) y 91 °C(G <sub>91</sub> ). ....	66

## **DEDICATORIA**

A mis padres, por confiar siempre en mí.

A mi hermana Nancy y a mi pequeña Sofía.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Autónoma Chapingo por ser mi hogar y el espacio de mi desarrollo académico.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico durante los estudios de maestría.

A la Dra. Landy Hernández Rodríguez por su paciencia y apoyo invaluable durante el desarrollo de esta investigación.

Al MC. Eduardo Santiago Elena por su paciencia y enseñanza, durante la capacitación para el desarrollo del material vegetativo.

A mis asesores, la Dra. Consuelo Silvia Olivia Lobato Calleros y a la Dra. Angélica Román Guerrero por su tiempo invaluable para la revisión de esta investigación.

A mis compañer@s del laboratorio de alimentos Funcionales del Departamento de Preparatoria Agrícola (Vianney, Juan José e Itzel) por el apoyo incondicional siempre brindado, y por hacerme las jornadas de trabajo más amenas

Por el infinito apoyo de personas que agradeceré toda la vida por haber estado siempre conmigo en este periodo de formación, motivándome siempre ha a seguir: Kass, Gabo, Ale, Adriana, Diana, Azu y May.

## **DATOS BIOGRÁFICOS**

### **Datos personales**

Nombre: Lizbeth León Avendaño

Fecha de nacimiento: 15 de septiembre de 1993

Lugar de nacimiento: Oaxaca de Juárez, Oaxaca

CURP: LEAL930915MOCNVZ14

Profesión: Ingeniero Agroindustrial

Cédula profesional: 11913505

### **Datos académicos**

Educación media superior: Preparatoria Agrícola Universidad Autónoma Chapingo (2008-2011)

Licenciatura: Ingeniería Agroindustrial Universidad Autónoma Chapingo (2011-2015)

# 1 INTRODUCCIÓN GENERAL

El desarrollo de alimentos funcionales ha dado lugar al estudio de hongos macrosporicos comestibles como una propuesta de alimentos que brindan efectos benéficos en términos de promoción a la salud (Cheung, 2008). Los hongos macrosporicos sobresalen entre las fuentes alimenticias por sus ciclos reproductivos, los cuales son cortos y sustentables con el medio ambiente (Cepero, 2012), además de que han sido apreciados y consumidos por sus características sensoriales y nutricionales al ser fuente de proteínas, vitaminas (tiamina, riboflavina, ácido ascórbico, ergosterol, niacina, etc.), minerales (Mg y Fe) y polisacáridos solubles con propiedades biológicas (inmunomodularas, antitumorales, antivirales y antioxidantes) (Kumar et al., 2015, Rop et al., 2009; Radzki et al., 2016). En consecuencia, los hongos se han catalogado como alimentos funcionales y nutraceuticos debido a sus propiedades antioxidantes, antivirales, inmunomoduladores, antitumorales, y antimicrobianas (Khatun et al., 2012, Murphy et al., 2020, Sermwittayawong et al., 2020). Las características funcionales se deben principalmente a la presencia de fibra dietética, entre los cuales se encuentran los  $\beta$ -glucanos.

Los  $\beta$ -glucanos son polisacáridos hidrófilos no amiláceos, que contienen glucosas unidas por enlaces glucosídicos tipo  $\beta$ -1,3-D-glucanos y  $\beta$ -1,6-D-glucanos (Perera y Li, 2011, Purves y col., 2003). Las propiedades funcionales de estos polisacáridos están ligadas a su origen, peso molecular y características estructurales (Kaur y col., 2020, Rop y col., 2009). Los  $\beta$ -glucanos provenientes de hongos superiores, mejoran la capacidad de retención de agua y pueden ser empleados como estabilizadores de sistemas dispersos (Umañana et al., 2021; Zhu & Xu, 2016; Chiozzi et al., 2021).

*Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fr.) P. Kumm. (1871) (seta blanca) es uno de los principales hongos saprófitos utilizados con fines alimenticios a nivel mundial y que ha sido reconocido como seguro para su consumo en fresco y procesado

(Aguilar et al., 2019). Se ha evidenciado la presencia de  $\beta$ -glucanos en *P. ostreatus* con características funcionales y como aditivos alimentarios, reportando rendimientos en base seca superiores (7.5 a 16.9 %) en comparación con *Agaricus Bisporus* (8.6- 12.3 %) y *Pleurotus eryngii* (15 a 15.5 %) (Cerletti et al., 2021; Galloti, 2021; Galloti et al., 2020; Veverka et al., 2018).

Con respecto a los métodos de extracción de  $\beta$ -glucanos se han reportado procesos donde se utilizan medios enzimáticos, soluciones alcalinas y agua hirviendo; métodos que utilizan solventes con alta presión y extracción asistida (microondas y ultrasonido), son procesos que presentan mayor complejidad, requerimiento de tecnología avanzada y por lo tanto costos más elevados (Gong et al., 2020). El método de extracción en agua es un método económico que no requiere equipos sofisticados para su implementación, además de que su eficiencia se incrementa conforme aumenta la temperatura de extracción (Palanysami et al., 2014).

Finalmente, es preciso destacar que en el caso de *P. ostreatus* PoB no existen reportes sobre la extracción de  $\beta$ -glucanos o su empleo en sistemas alimenticios, por lo que es necesario llevar a cabo estudios de manera sistemática en los que se evalúe su composición y propiedades funcionales, a fin de obtener nuevos ingredientes para la formulación de productos alimenticios.

Con lo expuesto anteriormente se planteó la siguiente hipótesis: Diferentes temperaturas en el método de extracción en agua, presentarán un efecto en las propiedades funcionales, antioxidantes, térmicas, microestructurales y reológicas de  $\beta$ -glucanos extraídos a partir de cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* PoB.

Con base en lo anterior, el objetivo general de esta investigación fue caracterizar las propiedades funcionales, antioxidantes, térmicas, microestructurales y reológicas de  $\beta$ -glucanos extraídos a partir de cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* PoB.

Para el cumplimiento del objetivo general se plantearon los siguientes objetivos específicos: a) establecer el cultivo de *P. ostreatus* PoB en un sustrato de rastrojo de maíz enriquecido con paja de avena, b) extraer  $\beta$ -glucanos a partir de *P. ostreatus* PoB, c) determinar el contenido de cenizas, proteínas, carbohidratos y espectro infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) de los  $\beta$ -glucanos extraídos, d) evaluar las propiedades funcionales de los aislados de  $\beta$ -glucanos: poder de hinchamiento (PH), capacidad de unión de la grasa (CUG), actividad emulsionante (AE) y estabilidad de la emulsión (EE), e) determinar las propiedades antioxidantes, térmicas, reológicas y microestructurales de  $\beta$ -glucanos aislados.

## 2 ANTECEDENTES

### 2.1 HONGOS SUPERIORES

A finales del siglo XIX y principios del siglo XX cuando se incluye a todos los hongos dentro del reino Fungi, Whittaker en 1969 propone este reino para las especies que poseen células eucariotas y paredes celulares que consiste fundamentalmente de quitina, pero que no pueden convertir la energía solar a través del proceso de fotosíntesis en materia orgánica. Obtienen la energía y el carbono de los nutrientes de la materia orgánica que descomponen mediante la producción de exoenzimas como la celulasa y ligninasa (Contreras, 2007; Cheung, 2008).

Los hongos pueden ser unicelulares o pluricelulares. Los primeros están formados por células aisladas redondas u ovaladas, denominadas levaduras. Los pluricelulares están constituidos por células alargadas que forman largos filamentos denominados hifas. Los hongos filamentosos macroscópicos, forman estructuras con un elevado nivel de complejidad y organización de sus hifas y presentan una morfología característica denominándose macromicetos. Los hongos macroscópicos, denominados macromicetos, aunque aparentemente son muy diferentes de los hongos microscópicos, tienen una estructura básica filamentosa y un metabolismo idéntico (Prasts, 2006). Actualmente, el término Fungi se restringe a los “hongos verdaderos”, considerados como un dominio eucariota. De acuerdo con su sistema de reproducción se conforma por los phyla: Chytridiomycota, Zygomycota, Glomeromycota, Ascomycota y Basidiomycota (Contreras, 2007).

Los hongos se pueden clasificar en tres hábitos de sobrevivencia: saprófitos, parásitos y micorrizas. Los hongos clasificados como micorrizas tienen una relación simbiótica con alguna vegetación, particularmente árboles, los cuales son beneficiados por los hongos para absorber agua y minerales del suelo

(fosforo, nitrógeno, potasio, etc.), mientras que ellos les confieren principalmente nitrógeno e hidratos de carbono a los hongos (Stanier & Villanueva, 1996; Fernández, 2001). Los hongos saprófitos, necesitan sustancias muertas, ya sean de origen animal (cadáveres, heces fecales, plumas de aves, etc.) o vegetal (restos de árboles, hojas, humus, etc.), reduciendo estas sustancias a productos inorgánicos que vuelven al suelo ya mineralizados para ser utilizados por las plantas superiores (Fernández, 2001). Existen muy pocos hongos parásitos, los cuales obtienen sustancias alimenticias de las plantas y animales vivos, causando daño al huésped. Es debido mencionar que algunas especies pueden compartir algunas de las tres categorías antes mencionadas, algunos ejemplos como los parásitos facultativos que desde el punto de vista nutritivo es saprófito aunque ecológicamente se comporte como parásito, biotrofos facultativos que pueden fungir como simbiote o como saprofitos y los hongos saprofitos facultativos que pueden ser saprofitos o parásitos (Cheung, 2008).

El cultivo de hongos puede hacer tres contribuciones importantes: la producción de alimentos naturales, la fabricación de nutricos y la reducción de la contaminación ambiental. Recientemente, se ha tenido un aumento del interés por los hongos no sólo como un alimento que es rico en proteína y que se obtiene del cuerpo fructífero, sino como una fuente de compuestos biológicamente activos de valor medicinal y suplementos dietéticos que fungen como agentes anticancerígenos, antivirales, inmunopotenciadores, hipocolesterolémicos y hepatoprotectores. Esta nueva clase de compuestos, denominados nutraceuticos de hongos se pueden extraer del micelio del hongo o del cuerpo fructífero y representan un componente importante en la industria de la biotecnología (Cheung, 2008).

### **2.1.1 Género *Pleurotus***

El género *Pleurotus* se denomina comúnmente “hongo seta”. La primera documentación del cultivo fue hecha por Kaufer en 1936. Su clasificación

taxonómica se reporta en el Cuadro 1 (Deepalakshmi & Sankaran, 2014). Este género comprende aproximadamente 40 especies diferentes, incluyendo a *P. ostreatus*, *P. dejamor*, *P. eryngii*, *P. cornucopiae* y *P. pulmonarius* las cuales son las más cultivadas en México (Salmones & Mata, 2013). Varias especies del género se cultivan para comercializarse y se investigan debido a su alto contenido de minerales, propiedades medicinales, ciclo de vida corto, reproducibilidad en el reciclaje de ciertos productos agrícolas (rastrojo de maíz, paja de trigo, paja de avena, pulpa de café, desechos de producción de algodón, entre otros), baja demanda de recursos y de tecnología para su reproducción (Salmones & Mata, 2013; Boa, 2005).

La clasificación taxonómica del género se describe en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *P. ostreatus*

<b>Taxón</b>	<b>Nombre</b>
Reino:	Fungi
Grupo:	Eumycota
Clase:	Basidiomicetes
Subclase:	Holobasidiomicetidae
Orden:	Agaricales
Familia:	Tricholomataceae
Género	<i>Pleurotus</i>
Especie:	<i>P. ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm 1871

Fuente: Gaitán-Hernández et al. (2006)

Cada hongo está formado por una serie de finos filamentos llamados hifas, que en conjunto forman lo que se denomina micelio. Bajo condiciones adecuadas de temperatura y humedad, el micelio extendido sobre un substrato adecuado se transforma en pequeños grumos que van aumentando de tamaño hasta formar la seta. El hongo formado con su sombrero y su pie tiene la capacidad de producir esporas. Estas últimas son las estructuras de reproducción y se forman en la cara

inferior del sombrero, en unas laminillas que parten desde la parte superior del pie hasta el borde del sombrero. Una de las características principales de crecimiento de este hongo, es el crecimiento lateral del pie, el cual sostiene el sombrero, aparentando un desarrollo de una oreja u ostra (Figura 1). Técnicamente *Pleurotus* proviene del griego “pleurón” costado o lado y del latín otus, oreja (Gaitán et al., 2006). De igual manera comprender su ciclo de vida es indispensable para su cultivo (Figura 2).

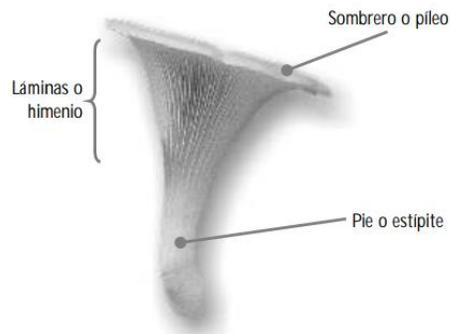


Figura 1. Estructura morfológica general del género *Pleurotus* sp.

Fuente: Gaitán-Hernández et al. (2006)

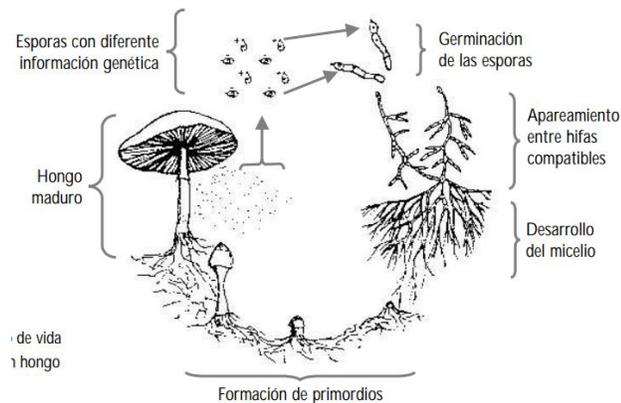


Figura 2. Ciclo reproductivo de *Pleurotus* sp.

Fuente: Gaitán-Hernández et al. (2006)

*Pleurotus*, produce enzimas incluidas las ligninolíticas como lacasa y peroxidasa que les permite crecer en sustratos que contienen lignina y compuestos fenólicos (Royse & Sanchez, 2017).

*P. ostreatus* es un alimento saludable, considerado un complemento alimenticio de un aceptable valor nutricional, ya que sus proteínas contienen todos los aminoácidos esenciales. Presenta una concentración considerable de carbohidratos, vitaminas, fibras y minerales, así como un bajo contenido en grasa (Khan, 2010) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Macronutrientes de *P. ostreatus*

<b>Nutrientes</b>	<b>Contenido (g / 100 g hongo seco)</b>
Proteínas	17-42
Carbohidratos	37-48
Lípidos	0.5-5
Fibra	24-31
Minerales	4-10
Humedad (%)	85-87

Fuente: Khan, 2010

Debido a la composición nutricional e ingredientes activos *P. ostreatus* se ha reportado en varios estudios como antidiabético, antibacteriano, anticolesterolémico, antiartrítico, antioxidante, anticancerígeno, además de contener propiedades antivirales y compuestos bioactivos como terpenoides, esteroides, fenoles, alcaloides, lectinas y nucleótidos que han sido aislados e identificados del cuerpo fructífero y del micelio (Deepalakshmi & Sankaran, 2014; Lindequist et al., 2005).

Debido a que su cuerpo fructífero contiene polisacáridos sin almidón y un rango calórico entre 105-209 joules / 100 g de producto fresco, *P. ostreatus* se ha considerado una fuente de fibra dietética. Los polisacáridos se acumularon en la pared celular de las regiones del pileo y del estipe como reserva y estructura, representados por glucógeno y fibras indigeribles como la celulosa, la quitina,  $\alpha$ - y  $\beta$ - glucanos y hemicelulosas como el manano y galactanos. *P. ostreatus* contiene un  $\beta$ -glucano específico nombrado pleuran que es denominado como

compuesto funcional. La concentración de este último varía de 37 a 48 g / 100 g de cuerpo seco dependiendo de la cepa. Los glucanos comprenden fibra dietética soluble (FDS) e insoluble (FDI), su solubilidad en agua depende de la estructura y la conformación molecular, reportándose contenidos de FDS entre a 4-9 % y FDI de 22-30 % (Hossain et al. 2007; Synytsya et al. 2008; Zhou et al., 2016).

La composición de *P. ostreatus* también depende del proceso de extracción y de las condiciones del cultivo. Las especies cultivadas para comercialización tienen un contenido nutricional similar comparado con el de especies silvestres. Sin embargo, se sabe que hay diferencias cualitativas y cuantitativas en su composición química (Parala et al., 2017; Wang et al., 2001).

### **2.1.2 *Pleurotus Ostreatus* PoB**

A nivel mundial sólo se ha estudiado el 6 % de la diversidad fúngica, excluyendo una amplia gama de hongos silvestres comestibles que pueden ser consumidos con seguridad. Por otro lado, se diferencian de las especies cultivadas ya que son organismos que crecen en determinadas épocas del año y en específicos ecosistemas (Cano & Romero, 2016).

*P. ostreatus* PoB es una cepa silvestre que ha sido poco estudiada. Armas et al. (2019) describieron las características morfológicas de las estructuras tipo toxocisto (estructuras relacionadas con la formación de compuestos con acción nematocida) para contribuir al conocimiento de los caracteres morfológicos del género. En otro estudio reportado por los mismos autores evidenciaron la actividad de lacasa sobre compuestos ligninolíticos. En ambos estudios la cepa se adaptó a las condiciones de reproducción, por lo que previo a una producción de *P. ostreatus* PoB con fines de consumo, la cepa debe ser estudiada de manera sistemática.

### **2.1.3 Condiciones de crecimiento de *Pleurotus ostreatus***

*P. ostreatus* puede crecer en varias condiciones atmosféricas, sin embargo, si se quiere tener éxito en los rendimientos de la cosecha, se deben considerar las siguientes condiciones (García, 2007).

#### **Temperatura**

La temperatura tiene efecto significativo en la actividad enzimática y por consecuencia en la síntesis de vitaminas, aminoácidos y otros metabolitos. De acuerdo con García (2007), la temperatura en la que crece *P. ostreatus* es un intervalo de 10 a 35 °C, con una temperatura óptima de crecimiento entre 20 y 30 °C, por lo que es considerado como un mesófilo.

#### **Humedad**

La humedad durante el crecimiento del hongo es determinante para permitir la entrada de los nutrientes a la célula y liberar al medio que la rodea las enzimas

necesarias para degradar los polímeros que pueden utilizar, además de ser fuente de hidrógeno y oxígeno. A sí mismo, los hongos deben incorporar agua al citoplasma para mantenerlo estable. La humedad relativa en el ambiente debe encontrarse superior al 70 % (Cepero, 2012).

#### **Luz**

La formación de los primeros primordios es inducida por la luz, al regular la germinación de esporas y desarrollo de hifas. De igual manera la luz tiene efecto sobre los procesos de nutrición, metabolismo (carbohidratos, ácidos grasos, aminoácidos, ácidos nucleicos, producción de quitina) y la producción de metabolitos secundarios. *P. ostreatus* requiere condiciones de oscuridad durante

su periodo de incubación, que comprende de 14 a 21 días, mientras que en la etapa de fructificación requiere de un fotoperiodo de 9 h/luz/día (Jaramillo & Edgardo, 2019; Cepero, 2012; García, 2007).

### **Aireación**

De acuerdo con el requerimiento de oxígeno, los hongos pueden clasificarse en cuatro categorías: aerobios obligados, aerobios facultativos, fermentadores y anaerobios obligados (Deacon, 2006). *P. ostreatus* es un hongo aerobio facultativo ya que puede realizar el proceso fermentativo tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas (Chang et al., 1982).

Aunado a ello es conveniente que durante el cultivo de *P. ostreatus* se mantengan bajos niveles de dióxido de carbono en el entorno, ya que de esta manera se llega a estimular más rápidamente el desarrollo del cuerpo fructífero. Una alta concentración de este compuesto puede provocar racimos elongados (Quimio et al, 1990).

### **pH de desarrollo**

La disponibilidad de iones inorgánicos es dependiente de la concentración de iones hidrógeno. La especie *Pleurotus* se ve favorecida bajo condiciones ligeramente ácidas para su desarrollo. El valor de pH para un crecimiento adecuado fluctúa entre 4 y 8.5, con un óptimo entre 5 y 7. Bajo estas condiciones se presenta un apropiado funcionamiento celular ya que en condiciones extremas de acidez y alcalinidad la permeabilidad celular puede ser alterada (Cepero, 2012).

## 2.2 COMPOSICIÓN DE *Pleurotus ostreatus*

### Carbohidratos

Los carbohidratos representan los componentes nutricionales mayoritarios de *P. ostreatus*, los cuales se concentran en la pared celular del cuerpo fructífero en una concentración de 46.6 a 81.8 %, distribuidos como carbohidratos solubles (4.2 %), pentosas (1.7 %) y hexosas (32.3 %) (Bano & Raharathnam, 1988; Sánchez & Royse, 2017).

La fibra cruda se extrae principalmente del estípite del hongo, en una concentración de 7.5 a 11.9 % la cual se basa principalmente en celulosa y lignina. El contenido de fibra cruda en un análisis químico representa el residuo del tratamiento alcalino realizado en la muestra (Holtz, 1971).

En cambio, la fibra dietética representa la mayor parte de los polisacáridos; 27.8 % de hemicelulosas y 11.6 % celulosa. Este segmento es el responsable de la capacidad de retención de agua en polisacáridos debido a grupos polares presentes en pectinas y gomas (Holtz, 1971).

La mayoría de los metabolitos bioactivos de *P. ostreatus* se extraen del cuerpo fructífero y del micelio. Dentro de estos compuestos, los polisacáridos son los principales compuestos activos (Sridhar & Deshmukh, 2021). Los  $\beta$ -glucanos forman parte de este grupo y han sido de interés debido a sus propiedades antimicrobianas, antivirales, antioxidantes y anticancerígenas (Pérez-Martínez et al., 2015, Gomes-Correa et al., 2016).

### Proteínas

*P. ostreatus* contiene una mayor concentración de proteína en comparación con algunos vegetales como lechuga, tomate, pepino y pimientos. *P. ostreatus* es

conocida por su alto contenido proteico, por lo que se les ha llamado “carne de bosque”. Se ha evidenciado una concentración de proteína total entre 17 y 25 % en *P. ostreatus* (Lelley & Vetter 2005, Deepalakshmi & Mirunalini 2014). Las variaciones de estas macromoléculas en la misma especie pueden deberse a los diferentes sustratos empleados para su crecimiento y estado fisiológico en el que se realiza la cosecha. La digestibilidad de la proteína en esta especie se encuentra en un 84 % (Vetter, 2010). En la proteína de esta especie se han encontrado aminoácidos esenciales como; Treonina, Valina, Metionina, Isoleucina, Leucina, Fenilalanina, Lisina, Histidina, Arginina y Triptófano (Eder & Wunsch, 1991).

## **Lípidos**

En general los hongos contienen bajas concentraciones de lípidos. *P. ostreatus* en promedio contiene un 2.2 %, de los cuales más del 50 % se presentan como lípidos libres. El ácido linoleico es el principal ácido graso presente en el género *Pleurotus* seguido del ácido oleico, estos últimos representan el 87 % del total de los ácidos grasos insaturados (Garcha et al., 1993).

## **Minerales**

*P. ostreatus* es de las especies que más contenido de minerales exhibe en base seca (9.8 %), lo anterior comparado con otras especies de hongos como *Agaricus bisporus* (5.7 %) y *Lentinula edodes* (5.2 %) (Panesar & Marwaha, 2013). Dentro de los principales minerales encontrados en *P. ostreatus* podemos mencionar los siguientes:

- Sodio

El consumo de hongos es recomendado porque a pesar de que contiene sodio, este se encuentra en pequeñas cantidades. Por cada 100 g de setas frescas se

encuentran 2.5 mg; esta cantidad no rebasa la dosis de ingesta diaria recomendada (Lelley & Vetter, 2005).

- Potasio

En esta especie se han reportado valores de 190 a 269 mg por cada 100 g de material fresco (Lelley & Vetter, 2005; Patil et al., 2010).

- Zinc

*P. ostreatus* contiene entre 0.4 y 0.8 mg por cada 100 g de material fresco, excediendo a las espinacas que es uno de los vegetales que presenta mayores concentraciones (Lelley & Vetter 2005).

- Enzimas

*P. ostreatus* es capaz de obtener energía a partir de compuestos orgánicos, esto es posible debido a la segregación de enzimas como lignocelulosas, lacasas, magnesio-peroxidasa y alcohol oxidasas. Las lacasas han recibido atención biotecnológica, principalmente en procesos de biorremediación y en la industria alimentaria (Sridhar & Deshmukh, 2021). Mientras que la lignina peroxidasa y magnesio-peroxidasa mejoran el sabor en sistemas alimenticios. Las proteasas termoestables por su lado juegan un papel importante en la industria de detergentes, alimentos y farmacia (Razzaq et al 2019).

## Vitaminas

Entre las vitaminas que podemos encontrar en *P. ostreatus* está la vitamina A, de la cual su precursor más importante es el  $\beta$ -caroteno. *P. ostreatus* es fuente de  $\beta$ -caroteno entre 0.36 y 0.9  $\mu\text{g}$  100  $\text{g}^{-1}$  de hongo fresco, vitamina B (0.17 y 0.2 mg); y en menor cantidad vitamina B<sub>2</sub> (riboflavina), vitamina C (ácido ascórbico), vitamina B<sub>9</sub>, vitamina B<sub>5</sub> (ácido pantoténico), vitamina B<sub>3</sub> (niacina) y vitamina D (Lelley & Vetter 2005).

### 2.2.1 $\beta$ -glucanos

En la naturaleza se han reportado trescientos sacáridos donde los homopolímeros de D-glucosa (poliglucanos, glucosa) son los más frecuentes. En realidad, su diversidad resulta de los posibles enlaces entre las unidades de glucopiranosas. La condensación puede tener lugar con el grupo hidroxilo de cualquier átomo de carbono y puede dar lugar a la conformación de anómeros alfa o beta, ya que hay al menos ocho formas diferentes en las que dos unidades monómeras pueden enlazarse. La diversidad de los glucanos aumenta por la sustitución de los anillos del carbohidrato y por las ramificaciones de las cadenas presentes (Rop et al., 2009).

La fibra dietética en su mayoría son polisacáridos de origen vegetal o fúngico y se presentan como moléculas no digeribles en el intestino delgado del ser humano debido a que no existen enzimas pancreáticas o intestinales capaces de degradarlas por lo cual son clasificados como fibra dietética insoluble (Pizarro et al., 2014). Estas incluyen celulosa, hemicelulosa,  $\beta$ -glucanos, pectinas, mucílagos, gomas y lignina. Las diferencias estructurales de cada una determinan sus propiedades físicas, químicas y fisiológicas. Las fibras solubles en contacto con el agua forman un retículo originando geles y/o suspensiones de gran viscosidad: en este grupo se encuentran pectinas, algunas hemicelulosas, gomas, mucílagos,  $\beta$ -glucanos y polisacáridos provenientes de algas (López & Vivanco, 2015).

Los hongos del género *Pleurotus* son fuente de glucanos biológicamente activos en particular por contener  $\beta$ -glucanos (pleuran) que se han utilizado como suplemento alimenticio debido a su actividad inmunosupresora (Synytsya et al., 2009). Los  $\beta$ -glucanos son moléculas de alto peso molecular presentes de forma natural en la pared celular de diversos organismos vivos como bacterias, levaduras, hongos (setas) y plantas principalmente en cebada y avena.

El tipo específico de betaglucano viene determinado por el número de moléculas de glucosa que se ramifica en la estructura básica (Roberts, 2003).

Específicamente los betaglucanos son polisacáridos compuestos por glucosa como única unidad monomérica  $\beta$ -D-Glucosa que tienen unión glucosídica en  $\beta(1-3)$ ,  $\beta(1-4)$  y/o  $\beta(1-6)$ , ya sea de manera ramificada o no ramificada. Los polisacáridos llamados  $\beta$ -1,3-D-glucanos o  $\beta$ -1,4-D-glucanos están presentes en las paredes celulares de las plantas superiores y también en las semillas de algunos cereales como: cebada y avena. Mientras que los  $\beta$ -glucanos de levaduras y hongos están compuestos de cadenas de glucosa unidos por enlaces  $\beta(1-3)$  y cadenas laterales unidas por enlaces  $\beta(1-6)(1,9)$ , (Figura 3.). Los  $\beta$ -glucanos de levaduras y hongos a pesar de poseer enlaces y ramificaciones similares difieren en la longitud de sus cadenas, siendo más largas en levaduras (Cuadro 3) (Rop & Jurikova, 2009; Pizarro et al., 2014).

Cuadro 3. Estructuras de  $\beta$ -glucanos según su origen

Tipo de $\beta$ -glucano	Estructura	Descripción
Bacteria		Glucano lineal $\beta$ -1,3
Hongo		Glucano ramificaciones cortas $\beta$ -1,6 y $\beta$ -1,3
Levadura		Glucano ramificaciones largas $\beta$ -1,6 y $\beta$ -1,3
Cereal		Glucano lineal $\beta$ -1,3/1,4

Fuente: Volman et al. (2008)

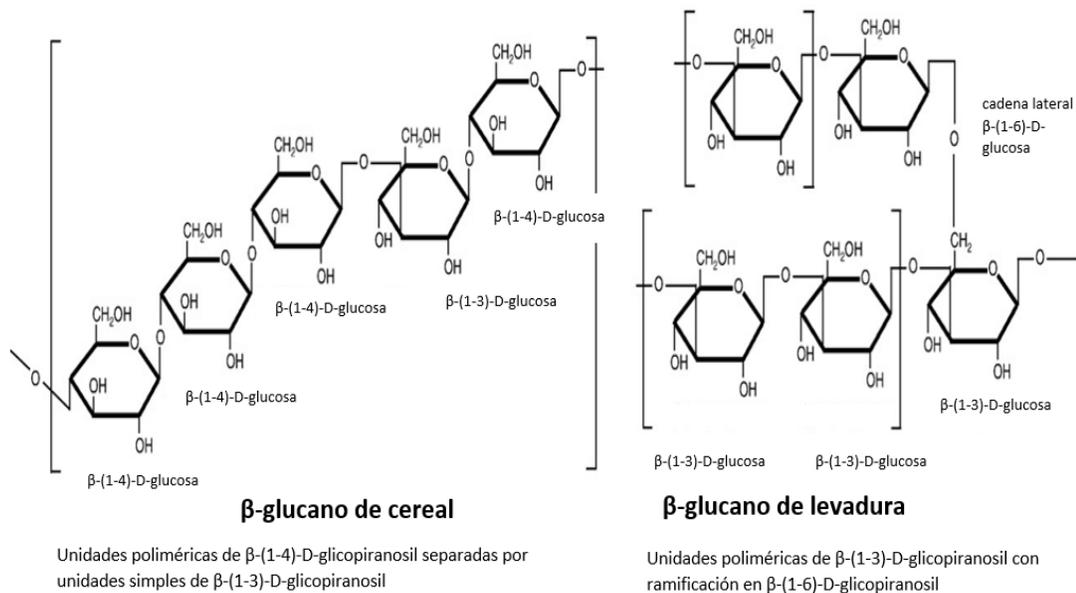


Figura 3. Estructura de β-gluconos según su origen

Fuente: Volman et al. (2008)

Los tipos de betagluconos que se han considerado de importancia para su investigación es el β-1,3/1,6-glucono, el cual ha sido extraído de hongos superiores (setas) y levaduras del pan. El betaglucono se ha utilizado para tratar

trastornos inflamatorios cutáneos, actúan en la estimulación de los macrófagos un tipo de leucocitos que destruyen microorganismos causantes de enfermedades además de células mutantes precursoras del cáncer (Roberts, 2003).

### 2.3 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

Los β-gluconos se encuentran ubicados en la pared celular de los hongos, para extraerlos es necesario romper esta estructura con métodos eficaces sin afectar la composición, puesto que, además de estar presentes los polisacáridos en la pared celular también se encuentran proteínas y lípidos. Existen varios métodos de extracción y técnicas de purificación de β-gluconos que presentan ventajas

y desventajas (Chang & Wasser, 2012, Gani & Ashwar, 2021). A continuación, se presentan algunos métodos de extracción reportados en la literatura.

### **Método enzimático**

En este proceso se utilizan enzimas que actúan sobre la pared celular para degradarla y obtener el polisacárido. Algunas enzimas como quitinasa y glucanasa se han empleado para la extracción de  $\beta$ -glucanos (Gong et al., 2020). Diversos estudios han evidenciado el uso de endoxilanasas, xiloacetilesterasa, esterasa y arabinofuranosidasa para la extracción de estos polisacáridos en hongos de diferentes especies (Ahmad et al., 2012; Kanauchi & Bamforth, 2001).

### **Métodos alcalino y ácidos**

La extracción ácida ha sido poco empleada en investigaciones y con fines industriales al registrarse bajos rendimientos de extracción. Mientras que la extracción alcalina es un método ampliamente utilizado. Este se basa en emplear soluciones que incrementen el pH de la solución, seguida de una centrifugación

exhaustiva para separar el sobrenadante del precipitado que contiene almidón y fibra insoluble (Vasanthan & Temelli, 2008). Para lograr la separación completa del polisacárido se requiere de una doble exposición de tiempo con la solución alcalina. En diversas ocasiones es necesario reducir el pH para poder retirar impurezas, lo que puede afectar la estructura propia de los  $\beta$ -glucanos (Gani & Ashwar, 2021).

### **Extracción asistida por ultrasonido**

Este método se basa en la oscilación de la muestra bajo ondas ultrasónicas, como resultado, las burbujas de cavitación provocan la disrupción celular acelerando la transferencia de masa (polisacáridos) (Roselló-Soto et al., 2016).

Por otro lado, se ha reportado que la tasa de extracción de los  $\beta$ -glucanos está relacionada con el grado de ultrasonido aplicado (Cheung & Wu, 2013). Debido a lo anterior, es necesario una fase previa para determinar la amplitud ultrasónica, temperatura de extracción y tiempo requerido; ya que estas variables fluctúan entre las especies de hongos superiores debido a las diferencias morfológicas de las células (Chen et al., 2010; Tian et al., 2012).

### **Extracción con agua caliente**

Debido a que los  $\beta$ -glucanos son compuestos polares, se pueden disolver en compuestos polares como el agua y precipitados en solventes orgánicos como alcohol, éter o cetona a una alta concentración. La extracción en agua caliente y la precipitación de estos compuestos con etanol o acetona, sigue siendo el método de extracción más empleado debido a su potencial para la obtención de  $\beta$ -glucanos, ya que es fácil de implementarlo, no necesita de equipos sofisticados, además de su bajo costo. La temperatura de extracción, tiempo, relación de peso de la muestra y volumen del disolvente son factores que deben considerarse para incrementar la eficiencia del método. La variación más práctica es el incremento de la temperatura de la solución, ya que favorece la lixiviación del polisacárido en agua. De igual forma el uso de etanol, elimina las impurezas lipídicas y algunas sustancias de bajo peso molecular, lo que incrementa su porcentaje de pureza (Lie et al., 2013; Gong et al., 2020; Gani & Ashwar, 2021).

## **2.4 ALIMENTOS FUNCIONALES**

En los años 80 surge el término de alimento funcional en Japón, en busca de conceptualizarlos como alimentos con fines de mejora a la salud y con la capacidad de reducir el riesgo de contraer enfermedades ya que varias enfermedades crónicas están relacionadas directamente con la nutrición y que pueden prevenirse con una adecuada dieta (Beltrán, 2016).

Desde el punto de vista práctico, significa, que los alimentos funcionales pueden ser naturales como los vegetales, o bien aquellos a los que se les añaden sustancias funcionales como bacterias probióticas (organismos vivos que benefician la salud intestinal), prebióticos (sustancias que ayudan al crecimiento de bacterias intestinales beneficiosas), o bien alimentos a quienes se les ha modificado la naturaleza o biodisponibilidad de algunos de sus componentes para reducir futuros efectos adversos como la leche descremada, o cualquiera de las combinaciones anteriores (Aguirre, 2019). Los beneficios de la ingesta de un alimento funcional se reflejan cuando el alimento se consume de manera habitual en conjunto con los alimentos adicionales de la dieta.

El cultivo de hongos comestibles representa el desarrollo de alimentos funcionales naturales, la intención de este cultivo se ha centrado en una gama de hongos que producen  $\beta$ -glucanos al ser de interés farmacéutico y nutracéutico (Cheung, 2008).

## **2.5 PROPIEDADES FUNCIONALES**

Las propiedades funcionales son definidas como aquellas propiedades fisicoquímicas que producen un efecto o modificación en las características propias de un alimento. El efecto sobre el alimento se puede detectar desde el proceso de elaboración y almacenamiento o bien en los atributos sensoriales del producto final (Damodaran, 2018).

### **Capacidad emulsificante (CE)**

El proceso en el que se prepara una emulsión se denomina emulsificación, una emulsión es una mezcla de líquidos inmiscibles donde la fase dispersa que comprende el líquido es dispersada en otra fase conocida como continua o fase dispersante. Los emulsificantes son compuestos capaces de formar películas en la interfase y mantener estable la emulsión.

Las proteínas solubles son los biopolímeros más utilizados para este fin, ya que por su naturaleza anfipática pueden ser transportadas a la interfase donde se adsorben y se reorientan, contribuyendo a un menor tamaño de partícula en la fase dispersa lo que dificulta la ruptura de la emulsión (Damodaran, 2018). Por su parte, los  $\beta$ -glucanos por sus características hidrofílicas no presentan la capacidad de desplegarse en la interfase de la emulsión y reorientarse. Sus propiedades de viscosidad debidas a pesos moleculares generalmente elevados (150 000 – 300 000 Dalton) confieren propiedades estabilizantes (Chiozzi et al., 2021). Veverka et al., (2018) comprobaron el poder de la CE por más de 12 meses en emulsiones con  $\beta$ -glucanos (1 y 2 %) extraídos a partir de *Pleurotus ostreatus*.

### **Estabilidad de la emulsión (EE)**

Los sistemas dispersos como las emulsiones presentan dos interfases termodinámicamente inestables, cuya integridad depende del tipo de compuesto que forma la fase dispersa y la fase continua, así como de sus proporciones. La principal causa de la desestabilización de las emulsiones es debida a la coalescencia o ruptura por hinchazón; el uso de agentes estabilizantes tiene como objetivo mantener el sistema disperso estable el mayor tiempo posible (Umañana et al., 2021). Estos agentes estabilizadores pueden clasificarse como lipófilos o hidrófilos según su preferencia por compuestos polares o no polares (Kosegarten-Conde & Jiménez-Munguía, 2012). Karp et al., (2019) incorporaron  $\beta$ -glucanos de *Avena sativa* y *Hordeum vulgare* en emulsiones de aceite/agua, y después de monitorear la EE durante 28 días, las emulsiones más estables fueron aquellas donde se colocó el extracto de  $\beta$ -glucano con mayor viscosidad, concluyendo que una mayor viscosidad en la fase acuosa dificulta la floculación de las gotas de aceite. Mejía et al., (2018) al añadir  $\beta$ -glucanos en emulsiones para productos cárnicos, obtuvieron mayores valores de dureza, cohesividad y elasticidad al incrementar las concentraciones de  $\beta$ -glucano.

## **Poder de hinchamiento (PH)**

El PH es una medida del aumento en masa del polisacárido no solubilizado, como consecuencia de la absorción de agua por grupos hidroxilo del polímero (Meaño et al., 2014). El índice de absorción de agua es determinado por diferencia de peso después de la centrifugación de la muestra (Tiwari & Mckenna, 2020). Los  $\beta$ -glucanos pueden proveer algunas propiedades funcionales como la capacidad de retención de agua, la cual es responsable de la jugosidad y suavidad de diversos productos alimenticios (Zhu & Xu, 2016). Khan et al., (2017) extrajeron  $\beta$ -glucanos de *Agaricus*, *Pleurotus* y *Coprinus* con la finalidad de evaluar sus propiedades funcionales; *Coprinus* presentó una mejor respuesta al PH (4.59 g g<sup>-1</sup>) respecto a *Agaricus* (3.45 g g<sup>-1</sup>) y *Pleurotus* (3.74 g g<sup>-1</sup>), los resultados fueron atribuidos al mayor grado de pureza de  $\beta$ -glucanos en *Coprinus*. Por su parte De Moura et al., (2011) evaluaron el PH en  $\beta$ -glucanos de avena nativa, los cuales sufrieron una despolimerización tras un tratamiento oxidativo, el tratamiento con mayor degradación de  $\beta$ -glucanos mostró el menor PH indicando que una ruptura de enlaces glucosídicos disminuyó la capacidad de retención de agua.

## **Capacidad de unión de la grasa (CUG)**

La capacidad de unión de la grasa (CUG) se expresa como la cantidad máxima de aceite que puede ser absorbida por gramo de material seco. Bacha et al., (2017) al extraer  $\beta$ -glucanos de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) a 90 °C, pH 7 y tratamiento alcalino (NaOH 1 M), reportaron una CUG de 1.6 g g<sup>-1</sup>. Por otro lado, Bae et al., (2009) evaluaron la CUG en  $\beta$ -glucanos hidrolizados de avena, evidenciando que conforme disminuye el peso molecular del hidrolizado la CUG disminuía, concluyendo que probablemente existe un intervalo de peso molecular óptimo donde el  $\beta$ -glucano demuestra mayor CUG.

## 2.6 PROPIEDADES TÉRMICAS

La Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC, por sus siglas en inglés) es una técnica experimental de alta precisión utilizada para caracterizar sistemas moleculares, cuyas estructuras son estabilizadas por fuerzas débiles, susceptibles de experimentar cambios o transiciones conformacionales y/o cambios de fase al aumentar la temperatura (Swanson-Vethamuth et al., 1998). La implementación de este análisis permite analizar la capacidad calorífica aparente de una solución macromolecular como una función continua de la temperatura (termograma), a partir de la cual se pueden determinar parámetros asociados con la transición inducida por la temperatura como los cambios de entalpía ( $\Delta H$ ) y entropía ( $\Delta S$ ). El equipo DSC funciona con dos celdas gemelas; la primera actúa como referencia (disolvente de la muestra a estudiar) y la segunda contiene a la muestra en dispersión, ambas colocadas dentro de un sistema adiabático. Posteriormente la celda con la muestra es sometida a un barrido de temperatura, registrándose en un termograma la aparición de un efecto térmicamente inducido (Fernández, 2007).

En un termograma característico de DSC se pueden observar dos transiciones en forma de pico. La primera correspondiente a procesos endotérmicos (absorción de calor) relacionada con la fusión, disociación, descomposición y/o deshidratación. La segunda correspondiente a procesos exotérmicos (desprendimiento de calor) relacionada con reacciones como oxidación del aire, polimerización y reacciones catalíticas o debidas a cambios de fase (Alonso et al., 2009).

Los valores de temperatura máxima ( $T_m$ ) de los picos endotérmicos de los geles de  $\beta$ -glucanos pueden fluctuar en el rango de 65 a 72 °C, dependiendo del peso molecular y de la cantidad de muestra. Estas dos últimas variables pueden afectar también entalpía de fusión aparente ( $\Delta H$ ) conocida como la energía requerida para la existencia de una transición. Mientras que los puntos de

descomposición de los  $\beta$ -glucanos se han reportado entre 267 y 300 °C (Lazaridou & Biliaderis, 2004; Novák et al., 2012).

Los puntos de fusión de los  $\beta$ -glucanos son variables de acuerdo con el peso molecular, la concentración de la muestra y el origen. Bacha et al. (2017) evaluaron puntos de fusión en glucanos de *Saccharomyces cerevisiae*, los cuales obtuvieron a partir de implementar la extracción en agua caliente (90 °C) y una purificación con hidróxido de sodio (1 M), los puntos de fusión que reportaron se encontraron de 125 y 122 °C. Razzaq et al. (2016) realizaron la prueba DSC sobre dispersiones de  $\beta$ -glucanos de *Avena sativa* extraídos por un tratamiento alcalino, los puntos de fusión en los termogramas se registraron a temperaturas de 171 °C.

## 2.7 LITERATURA CITADA

- Ahmad, A., Anjum, F. M., Zahoor, T., Nawaz, H., & Dilshad, S. M. R. (2012). Beta glucan: a valuable functional ingredient in foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52(3), 201-212. doi: 10.1080/10408398.2010.499806
- Aguirre, P. (2019). Alimentos funcionales entre las nuevas y viejas corporalidades. *AIBR: Revista de Antropología Iberoamericana*, 14(1), 95-120. doi: 10.11156/aibr.140106
- Alegret, P. L., Riera, J. B., & Salcedo, R. C. (2004). *Química y Bioquímica de los alimentos*, Barcelona: Edicions Universitat.
- Alonso, I. S., Ruiz, S. G., Quintanilla, D. P., & Zarcero, S. M. (2009). *Análisis instrumental*, España: Reverté
- Armas-Tizapantzi, A., Mata, G., Hernández-Cuevas, L. V., & Montiel-González, A. M. (2019). Estructuras tipo toxocistos en *Pleurotus ostreatus* y *P. pulmonarius*. *Scientia Fungorum*, 49, 1250. doi: 10.33885/sf.2019.49.1250
- Bacha, U., Nasir, M., Iqbal, S., & Anjum, A. A. (2017). Nutraceutical, anti-inflammatory, and immune modulatory effects of  $\beta$ -glucan isolated from yeast. *BioMed research international*, 2017. doi: 10.1155/2017/8972678
- Bae, I. Y., Lee, S., Kim, S. M., & Lee, H. G. (2009). Effect of partially hydrolyzed oat  $\beta$ -glucan on the weight gain and lipid profile of mice. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 2016-2021. doi: 10.1016/j.foodhyd.2009.03.016
- Biliaderis, C. G., & Izydorczyk, (2006). *Functional food carbohydrates*. United States of America: CRC Press.
- Boa, E., (2005). *Los hongos silvestres comestibles. perspectiva global de su uso e importancia para la población*. Roma: FAO.
- Cano-Estrada, A., & Romero-Bautista, L. (2016). Valor económico, nutricional y medicinal de hongos comestibles silvestres. *Revista chilena de nutrición*. 43(1), 75-80. doi: 10.4067/S0717-75182016000100011
- Cepero de García, M. C. (2012). *Biología de hongos*, Colombia: Uniandes-Universidad de los Andes.
- Chamorro, R. A. M., & Mamani, E. C. (2010). Importancia de la fibra dietética, sus propiedades funcionales en la alimentación humana y en la industria alimentaria, Perú: *Revista de investigación en ciencia y tecnología de alimentos*.
- Chang, S. T. (2008). *Overview of mushroom cultivation and utilization as functional foods*, United States of America: *Mushrooms as functional foods*.
- Chang, S. T., Chang, S. T., & Quimio, T. H. (Eds.). (1982). *Tropical mushrooms: biological nature and cultivation methods*. Chinese University Press.
- Chen, X., Wang, W., Li, S., Xue, J., Fan, L., Sheng, Z., & Chen, Y. (2010). Optimization of ultrasound-assisted extraction of Lingzhi polysaccharides

- using response surface methodology and its inhibitory effect on cervical cancer cells. *Carbohydrate Polymers*, 80(3), 944-948. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.01.010
- Cheung, Y. C., Siu, K. C., & Wu, J. Y. (2013). Kinetic models for ultrasound-assisted extraction of water-soluble components and polysaccharides from medicinal fungi. *Food and Bioprocess Technology*, 6(10), 2659-2665. doi: 10.1007/s11947-012-0929-z
- Cheung, P. C. (Ed.). (2008). *Mushrooms as functional foods*, United States of America: John Wiley & Sons.
- Chiozzi, V., Eliopoulos, C., Markou, G., Arapoglou, D., Agriopoulou, S., Enshasy, H. A. E., & Varzakas, T. (2021). Biotechnological addition of  $\beta$ -Glucans from cereals, mushrooms and yeasts in foods and animal feed. processes, 9(11), 1889. doi: 10.3390/pr9111889
- Contreras Ramos, A. (2007). *La sistemática, base del conocimiento de la biodiversidad*, México: UAEH
- Deepalakshmi, K., & Sankaran, M. (2014). *Pleurotus ostreatus*: an oyster mushroom with nutritional and medicinal properties. *Journal of Biochemical Technology*, 5(2), 718-726. doi: 10.21608/nrmj.2020.84017
- De Moura, F. A., Pereira, J. M., Da Silva, D. O., da Rosa Zavareze, E., da Silveira Moreira, A., Helbig, E., & Dias, A. R. G. (2011). Effects of oxidative treatment on the physicochemical, rheological and functional properties of oat  $\beta$ -glucan. *Food Chemistry*, 128(4), 982-987. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.04.003.
- Des Abbayes, H. (1989). *Botánica. Vegetales inferiores*, España: Reverté.
- Fernández, J. D. S. (2007). *Estabilidad coloidal de nanoestructuras liposómicas*, España: Universidad Santiago de Compostela.
- Fernández, J. J. L. (2001). *Bosques naturales de Asturias*, España: Universidad de Oviedo.
- Gaitán-Hernández, R., Salmones, D., Pérez-Merlo, R., & Mata, G. (2006). *Manual práctico del cultivo de setas: aislamiento, siembra y producción*, México: Instituto de Ecología, AC, Xalapa, Méx.
- Gani, A., & Ashwar, B. A. (Eds.). (2021). *Food biopolymers: Structural, functional and nutraceutical properties*. Springer International Publishing.
- García Rollán, M. (2007). *Cultivo de setas y trufas*, España: Mundi-Prensa Libros.
- Gomes-Corrêa RC, Brugnari T, Bracht A, Peralta RM, Ferreira ICFR (2016) Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus spp.* (Oyster mushroom) related with its chemical composition: a review on the past decade findings. *Trends in Food Science & Technology*. 50:103-117. doi: 10.1016/j.tifs.2016.01.012
- Gong, P., Wang, S., Liu, M., Chen, F., Yang, W., Chang, X., & Chen, X. (2020). Extraction methods, chemical characterizations and biological activities of

- mushroom polysaccharides: A mini review. *Carbohydrate Research*, 494, 108037. doi: 10.1016/j.carres.2020.108037
- Hossain, M. S., Alam, N., Amin, S. R., Basunia, M. A., & Rahman, A. (2007). Essential fatty acid contents of *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum* and *Agaricus bisporus*, Bangladesh: *J Mushroom*, 1, 1-7. Recuperado de <https://www.researchgate.net/profile/Shahdat>.
- Holtz, R. B. (1971). Qualitative and quantitative analyses of free neutral carbohydrates in mushroom tissues by gas-liquid chromatography and mass spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 19(6), 1272-1273. doi: 10.1021/jf60178a052
- Izydorczyk, M. S., Storsley, J., Labossiere, D., MacGregor, A. W., & Rosnagel, B. G. (2000). Variation in total and soluble  $\beta$ -glucan content in hullless barley: effects of thermal, physical, and enzymic treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(4), 982-989. doi: 10.1021/jf991102f
- Jaramillo Mejía, S., & Albertó, E. (2019). Incremento de la productividad de *Pleurotus ostreatus* mediante el uso de inóculo como suplemento. *Scientia fungorum*, 49. doi: 10.33885/sf.2019.49.1243
- Kanauchi, M., & Bamforth, C. W. (2001). Release of  $\beta$ -glucan from cell walls of starchy endosperm of barley. *Cereal chemistry*, 78(2), 121-124. doi: 10.1094/CCHEM.2001.78.2.121
- Karp, S., Wyrwicz, J., & Kurek, M. A. (2019). Comparative analysis of the physical properties of o/w emulsions stabilised by cereal  $\beta$ -glucan and other stabilisers. *International journal of biological macromolecules*, 132, 236-243. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.212
- Kashangura, C. (2008). Optimisation of the growth conditions and genetic characterisation of *Pleurotus* species. A Doctor of Philosophy Dissertation. Department of Biological Sciences. University of Zimbabwe.
- Kaufert F. (1936) The biology of *Pleurotus corticatus* Fries, *Mycología*, Minnesota: Agricultural Experiment Station Bulletin 114, 35.
- Khan MA. (2010) Nutritional composition and Hypocholesterolemic effect of mushroom: *Pleurotus sajor-caju* and *Pleurotus florida*: LAP Lambert Academic publishing GmbH & co-KG: Saarbrücken Germany, 1-11.
- Kosegarten-Conde, C. E., & Jiménez-Munguía, M. T. (2012). Factores principales que intervienen en la estabilidad de una emulsión doble. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 6(2), 1-18. doi: 10.18633/biotecnia. v23i3.1409
- Lazaridou, A., & Biliaderis, C. G. (2004). Cryogelation of cereal  $\beta$ -glucans: structure and molecular size effects. *Food Hydrocolloids*, 18(6), 933-947. doi: 10.1016/j.foodhyd.2004.03.003
- Lelley, J., & Vetter, J. (2005). The possible role of mushrooms in maintaining good health and preventing diseases. In *Proceedings of the Fifth International*

- Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products. Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai, China, 412-419.
- Lindequist, U., Niedermeyer, T. H., & Jülich, W. D. (2005). The pharmacological potential of mushrooms. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2(3), 285-299. doi: 10.1093/ecam/neh107
- Manzi, P., Aguzzi, A., & Pizzoferrato, L. (2001). Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chemistry*, 73(3), 321-325. doi: 10.1016/S0308-8146(00)00304-6
- María Rosario Beltrán, de Heredia. *Alimentos funcionales*. Elsevier, 30 (1), 5-15. Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-alimentos-funcionales-X0213932416546681>.
- Meaño Correa, N., Ciarfella Pérez, A. T., & Dorta Villegas, A. M. (2014). Evaluación de las propiedades químicas y funcionales del almidón nativo de ñame congo (*Dioscorea bulbifera* L.) para predecir sus posibles usos tecnológicos. *Saber*, 26(2), 182-188.
- Mejia, S. M. V., de Francisco, A., Barreto, P. L. M., Damian, C., Zibetti, A. W., Mahecha, H. S., & Bohrer, B. M. (2018). Incorporation of  $\beta$ -glucans in meat emulsions through an optimal mixture modeling systems. *Meat science*, 143, 210-218. doi: 10.1016/j.meatsci.2018.05.007
- Novák, M., Synytsya, A., Gedeon, O., Slepíčka, P., Procházka, V., Synytsya, A., & Čopíková, J. (2012). Yeast  $\beta$  (1-3), (1-6)-d-glucan films: Preparation and characterization of some structural and physical properties. *Carbohydrate Polymers*, 87(4), 2496-2504. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.11.031
- Patil SS, Ahmed SA, Telang SM, Biag MMV (2010) The nutritional value of *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm cultivated on different lignocellulosic agrowastes. *Innovative, Romanian: Food Biotechn.*
- Panesar, P. S., & Marwaha, S. S. (2013). *Biotechnology in agriculture and food processing, Opportunities and challenges*. Boca Raton, United States of America: CRC Press.
- Parola, S., Chiodaroli, L., Orlandi, V., Vannin, C., & Panno, L. (2017). *Lentinula edodes* and *Pleurotus ostreatus*: functional food with antioxidant-antimicrobial activity and an important source of Vitamin D and medicinal compounds. *Functional Foods in Health and Disease*, 7(10), 773-794. doi: 10.31989/ffhd.v7i10.374
- Pérez-Martínez A.S., Acevedo-Padilla, S.A., Bibbins-Martínez, M., Galván-Alonso, J., & Rosales-Mendoza, S. (2015). A perspective on the use of *Pleurotus* for the development of convenient fungi-made oral subunit vaccines. *Vaccine*, 33(1), 25-33 doi: 10.1016/j.vaccine.2014.10.059
- Pizarro, S., Ronco, A. M., & Gotteland, M. (2014).  $\beta$ -glucanos: ¿Qué tipos existen y cuáles son sus beneficios en la salud? *Revista chilena de nutrición*, 41(4), 4339-446. doi: 10.4067/S0717-75182014000400014

- Quimio, T. H., Chang, S. T. & Royse, D. J. (1990) Technical guidelines for mushroom growing in the tropics, Rome: FAO Plant production and Protection Paper, 106-155.
- Radzki, W., Ziaja-Sołtys, M., Nowak, J., Rzymowska, J., Topolska, J., Sławińska, A., ... & Kuczumow, A. (2016). Effect of processing on the content and biological activity of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* mushroom. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 27-33. doi: 10.1016/j.lwt.2015.10.016
- Rajarathnam, S., Shashirekha, M. N. J., & Bano, Z. (1998). Biodegradative and biosynthetic capacities of mushrooms: present and future strategies. *Critical Reviews in Biotechnology*, 18(2-3), 91-236. doi: 10.1080/0738-859891224220
- Razzaq, A., Shamsi, S., Ali, A., Ali, Q., Sajjad, M., Malik, A., & Ashraf, M. (2019). Microbial proteases applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 110. doi.org/10.3389/fbioe.2019.00110
- Razzaq, H. A., Pezzuto, M., Santagata, G., Silvestre, C., Cimmino, S., Larsen, N., & Duraccio, D. (2016). Barley  $\beta$ -glucan-protein based bioplastic film with enhanced physicochemical properties for packaging. *Food Hydrocolloids*, 58, 276-283. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.03.003
- Roberts, A. O'Brien M, Subak G. (2003). *Nutraceuticos*, Barcelona, España: Ediciones Robinbook 206.
- Rodríguez Macías, R. (1996). Caracterización de cepas del hongo comestible *Pleurotus* spp. en medios de cultivo y su evaluación en substratos lignocelulósicos forrajeros para la producción de carpóforos (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Rop, O., Mlcek, J., & Jurikova, T. (2009). Beta-glucans in higher fungi and their health effects. *Nutrition reviews*, 67(11), 624-631. doi: 10.1111/j.1753-4887.2009.00230. x
- Roselló-Soto, E., Parniakov, O., Deng, Q., Patras, A., Koubaa, M., Grimi, N., Boussetta, N., Tiwari, B.K., Vorobiev, E., & Lebovka, N. (2016). Application of non-conventional extraction methods: Toward a sustainable and green production of valuable compounds from mushrooms. *Food Engineering Reviews*, 8(2), 214-234. doi: 10.1007/s12393-015-9131-1
- Royse DJ, & Sánchez JE. (2017). Producción mundial de setas *Pleurotus* spp. con énfasis en países iberoamericanos. La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas *Pleurotus* spp, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas, México: El Colegio de la Frontera Sur, p. 17–25.
- Salmones, D., & Mata, G. (2013). Ceparios de hongos de México. In: Sánchez Vázquez, J.E., Mara, G. (Eds.), *Hongos comestibles y medicinales en Iberoamérica: investigación y desarrollo en un entorno multicultural*. El

colegio de la Frontera Sur- Instituto de Ecología, A.C., Tapachula, Chiapas, 69-77.

- Sánchez, J. E., & Royse, D. J. (2017). La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas *Pleurotus spp*, Recuperado de <https://bibliotecasibe.ecosur.mx/sibe/book/000042177>
- Sridhar, K. R., & Deshmukh, S. K. (Eds.). (2021). *Advances in Macrofungi: Industrial Avenues and Prospects*. Florida, USA: CRC Press.
- Stanier, R. Y., & Villanueva, J. R. (1996). *Microbiología*,g España: Reverté.
- Swanson-Vethamuthu, M., Feitosa, E., & Brown, W. (1998). Salt-induced sphere-to-disk transition of octadecyltrimethylammonium bromide micelles. *Langmuir*, 14(7), 1590-1596. doi: 10.1021/la9608167
- Synytsya, A., Mickova, K., Jablonsky, I., SIUKoVá, M., & Copikova, J. (2008). Mushrooms of genus *Pleurotus* as a source of dietary fibres and glucans for food supplements. *Czech Journal of Food Sciences*, 26(6), 441-446. doi: 10.17221/1361-CJFS
- Synytsya, A., Mičková, K., Synytsya, A., Jablonský, I., Spěváček, J., Erban, V., & Čopíková, J. (2009). Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. *Carbohydrate Polymers*, 76(4), 548-556. doi: 10.1016/j.carbpol.2008.11.021
- Tian, Y., Zeng, H., Xu, Z., Zheng, B., Lin, Y., Gan, C., & Lo, Y. M. (2012). Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant activity of polysaccharides recovered from white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Carbohydrate Polymers*, 88(2), 522-529. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.12.042
- Tiwari, B. K., Gowen, A., & McKenna, B. (Eds.). (2020). *Pulse foods: processing, quality and nutraceutical applications*. Recuperado de <https://books.google.com.mx/>
- Urbanelli, S., Della Rosa, V., Punelli, F., Porretta, D., Reverberi, M., Fabbri, A. A., & Fanelli, C. (2007). DNA-fingerprinting (AFLP and RFLP) for genotypic identification in species of the *Pleurotus eryngii* complex. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(3), 592-600. doi: 10.1007/s00253-006-0684-z
- Vasanthan, T., & Temelli, F. (2008). Grain fractionation technologies for cereal beta-glucan concentration. *Food Research International*, 41(9), 876-881. doi: 10.1016/j.foodres.2008.07.022
- Vetter J (2010) A gombák táplálkozási értéke. In: Györfi J (ed) *Gombabiológia, Gombatermesztés*. Mezőgazda Budapest. 48-63.
- Veverka, M., Dubaj, T., Veverková, E., & Šimon, P. (2018). Natural oil emulsions stabilized by  $\beta$ -glucan gel. *Colloids and Surfaces a: Physicochemical and Engineering Aspects*, 537, 390-398. doi: 10.1016/j.colsurfa.2017.10.043

- Volman, J. J., Ramakers, J. D., & Plat, J. (2008). Dietary modulation of immune function by  $\beta$ -glucans. *Physiology & Behavior*, 94(2), 276-284. doi: 10.1016/j.physbeh.2007.11.045
- Wang, H., & Ng, T. B. (2004). Eryngin, a novel antifungal peptide from fruiting bodies of the edible mushroom *Pleurotus eryngii*. *Peptides*, 25(1), 1-5. doi: 10.1016/j.peptides.2003.11.014
- Zhou, S., Ma, F., Zhang, X., & Zhang, J. (2016). Carbohydrate changes during growth and fruiting in *Pleurotus ostreatus*. *Fungal biology*, 120(6-7), 852-861. doi: 10.1016/j.funbio.2016.03.007

### 3 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DE $\beta$ -GLUCANOS EXTRAÍDOS A PARTIR DE *Pleurotus ostreatus*

#### 3.1 RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue caracterizar las propiedades funcionales, antioxidantes, microestructurales, reológicas y térmicas de  $\beta$ -glucanos obtenidos a partir de *P. ostreatus* PoB en agua caliente a tres temperaturas de extracción; 50 (G<sub>50</sub>), 70 (G<sub>70</sub>) y 91 (G<sub>91</sub>) °C. El porcentaje de pureza de  $\beta$ -glucanos aumentó significativamente conforme aumentó la temperatura de extracción en G<sub>50</sub>, G<sub>70</sub> y G<sub>91</sub> (71.9  $\pm$  0.2, 76.1  $\pm$  0.4 y 82.5  $\pm$  0.5 % respectivamente), presentando en su composición proteína y lípidos de acuerdo con el análisis químico proximal y de Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR). El grado de purificación incrementó el poder de hinchamiento (PH) de 1.2  $\pm$  0.1 g  $\cdot$  g<sup>-1</sup> (G<sub>50</sub>) a 2.5  $\pm$  0.1 g  $\cdot$  g<sup>-1</sup> (G<sub>91</sub>), mientras que la capacidad de unión de la grasa (CUG), capacidad emulsificante (CE) y la estabilidad de la emulsión (EE) se vieron influenciadas por el contenido de proteína soluble y la baja concentración de lípidos. La capacidad inhibidora de radicales libres disminuyó al incrementarse la temperatura de extracción, esto es G<sub>50</sub> presentó el mayor porcentaje de inhibición (96.1  $\pm$  2.9 %), mientras que G<sub>91</sub> presentó el menor valor (50.2  $\pm$  0.7 %). Las micrografías ópticas mostraron un mayor grado de agregación de la red en G<sub>50</sub>, el cual disminuyó en G<sub>70</sub> y G<sub>91</sub>, presentando un grado de interconexión cada vez menor. Las características estructurales se relacionaron con los valores de viscosidad (G<sub>50</sub> > G<sub>70</sub> > G<sub>91</sub>). El comportamiento de flujo de geles de  $\beta$ -glucanos fue descrito por el modelo de Herschel-Bulkley, donde se evidenció un comportamiento reoadelgazante en todos los casos, y un mayor esfuerzo de fluencia en G<sub>50</sub>. Con respecto al grado de organización conformacional, la mayor estabilidad térmica se detectó en G<sub>50</sub> con una temperatura de fusión de 160  $\pm$  4 °C, mientras que para G<sub>91</sub> fue de 133  $\pm$  1 °C. La temperatura de extracción afectó significativamente las propiedades de los  $\beta$ -glucanos de *P. ostreatus* PoB.

**Palabras clave:**  $\beta$ -glucanos, pureza, esfuerzo de fluencia.

---

Tesis, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Lizbeth León Avendaño

Director de tesis: Landy Hernández Rodríguez

# PHYSICOCHEMICAL AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF $\beta$ -GLUCANS EXTRACTED FROM *Pleurotus ostreatus*

## 3.2 ABSTRACT

The objective of the present study was to characterize the functional, antioxidant, microstructural, rheological and thermal properties from  $\beta$ -glucans obtained from *P. ostreatus* PoB in hot water at three extraction temperatures; 50 ( $G_{50}$ ), 70 ( $G_{70}$ ) and 91 ( $G_{91}$ ) °C. The percentage purity of  $\beta$ -glucans increased significantly as the extraction temperature rose in  $G_{50}$ ,  $G_{70}$  and  $G_{91}$  ( $71.9 \pm 0.2$ ,  $76.1 \pm 0.4$  and  $82.5 \pm 0.5$  % respectively), presenting protein and lipids in their composition according to proximate chemical and Fourier Transform Infrared Spectrometry analysis (FTIR). The degree of purification increased the swelling power (PH) from  $1.2 \pm 0.1 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$  ( $G_{50}$ ) to  $2.5 \pm 0.1 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$  ( $G_{91}$ ), while the fat binding capacity (CUG), the emulsifying capacity (EC) and the emulsion stability (EE) were influenced by soluble protein content and lipid low concentration. The free radical inhibitory capacity decreased with increasing extraction temperature, this is  $G_{50}$  presented the highest percentage of inhibition ( $96.1 \pm 2.9$  %), while  $G_{91}$  presented the lowest value ( $50.2 \pm 0.7$  %). Optical micrographs showed a higher degree of network aggregation in  $G_{50}$ , which decreased in  $G_{70}$  and  $G_{91}$  presenting a decreasing degree of interconnection. Structural characteristics were related to viscosity values ( $G_{50} > G_{70} > G_{91}$ ). The flow behavior of glucan gels was described by Herschel-Bulkley model, where a rheopectic behavior was evidenced in all cases, and a higher yield stress in  $G_{50}$ . Regarding the degree of conformational organization, the highest thermal stability was detected in  $G_{50}$  with a melting temperature of  $160 \pm 4$  °C, while for  $G_{91}$  it was  $133 \pm 1$  °C. The extraction temperature significantly affected the properties of  $\beta$ -glucans from *P. ostreatus* PoB.

**Keywords:**  $\beta$ -glucans, purity, yield stress.

---

Thesis, Universidad Autónoma Chapingo.  
Author: Lizbeth León Avendaño  
Advisor: Landy Hernández Rodríguez

### 3.3 INTRODUCCIÓN

La composición nutricional es un aspecto destacable de *P. ostreatus*, es considerado como un hongo silvestre adaptable a condiciones de temperatura entre 18 a 28 °C, crecimiento en desechos orgánicos o medios de cultivo que contienen lignina y con ciclos total del cultivo de 2 a 4 meses (Urbanelli et al., 2007; Bautista, 1997).

Los polímeros más sobresalientes en su composición son los  $\beta$ -glucanos, agentes bioactivos empleados en la industria alimentaria debido a su estructura de cadena larga compuesta de glucosas. Estructura que le confiere capacidades emulsificantes, estabilizantes, hidrodinámicas y de capacidad de unión de la grasa. Algunos ejemplos de sistemas alimenticios en los que se han incorporado se encuentran los lácteos, cereales y cárnicos (Mohebbi et al., 2019; Kaur & Riar, 2020; Jaworska, 2020).

Las propiedades funcionales de los  $\beta$ -glucanos dependen en gran medida de su origen, peso molecular, composición y grado de ramificación de la cadena (Izydorczyk et al., 2005). La severidad de algunos métodos de extracción, contribuyen a la pérdida de su estructura y por consecuencia de sus propiedades funcionales (Sourki et al., 2017). Algunos métodos de extracción son el método de agua caliente, enzimático, alta presión, alcalino y ácido (Gong et al., 2020). El método de agua caliente es el más utilizado por la baja demanda de tecnología avanzada, implementación práctica y bajos costos de implementación.

Los  $\beta$ -glucanos extraídos a partir de *Pleurotus ostreatus* POB no han sido reportados en la literatura por lo que evaluar extracción y estudio de las propiedades funcionales de  $\beta$ -glucanos resulta de gran interés para considerarlos como ingredientes funcionales.

Con base en lo expuesto anteriormente, los objetivos de este proyecto fueron: a) reproducir *P. ostreatus* PoB en sustrato de rastrojo de maíz enriquecido con paja de avena, b) extraer  $\beta$ -glucanos a partir del cultivo de *P. ostreatus* PoB, c) realizar la caracterización fisicoquímica de los  $\beta$ -glucanos extraídos de *P. ostreatus* PoB, d) evaluar las propiedades funcionales de los aislados de  $\beta$ -glucanos a través de la capacidad de hinchamiento, capacidad de unión de la grasa (CUG), actividad emulsionante (AE) y estabilidad de la emulsión (EE), e) determinar las propiedades antioxidantes, térmicas, reológicas y microestructurales de  $\beta$ -glucanos aislados.

### 3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

En la Figura 4 se muestra la estrategia experimental utilizada para la realización del presente trabajo.

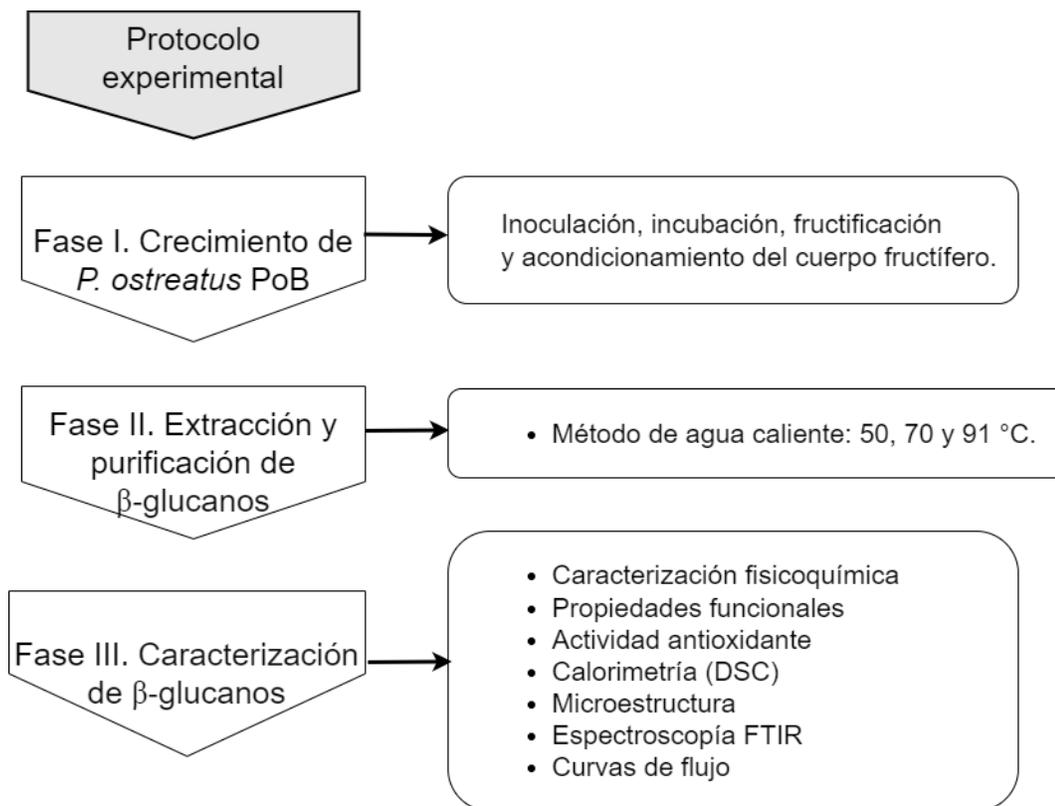


Figura 4. Diagrama esquemático de la estrategia experimental.

### 3.4.1 Ubicación del trabajo

La producción de los cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* PoB se llevó a cabo en el Laboratorio de Hongos Comestibles. La obtención de  $\beta$ -glucanos, así como la caracterización de estos se efectuó en el Laboratorio de Tecnología de Alimentos, ambos laboratorios pertenecientes al Departamento de Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

### 3.4.2 Materiales

El micelio de *Pleurotus ostreatus* PoB, fue obtenido del cepario del Laboratorio de Hongos Comestibles del Departamento de Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo. Los reactivos utilizados fueron grado analítico: etanol al 95 % (v/v), hidróxido de sodio (NaOH), hidróxido de calcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), fueron adquiridos en Química Laitz S.A. de C.V. (Ciudad de México, México). Reactivo de Folin-Ciocalteu (FRC), radical libre 1,1-Difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), KIT de Glucosa Exoquinasa (HK) (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemania), metanol, radical del ácido 2,2 azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS), persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ), ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), ácido trifluoroacético ( $\text{C}_2\text{HF}_3\text{O}_2$ ), ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ), ácido clorhídrico (HCl), carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), tartrato de sodio y potasio tetrahidratado ( $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), sulfato de cobre pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), rojo de metilo ( $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$ ), azul de metileno ( $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S}$ ), dodecil sulfato de sodio (SDS), tabletas catalizadoras (Kjeldahl), y albúmina de suero bovino (ASB), fueron adquiridos en Sigma-Aldrich Química, S.A. de C.V. (Ciudad de México, México). Se utilizó agua destilada en todos los experimentos.

### 3.4.3 Cultivo de *P. ostreatus* PoB

El sustrato para el desarrollo de *P. ostreatus* PoB consistió en una mezcla de materiales lignocelulósicos a base de rastrojo de maíz y paja de avena con una

relación másica de 10:1 respectivamente. El material lignocelulósico fue fraccionado en fragmentos de  $8 \pm 2$  cm, posteriormente fue humedecido y para realizar el ajuste del valor de pH a  $8.5 \pm 0.2$  se adicionó  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  0.1 M. Finalmente, con fines de esterilización el sustrato fue sometido a un proceso térmico durante 3 h a  $78 \pm 2$  °C.

Se inoculó micelio de *P. ostreatus* PoB en el sustrato de rastrojo de maíz y paja de avena a una relación de 300 g de micelio por cada 12 kg de sustrato. El periodo de incubación fue de 14 días a  $22 \pm 1$  °C en condiciones de oscuridad. La etapa de fructificación inició 25 días después de la inoculación a  $20 \pm 2$  °C, humedades relativas entre 70 y 80 % y fotoperiodo natural (14 h luz, 10 h oscuridad). La cosecha se llevó a cabo los días 27 y 41.

#### **3.4.4 Acondicionamiento del material fúngico**

Los cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* PoB fueron fragmentados en trozos de 5 cm y secados a  $45 \pm 1$  °C durante 22 h en un horno de aire caliente (HCF-62, Riossa Digital, Ciudad de México, México), hasta obtener una humedad de  $8 \pm 0.3$  %. Los fragmentos de los cuerpos fructíferos secos fueron triturados en una mezcladora (Osterizer, 465-42, EUA) operada a 7000 rpm, posteriormente se sometieron a un tamizado en malla de 355  $\mu\text{m}$ . La harina fue envasada en bolsas de polietileno por lotes de 50 g y almacenada a -20 °C hasta su análisis (Xue et al., 2019; Chirapongsatunkul et al., 2019).

#### **3.4.5 Extracción de polisacáridos crudos**

Para la extracción de polisacáridos crudos se establecieron 3 tratamientos empleando tres valores de temperatura del agua de extracción: 50, 70 y 91 °C. Se colocaron 30 g de harina de *P. ostreatus* PoB en 900 mL de agua destilada a la temperatura antes descrita. La mezcla se sometió a la temperatura de extracción correspondiente y se mantuvo en agitación constante durante 1.5 h.

Los polisacáridos fueron recuperados al precipitarlos con etanol al 95 % (v/v) en una relación 1:1 v/v. Con la finalidad de lograr una mayor recuperación de  $\beta$ -glucanos, la mezcla se almacenó a 4 °C durante 15 h, posteriormente, se centrifugó a 8 000 rpm durante 20 min en una centrífuga refrigerada 5810R (Eppendorf, AG, Hamburgo, Alemania) a 10 °C (Morales et al., 2019; Castro-Alves & Do Nascimento, 2016; Morales et al., 2020). El precipitado que contenía los polisacáridos crudos fue secado a 40 °C durante 2 h (Chirapongsatunkul et al., 2019).

### **3.4.6 Extracción y purificación de los $\beta$ -glucanos**

Los polisacáridos crudos fueron sometidos a un tratamiento alcalino (NaOH, 0.01 M) durante 1 h. Transcurrido este periodo, la solución fue enfriada a 4 °C y centrifugada a 8000 rpm durante 20 min en una centrífuga refrigerada 5810R (Eppendorf, AG, Hamburgo, Alemania) a 10 °C. Los polisacáridos solubles se neutralizaron con ácido acético (20 % p/v) y se dializaron por 24 h mediante una membrana de celulosa (D9402-100FT, Sigma-Aldrich, mw >12,400 Da) utilizando agua destilada como líquido dializador (Maity et al., 2017; Morales et al., 2020). Los  $\beta$ -glucanos extraídos fueron lavados 2 veces con agua destilada, secados a 40 °C durante 2 h, subsiguientemente molidos y almacenados en refrigeración hasta su posterior análisis (Morales et al., 2020).

### **3.4.7 Análisis químico proximal**

#### **Determinación de humedad**

Se evaporó de manera continua la humedad de la muestra con una termobalanza Ohaus MB-45 (Ohaus Corporation, EUA) y se registró la pérdida de peso hasta que la muestra se situó a peso constante (Nollet, 1996; AOAC 1996). El porcentaje de humedad en base seca se calculó mediante la Ecuación 1.

$$\%H_{bs} = \frac{m_{Agua}}{m_s} * 100 \dots\dots\dots\text{Ecuación 1}$$

Donde:  $m_{Agua}$  = masa de agua que contiene la muestra;  $m_s$  = masa inicial de la muestra.

### **Determinación de cenizas**

La concentración de cenizas se determinó en 2 g de muestra colocadas en crisoles a peso constante, posteriormente fueron incinerados a 550 °C durante 8 h en una Mufra Felisa (Equipar S.A. de C.V., México) (Nollet, 1996). Los cálculos se realizaron mediante la Ecuación 2.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{p_3 - p_1}{p_2 - p_1} * 100 \dots\dots\dots\text{Ecuación 2}$$

Donde:  $p_1$ = peso del crisol vacío (g);  $p_2$ = peso del crisol con la muestra (g);  $p_3$ = peso del crisol con cenizas (g).

### **Determinación de proteína total**

Para determinar la concentración de proteína total se siguió el método de Kjeldahl, colocándose 0.3 g de muestra en tubos de digestión que contenían 14 mL de solución de ácido sulfúrico (98 % v/v) y 2 tabletas catalizadoras. Las muestras fueron digeridas durante 5 h a 230 °C en un digestor Foss-Kjeltec 8100 (Auto Sampler Systems, Denmark). A continuación, se añadieron 50 mL de NaOH al 40 % (p/v) y se recuperó el amoníaco en un matraz Erlenmeyer con 30 mL de solución de ácido bórico (4 % p/v) y 3 gotas de indicador (rojo de metilo en etanol al 0.1 % (p/v) y azul de metileno en agua al 0.1 % (v/v), en una relación 1:1), el destilado fue titulado con HCl 0.1 N. El contenido de proteína en la muestra se calculó multiplicando el contenido de nitrógeno total por el factor de conversión 6.25 (AOAC, 1996).

## **Determinación de proteína soluble por el método de Lowry**

La proteína soluble se determinó empleando el método de Lowry descrito por Peterson (1977) con algunas modificaciones. Se prepararon soluciones base (A y B) de la siguiente manera; La solución A, se obtuvo al mezclar volúmenes iguales de tres soluciones (S1, S2 y S3), S1; Solución de NaOH 0.8 N, S2; solución de SDS al 10 % (p/v) y S3; Mezcla de volúmenes iguales de solución de carbonato de sodio al 10 % (p/v) y solución de tartrato de sodio y potasio tetrahidratado con sulfato de cobre pentahidratado al 0.1 y 0.2% (p/v) respectivamente. La solución B correspondió a la solución de Folin Ciocalteu-fenol 0.3 N.

Cada ensayo fue preparado adicionando 980  $\mu\text{L}$  de agua destilada a 20  $\mu\text{L}$  de extracto ( $0.1 \text{ mg mL}^{-1}$ ), posteriormente se añadieron 1000  $\mu\text{L}$  de solución A. Los ensayos fueron agitados en un Vortex-Genie 2 (Scientific Industries Inc., New York, EUA) y almacenados en la oscuridad por 10 min. Finalmente se añadieron 500  $\mu\text{L}$  de solución B y después de un reposo de 30 min se determinó la absorbancia a 750 nm en un espectrofotómetro Genesys 10S UV–VIS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA).

A partir de las absorbancias obtenidas la concentración de proteína ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) fue determinada por medio de una curva estándar de albúmina de suero bovino (ASB) (Figura 5).

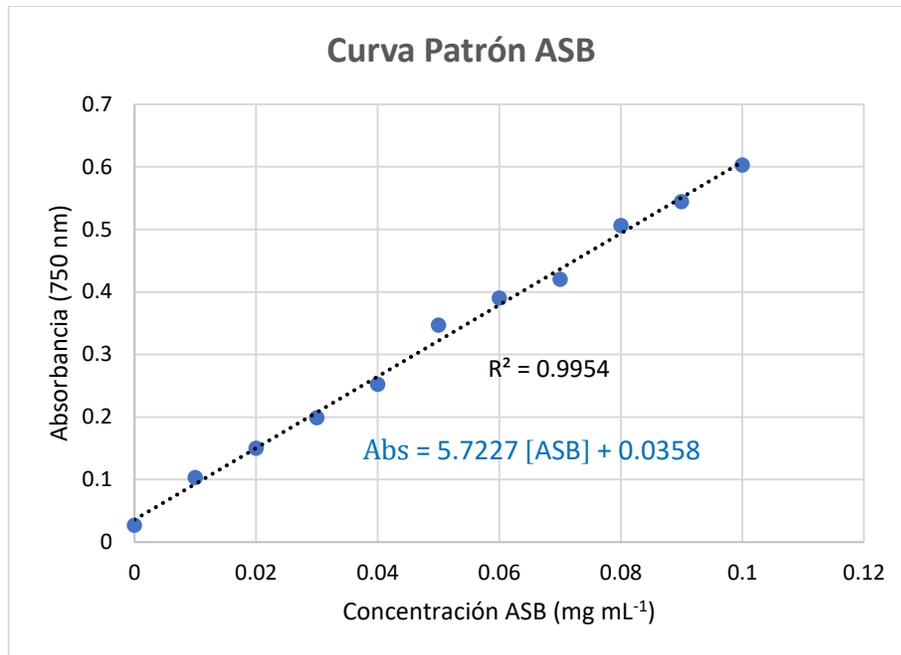


Figura 5. Curva estándar de proteína (ASB)

### Determinación de grasa

Empleando un cartucho de papel filtro que contenía 40 g de harina el desengrasado se realizó durante 5 h en un equipo Soxleth con 150 mL de hexano a 180 °C. Posteriormente la harina de β-glucanos se dejó en una campana de flujo laminar (RDM, LF-102P, Midland, Ontario, Canadá) por 2 h, con el propósito de la evaporación del hexano (AOAC, 1996).

### Determinación de carbohidratos

Los carbohidratos fueron calculados por diferencia de peso (Castro-Alves & Do Nascimento, 2016) como se muestra en la Ecuación 3.

$$\% \text{ Carbohidratos} = 100 - (\% \text{ proteína} + \% \text{ humedad} + \% \text{ cenizas} + \% \text{ lípidos}) \dots \text{Ecuación 3}$$

## Cuantificación de $\beta$ -glucano

La determinación de los de  $\beta$ -glucanos (%) se realizó por medio del KIT de Glucosa Exoquinasa (HK) (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemania) el cual cuantifica la Nicotiamida-Adenina Dinucleotido Fosfato (NADPH) liberada durante la fosforilación de la glucosa por acción de la enzima HK. Siendo la concentración de NADPH liberada estequiométricamente equivalente a la concentración de  $\beta$ -glucanos presente en la muestra. Veinte miligramos de cada tratamiento fueron hidrolizados con 3 mL de ácido trifluoroacético (TFA) (72.5 % p/p) y colocados en un baño de agua a  $92.5 \pm 1$  °C durante 3 h. Transcurrido el tiempo, las muestras fueron neutralizadas con NaOH 1 N, posteriormente ajustadas a un volumen final de 100 mL con agua destilada y filtradas en papel filtro (Whatman, grado 1) (Freimund et al., 2005). Se prepararon ensayos de los extractos previamente hidrolizados en microtubos Eppendorf estériles de 2 mL de acuerdo con el Cuadro 4.

Cuadro 4. Concentraciones empleadas para la determinación de glucosa

<b>Tubo</b>	<b>Enzima Glucosa (HK)</b>	<b>Muestra de <math>\beta</math>-glucanos</b>	<b>Agua desionizada</b>
Blanco de muestra	-	200 $\mu$ L	1000 $\mu$ L
Blanco de KIT	1000 $\mu$ L	-	200 $\mu$ L
Prueba	1000 $\mu$ L	200 $\mu$ L	-

La mezcla de cada tubo fue mezclada en un vórtex a 6000 rpm durante 10 s. Posteriormente, los tubos fueron incubados a  $33 \pm 2$  °C por 15 min.

La cuantificación de  $\beta$ -glucanos se determinó al medir la absorbancia de cada ensayo a 340 nm en un espectrofómeto Genesys 10S UV-VIS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). Los cálculos se realizaron de acuerdo con las Ecuaciones 4 y 5.

$$Total_{Blanco} = Blanco_{muestra} + Blanco_{KIT} \dots \dots \dots \text{Ecuación 4.}$$

$$\% \beta - \text{glucanos} = \frac{(\Delta A)(TV)(PM \text{ Glucosa})(F)}{(\epsilon)(d)(SV)(1000)} * 100 \dots\dots \text{Ecuación 5.}$$

Donde:  $\Delta A = Total_{Blanco}$  (Ecuación 4);  $TV$  = Volumen total del ensayo (mL);  $PM \text{ Glucosa}$  = Peso molecular de la glucosa ( $\mu\text{g } \mu\text{moles}^{-1}$ );  $F$  = Factor de dilución de la muestra;  $\epsilon$  = Coeficiente de extinción milimolar para NADPH ( $6.22 \text{ cm}^{-1}$ );  $d$  = Recorrido de luz (1 cm);  $SV$  = Volumen de la muestra (mL); 1000 = Factor de conversión de  $\mu\text{g}$  a mg.

### 3.4.8 Determinación de color

El color se determinó a temperatura ambiente ( $22 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ) en 5 g de los polisacáridos en polvo en cajas Petri de 5 cm de diámetro, empleando un colorímetro CR-400 (Konika Minolta, Inc., Tokio, Japón) equipado con luz iluminante D65 (luz de día) y ángulo de 10 grados. Las coordenadas CIE (Colorimetric Committee 1974) L,  $a^*$  y  $b^*$  fueron registradas, donde L corresponde a la luminosidad,  $a^*$  representa la escala de verde (-  $a$ ) a rojo (+  $a$ ) y  $b^*$  la escala de azul (-  $b$ ) a amarillo (+  $b$ ) (Korley et al., 2015).

### 3.4.9 Determinación de las propiedades funcionales

Para evaluar el uso de los extractos como posibles ingredientes en matrices alimenticias se llevaron a cabo las pruebas de Poder de Hinchamiento (PH), Capacidad de Unión de la Grasa (CUG), Actividad Emulsionante (AE) y Estabilidad de la Emulsión (EE).

#### Poder de hinchamiento (PH)

0.3 g de polisacáridos fueron dispersados en 10 mL de agua destilada durante 1 h. Posteriormente, las dispersiones fueron colocadas en un baño de agua a  $70 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 10 min y en seguida a  $95 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$  por 10 min, finalmente las muestras

fueron centrifugadas a 1 700 g por 4 min a  $23 \pm 1$  ° C en una centrífuga refrigerada 5810R (Eppendorf, AG, Hamburgo, Alemania). El poder de hinchamiento se expresó como la relación entre el peso precipitado húmedo y el peso de la muestra seca ( $g\ g^{-1}$ ) de acuerdo con la Ecuación 6 (Bae-IY et al., 2009).

$$PH (g\ g^{-1}) = \left( \frac{\text{Peso de la muestra húmeda}}{\text{Peso de la muestra seca}} \right) \dots\dots\dots \text{Ecuación 6}$$

**Capacidad de unión de la grasa (CUG)**

Se prepararon dispersiones al 2 % (p/v) de los polisacáridos en aceite de soya (Nutrioli, Ciudad de México, México), posteriormente las dispersiones fueron centrifugadas a 2 060 rpm por 30 min en una centrífuga refrigerada 5810R (Eppendorf, AG, Hamburgo, Alemania). La cantidad de aceite retenido en la muestra fue obtenida al determinar el peso del precipitado como se describe en la Ecuación 7 (Lin y Humbert, 1974).

$$\% CUG = \left( \frac{\text{Peso de la muestra más aceite (g)}}{\text{Peso de la muestra seca (g)}} \right) * 100 \dots\dots\dots \text{Ecuación 7}$$

**Actividad emulsionante (AE)**

La actividad emulsionante se determinó a partir de la preparación de emulsiones de aceite en agua. Las soluciones de cada muestra a una concentración 4 % (p/v) fueron hidratadas por 1 h en agitación constante a 720 rpm (Agitador Magnético RO-15 (IKA Werke, Staufen, Alemania), la fase dispersa (30 mL de aceite de soya) se añadió gota a gota a la dispersión acuosa (30 mL de solución de muestra) mediante un homogenizador Ultra-Turrax T50 (IKA Works, Inc. Wilmington, EUA) a una velocidad de rotación de 2000 rpm durante 2 min. Las emulsiones gruesas fueron centrifugadas a 2000 rpm en una centrífuga refrigerada 5810R (Eppendorf, AG, Hamburgo, Alemania) por 10 min (Khan et al., 2017; Neto et al., 2001). El cálculo de actividad emulsionante se determinó mediante la Ecuación 8.

$$\% AE = \left( \frac{H_2(mL)}{H_1(mL)} \right) * 100 \dots\dots\dots \text{Ecuación 8}$$

Donde:  $H_1$ = Altura inicial de la solución antes de hacer la emulsión;  $H_2$ = Altura de la capa emulsionada.

### **Estabilidad de la emulsión (EE)**

Las emulsiones preparadas descritas en la sección de AE fueron sometidas a  $80 \pm 1$  °C en un baño de agua durante 45 min, posteriormente centrifugadas a 1500 rpm en una centrífuga refrigerada 5810R (Eppendorf, AG, Hamburgo, Alemania) por 5 min. La estabilidad de la emulsión (EE) se calculó de acuerdo con la Ecuación 9 (Khan et al., 2017; Neto et al., 2001).

$$\% EE = \left( \frac{H_3(mL)}{H_1(mL)} \right) * 100 \dots\dots\dots \text{Ecuación 9}$$

Donde:  $H_1$ = Altura de la capa emulsionada antes del calentamiento;  $H_3$ = Altura de la capa emulsionada después del calentamiento.

### **3.4.10 Actividad antioxidante**

La actividad antioxidante de los extractos se evaluó ensayando los métodos de 1,1- Difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) y del catión radical del ácido 2,2 azinobis-(-3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS).

#### **Ensayo DPPH**

Se determinó la actividad antioxidante de las muestras sobre el radical libre DPPH empleando el método descrito por Cheison et al., (2007) con algunas modificaciones. Se añadió 1.5 mL de DPPH (0.08 mM en metanol al 80 % v/v) a 0.5 mL de cada extracto (2.5, 5, 7.5 y 10 mg mL<sup>-1</sup>). Las soluciones fueron agitadas durante 2 min y conservadas en condiciones de oscuridad durante 1 h. El blanco

fue preparado utilizando la misma cantidad de muestra que se utilizó para cada ensayo y 1.5 mL de metanol al 80 % (v/v). A continuación, se determinó la absorbancia de las soluciones a 515 nm un espectrofotómetro Genesys 10S UV–VIS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA).

La eliminación de radicales DPPH se determinó con la Ecuación 10.

$$\% \text{ Inhibición} = \left( \frac{A_{\text{Blanco}} - A_{\text{Muestra}}}{A_{\text{Blanco}}} \right) * 100 \dots \text{Ecuación 10}$$

Donde:  $A_{\text{Blanco}}$  = Absorbancia del Blanco;  $A_{\text{Muestra}}$  = Absorbancia de la solución preparada con muestra.

Los resultados se reportaron como porcentajes de Inhibición, así como la concentración ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) en la que se neutraliza el 50 % del radical DPPH (IC50).

### **Ensayo ABTS**

La activación del radical consistió en mezclar, una solución acuosa de ABTS 7 mM con una solución de persulfato de sodio 2.45 Mm en una relación 1:1. La mezcla se resguardó en oscuridad por 16 h, transcurrido el tiempo, el radical ABTS se diluyó con metanol al 80 % (v/v) hasta obtener una absorbancia de  $0.7 \pm 0.002$  a 734 nm. A continuación, fueron mezclados 2.8 mL de la solución ABTS preparada con 200  $\mu\text{L}$  de cada extracto (2.5, 5, 7.5 y 10  $\text{mg mL}^{-1}$ ), dejándose reaccionar por 30 min, finalmente se determinó la absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro Genesys 10S UV–VIS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) (Ret et al., 1999). Los resultados se reportaron como porcentajes de Inhibición, los cuales se calcularon mediante la Ecuación 11.

$$\% \text{ Inhibición} = \left( \frac{A_{\text{Blanco}} - A_{\text{Muestra}}}{A_{\text{Blanco}}} \right) * 100 \dots \text{Ecuación 11}$$

Donde:  $A_{Blanco}$  = Absorbancia del Blanco;  $A_{Muestra}$  = Absorbancia de la solución preparada con muestra.

#### **3.4.11 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)**

Los análisis térmicos se realizaron siguiendo el método descrito por Liu et al. (2014). Dispersiones de cada muestra (6 mg) al 15 % (p/p) fueron vertidas en celdas herméticas de aluminio, selladas y almacenadas a temperatura ambiente ( $22 \pm 1$  °C) por 15 h. Las curvas de calentamiento para evaluar las temperaturas de fusión (°C), se realizaron en un intervalo de temperatura de 30 a 180 °C, a una velocidad de  $10$  °C  $\text{min}^{-1}$  en un calorímetro DSC131 EVO (Setaram Instrumentation, Caluire, France).

#### **3.4.12 Análisis de microestructura**

Se prepararon dispersiones al 2 % (p/v) con los polisacáridos, las cuales fueron colocadas en un portaobjetos y teñidas con una solución de cristal violeta en etanol (10 % v/v) por 30 s, posteriormente se lavaron con agua destilada y secadas a  $22 \pm 1$  °C (Beveridge, Lawrence & Murray, 2007).

Las muestras fueron observadas en un microscopio óptico Olympus BX53F (Olympus Optical Co., Tokio, Japón) a una magnificación de 10 x, acoplado a un sistema analizador de imágenes (Cámara digital Olympus C3030 (Olympus America Inc., EUA)).

#### **3.4.13 Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR)**

Los espectros de infrarrojo de los  $\beta$ -glucanos se registraron con un espectrofotómetro FTIR CARY 630 (Agilent Technologies, Inc. Agilent, California, EUA.), equipado con un accesorio universal de reflectancia total atenuado 10 mg de muestra seca fueron colocados en el cristal de diamante con un ajuste de

geometría y provisto de una calibración de fuerza de 60 unidades. Se registró la absorbancia a longitudes de onda de 4000 a 800  $\text{cm}^{-1}$  con una resolución espectral de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Se realizaron 4 escaneos por muestra, para identificar las bandas de estiramiento de los grupos funcionales presentes en la muestra, las cuales fueron integrados para obtener los valores medios del espectro (Bai, Yi-Peng et al., 2021).

#### **3.4.14 Curvas de flujo**

El comportamiento reológico de los  $\beta$ -glucanos se determinó aplicando pruebas dinámicas (curvas de flujo) en un reómetro Discovery Hybrid (HR-3, TA Instruments, UAE) utilizando una geometría cono-plato ( $2^\circ$  y 60 mm de diámetro). 2 mL de dispersiones de  $\beta$ -glucanos al 4 % (p/v) fueron colocados en un peltier a  $25 \pm 1$  °C y se mantuvieron en reposo durante 5 min para permitir la recuperación de la estructura. A continuación, se realizaron barridos de tasa de corte de  $10^{-2}$  a  $10^3$   $\text{s}^{-1}$  (Karimi et al., 2019). Los valores de viscosidad aparente de las muestras fueron registrados y ajustados al modelo de Herschel-Bulkley.

#### **3.4.15 Análisis de datos**

Todas las pruebas se ensayaron por triplicado, utilizando un diseño completamente al azar. Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple, y cuando fue apropiado se utilizó una prueba de Tukey para determinar diferencias entre las medias. El nivel de significancia se estableció en  $p \leq 0.05$ . El análisis se realizó con el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS) versión 9.4 (SAS Institute, Inc., Cary, NC).

### 3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.5.1 Cultivo de *Pleurotus ostreatus* PoB

La producción y calidad de los hongos superiores están directamente influenciadas por el tipo de medio de cultivo y rendimiento, siendo este último uno de los objetivos más importantes durante su producción (Zahid et al., 2020). Los rendimientos de las cosechas realizadas durante el ciclo productivo (35 días) de *P. ostreatus* PoB se muestran en el Cuadro 5, *P. ostreatus* PoB presentó un rendimiento superior a  $23.3 \pm 2.9$  % en la cepa IE-115 y  $21.8 \pm 1.8$  % en la cepa IE-728I reportado por Gaitán-Hernández & Silva (2016), quienes evaluaron el crecimiento de dos cepas del género *Pleurotus* empleando como sustrato rastrojo de maíz.

Cuadro 5. Rendimientos de crecimiento de *P. ostreatus* PoB

Cosecha 1 (kg)	Cosecha 2 (kg)	Rendimiento (%)
$1.0 \pm 0.2^z$	$0.8 \pm 0.4^z$	$30.2 \pm 6.2^z$

<sup>z</sup> Media  $\pm$  desviación estándar.

Diversas investigaciones (Wang, Li, & Han, 2012; Gómez & Andrade, 2008; Lechner & Alberto, 2011; Gupta et al., 2013) concluyeron que la combinación de sustratos y/o la suplementación de estos, aumenta el rendimiento de producción, lo cual probablemente pudo contribuir en los rendimientos de este estudio al adicionar paja de avena.

#### 3.5.2 Composición químico proximal y rendimientos de los $\beta$ -glucanos

El análisis químico implica la determinación de la composición de un alimento lo que permite caracterizarlo desde el punto de vista nutricional y a partir de ello, estimar su uso en la industria alimentaria o bien en investigación científica para el desarrollo de nuevos productos (Zumbado-Fernández, 2020). Diversos

componentes nutricionales y funcionales como fibra dietética, proteínas, polisacáridos y ácidos grasos insaturados están presentes en el género *Pleurotus* (Cardwell et al., 2018). En este estudio la composición química de los  $\beta$ -glucanos se vio afectada significativamente por las temperaturas de extracción evaluadas (50, 70 y 91 °C) (Cuadro 6). La concentración de proteína fue significativamente ( $p \leq 0.05$ ) mayor para G<sub>50</sub> y decreció al incrementarse la temperatura en G<sub>70</sub> y G<sub>91</sub>, este comportamiento probablemente debido a su desnaturalización inducida por el incremento de la temperatura (Cox, Lehninger & Nelson, 2006). Se ha reportado que la presencia de proteínas reduce la recuperación de  $\beta$ -glucanos (Radhakrishnan & Peter, 2020; Ahmad et al., 2010; Karp & Kurek, 2019; Synytsya et al., 2009) independientemente del método de extracción utilizado. Además, la precipitación de polisacáridos con etanol puede contribuir a la co-precipitación de proteínas y otras biomoléculas como; ácidos orgánicos, y/o algunas sales (Gebresamuel & Gebre-Mariam, 2012). La proteína soluble presentó la misma tendencia que la proteína total como sigue: G<sub>50</sub> > G<sub>70</sub> > G<sub>91</sub>, la cual tiene un efecto en los resultados de sus propiedades funcionales (Damodaran & Parkin, 2018).

Cuadro 6. Composición químico proximal y pureza de los  $\beta$ -glucanos extraídos

(% ) Base seca	Tratamiento		
	G <sub>50</sub>	G <sub>70</sub>	G <sub>91</sub>
Proteína total	17.5 $\pm$ 0.3c <sup>z</sup>	14.5 $\pm$ 0.5b	10.4 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>
Proteína soluble	11.0 $\pm$ 0.4c	7.6 $\pm$ 0.5b	5.9 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>
Carbohidratos	73.5 $\pm$ 0.3a	76.5 $\pm$ 0.5b	80.3 $\pm$ 0.1c
Humedad	5.2 $\pm$ 0.3a	5.7 $\pm$ 0.3a	5.9 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
Cenizas	2.3 $\pm$ 0.1a	2.0 $\pm$ 0.1a	2.0 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
Lípidos	1.3 $\pm$ 0.03a	1.2 $\pm$ 0.08a	1.2 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
Purificación	71.9 $\pm$ 0.2a	76.1 $\pm$ 0.4b	82.5 $\pm$ 0.5c

<sup>z</sup> Media  $\pm$  desviación estándar. Diferentes letras en la misma fila indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).

El contenido de carbohidratos en G<sub>91</sub> fue significativamente ( $p \leq 0.05$ ) mayor que para G<sub>70</sub> y G<sub>50</sub>. Una mayor temperatura de extracción favoreció la solubilidad de los carbohidratos, exponiendo a los grupos hidroxilo (-OH) para formar puentes de hidrógeno con las moléculas de agua (Morales et al., 2019), por otro lado, una mayor temperatura de extracción modifica el nivel de estructura de los polisacáridos, disminuyendo las fuerzas de interacción lo cual favorece su rendimiento (Leong, Yang & Chang, 2021).

El contenido de humedad varió entre 5 y 6 %, los tratamientos no mostraron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), indicando que el secado a 40 °C por 2 h se realizó adecuadamente para los tres tratamientos.

Por otro lado, el contenido de cenizas no presentó diferencia significativa entre los extractos, es decir, el incremento de la temperatura no varió el contenido de minerales (Cuadro 6), esto puede atribuirse a que no existió una variación en el pH durante la purificación, ya que la extracción de minerales en fibra dietética tiende a variar entre valores de pH 9 a 10 (Eyal & Canari, 1995). Al evaluar extractos de  $\beta$ -glucanos de cebada (*Hordeum vulgare*) Chari et al. (2016) reportaron 10.4 % de cenizas y la presencia de P, Mg, Ca, Na, K y Fe, concluyendo que las cenizas pueden ser un componente relevante para las propiedades funcionales al actuar como amortiguadores en las soluciones de  $\beta$ -glucanos.

La extracción de  $\beta$ -glucanos de *P. ostreatus* PoB a temperaturas de 50, 70 y 91 °C, originó grados de pureza (concentración de moléculas de glucosa) que difirieron significativamente;  $G_{91} > G_{70} > G_{50}$ . La mayor concentración de  $\beta$ -glucanos en G<sub>91</sub> probablemente debida a una mayor solubilización del polisacárido, ya que la eficiencia del método mejora al incrementarse la temperatura (Gong et al., 2020). Ahmad et al. (2009) al extraer  $\beta$ -glucanos de *Avena sativa* en un intervalo de temperatura de 35 a 55 °C, reportaron una purificación superior (78 %) en la temperatura de 55 °C; mientras que Skendi et

al. (2009) evidenciaron purificaciones entre 84 y 90 % empleando el mismo método de extracción en dos cultivares de avena. Las diferencias de los valores obtenidos pudieron ser consecuencia de diversos factores como las condiciones de extracción de temperatura, tiempo, relación sólido-solvente y origen de la muestra.

### 3.5.3 Determinación de color

El color es un parámetro que puede determinar la conveniencia de uso de los  $\beta$ -glucanos en alimentos (Tiwari et al., 2021). El parámetro L se expresó como una variable dependiente de la temperatura de extracción, al presentar diferencia significativa;  $G_{91} (83.8) \pm 0.2 > G_{70} (80.6 \pm 0.3) > G_{50} (77.3 \pm 0.1)$ , lo anterior puede atribuirse al mayor grado de purificación (Cuadro 6) (Crispin-Isidro et al., 2019), se ha reportado al marrón claro como color característico de los  $\beta$ -glucanos (Comin & Saldaña, 2012). Valores de L (72.2 y 83.5) obtenidos por Ahmad et al. (2010) en  $\beta$ -glucanos extraídos a partir de *Avena sativa*, coinciden con los valores alcanzados en la investigación.

Respecto al componente  $b^*$ , el color amarillo (+) disminuyó al incrementar la temperatura (Figura 6);  $G_{50} (19.1 \pm 0.0) > G_{70} (18.9 \pm 0.2) > G_{91} (17.1 \pm 0.2)$ , Wong & Cheung, (2005) reportaron valores comparables ( $21.1 \pm 0.09$ ) presentes en fibra dietética de cebada (*Hordeum vulgare*).

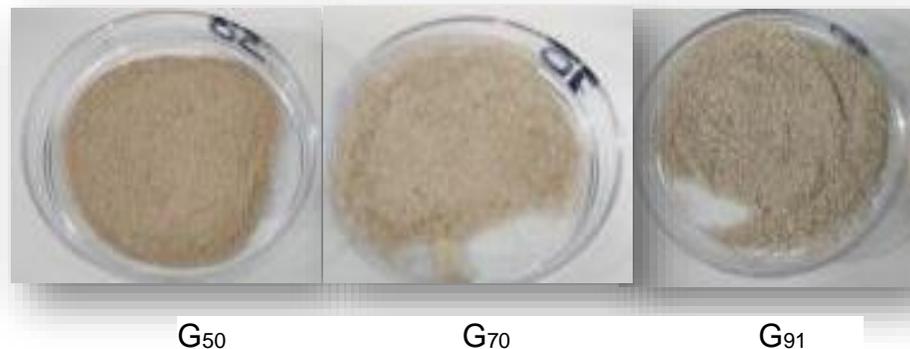


Figura 6.  $\beta$ -glucanos extraídos a 50, 70 y 91 °C.

El parámetro  $a^*$  expuso una tendencia similar a  $b^*$ , donde  $G_{50}$  ( $1.5 \pm 0.1$ ) fue significativamente ( $p \leq 0.05$ ) mayor que  $G_{70}$  ( $0.6 \pm 0.0$ ) y  $G_{91}$  ( $0.4 \pm 0.0$ ), esta disminución de color rojo (+) en  $a^*$  y amarillo (+) en  $b^*$  puede inferirse por la inhibición de la enzima tirosina responsable de la síntesis de melanina, que al interactuar con una mayor cantidad de proteínas ( $G_{50}$ ) potencializan el color marrón (Miyaji, & Baba, 2016; Momtaz & Basson, 2008).

A pesar de las diferencias significativas en  $L$  y  $b^*$ , todos los extractos predominaron en la escala de blanco y amarillo (+), lo que indicaría que pueden ser incorporados en productos alimenticios de color claro o transparente (Ahmad et al. 2009). Kondyli et al. (2020) no reportaron cambios significativos de color de quesos de pasta blanca cuando se adicionó 0.4 % de  $\beta$ -glucanos, respecto al control. En otros estudios el color de los  $\beta$ -glucanos no representó un impedimento para ser incorporado en otros sistemas alimenticios; Szpicer et al. (2020) reportaron que la adición de  $\beta$ -glucanos en diferentes concentraciones (4, 6, 8 y 12 %), no modificó significativamente el color en carne de bovino.

#### **3.5.4 Propiedades funcionales**

##### **Poder de hinchamiento (PH)**

La posible aplicación de los  $\beta$ -glucanos en la industria alimentaria como aditivos con capacidad de retener agua es de interés para la industria de productos cárnicos, ya que esta propiedad es esencial para la jugosidad del producto final (Borchani et al., 2016).

Los  $\beta$ -glucanos extraídos de la cepa PoB describieron que el agua retenida físicamente, expresada como PH (Grhribi et al., 2015) presentaron un aumento significativo ( $p \leq 0.05$ ) relacionado con el incremento de la temperatura;  $G_{91} > G_{70} > G_{50}$  (Figura 7). Considerando que el PH evalúa la capacidad de retención de agua de los polisacáridos insolubles (Hromádková et al., 2003), los valores

obtenidos reflejaron que los  $\beta$ -glucanos presentaron menor PH que los reportados por Khan et al. (2014) ( $3.4 \text{ g g}^{-1}$  en *Agaricus* y  $3.7 \text{ g g}^{-1}$  en *Pleurotus*). Estos resultados podrían ser atribuidos al método de extracción acuoso, el cual probablemente contribuyó a la obtención de una mayor cantidad de polisacáridos solubles lo que redujo el PH.

Por otro lado, el comportamiento  $G_{91} > G_{70} > G_{50}$  puede atribuirse a una mayor concentración de  $\beta$ -glucanos en  $G_{91}$ , ya que por su carácter hidrofílico se asocian por puentes de hidrógeno con moléculas de agua. Por otro lado, Proust et al. (2014) al evaluar esta propiedad en un intervalo de temperatura de 55 a 95 °C en almidón nativo de ñame del Congo (*Dioscorea bulbifera L.*), obtuvieron valores superiores de PH a medida que se incrementó la temperatura, atribuyendo sus resultados a la relajación progresiva de las fuerzas de enlace conforme aumentaba la temperatura; lo que podría contribuir al PH encontrado en  $G_{70}$  ( $1.8 \pm 0.1 \text{ g g}^{-1}$ ) y  $G_{91}$  ( $2.5 \pm 0.1 \text{ g g}^{-1}$ ).

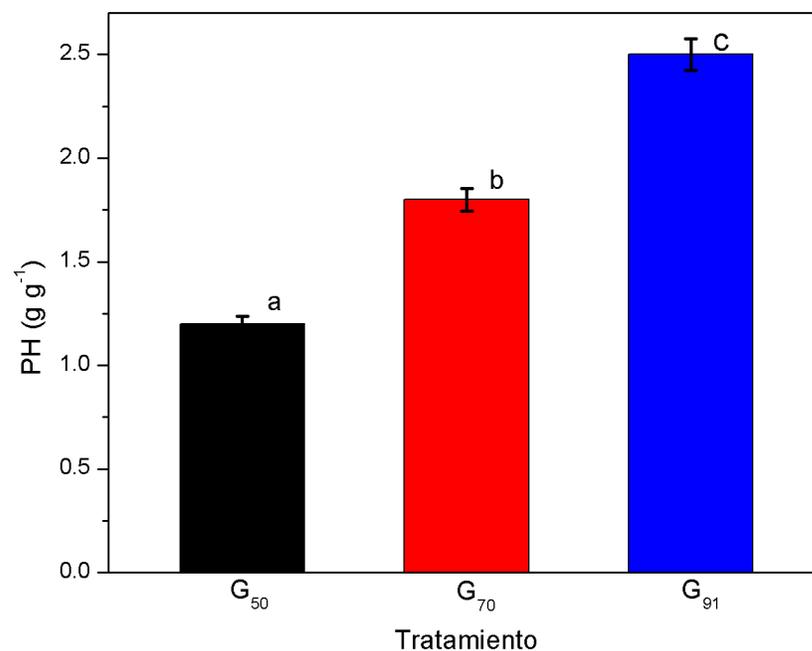


Figura 7. Poder de hinchamiento (PH) de  $\beta$ -glucanos extraídos a 50 ( $G_{50}$ ), 70 ( $G_{70}$ ) y 91 °C( $G_{91}$ ).

## Capacidad de unión de la grasa (CUG)

La prueba CUG identifica posibles aditivos que puedan emplearse en emulsiones con alto contenido de grasa o como estabilizantes en alimentos (Yuan et al., 2018).

El incremento de la temperatura tuvo un efecto significativo ( $p \leq 0.05$ ) en la CUG de los tratamientos (Figura 8);  $G_{50}$  ( $5.3 \pm 0.1 \text{ g g}^{-1}$ ) >  $G_{70}$  ( $4.3 \pm 0.3 \text{ g g}^{-1}$ ) >  $G_{91}$  ( $3.8 \pm 0.05 \text{ g g}^{-1}$ ), evidenciando en todos los tratamientos una CUG superior a los reportados en  $\beta$ -glucanos de levadura ( $1.6 \text{ g g}^{-1}$ ) Bacha-Umar et al. (2017) y *Pleurotus* ( $5.5 \text{ g g}^{-1}$ ) utilizando agua caliente como método de extracción (Khan et al. 2017).

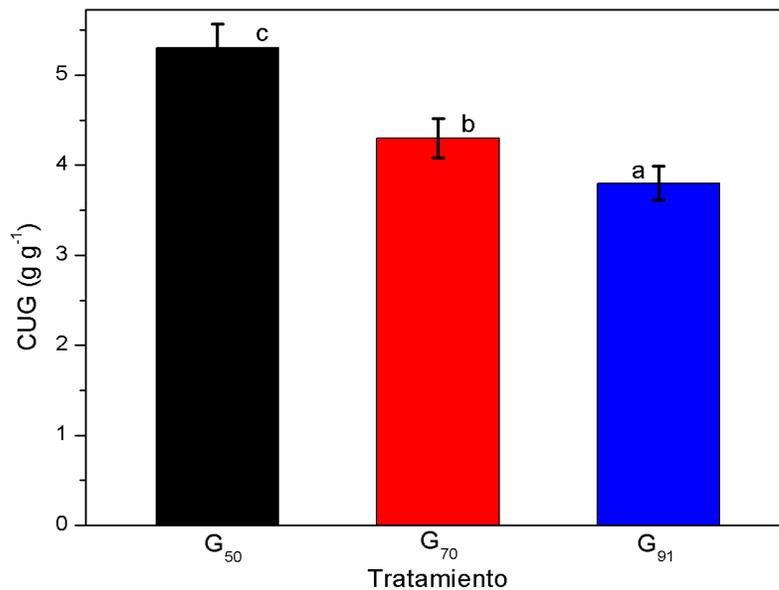


Figura 8. Capacidad de unión de la grasa (CUG) de  $\beta$ -glucanos extraídos a 50 ( $G_{50}$ ), 70 ( $G_{70}$ ) y 91 °C( $G_{91}$ ).

Khan et al. (2016) después de haber realizado una degradación ácida en  $\beta$ -glucanos de *Saccharomyces cerevisiae* infirieron que la CUG de los  $\beta$ -glucanos es función del gradiente de su degradación, puesto que, una mayor degradación

de los polisacáridos originó grupos hidroxilo activos que pudieron desempeñar un papel importante en la CUG, reacción que probablemente no tuvo lugar en las temperaturas ensayadas, ya que la degradación de estos polisacáridos ocurre a temperaturas de extracción mayores a 150 °C (Zhang et al., 2019). Por otro lado, las variaciones significativas de CUG, describen el mismo patrón que presentó la concentración de proteína soluble en el análisis químico proximal;  $G_{50} > G_{70} > G_{91}$ , ya que esta propiedad se ve afectada por la presencia de compuestos capaces de unirse a la grasa por interacciones hidrófobas (Aguilera et al., 2011).

### **Capacidad emulsificante (CE)**

Los sistemas dispersos como las emulsiones suelen ser de tipo aceite/agua o agua/aceite, dos líquidos inmiscibles que requieren de un emulsificante (Singh et al., 2005). La temperatura de extracción de los  $\beta$ -glucanos dictó una diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en su CE (Figura 9);  $G_{50}$  ( $57.8 \% \pm 1.0 \%$ )  $>$   $G_{70}$  ( $52.8 \pm 0.9 \%$ )  $>$   $G_{91}$  ( $45.4 \pm 1.1 \%$ ). Los resultados expuestos indican que probablemente las moléculas de superficie activa en  $G_{50}$  tuvieron mayor capacidad para migrar a la interfase y estabilizarla, lo cual puede estar influenciado por la mayor concentración ( $p \leq 0.05$ ) de proteína soluble evidenciado en el análisis químico proximal;  $G_{50} > G_{70} > G_{91}$ , dado que las proteínas poseen un carácter anfifílico (aminoácidos polares y no polares), estas pudieron migrar, desplegarse y reorientarse en la interfaz agua-aceite (Lam & Nickerson, 2013; Crispín-Isidro et al., 2019) favoreciendo su CE.

Khan et al. (2017) reportaron valores de  $64.26 \pm 0.01$ ,  $65.35 \pm 0.03$  y  $65.47 \pm 0.08 \%$  para  $\beta$ -glucanos extraídos de los géneros *Agaricus*, *Pleurotus* y *Coprinus*, respectivamente al evaluar la capacidad emulsificante, empleando el método de extracción en agua caliente sin purificación adicional.

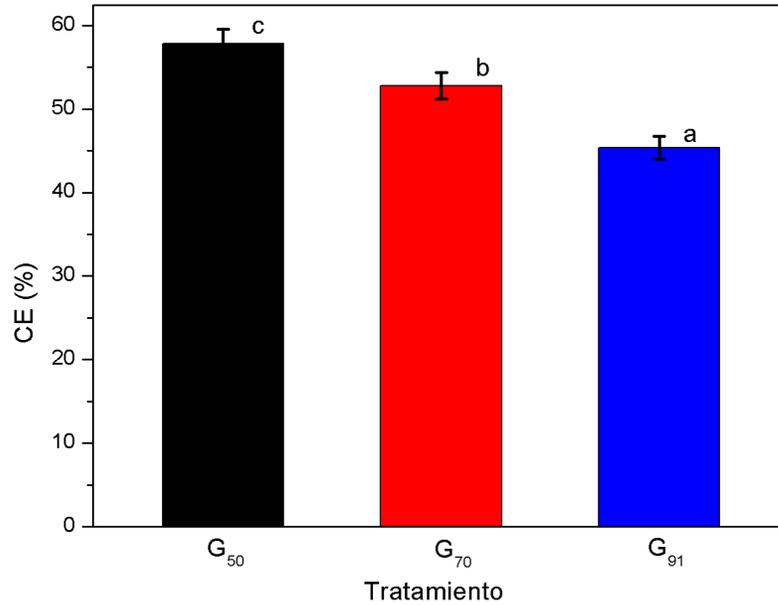


Figura 9. Capacidad emulsificante (CE) de  $\beta$ -glucanos extraídos a 50 (G<sub>50</sub>), 70 (G<sub>70</sub>) y 91 °C(G<sub>91</sub>).

Por otro lado, la EE es un indicador que verifica si un emulsionante aplicado en una emulsión es adecuado para que esta permanezca estable a través del tiempo (Singh, Kaur & Sogi, 2018).

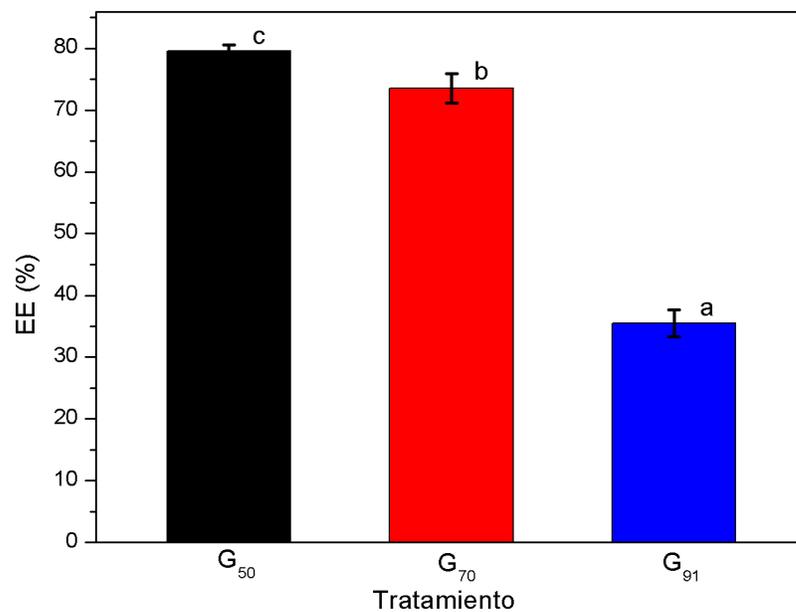


Figura 10. Estabilidad de la emulsión (EE) de  $\beta$ -glucanos extraídos a 50 (G<sub>50</sub>), 70 (G<sub>70</sub>) y 91 °C(G<sub>91</sub>).

Los  $\beta$ -glucanos no son tensoactivos que interactúen con la fase dispersa (Temelli, 1997), sino que por su naturaleza hidrofílica suelen permanecer en la fase acuosa, creando interacciones con moléculas de agua y con proteínas (puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals y fuerzas de London) (Khan et al., 2015; Anchundia et al., 2016). Probablemente la concentración de proteínas solubles en cada tratamiento, tuvieron la habilidad para desdoblarse en la interfase y presentar un efecto significativo ( $p \leq 0.05$ ) sobre la EE (Figura 10) (Totosaus, 2006).

Por otra parte, el comportamiento de los tratamientos a esta prueba posiblemente fue respuesta a la mayor viscosidad presentado por G<sub>50</sub> según los resultados obtenidos en la caracterización reológica de los  $\beta$ -glucanos (sección 3.5.9). Infiriendo que una mayor viscosidad en la fase acuosa probablemente dificultó la coalescencia de las gotas de aceite (Liu et al., 2021), mientras que G<sub>70</sub> y G<sub>91</sub> presentaron una menor viscosidad, manifestándose como una debilitación en la capacidad de EE (Akhlaghinia & Chan, 2014).

### **3.5.5 Actividad antioxidante**

La evaluación de la actividad antioxidante contribuye a la determinación de la calidad de los alimentos funcionales y nutraceuticos, para lo cual, se han desarrollado métodos que se fundamentan en moléculas inestables que se reducen, debido a la capacidad de otra sustancia para ceder electrones (DPPH, ABTS y otros) (Apak & Shahidi, 2017).

El porcentaje de inhibición del radical DPPH como función de la concentración de G<sub>50</sub>, G<sub>70</sub> y G<sub>91</sub> (Figura 11) demuestra en cada tratamiento, que el radical fue reducido a medida que se incrementó su concentración.

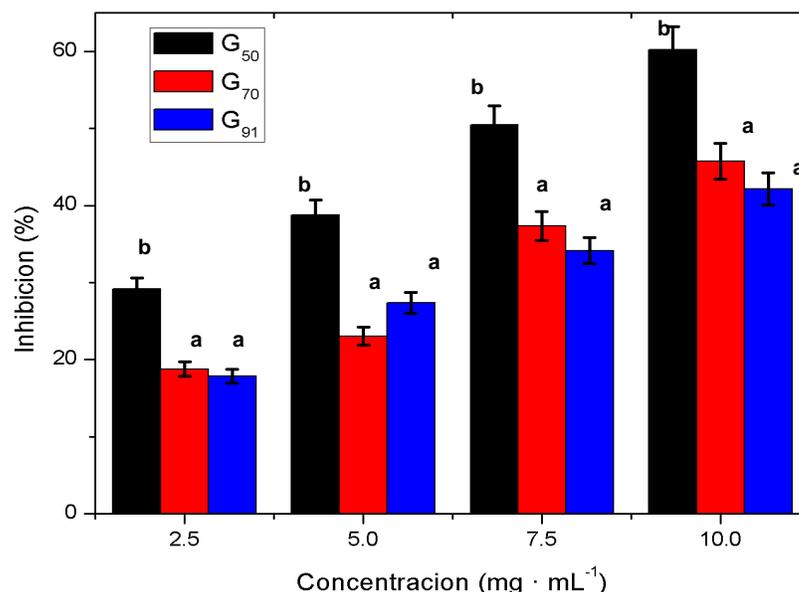


Figura 11. Efecto antioxidante de  $\beta$ -glucanos sobre el radical DPPH. Diferente letra (a-b) denotan diferencia significativa entre las muestras.

Bajo las mismas concentraciones de G<sub>50</sub>, G<sub>70</sub> y G<sub>91</sub>, la inhibición del radical ABTS (Figura 12) expresó el mismo comportamiento, es decir, cuando una solución de radical ABTS o DPPH se combina con un extracto vegetal capaz de donar electrones, se presenta un gradiente de color propio de la concentración de la muestra (Molyneux, 2004).

Las propiedades antioxidantes se pueden determinar empleando más de un método, puesto que al utilizar solamente uno, proporciona una idea parcial del verdadero poder reductor de la molécula antioxidante debido a sus posibles mecanismos de acción (Kettawan et al. 2011). G<sub>50</sub> mostró significativamente ( $p \leq$ ) (Figura 11 y 12) el mayor poder reductor en ambos radicales, mientras que G<sub>70</sub> y G<sub>91</sub> demostraron estadísticamente tener el mismo efecto en el radical DPPH, a diferencia del radical ABTS donde G<sub>70</sub> fue mayor a G<sub>91</sub>.

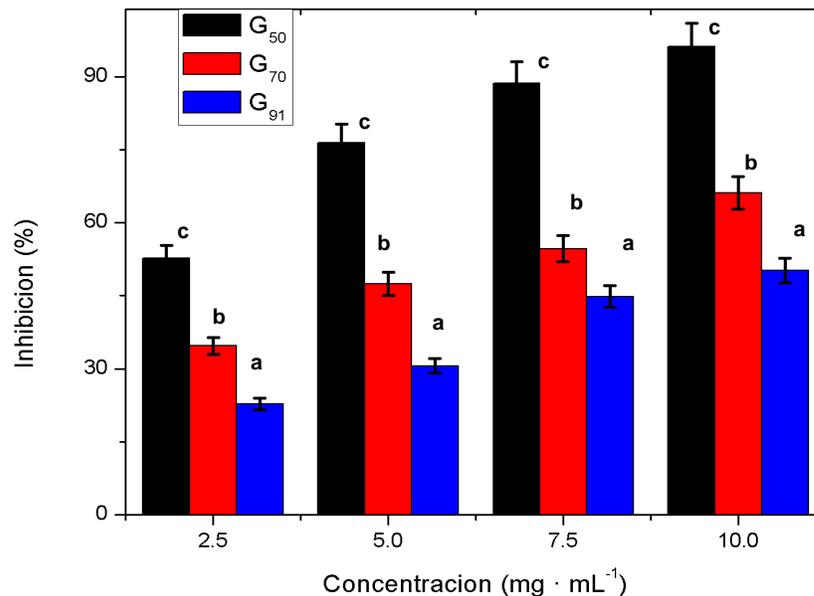


Figura 12. Efecto antioxidante de los  $\beta$ -glucanos sobre el radical ABTS. Diferente letra (a-b) denotan diferencia significativa entre las muestras.

Por otro lado, las concentraciones (mg mL<sup>-1</sup>) de  $\beta$ -glucanos necesaria para inhibir el proceso de oxidación en un 50 % (IC<sub>50</sub>) (Afiati et al., 2019) se muestran en el Cuadro 7, donde G<sub>50</sub> refleja significativamente ( $p \leq 0.05$ ) un superior coeficiente de inhibición respecto a G<sub>70</sub> y G<sub>91</sub>. Lo anterior, puede atribuirse a que temperaturas cercanas a la ebullición originan pérdidas de compuestos antioxidantes como los fenoles (Faller & Fiahlo, 2009).

Por otro lado, la influencia de glucanasas endógenas presentes pueden contribuir a la despolimerización de los  $\beta$ -glucanos y por ende en la exposición de grupo hidroxilo donadores de hidrógenos (Fastnaught & Dreher, 2001), además, la presencia de una mayor concentración de proteína en G<sub>50</sub> pudo influir en un superior poder reductor. Sihanonth, Piapukiew y Sangvanich (2013) evidenciaron la presencia de poder reductor para el radical ABTS a partir de un complejo polisacárido-proteína de *Phaeogyropua portentosus*.

Cuadro 7. Coeficiente de inhibición (IC50) de los β-glucanos extraídos

Tratamiento	IC50 (mg mL <sup>-1</sup> )
G <sub>50</sub>	7.5 ± 0.1a
G <sub>70</sub>	11.2 ± 0.3b
G <sub>91</sub>	12.4 ± 0.2c

<sup>z</sup> Media ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma columna indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup> G<sub>50</sub>: β-glucanos extraídos a 50° C; G<sub>70</sub> β-glucanos extraídos a 70° C; G<sub>91</sub> β-glucanos extraídos a 91° C.

Zhang et al. (2012) al estudiar una cepa de *Pleurotus* reportaron un IC50 de 1.43 mg mL<sup>-1</sup> variaciones que pueden atribuirse a la especie y pesos moleculares de los extractos (Bai et al., 2021). Mientras que Usulding et al. (2020) evidenciaron un valor de IC50 de 11.48 ± 0.50 mg mL<sup>-1</sup> al trabajar con *Lignosus rhinocerus*, resultado comparable con los obtenidos en esta investigación. La variación de los resultados puede atribuirse a pesos moleculares de los β-glucanos y probablemente a complejos de polisacáridos con algunos compuestos fenólicos contenidos en los hongos como ácido tánico y gálico (Bai et al., 2021; de la Cruz et al., 2013).

### 3.5.6 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

La DSC es una técnica en donde un cambio gradual de temperatura provoca un proceso de transición conformacional, originando señales como picos endotérmicos que indican la fusión de dominios estructurales en la muestra (Höhne et al., 2013; Nagle & Wilkinson, 1978). G<sub>50</sub>, G<sub>70</sub> y G<sub>91</sub> tuvieron picos endotérmicos de fusión a diferentes temperaturas (Figura 13).

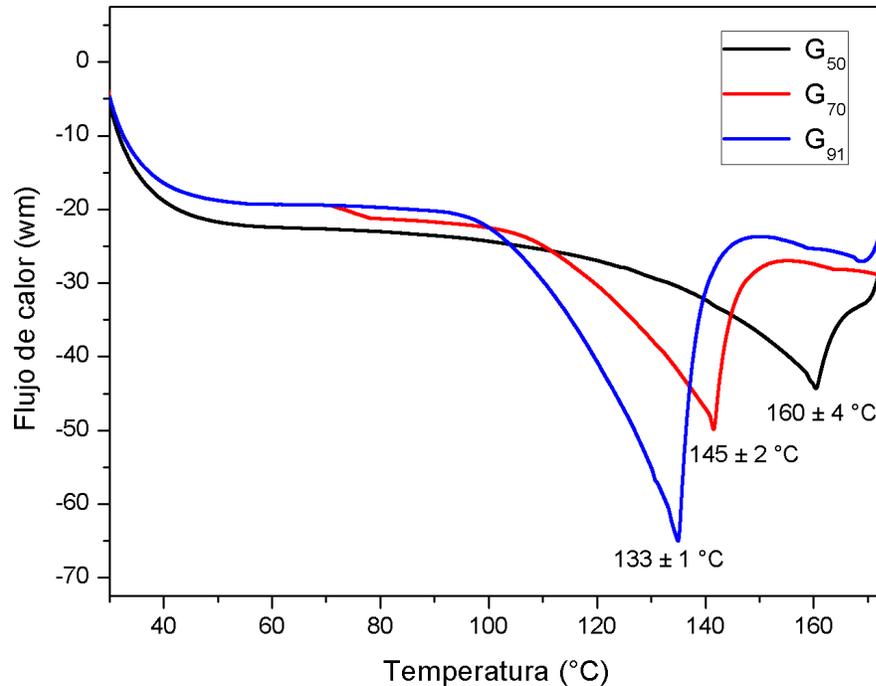


Figura 13. Curvas de calentamiento DSC de  $\beta$ -glucanos extraídos a 50 ( $G_{50}$ ), 70 ( $G_{70}$ ) y 91 °C( $G_{91}$ ).

El punto de fusión de  $G_{50}$  se presentó a 160 °C, mientras que en  $G_{70}$  y  $G_{91}$  a 145 y 133 °C, respectivamente. Con lo anterior podría inferirse que la estructura conformacional de  $G_{50}$  es más organizada (Lazaridou et al., 2014) con respecto a  $G_{70}$  y  $G_{91}$ , por lo que requirió de una mayor temperatura para la ruptura de la cadena de carbono y puentes de hidrógeno (Gao et al., 2020). Lo anterior puede estar relacionado con el mayor grado de agregación que evidenció  $G_{50}$  al interactuar con las proteínas en el apartado de microestructura, además, de que en estos intervalos de temperatura posiblemente puedan estar enmascarando picos endotérmicos propios de la evaporación del agua (Yun et al., 2018; Bacha et al., 2017).

Bacha et al. (2017) reportaron superior estabilidad térmica en  $\beta$ -glucanos extraídos a partir de levadura, con un punto de fusión de 125 °C con respecto a  $\beta$ -glucanos comerciales (122 °C).

### 3.5.7 Microestructura

Entre los principales componentes estructurales de los alimentos se encuentran a los carbohidratos, proteínas y lípidos. Estas biomoléculas pueden formar estructuras de orden superior según su nivel de interacción, por lo tanto, el empleo de una técnica de microscópica es imprescindible para caracterizar el régimen estructural de un sistema (Morris & Groves, 2013).

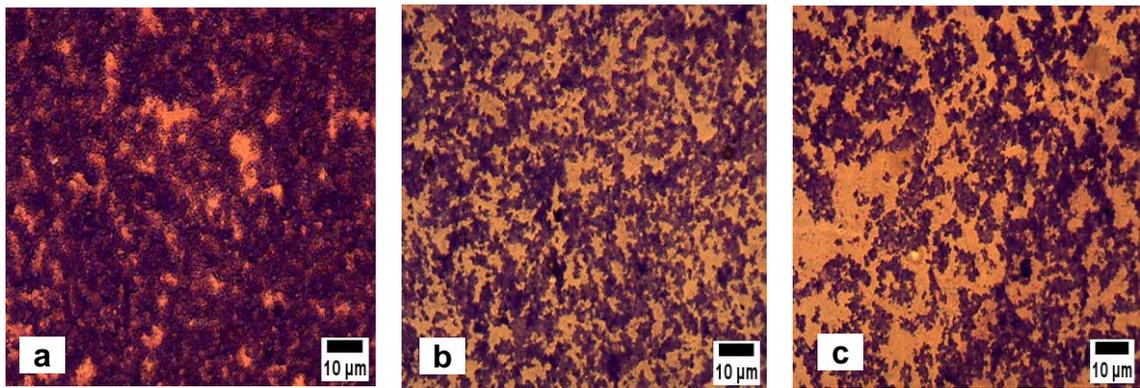


Figura 14. Micrografías ópticas de  $\beta$ -glucanos extraídos a 50 (a), 70 (b) y 91 °C (c).

Zielke & Nilsoon, (2019) mencionan que las interacciones intermoleculares entre  $\beta$ -glucanos y proteínas pueden influir en la agregación y comportamiento en solución del polisacárido. La presencia de proteínas contribuirá a la formación de agregados de  $\beta$ -glucanos, mientras que una degradación de proteínas podría disminuir el nivel de agregación de los polisacáridos. En la micrografía correspondiente a  $G_{50}$  (Figura 14a) se observó una red mejor estructurada y densa en comparación a  $G_{70}$  y  $G_{91}$ , probablemente debido a una mayor concentración de proteína en comparación a  $G_{70}$  y  $G_{91}$ , según el análisis químico proximal, originando una estructura más agregada. En  $G_{70}$  y  $G_{91}$  (Figura 14b y 14c) se visualizó un nivel de estructuración menor, lo que puede ser atribuido a que una menor concentración de proteína originó que los  $\beta$ -glucanos experimentarán una desagregación (Zielke et al., 2018).

Por otra parte, con la finalidad del mejoramiento de las propiedades funcionales de la proteína como la solubilidad, la emulsificación y la estabilidad térmica Zhong et al., (2019), formularon un conjugado de proteína y  $\beta$ -glucanos de *P. ostreatus*, lo cual originó una estructura más estable en comparación al control.

### 3.5.8 Medición de Infrarrojos por Transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia infrarroja es una herramienta en el análisis químico que permite la identificación de los grupos funcionales que se encuentran en una muestra, a través de la representación gráfica del número de onda donde la molécula absorbe radiación infrarroja (Smith, 2011).

La caracterización de los espectros infrarrojos de G<sub>50</sub>, G<sub>70</sub> y G<sub>91</sub> se representaron en la Figura 15, donde la intensidad de las bandas percibidas en el intervalo de 3000 a 3500 cm<sup>-1</sup> son características de los polisacáridos y se atribuye a la vibración del estiramiento -OH en los puentes de hidrógeno, indicando las posibles interacciones intermoleculares que las cadenas del polisacárido pudieron haber establecido (Kozarski et al., 2011).

Por otra parte, la presencia de proteína reportada en G<sub>50</sub>, G<sub>70</sub> y G<sub>91</sub>, fue detectada en transmitancias características (1631, 1527 y 1362 cm<sup>-1</sup>) de las vibraciones Amida I, Amida II y Amida III, respectivamente (Trujillo et al., 2018; Kozarski et al., 2011). Por otro lado, se identificó en la banda 2918 cm<sup>-1</sup> la presencia de fracciones lipídicas debida a la vibración del estiramiento alifático -CH (Synytsya et al., 2009; Crispín-Isidro et al., 2019). Se evidenció un pico a 1392 cm<sup>-1</sup>, lo que confirmó la presencia de grupos fenólicos (Tiwari et al., 2021), probablemente presentes en las moléculas antioxidantes de los  $\beta$ -glucanos. Mientras que la fuerte región de banda entre 800 a 1200 cm<sup>-1</sup> se atribuyó a la vibración del estiramiento C-C del enlace glucosídico, señalando la presencia de polisacáridos. Dentro de este último intervalo de transmitancia se encontró la banda de estiramiento a 1025 cm<sup>-1</sup>, lo que evidenció los enlaces  $\beta$  presentes en la cadena

glucosídica en G<sub>50</sub>, G<sub>70</sub> y G<sub>91</sub> (Tiwari et al., 2021; Murphy et al., 2020; Kozarski et al., 2011; Eyigor et al., 2018).

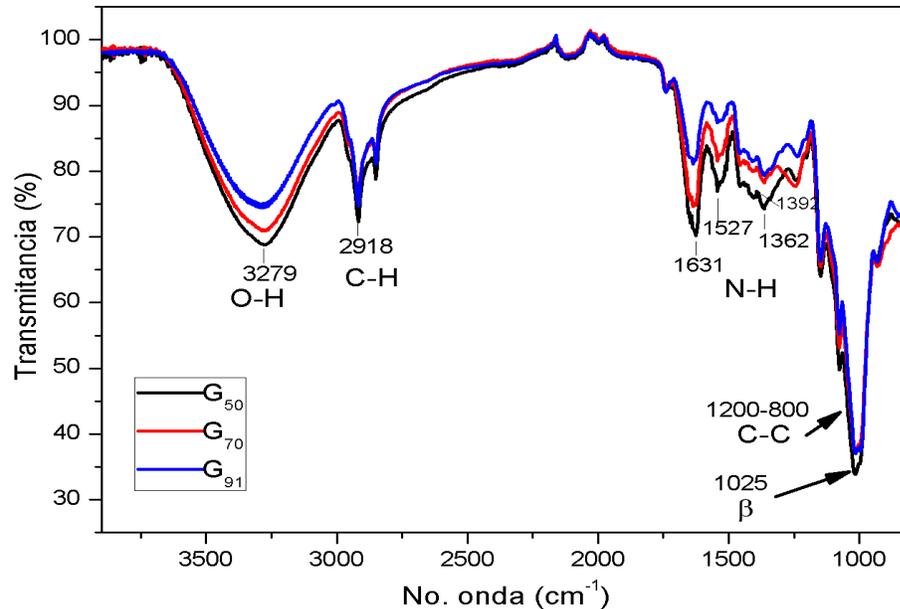


Figura 15. Espectro FTIR de β-glucanos extraídos a 50 (G<sub>50</sub>), 70 (G<sub>70</sub>) y 91 °C(G<sub>91</sub>) de *P. ostreatus* PoB.

De acuerdo con lo expuesto anteriormente y con lo observado en los espectros donde se puede distinguir que los picos equivalentes se fueron desplazando a números de ondas inferiores o superiores, originando una pequeña variación entre cada tratamiento, lo que nos puede indicar que el procedimiento de extracción presentó un efecto en la pureza del β-glucano (Sharpy et al., 2020).

### 3.5.9 Curvas de flujo

Los alimentos son sistemas complejos y su viscosidad depende de la composición, esfuerzo, velocidad de corte, temperatura, tiempo de aplicación del esfuerzo y preparación de la muestra. El análisis del comportamiento reológico es necesario para el diseño, evaluación y simulación de procesos industriales (Zamora et al., 2021; Botella, 2005).

El comportamiento de flujo de las muestras de  $\beta$ -glucanos (Figura 16) mostraron un comportamiento característico de fluidos no newtonianos, al no existir una relación lineal entre el esfuerzo cortante y la tasa de corte, es decir, la viscosidad disminuyó al incrementar la cizalla (Mott, 1996).

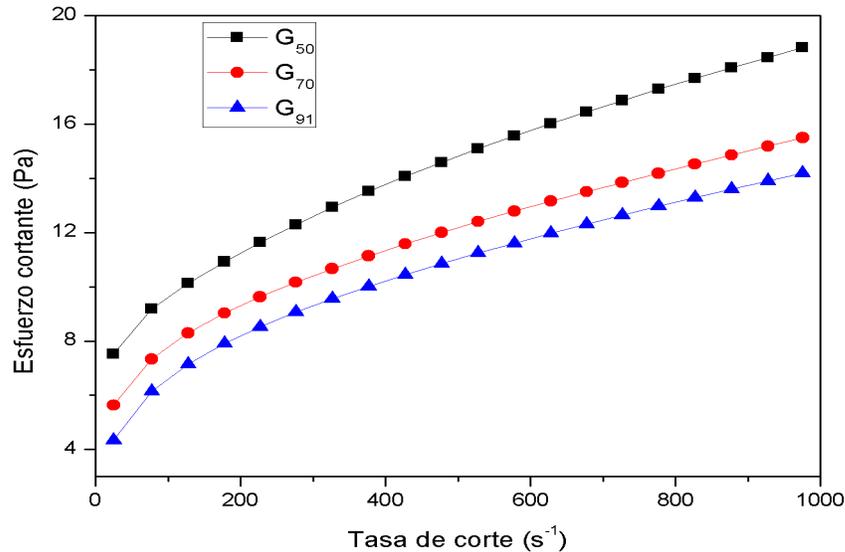


Figura 16. Curvas de flujo de  $\beta$ -glucanos extraídos a 50 ( $G_{50}$ ), 70 ( $G_{70}$ ) y 91  $^{\circ}C$  ( $G_{91}$ ).

Los perfiles de flujo fueron ajustados ( $R^2 = 0.99$ ) al modelo de Herschel-Bulkley, mostrado en la Ecuación 12.

$$(\tau = \tau_0 + k\gamma^n) \dots \dots \dots \text{Ecuación 12}$$

Donde;  $\tau$ = Esfuerzo cortante,  $\tau_0$ = Esfuerzo de fluencia,  $k$ = Coeficiente de consistencia,  $\gamma$ = Velocidad de corte y  $n$ = Índice de flujo.

Los tratamientos describieron un comportamiento reoadelgazante en todos los casos como lo indican los valores menores a 1 en  $n$  (Cuadro 8) (Casarrubias-Castillo et al., 2012). Por otra parte, las muestras empezaron a fluir cuando el esfuerzo de corte ( $\tau$ ) fue superior al esfuerzo de fluencia ( $\tau_0$ ) (Mezger, 2011) de acuerdo con la siguiente tendencia:  $G_{50} > G_{70} > G_{91}$ ; infiriendo que  $G_{50}$  mantuvo

una mayor organización estructural con respecto a G<sub>70</sub> y G<sub>91</sub>, en consecuencia, requirió un mayor esfuerzo de corte para fluir (Gallego et al., 2012). Los valores de K presentaron el mismo perfil que  $\tau_0$  (G<sub>50</sub> > G<sub>70</sub> > G<sub>91</sub>), lo cual puede atribuirse a una diferencia en la composición, siendo más susceptible G<sub>91</sub> a un rompimiento estructural (Sikora et al., 2007).

Cuadro 8 Valores medios de los parámetros del modelo de Herschel-Bulkley

Tratamiento	n	$\tau_0$ (Pa)	K (Pa·s <sup>n</sup> )	R <sup>2</sup>
G <sub>50</sub>	0.55 ± 0.0c <sup>z</sup>	5.86 ± 0.06c	0.67 ± 0.06c	0.99
G <sub>70</sub>	0.46 ± 0.01b	3.63 ± 0.18b	0.47 ± 0.04b	0.99
G <sub>91</sub>	0.42 ± 0.01a	1.83 ± 0.20a	0.29 ± 0.01a	0.99

<sup>z</sup> Media ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma columna indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup> G<sub>50</sub>:  $\beta$ -glucanos extraídos a 50° C; G<sub>70</sub>  $\beta$ -glucanos extraídos a 70° C; G<sub>91</sub>  $\beta$ -glucanos extraídos a 91° C.

Definiendo a la viscosidad como la relación entre el esfuerzo cortante y la velocidad de corte (Ryu et al., 2012), G<sub>50</sub> presentó el mayor valor de viscosidad (0.323 ± 0.0 Pa·s), seguida de G<sub>70</sub> (0.29 ± 0.02 Pa·s) y G<sub>91</sub> (0.172 ± 0.01 Pa·s), valores que son comparables con los obtenidos por Liu et al. (2021) en  $\beta$ -glucanos extraídos a partir de *Hordeum vulgare* por el método de agua caliente (0.22 – 0.44 Pa·s). Estas diferencias pueden estar asociadas con la composición de las muestras. Al respecto Sánchez et al. (1995) reportaron mayores valores de viscosidad en complejos polisacárido-proteína, en comparación a la reportada en los biopolímeros de manera individual. Lo anterior, podría estar relacionado con la presencia de proteína encontrada en el análisis químico proximal, lo que probablemente favoreció el aumento de la viscosidad de la matriz en G<sub>50</sub>, a su vez, este comportamiento podría estar relacionado con el análisis de microestructura, donde G<sub>50</sub> mostró una red más compacta en comparación a G<sub>70</sub> y G<sub>91</sub>.

### **3.6 CONCLUSIONES**

Se obtuvieron tres extractos de  $\beta$ -glucanos ( $G_{50}$ ,  $G_{70}$  y  $G_{91}$ ) con diferente composición química. El grado de pureza ( $> 70\%$ ) tuvo un efecto importante en sus propiedades funcionales, antioxidantes, reológicas y térmicas.

Los resultados indicaron que el extracto que presentó el mayor grado de purificación ( $G_{91}$ ) mostró mayor poder de hinchamiento (PH), mientras que el extracto con menor pureza ( $G_{50}$ ) describió mejor capacidad de unión de la grasa (CUG), capacidad emulsionante (CE) y estabilidad de la emulsión (EE). Todos los extractos presentaron la capacidad de inhibir los radicales libres DPPH y ABTS. El análisis de viscosidad evidenció un comportamiento reoadelgazante, con un requerimiento superior de esfuerzo de fluencia en  $G_{50}$ , resultados que se relacionaron con los obtenidos en el análisis de microestructura al mostrar un mayor grado de agregación y densidad de la red en  $G_{50}$ . Los resultados obtenidos respecto al análisis de calorimetría diferencial de barrido indicaron que los extractos mantenían grados de dominio estructural significativamente diferentes,  $G_{50}$  requirió mayor temperatura de fusión para desestabilizarse.

En general estos datos demuestran que la temperatura de extracción tiene efecto sobre la composición química de los  $\beta$ -glucanos, que a su vez se refleja en la capacidad de lograr las propiedades funcionales deseadas en sistemas alimenticios.

### **3.7 AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) de México por la beca de la estudiante de maestría.

### 3.8 LITERATURA CITADA

- Ahmad, A., Anjum, F. M., Zahoor, T., Nawaz, H., & Din, A. (2009). Physicochemical and functional properties of barley  $\beta$ -glucan as affected by different extraction procedures. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(1), 181-187. doi: 10.1111/j.1365-2621.2008.01721.x
- Ahmad, A., Anjum, F. M., Zahoor, T., & Nawaz, H. (2009). Extraction of  $\beta$ -glucan from oat and its interaction with glucose and lipoprotein profile. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(9), 1486-1492. doi: 10.3923/pjn.2009.1486.1492
- Ahmad, A., Anjum, F. M., Zahoor, T., Nawaz, H., & Ahmed, Z. (2010). Extraction and characterization of  $\beta$ -d-glucan from oat for industrial utilization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(3), 304-309. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2010.01.002
- Akhlaghinia, M., Torabi, F., & Chan, C. W. (2014). Experimental investigation of temperature effect on three-phase relative permeability isoperms in heavy oil systems. *Fuel*, 118, 281-290. doi: 10.1016/j.fuel.2013.10.049
- Anchundia, K., Santacruz, S., & Coloma, J. (2016). Caracterización física de películas comestibles a base de cáscara de plátano (*Musa paradisiaca*). *Revista Chilena de Nutrición*, 43(4), 394-399. doi: 10.4067/S0717-75182016000400009
- Apak, R., Capanoglu, E., & Shahidi, F. (2017). Measurement of antioxidant activity and capacity: Recent trends and applications. Recuperado de <https://books.google.es/>
- Association of Analytical Communities (AOAC) (1996). *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemist. EUA
- Bacha, U., Nasir, M., Iqbal, S., & Anjum, A. A. (2017). Nutraceutical, anti-inflammatory, and immune modulatory effects of  $\beta$ -glucan isolated from yeast. *BioMed Research International*, 2017. doi: 10.1155/2017/8972678
- Bae, I. Y., Lee, S., Kim, S. M., & Lee, H. G. (2009). Effect of partially hydrolyzed oat  $\beta$ -glucan on the weight gain and lipid profile of mice. *Food Hydrocolloids*, 23(7), 2016-2021. doi: 10.1016/j.foodhyd.2009.03.016
- Bai, Y. P., Zhou, H. M., Zhu, K. R., & Li, Q. (2021). Effect of thermal processing on the molecular, structural, and antioxidant characteristics of highland barley  $\beta$ -glucan. *Carbohydrate Polymers*, 271, 118416. doi: 10.1016/j.carbpol.2021.118416
- Bautista Justo, M. (1997). Valor nutricio de tres cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
- Beveridge, T. J., Lawrence, J. R., & Murray, R. G. (2007). Sampling and staining for light microscopy. *Methods for General and Molecular Microbiology*, 19-33. doi: 10.1128/9781555817497.ch2

- Botella, R. M. (2005). Reología de suspensiones cerámicas. Recuperado de <https://books.google.com.mx/>
- Borchani, C., Fonteyn, F., Jamin, G., Destain, J., Willems, L., Paquot, M., & Thonart, P. (2016). Structural characterization, technological functionality, and physiological aspects of fungal  $\beta$ -D-glucans: a review. *Critical reviews in Food Science and Nutrition*, 56(10), 1746-1752. doi: 10.1080/10408398.2013.854733
- Castro-Alves, V. C., & do Nascimento, J. R. O. (2016). Speeding up the extraction of mushroom polysaccharides. *Food Analytical Methods*, 9(9), 2429-2433. doi: 10.1007/s12161-016-0406-9
- Chaari, F., Belghith-Fendri, L., Zaouri-Ellouzi, S., Driss, D., Blibech, M., Kallel, F., ... & Ghorbel, R. (2016). Antibacterial and antioxidant properties of mixed linkage beta-oligosaccharides from extracted  $\beta$ -glucan hydrolysed by *Penicillium occitanis* EGL lichenase. *Natural Product Research*, 30(12), 1353-1359. doi: 10.1080/14786419.2015.1056185
- Chang, S. T., & Wasser, S. P. (2012). The role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 14(2). doi: 10.1615/IntJMedMushr.v14.i2.10
- Cheison, S. C., Wang, Z., & Xu, S. Y. (2007). Preparation of whey protein hydrolysates using a single-and two-stage enzymatic membrane reactor and their immunological and antioxidant properties: characterization by multivariate data analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 3896-3904. doi: 10.1021/jf062936i
- Chirapongsatonkul, N., Mueangkan, N., Wattitum, S., & Kittichon, U. (2019). Comparative evaluation of the immune responses and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) induced by yeast  $\beta$ -glucan and crude glucan derived from mycelium in the spent mushroom substrate of *Schizophyllum commune*. *Aquaculture Reports*, 15, 100205. doi: 10.1016/j.aqrep.2019.100205
- Choi, J., Zielke, C., Nilsson, L., & Lee, S. (2017). Characterization of the molar mass distribution of macromolecules in beer for different mashing processes using asymmetric flow field-flow fractionation (AF4) coupled with multiple detectors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(19), 4551-4558. doi: 10.1007/s00216-017-0393-8
- Comin, L. M., Temelli, F., & Saldaña, M. D. (2012). Barley beta-glucan aerogels via supercritical CO<sub>2</sub> drying. *Food Research International*, 48(2), 442-448. doi: 10.1016/j.foodres.2012.05.002
- Crispín-Isidro, G., Hernández-Rodríguez, L., Ramírez-Santiago, C., Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., & Vernon-Carter, E. J. (2019). Influence of purification on physicochemical and emulsifying properties of tamarind (*Tamarindus indica* L.) seed gum. *Food Hydrocolloids*, 93, 402-412. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.02.046

- Cox, M. M., Lehninger, A. L., & Nelson, D. L. (2006). Principios de Bioquímica, España: Omega. 85-94
- Damodaran, S., & Parkin, K. L. (2018). Química de alimentos de Fennema, España: Artmed.
- de Jesus, L. I., Smiderle, F. R., Cordeiro, L. M., de Freitas, R. A., Van Griensven, L. J., & Iacomini, M. (2018). Simple and effective purification approach to dissociate mixed water-insoluble  $\alpha$ - and  $\beta$ -D-glucans and its application on the medicinal mushroom *Fomitopsis betulina*. Carbohydrate Polymers, 200, 353-360. doi: 10.1016/j.carbpol.2018.08.004
- de la Cruz, E. R., Morales, Y. Q., Rosa, C., & Savón, C. B. (2013). Contenido de fenoles totales en extractos de *Pleurotus* obtenidos con solventes de diferente polaridad. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 32(2), 121-129.
- Eyal, A. M., & Canari, R. (1995). pH dependence of carboxylic and mineral acid extraction by amine-based extractants: effects of pKa, amine basicity, and diluent properties. Industrial & Engineering Chemistry Research, 34(5), 1789-1798. doi: 10.1021/ie00044a030
- Eyigor, A., Bahadori, F., Yenigun, V. B., & Eroglu, M. S. (2018). Beta-Glucan based temperature responsive hydrogels for 5-ASA delivery. Carbohydrate Polymers, 201, 454-463. doi: 10.1016/j.carbpol.2018.08.053
- Freimund, S., Janett, S., Arrigoni, E., & Amadó, R. (2005). Optimised quantification method for yeast-derived 1, 3- $\beta$ -D-glucan and  $\alpha$ -D-mannan. European Food Research and Technology, 220(1), 101-105. doi: 10.1007/s00217-004-1008-0
- Gaitán-Hernández, R., & Silva Huerta, A. (2016). Use of local agricultural wastes to the production of *Pleurotus spp.*, in a rural community from Veracruz, México. Revista mexicana de micología, 43, 43-47.
- Gallego, H., Álvarez, C., Vélez, C., & Fernández, A. (2012). Caracterización reológica de dos salsas alimenticias. Vitae, 19(1), S433-S435. doi: 10.5419/bjpg2020-0011
- Gao, X., Qi, J., Ho, C. T., Li, B., Mu, J., Zhang, Y., ... & Xie, Y. (2020). Structural characterization and immunomodulatory activity of a water-soluble polysaccharide from *Ganoderma leucocontextum* fruiting bodies. Carbohydrate Polymers, 249, 116874. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116874
- Gong, P., Wang, S., Liu, M., Chen, F., Yang, W., Chang, X., ... & Chen, X. (2020). Extraction methods, chemical characterizations and biological activities of mushroom polysaccharides: A mini-review. Carbohydrate Research, 494, 108037. doi: 10.1016/j.carres.2020.108037
- Hromadkova, Z., & Ebringerová, A. (2003). Ultrasonic extraction of plant materials—investigation of hemicellulose release from buckwheat hulls. Ultrasonics sonochemistry, 10(3), 127-133. doi: 10.1016/S1350-4177(03)00094-4

- Höhne, G., McNaughton, J. L., Hemminger, W., Flammersheim, H. J., & Flammersheim, H. J. (2003). *Differential scanning calorimetry*. Springer Science & Business Media.
- Izydorczyk, M., Cui, S. W., & Wang, Q. (2005). Polysaccharide gums: structures, functional properties, and applications. *Food carbohydrates: Chemistry, physical properties, and applications*.
- Jaworska, D., Królak, M., Przybylski, W., & Jezewska-Zychowicz, M. (2020). Acceptance of fresh pasta with  $\beta$ -glucan addition: expected versus perceived liking. *Foods*, 9(7), 869. doi: 10.3390/foods9070869
- Karimi, R., Azizi, M. H., & Xu, Q. (2019). Effect of different enzymatic extractions on molecular weight distribution, rheological and microstructural properties of barley bran  $\beta$ -glucan. *International journal of biological macromolecules*, 126, 298-309. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.165
- Karp, S., Wyrwicz, J., & Kurek, M. A. (2019). Comparative analysis of the physical properties of o/w emulsions stabilised by cereal  $\beta$ -glucan and other stabilisers. *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, 236-243. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.212
- Kaur, R., & Riar, C. S. (2020). Sensory, rheological and chemical characteristics during storage of set type full fat yoghurt fortified with barley  $\beta$ -glucan. *Journal of Food Science and Technology*, 57(1), 41-51. doi: 10.1007/s13197-019-04027-7
- Khan, A. A., Gani, A., Shah, A., Masoodi, F. A., Hussain, P. R., Wani, I. A., & Khanday, F. A. (2015). Effect of  $\gamma$ -irradiation on structural, functional and antioxidant properties of  $\beta$ -glucan extracted from button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 31, 123-130. doi: 10.1016/j.ifset.2015.05.006
- Khan, A. A., Gani, A., Masoodi, F. A., Amin, F., Wani, I. A., Khanday, F. A., & Gani, A. (2016). Structural, thermal, functional, antioxidant & antimicrobial properties of  $\beta$ -d-glucan extracted from baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)—Effect of  $\gamma$ -irradiation. *Carbohydrate Polymers*, 140, 442-450. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.01.003
- Khan, A. A., Gani, A., Masoodi, F. A., Mushtaq, U., & Naik, A. S. (2017). Structural, rheological, antioxidant, and functional properties of  $\beta$ -glucan extracted from edible mushrooms *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* and *Coprinus attrimentarius*. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 11, 67-74. doi: 10.1016/j.bcdf.2017.07.006
- Kettawan, A., Chanlekha, K., Kongkachuichai, R., & Charoensiri, R. (2011). Effects of cooking on antioxidant activities and polyphenol content of edible mushrooms commonly consumed in Thailand. *Pakistan Journal of Nutrition*. doi: 10.3923/pjn.2011.1094.1103
- Kondyli, E., Pappa, E. C., Kremmyda, A., Arapoglou, D., Metafa, M., Eliopoulos, C., & Israilides, C. (2020). Manufacture of reduced fat white-brined cheese

with the addition of  $\beta$ -glucans biobased polysaccharides as textural properties improvements. *Polymers*, 12(11), 2647. doi: 10.3390/polym12112647

- Korley Kortei, N., Tawia Odamtten, G., Obodai, M., Appiah, V., & Toah Akonor, P. (2015). Determination of color parameters of gamma irradiated fresh and dried mushrooms during storage. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*, 10(1-2), 66-71.
- Kozarski, M., Klaus, A., Niksic, M., Jakovljevic, D., Helsper, J. P., & Van Griensven, L. J. (2011). Antioxidative and immunomodulating activities of polysaccharide extracts of the medicinal mushrooms *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Ganoderma lucidum* and *Phellinus linteus*. *Food Chemistry*, 129(4), 1667-1675. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.06.029
- Lam, R. S., & Nickerson, M. T. (2013). Food proteins: a review on their emulsifying properties using a structure–function approach. *Food Chemistry*, 141(2), 975-984. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.04.038
- Leong, Y. K., Yang, F. C., & Chang, J. S. (2021). Extraction of polysaccharides from edible mushrooms: Emerging technologies and recent advances. *Carbohydrate Polymers*, 251, 117006. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.117006
- Lin, M. J. Y., Humbert, E. S., & Sosulski, F. W. (1974). Certain functional properties of sunflower meal products. *Journal of Food Science*, 39(2), 368-370. doi: 10.1111/j.1365-2621.1974.tb02896.x
- Liu, H., Li, Y., You, M., & Liu, X. (2021). Comparison of physicochemical properties of  $\beta$ -glucans extracted from hull-less barley bran by different methods. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 1192-1199. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.05.043
- Liu, Y., Zhang, J., Tang, Q., Yang, Y., Guo, Q., Wang, Q., ... & Cui, S. W. (2014). Physicochemical characterization of a high molecular weight bioactive  $\beta$ -d-glucan from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*. *Carbohydrate Polymers*, 101, 968-974. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.10.024
- Maity, P., Nandi, A. K., Manna, D. K., Pattanayak, M., Sen, I. K., Bhanja, S. K., ... & Islam, S. S. (2017). Structural characterization and antioxidant activity of a glucan from *Meripilus giganteus*. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1237-1245. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.11.006
- Meaño Correa, N., Ciarfella Pérez, A. T., & Dorta Villegas, A. M. (2014). Evaluación de las propiedades químicas y funcionales del almidón nativo de ñame congo (*Dioscorea bulbifera* L.) para predecir sus posibles usos tecnológicos. *Saber*, 26(2), 182-188.
- Mezger, T. (2020). *The Rheology Handbook: For users of rotational and oscillatory rheometers*. Vincentz Network. doi: 10.1515/9783748603702
- Miyaji, A., Kohno, M., Inoue, Y., & Baba, T. (2016). Singlet oxygen generation during the oxidation of L-tyrosine and L-dopa with mushroom tyrosinase.

Biochemical and Biophysical Research Communications, 471(4), 450-453.  
doi: 10.1016/j.bbrc.2016.02.056

- Mohebbi, Z., Azizi-Lalabadi, M., Hosseini, S. J., Nowrouzani, S. A., Alizadeh, M., & Homayouni, A. (2019). The effects of prebiotic bread containing oat  $\beta$ -glucan and resistant starch on the glycemic index and glycemic load in healthy individuals. *Nutrition & Food Science*. doi: 10.1108/NFS-10-2018-0292
- Momtaz, S., Lall, N., & Basson, A. (2008). Inhibitory activities of mushroom tyrosine and DOPA oxidation by plant extracts. *South African Journal of Botany*, 74(4), 577-582. doi: 10.1016/j.sajb.2008.02.005
- Morales, D., Rutckeviski, R., Villalva, M., Abreu, H., Soler-Rivas, C., Santoyo, S., ... & Smiderle, F. R. (2020). Isolation and comparison of  $\alpha$ - and  $\beta$ -D-glucans from shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) with different biological activities. *Carbohydrate Polymers*, 229, 115521. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115521
- Morales, D., Smiderle, F. R., Piris, A. J., Soler-Rivas, C., & Prodanov, M. (2019). Production of a  $\beta$ -D-glucan-rich extract from Shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) by an extraction/microfiltration/reverse osmosis (nanofiltration) process. *Innovative food science & emerging technologies*, 51, 80-90. doi: 10.1016/j.ifset.2018.04.003
- Murphy, E. J., Masterson, C., Rezoagli, E., O'Toole, D., Major, I., Stack, G. D., ... & Rowan, N. J. (2020).  $\beta$ -Glucan extracts from the same edible shiitake mushroom *Lentinus edodes* produce differential in-vitro immunomodulatory and pulmonary cytoprotective effects—Implications for coronavirus disease (COVID-19) immunotherapies. *Science of the Total Environment*, 732, 139330. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139330
- Nagle, J. F., & Wilkinson, D. A. (1978). Lecithin bilayers. Density measurement and molecular interactions. *Biophysical Journal*, 23(2), 159-175. doi: 10.1016/S0006-3495(78)85441-1
- Neto, V. Q., Narain, N., Silva, J. B., & Bora, P. S. (2001). Functional properties of raw and heat processed cashew nut (*Anacardium occidentale*, L.) kernel protein isolates. *Food/Nahrung*, 45(4), 258-262. doi: 10.1002/1521-3803
- Nollet, L. M. L 1996 Handbook of Food Analysis; M.
- Peterson, P. K., Verhoef, J. A. N., Sabath, L. D., & Quie, P. G. (1977). Effect of protein A on staphylococcal opsonization. *Infection and immunity*, 15(3), 760-764. doi: 10.1128/iai.15.3.760-764.1977
- 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(9-10), 1231-1237. doi: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3
- Ryu, J. H., Lee, S., You, S., Shim, J. H., & Yoo, S. H. (2012). Effects of barley and oat  $\beta$ -glucan structures on their rheological and thermal characteristics.

Carbohydrate Polymers, 89(4), 1238-1243. doi:  
10.1016/j.carbpol.2012.04.025

- Roncero-Ramos, I., Mendiola-Lanao, M., Pérez-Clavijo, M., & Delgado-Andrade, C. (2017). Effect of different cooking methods on nutritional value and antioxidant activity of cultivated mushrooms. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68(3), 287-297. doi: 10.1080/09637486.2016.1244662
- Sánchez, V. E., Bartholomai, G. B., & Pilosof, A. M. R. (1995). Rheological properties of food gums as related to their water binding capacity and to soy protein interaction. *LWT-Food Science and Technology*, 28(4), 380-385. doi: 10.1016/0023-6438(95)90021-7
- Sikora, M., Kowalski, S., Tomasik, P., & Sady, M. (2007). Rheological and sensory properties of dessert sauces thickened by starch-xanthan gum combinations. *Journal of Food Engineering*, 79(4), 1144-1151. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2006.04.003
- Smith, B. C. (2011). *Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy*. CRC press.
- Singh, S., Kaur, M., & Sogi, D. S. (2018).  $\beta$ -glucan from different Indian oat (*Avena sativa*) cultivars: Chemical, functional, structural, and rheological properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(11), e13788. doi: 10.1111/jfpp.13788
- Skendi, A., Biliaderis, C. G., Lazaridou, A., & Lzydorczyk, M. S. (2003). Structure and rheological properties of water soluble  $\beta$ -glucans from oat cultivars of *Avena sativa* and *Avena bysantina*. *Journal of Cereal Science*, 38(1), 15-31. doi: 10.1016/S0733-5210(02)00137-6
- Sourki, A. H., Koocheki, A., & Elahi, M. (2017). Ultrasound-assisted extraction of  $\beta$ -d-glucan from hull-less barley: assessment of physicochemical and functional properties. *International journal of biological macromolecules*, 95, 462-475. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.10.111
- Szpicier, A., Onopiuk, A., Póltorak, A., & Wierzbicka, A. (2020). The influence of oat  $\beta$ -glucan content on the physicochemical and sensory properties of low-fat beef burgers. *CyTA-Journal of Food*, 18(1), 315-327. doi: 10.1080/19476337.2020.1750095
- Synytsya, A., Míčková, K., Synytsya, A., Jablonský, I., Spěváček, J., Erban, V., ... & Čopíková, J. (2009). Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. *Carbohydrate Polymers*, 76(4), 548-556. doi: doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.11.021
- Syed, A & Singh, S. (2013). Physicochemical, thermal, rheological and morphological characteristics of starch from three Indian lotus root (*Nelumbo Nucifera Gaertn*) cultivars. *Journal of Food Processing & Technology*, doi: 10.4172/2157-7110.S1-003.

- Temelli, F. (1997). Extraction and functional properties of barley  $\beta$ -glucan as affected by temperature and pH. *Journal of Food Science*, 62(6), 1194-1201. doi: 10.1111/j.1365-2621.1997.tb12242.x
- Tiram, C. (2013). Effect of different drying techniques on the nutritional values of oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*). *Sains Malaysiana*, 42(7), 937-941.
- Tiwari, A., Singh, G., Sharma, V., Srivastava, R. K., & Sharma, S. (2021). Harnessing the potential of UVB irradiation for improving the nutraceutical properties of edible xylotrophic mushroom dried powder. *LWT*, 111913. doi: 10.1016/j.lwt.2021.111913
- Totosaus, A. (2006). *Funcionalidad de proteínas musculares, México: Tese.*
- Tungland, B. C., & Meyer, D. (2002). Nondigestible oligo-and polysaccharides (Dietary Fiber): their physiology and role in human health and food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1(3), 90-109. doi: 10.1111/j.1541-4337.2002.tb00009.x
- Urbanelli, S., Della Rosa, V., Punelli, F., Porretta, D., Reverberi, M., Fabbri, A. A., & Fanelli, C. (2007). DNA-fingerprinting (AFLP and RFLP) for genotypic identification in species of the *Pleurotus eryngii* complex. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(3), 592-600. doi: 10.1007/s00253-006-0684-z
- Vaikousi, H., Biliaderis, C. G., & Izydorczyk, M. S. (2004). Solution flow behavior and gelling properties of water-soluble barley (1 $\rightarrow$ 3, 1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -glucans varying in molecular size. *Journal of Cereal Science*, 39(1), 119-137. doi: 10.1016/j.jcs.2003.09.001
- Wong, K. H., & Cheung, P. C. (2005). Dietary fibers from mushroom sclerotia: 1. Preparation and physicochemical and functional properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(24), 9395-9400. doi: 10.1021/jf0510788
- Xu, J. Z., Zhang, J. L., Hu, K. H., & Zhang, W. G. (2013). The relationship between lignin peroxidase and manganese peroxidase production capacities and cultivation periods of mushrooms. *Microbial Biotechnology*, 6(3), 241-247. doi: 10.1111/j.1751-7915.2012.00365.x
- Xue, Z., Chen, Y., Jia, Y., Wang, Y., Lu, Y., Chen, H., & Zhang, M. (2019). Structure, thermal and rheological properties of different soluble dietary fiber fractions from mushroom *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler residues. *Food Hydrocolloids*, 95, 10-18. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.04.015
- Yun, L., Wu, T., Liu, R., Li, K., & Zhang, M. (2018). Structural variation and microrheological properties of a homogeneous polysaccharide from wheat germ. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(11), 2977-2987. doi: 10.1021/acs.jafc.7b04730
- Zamora, W. R. M., Valdiviezo, D. L. E., Chero, M. J. S., Velayarce, H. H. M., Yujra, J. A. T., Seclén, J. D. D. M., & Kong, J. A. R. (2021). *Reología y Viscosidad de los Alimentos. Savez Editorial.*

- Zielke, C., Lu, Y., Poinso, R., & Nilsson, L. (2018). Interaction between cereal  $\beta$ -glucan and proteins in solution and at interfaces. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 162, 256-264. doi: 10.1016/j.colsurfb.2017.11.059
- Zielke, C., Lu, Y., & Nilsson, L. (2019). Aggregation and microstructure of cereal  $\beta$ -glucan and its association with other biomolecules. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 560, 402-409. doi: 10.1016/j.colsurfa.2018.10.042
- Zhang, J., Wen, C., Gu, J., Ji, C., Duan, Y., & Zhang, H. (2019). Effects of subcritical water extraction microenvironment on the structure and biological activities of polysaccharides from *Lentinus edodes*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123, 1002-1011. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.194
- Zhong, L., Ma, N., Wu, Y., Zhao, L., Ma, G., Pei, F., & Hu, Q. (2019). Characterization and functional evaluation of oat protein isolate-*Pleurotus ostreatus*  $\beta$ -glucan conjugates formed via Maillard reaction. *Food Hydrocolloids*, 87, 459-469. doi: 10.1016/j.foodhyd.2018.08.034
- Zhuang, H., Chen, Z., Feng, T., Yang, Y., Zhang, J., Liu, G., ... & Ye, R. (2017). Characterization of *Lentinus edodes*  $\beta$ -glucan influencing the in vitro starch digestibility of wheat starch gel. *Food Chemistry*, 224, 294-301. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.12.087