



## CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

Artículo original de investigación

### Composición de fenoles y propiedades antioxidantes de la seta *Pleurotus ostreatus*. Aplicación en alimentos funcionales

Yaixa Beltrán Delgado <sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0002-7149-5069>  
Humberto J Morris Quevedo <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-3916-8594>  
Isabelle Perraud Gaimé <sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0003-0564-6583>  
Julio Alberto Rojas Vargas <sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8877-1592>  
Juan Carlos Ferrer Romero <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8711-0127>  
Onel Fong Lores <sup>4</sup> <https://orcid.org/0000-0001-8595-3107>  
Yamila Lebeque Pérez <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-6680-6301>  
Rosa Catalina Bermúdez Savón <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8901-8826>  
Nora García Oduardo <sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-9120-038X>  
Marcos Meneses Mayo <sup>5</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7381-6690>  
Paul Cos <sup>6</sup> <https://orcid.org/0000-0003-4361-8911>  
Serge Mokha <sup>7</sup> <https://orcid.org/0000-0002-9299-8466>  
Jorge Luis Arce Ferrera <sup>8</sup> <https://orcid.org/0009-0000-7083-608x>  
Manuel Isidro Yebra Díaz <sup>1</sup> <https://orcid.org/0009-0001-3256-755X>

<sup>1</sup> Centro de Estudios de Biotecnología Industrial, Universidad de Oriente. Santiago de Cuba, Cuba

<sup>2</sup> Instituto para la Investigación y Desarrollo. Marsella, Francia

<sup>3</sup> Departamento de Química, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Oriente. Santiago de Cuba, Cuba

<sup>4</sup> Centro de Toxicología y Biomedicina, Universidad de Ciencias Médicas. Santiago de Cuba, Cuba

<sup>5</sup> Universidad Anáhuac. México Norte, México

<sup>6</sup> Universidad de Amberes. Amberes, Bélgica

<sup>7</sup> Universidad de Burdeos. Burdeos, Francia

<sup>8</sup> Empresa Provincial de la Industria Alimentaria. Santiago de Cuba, Cuba

\* Autor para la correspondencia: [yaixa@uo.edu.cu](mailto:yaixa@uo.edu.cu)

#### RESUMEN

##### Editor

Lisset González Navarro  
Academia de Ciencias de Cuba.  
La Habana, Cuba

##### Traductor

Darwin A. Arduengo García  
Academia de Ciencias de Cuba.  
La Habana, Cuba

**Introducción:** *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. (Basidiomycota) presenta propiedades nutricionales y medicinales de interés para la ciencia. **Objetivos:** determinar el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante de bioproductos de *P. ostreatus*, con aplicación en la formulación de galletas biofuncionales. **Métodos:** Se determinaron los fenoles totales y la actividad antioxidante a través de la captación del radical DPPH•, la estimación del poder reductor y el efecto citoprotector en eritrocitos humanos frente al daño por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Se identificaron los compuestos fenólicos mayoritarios en el bioproducto acuoso de la biomasa, cuyas capacidades de interacción con proteínas del balance redox se evaluaron en modelos in silico. Se realizó la formulación de galletas biofuncionales con harina de la seta estudiada. **Resultados:** Se obtuvieron compuestos fenólicos, con concentraciones variables según el tipo de fermentación, métodos de extracción y etapas de crecimiento del hongo. El poder reductor mostró valores superiores en los bioproductos de la seta cultivada por fermentación en estado sólido, mientras la captación del DPPH• fue superior en el bioproducto del micelio de la fermentación sumergida. Los bioproductos evaluados mostraron efecto citoprotector.

Se identificaron los compuestos fenólicos, ácido gálico, ácido homogentísico, ácido clorogénico, ácido cafeico y naringina. El estudio predictivo in silico, mostró valores promisorios en la interacción de los fenoles con proteínas del balance redox. Se elaboraron galletas de harina de setas con valor nutricional y capacidad antioxidante. **Conclusiones:** Los resultados mostraron las potencialidades antioxidantes de los bioproductos de *P. ostreatus*, como fuente de antioxidantes naturales para las industrias alimentaria y médico farmacéutico.

**Palabras clave:** antioxidante; alimentos biofuncionales; fenoles; *Pleurotus ostreatus*

## Phenols composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* mushroom. Application in biofunctional foods

### ABSTRACT

**Introduction:** *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. (Basidiomycota) presents nutritional and medicinal properties of interest. **Objectives:** To determine the total phenolic content and antioxidant activity of *P. ostreatus* bioproducts, with application in the formulation of biofunctional cookies. **Methods:** They were determined total phenolics and antioxidant activity through the scavenging of the DPPH• radical, the estimation of the reducing power and the cytoprotective effect in human erythrocytes against damage by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. They were identified the major phenolic compounds in the aqueous bioproduct of the biomass, whose interaction capacities with redox balance proteins were evaluated by in silico models. It was carried out the formulation of biofunctional cookies with flour from the studied mushroom. **Results:** They were obtained phenolic compounds, with variable concentrations depending on the type of fermentation, extraction methods and growth stages of the fungus. The reducing power showed higher values in the bioproducts of the mushroom grown by Solid State Fermentation, while the uptake of DPPH• was higher in the mycelium bioproduct of submerged fermentation. The bioproducts evaluated showed cytoprotective effect. They were identified phenolic compounds, gallic acid, homogentisic acid, chlorogenic acid, caffeic acid and naringin. The in silico predictive study showed promising values in the interaction of phenols with redox balance proteins. They were made mushroom flour cookies with nutritional value and antioxidant capacity. **Conclusions:** The results showed the antioxidant potential of *P. ostreatus* bioproducts, as a source of natural antioxidants for the food and medical-pharmaceutical industries.

**Keywords:** antioxidant; biofunctional foods; phenols; *Pleurotus ostreatus*

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad el estrés oxidativo se encuentra relacionado con varias enfermedades tales como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, respiratorias y diabetes, cuya morbilidad y mortalidad se incrementa cada año. <sup>(1)</sup> De ahí la búsqueda de agentes derivados de fuentes naturales con capacidad para reducir el estrés oxidativo. En este escenario se destacan los hongos comestibles medicinales, los cuales constituyen una fuente de metabolitos bioactivos, con aplicaciones farmacológicas tales como las antioxidantes. <sup>(2)</sup>

Los metabolitos de hongos se pueden obtener de diferentes fuentes, ya sea en estado silvestre o cultivados comercialmente a partir de cuerpos fructíferos, la biomasa micelial, sustrato remanente, entre otros, los cuales pueden ser utilizados para la obtención de extractos ricos en compuestos bioactivos que pudieran ser explorados para el uso de diferentes industrias y sectores como alimentaria, cosmética, farmacéutica, la agricultura, entre otras. <sup>(3,4,5)</sup>

Dentro del grupo de hongos comestibles medicinales figuran las especies del género *Pleurotus*, las cuales pueden ser cultivadas por fermentación sumergida y en estado só-

lido. Además, el sustrato remanente proveniente de su cultivo puede ser utilizado como fertilizante, alimento animal y la producción de biogás, entre otros. <sup>(6)</sup> Ambos procedimientos resultan de interés para la obtención de bioproductos con una riqueza micoquímica de alto valor medicinal y nutricional.

En particular, dentro de este género, se encuentra la especie *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. (Basidiomycota) -conocido como el hongo ostra. Dicha especie constituye una rica fuente de proteínas, fibra dietética, minerales, vitamina B, carbohidratos sin almidón, micoesteroles y grasas mayoritariamente poliinsaturadas. Las proteínas de estos hongos son de alta calidad y contienen abundantes aminoácidos esenciales. <sup>(7)</sup> Por otro lado, también posee compuestos bioactivos, como polisacáridos ( $\beta$ -glucanos), péptidos, proteínas, lectinas, compuestos fenólicos, poliquétidos, terpenoides y enzimas. <sup>(8)</sup>

Al respecto en el Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (CEBI) de la Universidad de Oriente se ha desarrollado la tecnología de cultivo de esta especie en diferentes sustratos lignocelulósicos procedentes de la agroindustria, obteniendo los mejores resultados de eficiencia biológica y rendimiento en la pulpa de café. Por otra parte, también se han realizado evaluaciones in vitro e in vivo sobre la actividad inmunomoduladora y antitumoral de dicha especie, con resultados promisorios. <sup>(9,10)</sup> No obstante, las investigaciones efectuadas en esta especie, referidas a sus efectos antioxidantes, han tenido un carácter limitado y existen insuficientes evidencias experimentales con relación a sus posibles mecanismos de acción. Este elemento, podría servir de base para futuros estudios en el diseño y aplicación de productos derivados de *P. ostreatus* para la profilaxis y tratamiento de estados relacionados con el estrés oxidativo.

Tomando en consideración estos aspectos se planteó el problema de investigación Las insuficientes evidencias experimentales de la actividad antioxidante de los micocompuestos presentes en *Pleurotus ostreatus*, en cuanto a los procedimientos biotecnológicos de su cultivo, sus etapas de crecimiento y los métodos de obtención de sus bioproductos, limitan el desarrollo de formulaciones con potencialidades profilácticas y terapéuticas para el manejo de enfermedades asociadas al estrés oxidativo. Por lo que el objetivo del trabajo estuvo encaminado a determinar la composición de fenoles y propiedades antioxidantes en modelos experimentales in vitro e in silico de la seta *Pleurotus ostreatus*.

## MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en la Planta de investigación-producción de setas comestibles, el Laboratorio de inmunología del CEBI, el Laboratorio de Bioquímica del Departamento de Biología, todos pertenecientes a la Universidad de

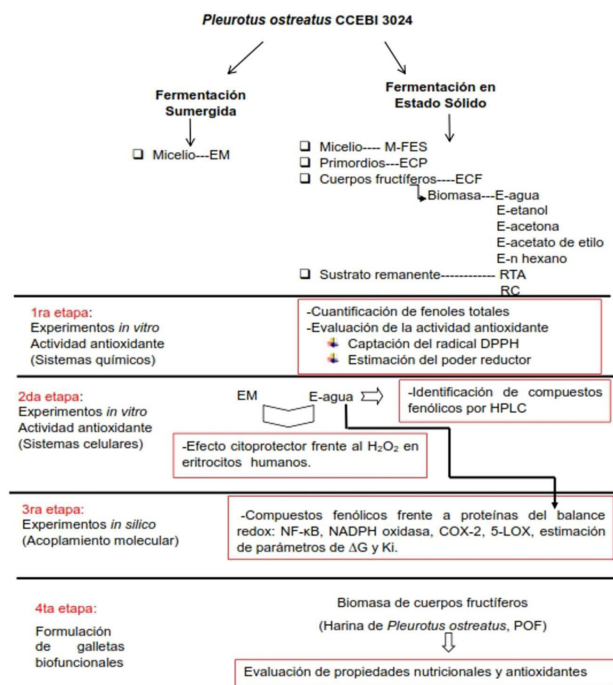
Oriente. Algunos de los ensayos se desarrollaron en el Laboratorio de Bioquímica del Centro de Toxicología y Biomedicina y el Laboratorio de Ciencias Básicas, ambos pertenecientes a la Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba. Los cálculos correspondientes a los modelos in silico se realizaron con la Estación de Cálculos Complejos del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Oriente. La formulación de las galletas biofuncionales se realizó en el Palacio de Santa Rita, panadería especializada perteneciente a la Empresa Provincial Alimentaria (EPIA, Santiago de Cuba). El estudio contempló la investigación, desarrollo e innovación. La investigación tuvo lugar en un período desde 2017-2022.

En la investigación se utilizó la cepa de *Pleurotus ostreatus* CCEBI-3024, la cual está depositada en la colección de cultivos del CEBI. La cepa se mantuvo en medio agar papa dextrosa, incubada a 5 °C. Su propagación se realizó en placas Petri, las cuales se incubaron a 27 °C hasta lograr el crecimiento micelial total. Para la obtención de los diferentes bioproductos de *P. ostreatus*, se utilizaron 2 procedimientos para el cultivo de la seta. El primero de ellos, la fermentación sumergida en medio YPG, de sus siglas en inglés yeast-peptone-glucose, a partir de la cual se obtuvo el micelio (fase vegetativa). De esta biomasa se obtuvo el bioproducto EM a altas temperaturas ([90-95] °C).

El segundo procedimiento estuvo relacionado con la fermentación en estado sólido, utilizando como único sustrato, la pulpa de café (*Coffea canephora*), previamente pasteurizada, bajo las condiciones de cultivo referidas por Bermúdez et al. Se obtuvieron varios bioproductos de las diferentes etapas del desarrollo del hongo durante este tipo de fermentación, los cuales fueron: M-FES (micelio), EC-P (primordios); ECF (cuerpos fructíferos), todos obtenidos a altas temperaturas. <sup>(11)</sup> Posteriormente a partir de la biomasa de cuerpos fructíferos tratada con solventes de diferente polaridad (agua, etanol, acetona, acetato de etilo, n-hexano), se lograron los bioproductos: E-agua; E-etanol; E-acetona; E-acetato de etilo; E-n hexano. Por otro lado, a partir del sustrato remanente del cultivo de la seta, se desarrollaron los bioproductos: RTA (temperatura ambiente) y RC (altas temperaturas). Con los diferentes bioproductos se procedió a realizar las diversas evaluaciones de la investigación, contempladas en diferentes etapas de trabajo, lo cual se encuentra reflejado en la figura 1.

### Determinación de fenoles totales

La determinación de fenoles totales se llevó a cabo según la metodología de Slinkard y Singleton. <sup>(12)</sup> La absorbancia fue medida a 765 nm en un espectrofotómetro UV-Visible (T60, PG Instruments, Reino Unido), y se utilizó una curva de



**Fig. 1.** Diagrama de flujo correspondiente a la evaluación de la actividad antioxidante de los bioproductos de la seta comestible *P. ostreatus*. EM, bioproducto del micelio obtenido

calibración realizada con ácido tánico a las concentraciones de (13, 20, 40 y 50)  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ( $y = 0,009x - 0,123$ ;  $R^2 = 0,993$ ). Los resultados se expresaron como  $\mu\text{g}$  en equivalentes de ácido tánico por 100 g de bioproducto.

### Estimación de la actividad antioxidante de bioproductos de *Pleurotus ostreatus*-Actividad frente al radical 2,2 difenil-1-picrilhidrazilo

La capacidad de las muestras para captar radicales DPPH• libres se determinó según el método de Brand-Williams *et al.* <sup>(13)</sup> Se midió la absorbancia a 517 nm en espectrofotómetro UV-Visible (T60, PG Instruments, Reino Unido). Se utilizó el ácido ascórbico ( $1 \text{ mg mL}^{-1}$ ) como sustancia de referencia. La capacidad de secuestro del radical se determinó por el cálculo del porcentaje de captación del radical libre DPPH• mediante la ecuación 1:

$$\% \text{ de captación del DPPH} \bullet = \frac{AC - AM}{AC} \quad (1)$$

donde:: AC = absorbancia del control a 517 nm;  
AM = absorbancia de la muestra a 517 nm

### Estimación del poder reductor

El poder reductor de los bioproductos de *P. ostreatus*, se realizó según el método de Oyaizu. <sup>(14)</sup> La absorbancia se midió a 700 nm en un espectrofotómetro de UV/Vis (T60, PG Ins-

truments, Reino Unido). Se utilizó ácido ascórbico ( $1 \text{ mg mL}^{-1}$ ) como solución estándar de referencia.

### Efecto citoprotector de EM y E-agua obtenidos de *P. ostreatus*

Las muestras de sangre fresca ([12-15] mL), se colectaron a partir de voluntarios humanos sanos, quienes no habían consumido ningún medicamento 15 d previos al estudio. Para ello se tuvieron en cuenta los protocolos establecidos referidos al consentimiento informado de los voluntarios. Las muestras se añadieron en tubos de ensayo con el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (1:10) y el plasma fue separado por centrifugación (2500 r.p.m x 15 min) en centrífuga (ependorf, 5702 R, Alemania) y luego se descartó. Posteriormente, la suspensión de eritrocitos se lavó con una solución estéril de tampón fosfato salino de sus siglas en inglés phosphate buffered saline, PBS (0,2 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 9 g de NaCl, pH 7,4) por 4 veces hasta que el sobrenadante se observó incoloro y el sedimento fue reconstituido (1:40 v/v,  $8 \times 10^9$  células/mL). La suspensión de eritrocitos, de sus siglas en inglés red blood cells (RBC), se preparó antes de la evaluación *in vitro*.

### Ensayo de inhibición de hemólisis eritrocitaria ante daño oxidativo inducido por H2O2

Los ensayos se realizaron por la inhibición oxidativa de la hemólisis inducida por el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ),

según el método reportado por Escalona *et al.* con modificaciones. <sup>(15)</sup> La suspensión de eritrocitos se trató con tampón fosfato salino (PBS), (control negativo), el control positivo estuvo compuesto por la suspensión de eritrocitos, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 mM) y PBS. Las muestras a evaluar fueron 3: ácido ascórbico y los bioproductos acuosos de *P. ostreatus* (EM y E-agua) a las concentraciones de (0,062; 0,125; 0,250) mg mL<sup>-1</sup>. Todos los grupos experimentales fueron incubados a 37 °C durante 1 h en baño termostático (Precistern, Selecta, S-140, España) y agitados en vortex (Heidolph REAX 2000, SKU 64B, Alemania). Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas, el sobrenadante fue colectado y se midió la absorbancia a 530 nm en espectrofotómetro UV/Vis (T60, PG Instruments, Reino Unido). Todas las muestras fueron preparadas por triplicado. La estabilización de la membrana del eritrocito frente al agente oxidante, fue estimada a través de la ecuación 2:

$$PA (\%) = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100 \quad (2)$$

donde: PA (%) = porcentaje de protección antioxidante; A1 = absorbancia del control negativo; A2 = absorbancia de la muestra evaluada en el medio oxidante

### Identificación de compuestos fenólicos por HPLC-UV en E-agua de *P. ostreatus*

El bioproducto E-agua de *P. ostreatus*, se ajustó a la concentración a 5 mg mL<sup>-1</sup> en metanol al 50 % y se filtró a través de una membrana de 0,22 µm antes del análisis cromatográfico (E-Merck, Darmstadt, Alemania). Los compuestos fenólicos individuales se determinaron utilizando un sistema de la serie Agilent 1200 con desgasificador, bomba cuaternaria, inyección automática, compartimento de columna termostática y un detector con arreglo de diodos (DAD) (Agilent Technologies, Eindhoven, Holanda). La detección de los compuestos fenólicos se realizó a una longitud de onda de 280 nm. La cromatografía en fase reversa se llevó a cabo en una columna C-18 Phenomenex Luna ([250 × 4,6] mm i.d., tamaño de partícula 5 µm, Phenomenex B.V., Utrecht, Holanda) a 26 °C. En la corrida se empleó un gradiente de solvente A (0,1 % solución acuosa de ácido fórmico) y solvente B (Acetonitrilo), con una velocidad de flujo de 1 mL/min según Llauradó *et al.* <sup>(9)</sup> El tiempo de corrida fue de 65 min.

Los compuestos fenólicos individuales fueron identificados de acuerdo con su espectro UV y el tiempo de retención (Rt), en comparación con estándares: ácido gálico, pirogalol, ácido homogentísico, ácido protocatecuico, ácido clorogénico, ácido cafeico, vainillina, ácido felúrico, naringina, naringenina, hesperetina (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) y

cuantificados por el método de cálculo del área bajo la curva comparados con los de los correspondientes estándares. Los reactivos y solventes empleados en la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) fueron de grado analítico.

### Acoplamiento molecular de compuestos fenólicos de *Pleurotus ostreatus* con proteínas del balance redox

Se utilizó el sistema operativo Linux distribución Debian 7.0. Los compuestos fenólicos utilizados se refieren a los detectados en la biomasa de cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* (E-agua), por el método de HPLC, previamente descrito. Se empleó el programa ChemBioDraw Professional 15.0, Cambridge, EE.UU. <sup>(16)</sup> para generar las estructuras de los compuestos fenólicos. Por su parte, el programa, ChemBio3D Ultra 12.0, Cambridge, EE.UU., <sup>(16)</sup> permitió la optimización de la geometría de dichas moléculas, utilizando el método de mecánica molecular MM2 y MMFF94 (en inglés Merck Molecular Force Field). Se utilizó como compuesto de comparación a la mangiferina (1,3; 6,7-Tetrahydroxyxantona-C2-β-D-glucósido).

Se seleccionaron las siguientes proteínas: NF-κB, NADPH-oxidasa, COX-2 y 5-LOX. La estructura tridimensional de las mismas, se obtuvo en formato.pdb de la base de datos de proteínas (PDB, de sus siglas en inglés protein data bank), del Centro Nacional para la información en Biotecnología (del inglés, National center for Biotechnology information), NCBI, EE.UU. El estudio de acoplamiento molecular se llevó a cabo con los programas Auto Dock 4.2 y AutoDockTools 1.56.6, EE.UU., <sup>(17)</sup> La visualización 2D y 3D de las interacciones hidrofóbicas y por puente de hidrógeno de los complejos, se efectuó por el programa Discovery Studio Visualizer v.20.1.0.19295. <sup>(18)</sup> Según el análisis realizado en la literatura, los residuos de aminoácidos que se reportan como activos en las proteínas de estudio son: NF-κB. <sup>(19)</sup> Cys 215; Asn 182; Thr 256 y Tyr 248; Asn 216, Leu-346; NADPH-oxidasa. <sup>(20)</sup> Trp 193; Ser 173; Tyr 279; Trp 263; Glu 244; Asp 243; Glu 241 y Leu 210; COX-2. <sup>(21)</sup> Ser 530; Tyr 385; y en 5-LOX <sup>(22)</sup> Tyr 558; Phe 555; Asn 554; His 367; His 372; Ile 406; Ala 410 y Phe 177; que están rodeadas del centro metálico de Fe<sup>2+</sup>.

### Formulación y producción de galletas fortificadas con harina de *Pleurotus ostreatus*

La producción de galletas se realizó en la panadería especializada El palacio de Santa Rita (EPIA, Santiago de Cuba). Se elaboraron galletas de acuerdo al método tradicional, las cuales fueron tomadas como grupo control (WF). Por otro lado, se prepararon galletas enriquecidas con la harina de *P. ostreatus* (POF), basadas en formulaciones que contemplaron las cantidades de harinas y la

proporción de los ingredientes de las galletas, tales como agua, azúcar, sal, levadura y grasa.

La cantidad de POF a incorporar en las galletas fortificadas se estableció en un nivel del 10 %, teniendo en cuenta que los resultados del análisis sensorial, del 4 % al 10 % de los productos de panadería con harina de setas, muestran las mejores propiedades sensoriales. <sup>(23)</sup> Para ambas formulaciones, se hizo crema con manteca vegetal, se mezcló con azúcar en una batidora y luego se tamizaron WF y POF en la masa anterior y se mezclaron nuevamente hasta alcanzar una apariencia homogénea. La masa obtenida, se laminó y se cortó en formas circulares y se horneó a 180 °C durante 12 min. Luego, las galletas se enfriaron a temperatura ambiente durante 30 min y se almacenaron en bolsas herméticas a temperatura ambiente y protegida de la luz hasta su análisis.

### Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó con el empleo del *software* STATGRAPHICS Centurion XV (Statgraphics Technologies, Inc, EE.UU.). Los resultados se expresaron como la media  $\pm$  desviación estándar de los datos. Se comprobó que los datos cumplieran con una distribución normal (prueba de Kolmogorov-Smirnov y luego se determinó la homogeneidad de varianzas (prueba de Bartlett)).

Para la comparación de las medias de 2 grupos se utilizó la prueba de la *t* de Student para un nivel de significación de  $p < 0,05$ . En los restantes experimentos, se realizó análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple, acoplados a la prueba de Tukey para las comparaciones múltiples. En el caso de que los datos no cumplieran con las premisas de los métodos paramétricos para dichas comparaciones, se realizaron ANOVA de clasificación simple por rangos de Kruskal-Wallis. En los casos en que se presentaron diferencias estadísticamente significativas, se aplicó la prueba de Student-Newman-Keuls no paramétrica. En todos los casos, el nivel de significación seleccionado fue del 95 %.

## RESULTADOS

### Determinación de fenoles totales

Los resultados de la presente investigación, indicaron la existencia de una elevada concentración de compuestos fenólicos en ECF, con un valor de  $(58 \pm 3,2)$  mg/100 g, superior estadísticamente al valor presentado por el EM ( $p < 0,05$ ), el cual tuvo un valor de  $(38 \pm 4,6)$  mg/100 g. En este sentido se tuvo en cuenta la etapa de crecimiento del hongo y el tipo de fermentación utilizada. Por su parte, los valores del contenido fenólico en los bioproductos de la biomasa de cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* con solventes de diferente polaridad, mostraron el siguiente orden: agua  $(138,4 \pm 4,75) >$

etanol  $(86,37 \pm 7,86) >$  acetona  $(18,92 \pm 0,58) >$  acetato de etilo  $(18,44 \pm 1,75) >$  n-hexano  $(3,2 \pm 0,93)$  mg/100 g ( $p < 0,05$ ). El mayor valor 138,4 mg/100 g, se observó en E-agua, obtenido a temperatura ambiente. En el caso de los bioproductos derivados de las 3 etapas importantes del cultivo de *Pleurotus* en pulpa de café durante la fermentación en estado sólido, los resultados indicaron una concentración de compuestos fenólicos de  $(610 \pm 0,54)$  mg/100 g, en M-FES, con valores superiores, en comparación con los de EC-P;  $(19 \pm 0,16)$  mg/100 g, RTA;  $(79,5 \pm 1,33)$  mg/100 g y RC;  $(133 \pm 0,53)$  mg/100 g, respectivamente. Estos valores presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

### Actividad antioxidante de bioproductos de *Pleurotus ostreatus*. Actividad frente al radical 2,2 difenil -1-picrilhidrazilo

El porcentaje de inhibición fue superior en EM  $(96,05 \pm 0,001)$  %, mientras que ECF fue de  $(90,35 \pm 0,002)$  % ( $p < 0,05$ ). En los bioproductos de la biomasa de cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* con solventes de diferente polaridad el orden en la captación del radical DPPH, fue el siguiente: acetato de etilo  $(97,24 \pm 0,1)$  % = etanol  $(96,32 \pm 4,5)$  % = acetona  $(95,66 \pm 3,2)$  % > hexano  $(86,48 \pm 0,7)$  % > agua  $(58,3 \pm 4,1)$  % ( $p < 0,05$ ). Por otro lado, los valores de captación de EC-P, RC y M-FES a la concentración de 1 mg mL<sup>-1</sup>, fueron de  $[(35,49 \pm 5,5); (34,71 \pm 2,68)$  y  $(30,02 \pm 2,51)]$  %, respectivamente, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ellos, mientras que RTA mostró un valor menor  $(18,94 \pm 5,09)$  %. Los valores de captación del radical DPPH del ácido ascórbico, fueron superiores a los mostrados por los bioproductos de *P. ostreatus*, mostrando diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

### Estimación del poder reductor

El poder reductor de EM y ECF, fue de  $0,438 \pm 0,02$  y  $1,064 \pm 0,00$ ; respectivamente. Por su parte, los mayores valores de absorbancia de los bioproductos de la biomasa con solventes de diferente polaridad se observaron en los solventes de polaridad intermedia (E-acetona, con  $0,181 \pm 0,004$ ) y muy polares (E-agua y E-etanol, con  $0,0472 \pm 0,006$  y  $0,0388 \pm 0,026$ ; respectivamente), mostrando diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Los menores valores se obtuvieron en E-n-hexano  $(0,016 \pm 0,00)$ .

En M-FES, RC y EC-P, se observaron los mayores valores de absorbancia  $(0,464 \pm 0,047; 0,404 \pm 0,089; 0,375 \pm 0,00)$ ; respectivamente. Estos resultados comparados con los obtenidos en RTA  $(0,108 \pm 0,009)$ , mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Los valores del poder reductor del ácido ascórbico, fueron superiores a los mostrados por los bioproductos de *P. ostreatus*, mostrando diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

## Efecto citoprotector de EM y E-agua de *Pleurotus ostreatus*

El bioproducto E-agua, mostró los mejores efectos de citoprotección, comparado con EM. A la concentración de 0,062 mg mL<sup>-1</sup>, tuvo un valor de 81,30 %, superior al mostrado por el ácido ascórbico, utilizado como estándar de referencia (68,29 %). Un comportamiento similar fue observado a la más alta concentración (0,250 mg mL<sup>-1</sup>), donde E-agua, tuvo un mayor efecto protector en las membranas eritrocitarias expuestas al peróxido de hidrógeno, con un porcentaje de inhibición de la hemólisis de 93,50 %. A dicha concentración no hubo diferencias estadísticamente significativas entre E-agua y el ácido ascórbico ( $p < 0,05$ ). Aunque EM tuvo porcentajes de inhibición menores, comparado con E-agua, se observó su efecto citoprotector en el modelo celular evaluado, en particular a las concentraciones de 0,062 y 0,125 mg mL<sup>-1</sup>, con valores de 61,99 y 58,84 %, respectivamente (figura 2).

## Identificación de compuestos fenólicos por HPLC-UV en E-agua de *P. ostreatus*

En la figura 3 se muestra el perfil cromatográfico (HPLC-UV) y contenido de los compuestos fenólicos mayoritarios presentes en el bioproducto E-agua de *P. ostreatus*. Los resultados indican la presencia de 5 compuestos fenólicos (ácido gálico, ácido homogentísico, ácido clorogénico, ácido cafeico y naringina). En particular, el ácido gálico, ácido homogentísico y la naringina, presentaron los valores más elevados, lo que representa el 55 % del total.

## Acoplamiento molecular

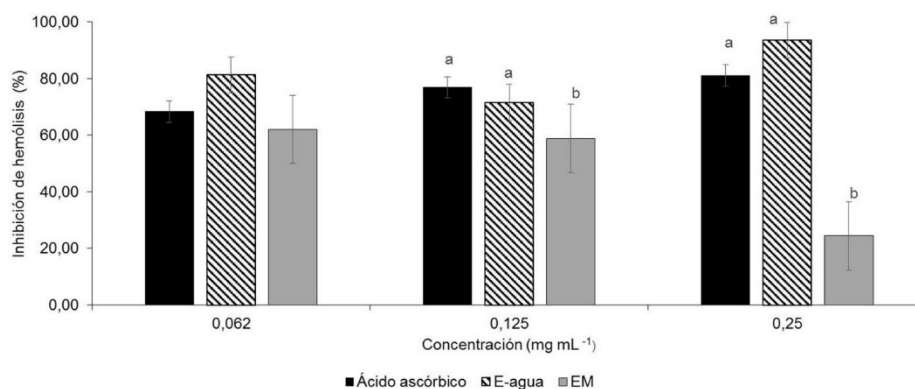
El estudio de acoplamiento molecular realizado con los compuestos fenólicos detectados por HPLC en el bioproducto

de E-agua de la seta comestible-medicinal *Pleurotus ostreatus* y las 4 proteínas del balance redox escogidas, revela una mayor afinidad de los fenoles hacia la enzima 5-LOX, en comparación con las enzimas NADPH- oxidasa, COX-2 y el factor transcripcional NF-κB.

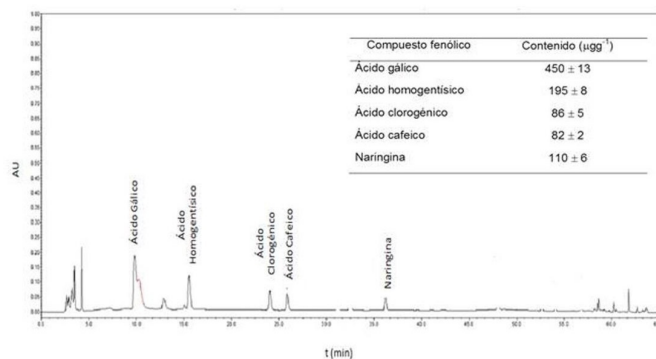
Lo anteriormente planteado, está sustentado en los valores de energía libre de unión ( $\Delta G$ ) y constante de inhibición ( $K_i$ ). Como se muestra en las tablas 1 a la 4, la mayoría de los compuestos fenólicos presentaron una interacción fuerte hacia la enzima 5-LOX, con valores de  $\Delta G$  (-10,72 a -12,28 kcal/mol). La interacción de los fenoles con la mangiferina (compuesto de comparación), resultó moderada para cada uno de los casos estudiados.

## Formulación de las galletas

La composición química de WF y POF utilizada para la producción de galletas mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) en cuanto al contenido de los componentes básicos. La harina de *Pleurotus* (POF), presentó un alto contenido de proteína cruda, fibra cruda y ceniza, sin embargo, el contenido de carbohidratos fue más bajo que en WF. El mayor contenido de cenizas en POF implicó que los valores de minerales fueran relativamente mayores que en WF (5,6 veces superiores). Los lípidos también fueron mayores en POF con respecto a WF (1,9 veces) y la humedad de POF se comparó favorablemente con WF ( $p < 0,05$ ). Los resultados del contenido de lípidos y los valores energéticos no mostraron diferencias significativas, tabla 5. Además del alto valor nutricional, POF presentó un contenido significativo de polifenoles, aproximadamente 2 veces mayor que WF ( $p < 0,05$ ). Dicho resultado en la presente investigación fue comparativamente más alto que los valores informados en 5 especies silvestres culinarias-medicinales de *Pleurotus* recolectadas



**Fig. 2.** Efecto citoprotector ejercido por los bioproductos acuosos de micelio y biomasa de cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* en eritrocitos humanos, tratados con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como agente oxidante. Los resultados se expresan como la media  $\pm$  desviación estándar de 3 réplicas. El ácido ascórbico fue utilizado como un control positivo. Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ ). Leyenda: E- agua: bioproducto acuoso de la biomasa de cuerpos fructíferos; EM: bioproducto del micelio por fermentación sumergida.



**Fig. 3.** Perfil cromatográfico (HPLC-UV) y contenido de los compuestos fenólicos mayoritarios presentes en el bioproducto acuoso de la biomasa de cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* (E-agua)

en el noroeste de la India ( $67,6$  a  $169,2 \mu\text{g g}^{-1}$ ).<sup>(24)</sup> Además, POF ejerció una actividad eliminadora contra el radical DPPH, aproximadamente 10 veces mayor que el control.

## DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo reflejaron que el contenido de fenoles totales en hongos depende de varios factores. En la investigación, se evidenciaron diferencias en los diferentes bioproductos de *P. ostreatus* evaluados, tomando en cuenta los diferentes procedimientos de cultivo de la seta, sus etapas de crecimiento, los métodos de extracción, la composición y naturaleza del sustrato empleado.<sup>(25,26,27,28,29)</sup>

Teniendo en cuenta los diferentes procedimientos biotecnológicos empleados en el cultivo de la seta (FS y FES), los mayores valores en cuanto al contenido de fenoles entre los bioproductos EM y ECF se observaron para este último. Estos resultados fueron similares a los reportados por otros autores para la especie estudiada.<sup>(30)</sup> Por su parte en los bioproductos de la biomasa de cuerpos fructíferos de *P. ostreatus* con solventes de diferente polaridad, resultaron más altos en aquellos con solventes polares (E-agua y E-etanol). Al respecto algunos investigadores reportan resultados similares en especies de *Pleurotus*, utilizando solventes similares o iguales a los referidos en el presente estudio.<sup>(26,31)</sup>

En el caso de los bioproductos de las 3 etapas del cultivo de *Pleurotus* en pulpa de café, el contenido de estos compuestos en la etapa de colonización del sustrato, fueron superiores respecto a la etapa de biotransformación final. Este elemento podría estar relacionado con la implicación de estos compuestos en el mecanismo de defensa, lo cual explicaría su reducción con la maduración de los cuerpos fructíferos.<sup>(32)</sup> Por otro lado, en la etapa de biotransformación del sustrato, *Pleurotus* produce una cantidad significativa de enzimas, que permiten degradar los

residuos lignocelulósicos y usarlos como nutrientes para el crecimiento y la fructificación.<sup>(33,34)</sup>

Esta capacidad de producción de enzimas de la especie tiene relación con la disminución del contenido de fenoles totales en los sustratos donde crece, específicamente pulpa de café como ha sido descrito por otros investigadores.<sup>(35,36)</sup> Estos resultados constituyen una de las novedades del trabajo pues se evidencia un estudio sistemático de la composición de estos compuestos en cada uno de los bioproductos evaluados y con el sustrato empleado.

## Actividad antioxidante

La evaluación de la actividad antioxidante de los bioproductos de *P. ostreatus*, utilizando el método de captación del radical DPPH y estimación del poder reductor, mostró bajo las condiciones ensayadas, variaciones en cuanto a los porcentajes de captación de este radical, sustentado en la influencia de varios factores como: el basamento del método, la propia estructura química del radical, los métodos de extracción y solventes utilizados, la concentración de los extractos, el tipo de sustrato, los diferentes estados de crecimiento de la seta durante su cultivo, la especie de hongo, entre otros.<sup>(37)</sup> En tal sentido, los resultados obtenidos en el presente trabajo, pueden diferir con algunos autores, como ocurre con los bioproductos de la biomasa tratada con solventes de diferente polaridad.<sup>(26)</sup>

En otros casos, los porcentajes de captación coinciden con los referidos en la actual investigación.<sup>(38,39,40)</sup> Este mismo comportamiento es observado para los valores de poder reductor.<sup>(41,42)</sup> Para ambos métodos, todos los bioproductos ensayados mostraron actividad antioxidante. Los mejores valores de poder reductor fueron obtenidos en los preparados derivados de la seta cultivada en FES, mientras que la captación del radical DPPH resultó superior para EM. Los resultados presentados en la presente investigación aportan nuevas evidencias en cuanto a la actividad antioxidante de bioproducto-



**Tabla 1.** Interacciones del NFkB/IkB $\alpha$  con los compuestos fenólicos detectados en el bioproducto (E-agua) de *P.ostreatus*

Fenoles	$\Delta G$ (Kcal/mol)	ki	Interacciones por puente de hidrógeno		Interacciones hidrofóbicas	
			Nº	Interacción de aminoácidos	Nº	Interacción de aminoácidos
Ácido gálico	-4,47	$5,30 \cdot 10^{-4}$	4	Lys 343[NH...O]; Lys 249[NH...O]; Pro 342[OH...O];	3	Try 248; Glu 341; Ile 250
Ácido homogentísico	-5,25	$1,42 \cdot 10^{-4}$	4	Try 248[O...HO]; Lys 343[NH...O]; Lys 249[NH...O]; Pro 342[O...HO]	3	Pro 344; <b>Tyr 248</b> ; Glu 341
Ácido clorogénico	-5,57	$8,25 \cdot 10^{-4}$	5	Lys 343[NH...O]; Ser 326[O...HO]; Pro 344[O...HO]; Thr 256[O...HO]; Pro 214[O...HO]	5	<b>Leu 346</b> , Phe 345, Thr 179, Gly183, <b>Tyr 248</b>
Ácido cafeico	-5,30	$1,31 \cdot 10^{-4}$	2	Thr 256[OH...O]; Arg 140[NH...O]	6	Gly 183; Asn 180; <b>Leu 346</b> ; Tyr 181; Thr 179; Ala 257
Naringina	-6,76	$1,11 \cdot 10^{-5}$	7	Thr 256[OH...O]; Lys 343[O...HN]; Pro 342[OH...O]; Thr 179[OH...O]; Gln 212[OH...O]; Gln 212[O...HN]	12	Gly 183; Asn 180; Leu 346; Ser 326; <b>Asn 182</b> ; Tyr 181; Ala 257; Pro 214; Pro 344; Try 248; Glu 213; Ala 211
Mangiferina*	-5,14	$1,71 \cdot 10^{-4}$	6	Lys 343[O...HN]; Thr 256[OH...O]; Ser 326[O...HO]; Asn 180[OH...O]; Thr 179[O...HO]; Thr 179[OH...O]	5	<b>Tyr 248</b> ; <b>Leu 346</b> ; Pro 214; Pro 344; Gly 183

Leyenda:  $\Delta G$  (kcal/mol); ki(M) \*compuesto de referencia. En negrita los residuos de aminoácidos de los centros activos de la proteína involucrados en las interacciones

tos de cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus* con solventes de diferente polaridad y del sustrato remanente del cultivo de esta seta en pulpa de café.

### Efecto citoprotector de EM y E-agua de *Pleurotus ostreatus*

La evaluación del efecto citoprotector de los bioproductos EM y E-agua frente al daño inducido por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

en el modelo de eritrocitos humanos, mostró resultados promisorios. Los valores más altos de inhibición de la hemólisis se observaron en E-agua. Las propiedades citoprotectoras ejercidas por la preparación del bioproducto E-agua, frente al daño de un agente oxidante, pudieran estar relacionadas, con la presencia de micocompuestos con actividad antioxidante, tales como los polifenoles, vitamina C y minerales.

**Tabla 2.** Interacciones de la NADPH-oxidasa con los compuestos fenólicos detectados en el bioproducto (E-agua) de *P.ostreatus*

Fenoles	$\Delta G$ (Kcal/mol)	ki	Interacciones por puente de hidrógeno		Interacciones hidrofóbicas	
			Nº	Interacción de aminoácidos	Nº	Interacción de aminoácidos
Ácido gálico	-3,99	$1,19 \cdot 10^{-6}$	3	Trp 194[NH...O]; Ser 189[O...HO]	3	Glu 190; Leu 260; Lys 188
Ácido homogentísico	-4,61	$4,15 \cdot 10^{-4}$	3	Trp 194[NH...O]; Lys 188[NH...O]; Ser 189[O...HO]	2	Glu 190; Leu 260
Ácido clorogénico	-5,01	$2,14 \cdot 10^{-4}$	3	Trp 263[NH...O]; Asp 261[O...HO]; Ser 208[NH...O]	7	Pro 206; Phe 209; <b>Trp 193</b> ; GLY 192; Pro 276; Ser 191; <b>Tyr 279</b>
Ácido cafeico	-5,09	$1,85 \cdot 10^{-4}$	3	Trp 264[NH...O]; Glu 190[O...HO]; Tyr 231[OH...O]	3	Leu 259; Lys 258; Leu 260
Naringina	-5,32	$1,26 \cdot 10^{-4}$	6	Met 278[NH...O]; Ser 277[NH...O]; Asp 261[O...HO]; <b>Trp 193</b> [NH...O]; <b>Trp 263</b> [NH...O]; Thr 170[OH...O]	6	Pro 267; Ser 191; Pro 206; Phe 206; Tyr 167; <b>Tyr 279</b>
Mangiferina*	-4,68	$3,69 \cdot 10^{-4}$	2	<b>Trp 263</b> [NH...O]; Ser 208[NH...O]	7	Asp 261; <b>Trp 193</b> ; Tyr 167; Pro 206; Glu 244; <b>Asp 243</b> ; Tyr 274

Leyenda:  $\Delta G$  (kcal/mol); ki(M) \*compuesto de referencia. En negrita los residuos de aminoácidos de los centros activos de la proteína involucrados en las interacciones

Se utilizaron eritrocitos humanos, los cuales muestran mayor resistencia a desórdenes hematológicos y factores externos, como la temperatura y el pH, en comparación con eritrocitos de carnero, bovinos, cerdo y conejo. <sup>(43)</sup> Estos resultados constituyen un aspecto novedoso, pues aportan evidencias bioquímicas del efecto citoprotector de bioproductos de *Pleurotus* evaluados en células eritrocitarias que han estado expuestas a un agente oxidante.

### Identificación de compuestos fenólicos por HPLC-UV en E-agua de *P. ostreatus*

Se detectaron 5 compuestos fenólicos en E-agua de *P. ostreatus*; 4 ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido homogentísico, ácido clorogénico, ácido cafeico) y una flavanona, la naringina. La concentración de compuestos fenólicos determinada para

*P. ostreatus* en el presente estudio ( $1384 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) resultó aproximadamente 7,9 veces superior al valor promedio reportado en la literatura para estudios previos realizados en hongos comestibles ( $174 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). <sup>(44)</sup> Esto le aporta un carácter novedoso a la investigación al identificarse compuestos fenólicos mayoritarios en *P. ostreatus* cultivado en la pulpa de café.

Algunos investigadores refieren la presencia de estos compuestos en esta especie de hongo y otros refieren el ácido cinámico, protocatecuico, catequina, siríngico, vanílico, o-cumárico y quercetina. <sup>(45,46,47)</sup>

### Acoplamiento molecular de compuestos fenólicos de *Pleurotus ostreatus* con proteínas del balance redox

Los mejores valores de energía libre de unión para el factor nuclear NF- $\kappa$ B fueron observados para la naringina. En la

**Tabla 3.** Interacciones de la COX-2 con los compuestos fenólicos detectados en el bioproducto (E-agua) de *P.ostreatus*

Fenoles	$\Delta G$ (Kcal/mol)	ki	Interacciones por puente de hidrógeno		Interacciones hidrofóbicas	
			Nº	Interacción de aminoácidos	Nº	Interacción de aminoácidos
Ácido gálico	-5,19	$1,56 \cdot 10^{-4}$	4	Val 228[NH... O]; Gly 533[O... HO]; Asn 537[NH... O]; Asn 375[NH...O]	4	Gln 374; Gly 536; Gly 225; Gly 227
Ácido homogentísico	-5,72	$6,39 \cdot 10^{-4}$	3	Ala 378[NH...O]; Asn 375[NH...O]; Arg 376[NH...O]	9	Phe 381; Ile 377; Lys 532; Arg 150; Phe 529; Ala 151; Thr 149; Ile 124; Asp 125
Ácido clorogénico	-6,05	$3,66 \cdot 10^{-5}$	4	<b>Tyr 385</b> [OH...O]; Gly 526[O...HO]; Met 522[O...HO]; Tyr 355[OH...O]	12	Trp 387; Ala 527; <b>Ser 530</b> ; Phe 381; Leu 384; Tyr 348; Leu 352; Val 523; Val 349; Arg120; Val 116; Leu 531
Ácido cafeico	-5,97	$4,23 \cdot 10^{-5}$	3	Arg 376[O...HO]; Asn 375[O...HO]; Ala 378[NH... O]	10	Phe 205; Val 228; Leu 534; Gly 533; Phe 209; Ser 530; Phe 529; Phe 381; Ile 377; Gly 227
Naringina	-1,34	$1,05 \cdot 10^{-4}$	3	<b>Ser 530</b> [O...HO]; Val 349[O...HO]; Tyr 355[OH...O]	17	Leu 531; Ala 527; Leu 359; Leu 93; Val 116; Val 89; Val 523; Arg 120; Phe 518; Ser 353; Leu 352; Met 522; Tyr 385; Met 522; Tyr 385; Tyr 348; Trp 387
Mangiferina*	-4,44	$5,59 \cdot 10^{-4}$	5	Met 522[O...HO]; Gly 526[NH...O]; Val 523[OH...O]; Arg120[NH...O]; Tyr 355[OH...O]	11	Trp 387; Leu 384; Phe 518; <b>Tyr 385</b> ; Leu 352; <b>Ser 530</b> ; Val 349; Phe 381; Ala 527; Leu 359; Val 116

Leyenda:  $\Delta G$  (kcal/mol); ki(M) \*compuesto de referencia. En negrita los residuos de aminoácidos de los centros activos de la proteína involucrados en las interacciones

literatura se refieren especies de hongos comestibles que modulan la función del NF- $\kappa$ B, a través de diferentes mecanismos. Sin embargo, muchos de ellos todavía tienen mecanismos de acción aún no esclarecidos. <sup>(48)</sup> En el caso de la NADPH oxidasa, los valores de energía de unión mostraron una interacción moderada, mientras que con la COX-2, los mejores valores de

interacción se observaron para los fenoles ácido clorogénico y la naringina. Con relación a la enzima 5-LOX, las interacciones resultaron fuertes para la mayoría de ellos. Los inhibidores específicos de la 5-lipoxigenasa, pueden ser considerados como potenciales fármacos terapéuticos para varias enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios. <sup>(49)</sup>

**Tabla 4.** Interacciones de la 5-LOX con los compuestos fenólicos detectados en el bioproducto (E-agua) de *P.ostreatus*

Fenoles	$\Delta G$ (Kcal/mol)	ki	Interacciones por puente de hidrógeno		Interacciones hidrofóbicas	
			Nº	Interacción de aminoácidos	Nº	Interacción de aminoácidos
Naringina	-5,40	$1,11 \cdot 10^{-5}$	3	Gln 303[NH...O]; Pro 569[OH...O]; Arg 596[NH...O];	11	Thr 570; His 432; His 360; Cys 300; His 600; Trp 599; Ala 603; <b>Phe 177</b> ; Asn 180; Tyr 181; Gly 602
Mangiferina*	-5,26	$1,38 \cdot 10^{-4}$	6	<b>His 372</b> [OH...N]; <b>His 367</b> [O...HN]; His 550[OH...N]; Ala 672[OH...O]; <b>Asn 554</b> [OH...O]; <b>Asn 554</b> [OH...O]	6	Val 671; Gln 557; Leu 607; Leu 368; Thr 364; Gln 363
Ácido gálico	-10,72	$1,39 \cdot 10^{-8}$	5	<b>Asn 554</b> [OH...O]; <b>His 372</b> [N...HO]; His 550[N...HO]; <b>His 367</b> [N...HO]; <b>His 372</b> [N...HO]	2	Leu 607; Val 671
Ácido homogentísico	-11,81	$2,19 \cdot 10^{-9}$	4	<b>His 372</b> [O...HN]; <b>His 367</b> [OH...N]; <b>Asn 554</b> [OH...N]; Asn 554[O...HN]	3	Val 671; Leu 607; Ala 672
Ácido clorogénico	-12,28	$9,99 \cdot 10^{-10}$	10	<b>His 367</b> [O...HN]; <b>His 367</b> [OH...N]; <b>His 372</b> [O...HN]; Gln 363[OH...O]; Gln 363[OH...O]; <b>Asn 554</b> [OH...O]; <b>Asn 554</b> [OH...O]; <b>Asn 554</b> [OH...N]; Ala 672[OH...O]; His 550[O...HN]	2	Leu 368; Val 671
Ácido cafeico	-11,44	$4,09 \cdot 10^{-8}$	4	<b>Ile 406</b> [O...HO]; <b>His 372</b> [N...HO]; His 550[N...HO]; <b>His 367</b> [N...HO]	6	Lys 409; <b>Ala 410</b> ; <b>Phe 177</b> ; Val 671; <b>Asn 554</b> ; Ala 672

Leyenda:  $\Delta G$  (kcal/mol); ki(M) \*compuesto de referencia. En negrita los residuos de aminoácidos de los centros activos de la proteína involucrados en las interacciones

### Formulación de las galletas

En la investigación se observó que cuando se incorporó POF a las galletas, hubo una reducción de carbohidratos coinci-

dente con el aumento en el contenido de proteínas. Si bien existe variabilidad en los valores de composición química de POF comparados con los obtenidos por otros investigadores, su

análisis bioquímico aproximado está de acuerdo con la composición informada en otros trabajos. En el caso de *Pleurotus ostreatus*, la composición oscila entre (17-30,4) % de proteína cruda, (37-85) % de carbohidratos, (5,3-24) % de fibra dietética total, (1,6-5,0) % de grasa y (5,9-9,8) % para cenizas. Estos valores han sido reportados dependiendo de las cepas, método de cultivo, sustratos y condiciones de crecimiento, etc. <sup>(50,51)</sup>

La suplementación con POF en galletas fortificadas no sólo refuerza la calidad nutricional, sino que también contribuye a su estabilización frente al daño oxidativo. En general, las galletas enriquecidas tienen más componentes funcionales y una capacidad antioxidante eficaz comparadas con las galletas de trigo. Su suplementación podría proporcionar a los consumidores un producto novedoso con beneficios que promuevan la salud.

## Conclusiones

El estudio de las propiedades antioxidantes de bioproductos de *P. ostreatus*, constituye una fuente promisoría de antioxidantes naturales para su uso en las industrias alimentaria y médico farmacéutica. En particular para nuestro país, dichas evidencias experimentales, representan un aporte significativo para el futuro diseño de fármacos, alimentos o suplementos dietéticos derivados de estas fuentes con potenciales antioxidantes. Las aplicaciones prácticas de la investigación se evidencian en la utilización por parte de la Empresa Provincial de la Industria Alimentaria de harinas de setas con actividad antioxidante para la elaboración de galletas biofuncionales con un valor nutricional y propiedades antioxidantes mejoradas.

**Tabla 5.** Composición proximal, valor energético, contenido fenólico y actividad antioxidante de las galletas tradicionales WF y las enriquecidas con 10 % de harina de *Pleurotus ostreatus*

Parámetro	Harina de trigo (WF)	Harina de <i>P. ostreatus</i> (POF)
Humedad (%)	2,65 ± 0,15	3,16 ± 0,15*
Proteínas totales (%)	7,07 ± 0,08	14,12 ± 0,36*
Carbohidratos (%)	83,03 ± 1,24	72,73 ± 0,48*
Lípidos totales (%)	4,10 ± 0,36	5,01 ± 0,54
Fibra cruda (%)	2,17 ± 0,53	3,11 ± 0,12*
Cenizas (%)	0,98 ± 0,03	1,87 ± 0,05*
Valor energético (Kcal/100g)	397 ± 37	392 ± 30
Polifenoles totales (µg TAE/G)	232 ± 15,50	736 ± 42,07*
Actividad antioxidante (ensayo DPPH (%))	9,61 ± 2,07	58,34 ± 1,65*

\*) Indica diferencias significativas para cada parámetro, de acuerdo con el test de t` Student ( $p < 0,05$ ,  $n = 3$ )

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Valdés MAS. Las enfermedades crónicas no transmisibles y la pandemia por COVID-19. *Revista Finlay*. 2020;10(2):78-8.
- Fogarasi M, Ancuta S, Vasile F, Diaconeasa ZM, Farcas ACM, Tofana M, *et al.* Bioactive compounds and volatile profiles of five Transylvanian wild edible mushrooms. *Molecules*. 2018;23(12):3272.
- Wasser S. Medicinal mushroom science: Current perspectives, advances, evidences, and challenges. *Biomed J* 2014;37(6).
- Morris HJ, Llauradó G, Beltrán Y, Lebeque Y, Bermúdez RC, García N, *et al.* The use of mushrooms in the development of functional foods, drugs and nutraceuticals. In: Ferreira I, Barros L, Morales P. Editors. *Wild Plants, Mushrooms and Nuts: Functional Food Properties and Applications*. 1st ed. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.; 2017.123-57p.
- Antunes F, Marcal S, Taofiq o, Moraes A, Freitas A, Ferreira I, Pintado M. Valorization of mushroom by products as a source of value-added compounds and potential applications. *Molecules*. 2020;25(11):2672.
- Leong YK, Ma TW, Chang JS, Yang FC. Recent advances and future directions on the valorization of spent mushroom substrate (SMS): A review. *Bioresour Technol*. 2022;344:126157.
- González A, Nobre C, Sim LS, Cruz M, Loredó A, Rodríguez RM, *et al.* Evaluation of functional and nutritional potential of a protein

- concentrate from *Pleurotus ostreatus* mushroom. Food Chem. 2021;346:128884.
8. Patel Y, Naraian R, Singh VK. Medicinal properties of *Pleurotus* species (oyster mushroom): a review. WJFPB. 2012;3:1-12.
  9. Llauradó G, Beltrán Y, Morris HJ, Marcos E, Diaz U, Marcos J, *et al.* Restoration of liver function in malnourished mice orally administered with *Pleurotus ostreatus* fruiting bodies extract. J Pharm Pharmacogn Res. 2020;8(1):32-42.
  10. Morris HJ, Llauradó G, Bermúdez RC, Cos P, Lebeque Y, Beltrán Y, *et al.* Evaluation of the immunomodulatory activity of bioproducts obtained from the edible-medicinal mushroom *Pleurotus ostreatus*. Biotechnol Apl. 2018;35(3):3511-4.
  11. Bermúdez RC, García N, Gross P, Serrano M. Cultivation of *Pleurotus* on agricultural substrates in Cuba. *Micol Aplicada Int.* 2001; 13(1):2529.
  12. Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. AJEV. 1977;28(1):49-55.
  13. Brand-Williams W, Cuvelier M E, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT. 1995;28:25-30.
  14. Oyaizu M. Studies on products of the browning reaction. Antioxidative activities of browning reaction products prepared from glucosamine. Jpn J Nutr. 1986;44(6):307-15.
  15. Escalona JC, García J, Pérez R, De la Vega J, Rodríguez J, Morris HJ. Effect of *Tamarindus indica* L. leaves' fluid extract on human blood cells. Nat Prod Res. 2014;28(18):1485-8.
  16. Evans DA. History of the Harvard ChemDraw project. Angewandte Chemie International Edition. 2014;53(42):11140-45.
  17. Sanner MF. Python: A Programming Language for Software Integration and Development. *J Mol Graph Mod.* 1999;17:57-61.
  18. BIOVIA Discovery Studio Visualizer, version 20.1.0.19295; Dassault Systèmes: San Diego, CA, USA, 2019. Disponible en: <http://www.3dsbiovia.com>
  19. Huxford T, Huang D-B, Malek S, Ghosh G: The Crystal Structure of the IκBα/NF-κB Complex Reveals Mechanisms of NF-κB Inactivation. Cell. 1998;95:759-70.
  20. Groemping Y, Lapouge K, Smerdon SJ, Rittinger K. Molecular Basis of Phosphorylation-Induced Activation of the NADPH Oxidase. Cell. 2003; 113:343-55.
  21. Orlando BJ, Malkowski MG. Substrate-selective inhibition of cyclooxygenase-2 by fenamic acid derivatives is dependent on peroxide tone. Biol Chem. 2016;291(29):1506915081
  22. Gilbert NC, Rui Z, Neau DB, Waight MT, Bartlett SG, Boeglin WE, *et al.* Conversion of human 5-lipoxygenase to a 15-lipoxygenase by a point mutation to mimic phosphorylation at Serine-663. *FASEB J.* 2012;26:3222-9.
  23. Salehi F. Characterization of different mushrooms powder and its application in bakery products: a review. Int J Food Prop. 2019;22:1375-85.
  24. Atri NS, Sharma SK, Joshi R, Gulati A, Gulati A. Nutritional and nutraceutical composition of five wild culinary-medicinal species of genus *Pleurotus* (Higher Basidiomycetes) from Northwest India. Int J Med Mush. 2013;15:49-56.
  25. Palacios I, Lozano M, Moro C, D'arrigo M, Rostagno MA, Martínez JA, *et al.* Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. Food Chem. 2011;128(3):674-8.
  26. Bruijn J, Loyola C, Aqueveque P, Cañumir J, Cortéz M, France A. Antioxidant properties of extracts obtained from *Grifola gargal* mushrooms. Micol Aplicada Int. 2009;21(1):11-8.
  27. Grimm D, Wösten HAD. Mushroom cultivation in the circular economy. Appl Microbiol Biotechnol. 2018.
  28. Hassan SS, Williams GA, Jaiswal AK. Lignocellulosic biorefineries in Europe: current state and prospects. Trends Biotechnol. 2019;37(3):231-4.
  29. Siwulski M, Rzymshi P, Budka A, Kalac P, Budzinska S, Dawidowicz L, *et al.* The effect of different substrates on the growth of six cultivated mushroom species and composition of macro and trace elements in their fruiting bodies. *Eur Food Res Technol.* 2019;245(2):419-31.
  30. Peraza JG, Grycz A, Mederos MAP, Galdón BR, Rodríguez EMR. Total Phenolic Compounds and Antioxidant Activity in *Pleurotus* Spp. Grown on Commercial and Wild Substrates. *Int J Food Sci Nutr.* 2019(4): IJFN- 116.
  31. Etoundi BO, Kayo V, Deudje ON, Djamen BM, Nangmou MN, Azebaze BA. The influence of solvent nature on the extraction yield of *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus floridanus* and *Pleurotus sajor-caju* and study of the effects of extract mixtures on oxidative stress. Nutrafoods. 2020.
  32. Radzki W, Slawinska A, Jablonska-Rys E, Gustaw W. Antioxidant capacity and polyphenolic content of dried wild edible mushrooms from Poland. Int J Med Mush. 2014;16(1):65-75.
  33. Najafi B, Faizollahzadeh AS, Shams Shirband S, Chau KW. Spent mushroom compost (SMC) as a source for biogas production in Iran. Eng Appl Comput Fluid Mech. 2019;13(1):967-82.
  34. Mohamed MF, Refaei EF, Abdalla M, Abdelgalil SH. Fruiting bodies yield of oyster mushroom (*Pleurotus columbinus*) as affected by different portions of compost in the substrate. Int J Recycl Org Waste Agric. 2016;5(4):281-8.
  35. García N. Producción de setas comestibles y enzimas lacasas por fermentación en estado sólido de la pulpa de café con *Pleurotus* spp. [Tesis de doctorado]: Centro de Estudios de Biotecnología Industrial. Santiago de Cuba; 2008.212 p.
  36. Bermúdez, RC, García N, Serrano M, Rodríguez MI, Mustelier I. Conversión de residuales agroindustriales en productos de valor agregado por fermentación en estado sólido. Tecnol Quim. 2014;34(3):217-25.
  37. slam T, Ganesan K, Xu B. New insight into mycochemical profiles and antioxidant potential of edible and medicinal mushrooms: A Review. Int J Med Mush. 2019;21(3):237-51.
  38. Im KH, Nguyen TK, Shin DB, Lee KR, Lee TS. Appraisal of antioxidant and anti-inflammatory activities of various extracts from the fruiting bodies of *Pleurotus florida*. Molecules. 2014;19(3):3310-26.
  39. Egra SAAT, Kusuma IW, Arung ET, Kuspradini HARLINDA. The potential of white-oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) as antimicrobial and natural antioxidant. *Biofarmasi.* J Nat Prod Biochem. 2019;17(1):14-20.
  40. Choi JH, Kim JS, Park JD, Sung JM. Study on antioxidant activities of *Pleurotus eryngii* and *Flammulina velutipes* extracts by different solvent. J Korean Soc Food Cult. 2021;36(6):622-32.
  41. Boonsong S, Klaypradit W, Wilaipun P. Antioxidant activities of extracts from five edible mushrooms using different extractants. Agric Nat Resour. 2016;50(2):89-97.
  42. Mkhize SS, Pooe OJ, Khoza S, Mongalo IN, Khan R, Simelane MBC. Characterization and biological evaluation of zinc oxide nanoparticles synthesized from *Pleurotus ostreatus* Mushroom. Appl Sci. 2022;12(17):8563

43. Brzenska- Slebozinska, E. Species differentiation in the susceptibility of erythrocytes exposed to free radicals *in vitro*. *Vet Res Commun*. 2003;27:211-17.
44. Kim MY, Seguin P, Ahn JK, Kim JJ, Chun SC, Kim EH, *et al*. Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. *J Agric Food Chem*. 2008; 56: 7265-70.
45. Woldegiorgis AZ, Abate D, Haki GD, Ziegler GR. Antioxidant property of edible mushrooms collected from Ethiopia. *Food Chem*. 2014;157:30-6.
46. Muszynska B, Sulkowska-Ziaja K, Ekiert H. Phenolic acids in selected edible basidiomycota species: *Armillaria mellea*, *Boletus badius*, *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius*, *Lactarius deliciosus* and *Pleurotus ostreatus*. *Acta Sci Pol Hortorum Cultus*. 2013;12:107-16.
47. Dundar A, Okumus V, Ozdemir S, Celik KS, Boga M, Ozcagli E, *et al*. Antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and anticholinesterase activities of seven mushroom species with their phenolic acid composition. *J Hortic*. 2015;1-6.
48. Joseph TP, Chanda W, Padhiar AA, Batool S, LiQun S, Zhong M, *et al*. A preclinical evaluation of the antitumor activities of edible and medicinal mushrooms: A molecular insight. *Integ Cancer Ther*. 2018;17(2):200-09.
49. Martel-Pelletier J, Lajeunesse D, Reboul P, Pelletier JP. Therapeutic role of dual inhibitors of 5-LOX and COX, selective and non-selective nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Ann Rheum Dis*. 2003;62(6):501-9.
50. Kozarski M, Klaus A, Vunduk J, Zizak Z, Niksic M, Jakovljevic D, *et al*. Nutraceutical properties of methanolic extract of edible mushrooms *Cantharellus cibarius* (Fries). Primary mechanisms. *Food Funct*. 2015;6:1875.
51. Lelley JL. Aspectos nutritivos de las setas *Pleurotus* spp. In: Sánchez JE, Royse DJ. (Eds.) 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; 2017. 177-96 p.

---

Recibido: 29/07/2024  
Aprobado: 29/09/2024

---

### Agradecimientos

Los autores agradecen al proyecto VLIR-UOs entre las universidades flamencas (Universidad de Amberes, Bélgica) y la Universidad de Oriente "Productos naturales y servicios farmacéuticos para el mejoramiento de la calidad de vida en hospitales en el Oriente de Cuba". De igual forma a los proyectos INTERRREG-Caribe, Fondo de Solidaridad Franco-cubana (FSP), Equipo Joven Asociado (JEAI-AIRD) con Francia.

### Conflictos de intereses

Los autores declararan que no existen conflictos de interés en relación con la investigación presentada.

### Contribuciones de los autores

- Conceptualización: Yaixa Beltrán, Humberto J. Morris Quevedo
- Curación de datos: Yaixa Beltrán, Humberto J. Morris Quevedo, Julio Alberto Rojas Vargas, Juan Carlos Ferrer Romero, Onel Fong Lores
- Investigación: Yaixa Beltrán, Humberto J. Morris Quevedo, Isabelle Perraud Gaime, Julio Alberto Rojas Vargas, Juan Carlos Ferrer Romero, Onel Fong Lores, Marcos Meneses, Yamila Lebeque Pérez, Rosa Catalina Bermúdez Savón, Nora García Oduardo, Marcos Meneses Mayo, Paul Cos, Serge Mokha, Jorge Luis Arce Ferrera, Manuel Isidro Yebra Díaz
- Metodologías: Yaixa Beltrán Delgado Humberto J. Morris Quevedo
- Recursos: Isabelle Perraud Gaime, Marcos Meneses Mayo, Paul Cos, Serge Moukha, Jorge Luis Arce Ferrera, Manuel Isidro Yebra Díaz
- Supervisión: Humberto J Morris Quevedo
- Redacción-borrador original: Yaixa Beltrán Delgado
- Redacción-revisión y edición: Humberto J. Morris Quevedo

### Financiamientos

La investigación se realizó a través de la existencia de proyectos con financiamiento internacional tales como el proyecto VLIR-UOs (Universidad de Amberes, Bélgica) y la Universidad de Oriente "Productos naturales y servicios farmacéuticos para el mejoramiento de la calidad de vida en hospitales en el Oriente de Cuba", así como los proyectos INTERRREG-Caribe, Fondo de Solidaridad Franco-cubana (FSP), Equipo Joven Asociado (JEAI-AIRD) con Francia. Además, los estudios se apoyaron en proyectos cubanos, como el Proyecto Sectorial "Cultivo de setas comestibles *Pleurotus* en el oriente de Cuba: alternativa sostenible para la diversificación de la industria alimentaria nacional" del Programa Sectorial de Industrialización de Alimentos del MINAL.

### Cómo citar este artículo

Beltrán Delgado Y, Morris Quevedo HJ, Perraud Gaime I, Rojas Vargas JA, Ferrer Romero JC, Fong Lores O *et al*. Composición de fenoles y propiedades antioxidantes de la seta *Pleurotus ostreatus*. Aplicación en alimentos funcionales. *An Acad Cienc Cuba* [internet] 2024 [citado en día, mes y año];14(4):e1657. Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/1657>

El artículo se difunde en acceso abierto según los términos de una licencia Creative Commons de Atribución/Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0), que le atribuye la libertad de copiar, compartir, distribuir, exhibir o implementar sin permiso, salvo con las siguientes condiciones: reconocer a sus autores (atribución), indicar los cambios que haya realizado y no usar el material con fines comerciales (no comercial).<sup>©</sup> Los autores, 2024.

