

Influencia del medio de cultivo en la producción de metabolitos secundarios del hongo comestible *Pleurotus ostreatus* cultivado por fermentación en estado líquido empleando harinas de cereales como fuente de carbono

Carolina Chegwin A.
Ivonne J. Nieto R.

Laboratorio de Química de Hongos Macromicetos, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, Colombia

Influence of culture medium in the production of secondary metabolites of edible fungus *Pleurotus ostreatus* cultivated by liquid state fermentation using grain flour as a carbon source

Abstract. Biological activities of macromycetes are directly related with their chemical composition, which has enabled several studies to the developing of new cultivation techniques that allow their industrial production. In this research the effect on such a composition having the use of cereal flours as carbon sources (CS) for the production by fermentation in liquid state (FEL) of *Pleurotus ostreatus* was evaluated. In this study it was concluded that no general behavior between C/N cereal ratio and the production of fungal compounds. Fatty acid esters are the main compounds and are related in the majority of the cases to mycelium. The most complex composition is that of the broth. The selection of CS depends on the metabolite type desired to obtain. If the fat acid production is preferred, a good choice will be the use of wheat flour as CS. If what it is intended to obtain is a group of varied metabolites that can give biological activities to the final product, both bienestarina (cereal and leguminous flour) and corn flour will be chosen. The same way concluded with respect to the production of esters using bienestarina, barley flour, oats, corn, and pinto corn CS are the adequate.

Keywords: biotechnology, macromycetes, mushroom cultivation

Resumen. Las actividades biológicas de macromicetos están directamente relacionadas con su composición química, lo que ha direccionado el estudio hacia el desarrollo de técnicas de cultivo que lleven a su producción industrial. En esta investigación se evaluó el efecto que tiene el empleo de harinas de cereales como fuente de carbono (FC) en la fermentación en estado líquido (FEL) de *Pleurotus ostreatus*, concluyendo que no hay un comportamiento generalizado entre la relación C/N del cereal y la producción de los compuestos del producto biotecnológico. Los ésteres de ácidos grasos son los compuestos mayoritarios y están principalmente asociados a los micelios. La composición más compleja la presentan los medios agotados. La selección de la FC depende del tipo de metabolitos que se deseen obtener. Si se prefiere la producción de ácidos grasos se debe emplear harina de trigo como FC. Si lo que se desea es la obtención de variedad de metabolitos con actividades biológicas, la bienestarina (harinas de cereales y leguminosas) y la harina de maíz serían las elegibles. De igual forma se concluyó que con respecto a la producción de ésteres, las FC ideales serían bienestarina, harina de cebada, de avena, maíz y maíz pinto.

Palabras clave: biotecnología, macromicetos, cultivo de hongos.

Received 24 February 2012; accepted 15 May 2013.

Recibido 24 de febrero 2012; aceptado 15 de mayo 2013.

Autor para correspondencia: Carolina Chegwin A.
cchegwina@unal.edu.co

Introducción

Las especies pertenecientes al género *Pleurotus* han despertado el interés de la comunidad científica debido a sus cualidades tanto nutricionales (Ragunathan y Swaminathan, 2003; Manzi *et al.*, 2004; Guardia *et al.*, 2005), como medicinales (Sarangi *et al.*, 2006; Gregori *et al.*, 2007), que unidas a la facilidad de su cultivo (Mandeel *et al.*, 2005; Tisdale *et al.*, 2006), han incentivado las investigaciones en diferentes ramas de la ciencia incluyendo la química, la farmacología, la nutrición, la medicina e incluso la biotecnología, llevando a un incremento en el número de publicaciones relacionadas con los procesos que involucran la obtención de estas especies de hongos de una forma fácil, rápida y eficiente. Los procesos fermentativos que se realizan en estado líquido (FEL) son una de las herramientas predilectas por los biotecnólogos, gracias a la facilidad de controlar variables tan importantes como son la temperatura, la relación C/N del sustrato, el contenido de oxígeno, la velocidad de agitación y el pH, entre otras (Gregori *et al.*, 2007).

Con respecto a estas variables la composición del sustrato y específicamente la relación C/N es de vital importancia para el cultivo de macromicetos, teniendo en cuenta que ejerce influencia tanto en el rendimiento de la biomasa obtenida, como en la composición química de los micelios. La mayoría de los reportes relacionados con el tema, se enfocan sobre dos tópicos: eficiencia biológica (Olfati y Peyvast, 2008; Rizki y Tamai, 2011) y/o producción de polisacáridos (Zhong y Xiao, 2009; Wasser, 2011; Smiderle *et al.*, 2012). Hay una estrecha relación entre la eficiencia biológica y el tiempo de colonización con la proporción C/N del sustrato empleado. Relaciones de 72/1 y 81/1 presentan los rendimientos más altos en cultivos fúngicos, aunque para *Pleurotus* spp. se reporta que entre 32/1-150/1 se encuentra el

valor óptimo para la inducción del crecimiento del hongo (Isikhuemhen y Mikiashvili, 2009). Smiderle *et al.* (2012) evaluaron diferentes carbohidratos como fuentes de C manteniendo una relación constante C/N de 24:1 para cultivar, por fermentación sumergida *Pleurotus pulmonarius*, concluyendo que tanto la producción de biomasa como la de exopolisacáridos (EPS) varía de acuerdo al carbohidrato empleado. Con respecto al efecto de la adición de N, se ha determinado que altos contenidos de este elemento inhiben el crecimiento micelial para el cultivo de *Pleurotus* spp. (Rizki y Tamai, 2011), lo que contrasta con estudios efectuados sobre otros macromicetos como el *Tricholoma matsutake*, en donde a menor relación C/N se genera un mayor crecimiento micelial y producción de exopolisacáridos (EPS) (Kim *et al.*, 2010), permitiendo determinar que esta influencia depende en una buena proporción del hongo y de su metabolismo particular.

En ésta investigación se realizó un estudio comparativo de la influencia que sobre la composición química, tanto del micelio como del medio agotado, presenta la utilización de doce diferentes harinas de cereales, como fuente de carbono en la obtención por FEL del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. El empleo de harinas como componentes del medio de cultivo, se basó en el hecho de que en estudios realizados por Zapata *et al.* (2012) se determinó una buena producción de biomasa, ácidos ganodéricos y de exopolisacáridos con *Ganoderma lucidum*.

Materiales y métodos

Obtención del material fúngico

El material fúngico fue cultivado por el Laboratorio de Biotecnología y Bioprocesos de la Universidad de Antioquia.

La cepa de *Pleurotus ostreatus* (BioVeg Fungi-002), se mantuvo en Agar Papa Dextrosa (PDA) y se almacenó a

4°C. Luego, inóculos de 0.5 a 1 cm de diámetro de micelio y agar fueron transferidos a cajas de Petri con el medio de la siguiente composición (g/L): fuente de carbono 30; extracto de levadura 3, sacarosa 5, agar 8, pH a 5.5 ± 0.1 . Los cultivos fueron incubados a 26 °C, en la oscuridad por 15 días. Posteriormente en matraces, 62 mL de medio de cultivo con la composición de sales siguiente: NaNO_3 80 mg/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 20 mg/L, KH_2PO_4 30 mg/L, KCl 10 mg/L, y suplementado con las harinas de los 12 cereales como fuente de carbono que en adelante se denotarán como FC1 a FC13 (excepto FC6) y que corresponden a: FC1 harina de cebada (*Hordeum vulgare* L.), FC2 harina de avena (*Avena sativa* L.), FC3 harina de trigo (*Triticum aestivum* L.), FC4 harina de arroz (*Orzya sativa* L.), FC5 bienestarina (complemento alimentario consistente en una mezcla de harinas y/o féculas de cereales, harina de soya y leche entera en polvo, enriquecido con vitaminas y minerales), FC7 harina de maíz (*Zea mays* L.), FC8 harina de soya, FC9 salvado de trigo, FC10 harina de trigo integral, FC11 harina de maíz pinto, FC12 harina de siete granos y FC13 harina de maíz amarillo. Se ajustó el pH a 5.6 ± 0.1 y se esterilizó en autoclave a 15 psi y 121 °C por 15 minutos. Como inóculo se utilizaron discos de 1 cm de diámetro con micelio y agar. Los matraces se llevaron a un agitador orbital a 100 rpm, durante 9 días a $25 \text{ °C} \pm 1$.

Caracterización de las harinas de cereales

El contenido de C y N se determinó en un equipo Thermo FLASH 2000 Organic Elemental Analyzer. Los lípidos, cenizas y materia seca se determinaron siguiendo las normas AOAC (2006). En cuanto a los carbohidratos fueron determinados por el método de precipitación con etanol (Rout *et al.*, 2006). Los datos experimentales fueron sujetos a un análisis multivariado haciendo comparación de rangos con pruebas de intervalo de Scheffé, empleando el programa Statgraphics 5.1, con base en los resultados de los triplicados realizados para cada caso.

Obtención de los extractos de *Pleurotus*

Los productos de la FEL se filtraron separando el micelio del medio agotado. Los medios agotados liofilizados y los micelios frescos se extrajeron con AcOEt a temperatura ambiente, se desecaron con Na_2SO_4 anhidro y se llevaron a sequedad en un evaporador rotatorio para posteriormente caracterizarlos por CG-EM en un cromatógrafo marca Hewlett Packard 6890 con una columna capilar DB5 (30 m, 0,33 mm d.i., 25 μm) acoplado a un espectrómetro de masas 5973 con fuente de ionización de 70 eV, bajo las siguientes condiciones: Helio 4,5 a 1,1 mL/min; modo Splits; temperatura del inyector 300 °C; rampa de calentamiento 60 °C 1 min: 7,4 °C/min hasta 310 °C. Los componentes de cada extracto fueron identificados mediante comparación con la base de datos contenida en el software del equipo.

Resultados y discusión

Es bien conocido que la composición química es la que determina el empleo de los hongos comestibles como alimentos terapéuticos o funcionales, útiles para la prevención de enfermedades tales como la hipertensión, la hipercolesterolemia, la arteriosclerosis y el cáncer entre otras, (Zhong y Xiao, 2009; Wasser, 2011), hecho que le da la importancia a este estudio en el que se pretende establecer el efecto que sobre dicha composición tiene el uso de fuentes de carbono no convencionales en la producción de *P. ostreatus* mediante FEL.

Caracterización de las FC

La composición del sustrato fue determinada a partir del análisis proximal de las harinas empleadas. Los resultados obtenidos (Tabla 1) ponen de manifiesto que hay diferencias notorias entre ellas, las más significativas son las correspondientes al contenido de C y de carbohidratos. La

Tabla 1. Caracterización de las harinas de cereales.

	%C	%N	C/N	% Grasas	% Carbohidratos	% Cenizas	% Materia seca
FC1	40.28 ± 0.01 c	1.84 ± 0.02 b	21.86 ± 0.20 f	0.20 ± 0.00 a	30.42 ± 0.14 i	1.59 ± 0.00 c	89.05 ± 0.10 a
FC2	42.35 ± 0.01 i	2.59 ± 0.03 d,e	16.38 ± 0.20 d	6.33 ± 0.05 h	37.63 ± 0.15 j	1.63 ± 0.06 c, d	90.30 ± 0.07 b
FC3	39.79 ± 0.01 b	2.20 ± 0.03 c	18.03 ± 0.26 d,e	0.88 ± 0.01 b	21.85 ± 0.15 f	0.78 ± 0.01 a	88.74 ± 0.18 a
FC4	39.42 ± 0.01 a	1.37 ± 0.00 a	28.70 ± 0.01 h	0.22 ± 0.02 a	29.24 ± 0.08 h	0.71 ± 0.05 a	88.74 ± 0.15 a
FC5	40.46 ± 0.01 d	3.45 ± 0.11 f	11.72 ± 0.34 b	2.25 ± 0.05 d	39.62 ± 0.04 k	4.00 ± 0.08 f	90.11 ± 0.05 b
FC7	40.24 ± 0.02 c	1.62 ± 0.02 b	24.90 ± 0.25 g	1.56 ± 0.03 c	14.46 ± 0.13 c	0.79 ± 0.02 a	88.80 ± 0.11 a
FC8	46.66 ± 0.02 k	5.28 ± 0.02 g	8.83 ± 0.03 a	16.74 ± 0.14 i	12.49 ± 0.27 a	5.87 ± 0.01 h	92.70 ± 0.05 d
FC9	41.53 ± 0.02 h	2.78 ± 0.04 e	14.93 ± 0.21 c	3.08 ± 0.02 f	15.58 ± 0.26 d	4.84 ± 0.01 g	91.49 ± 0.08 c
FC10	40.82 ± 0.00 f	2.22 ± 0.03 c	18.35 ± 0.24 e	1.50 ± 0.02 c	27.53 ± 0.13 g	1.77 ± 0.02 c,d,e	88.96 ± 0.07 a
FC11	41.26 ± 0.01 g	1.75 ± 0.01 b	23.60 ± 0.20 g	3.69 ± 0.09 g	18.59 ± 0.28 e	1.12 ± 0.01 b	90.45 ± 0.10 b
FC12	42.62 ± 0.02 j	2.43 ± 0.01 c,d	17.54 ± 0.09 d,e	2.02 ± 0.04 d	13.35 ± 0.22 b	1.76 ± 0.07 e	95.23 ± 0.16 e
FC13	40.60 ± 0.00 e	1.58 ± 0.04 b	25.75 ± 0.64 g	2.78 ± 0.08 e	19.32 ± 0.14 e	1.02 ± 0.01 b	88.99 ± 0.08 a

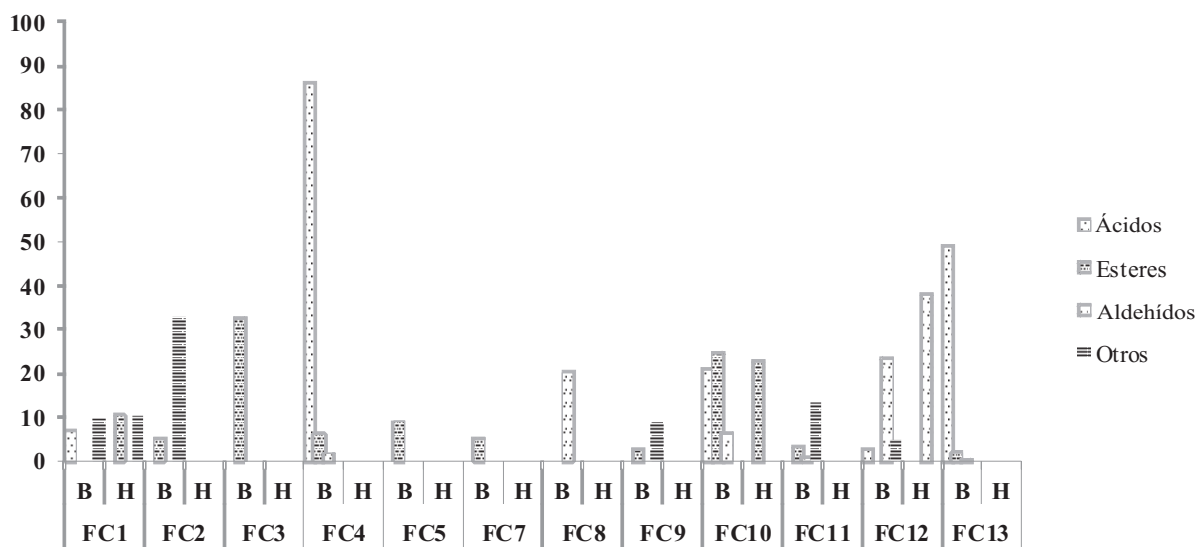
Los resultados son dados después de comparaciones múltiples, los valores de las medias obtenidas de tres repeticiones, están seguidos por una letra (a-k) basados en diferencias estadísticas. Si dos medias están acompañadas por la misma letra, no hay diferencias significativas entre sí, caso contrario ocurre con aquellas que tienen letras diferentes.

relación C/N oscila entre 8.83 ± 0.03 para la harina de soya y 28.70 ± 0.00 para la harina de arroz, datos que son reportados por primera vez para estas fuentes de carbono. Con respecto a parámetros como el contenido proteico, que para este estudio varía desde 8.6% para la harina de arroz hasta 33.0% para la harina de soya y el contenido de lípidos que se determinó en el rango desde 0.19% para la harina de cebada hasta 16.74% para la harina de soya (Tabla 1), son cercanos a los reportados en literatura que fluctúan entre 7.4%-36.0 % y 2.1%-18.1% respectivamente (Belitz *et al.*, 2009), teniendo en cuenta que la composición química de los cereales en general varía dependiendo de factores ambientales.

Composición química de los extractos en acetato de etilo de las harinas de cereales y los blancos del proceso

Para determinar que compuestos son producidos por el hongo durante la fermentación y descartar la incorporación desde el medio de cultivo, se realizó el mismo procedimiento de

extracción y caracterización por CG-MS con los blancos del proceso de fermentación (harinas de cereales y sales adicionadas), y con las harinas de cereales empleadas. El análisis de la composición química mostrado en la Figura 1, arrojó como resultado que los blancos del proceso presentan una composición más compleja que las harinas usadas en la fermentación, catalogando como los blancos de composición más sencilla, a la harina de trigo (FC3), la bienestarina (FC5) y la harina de soya (FC8). En cuanto a los ésteres, el componente más común y exclusivo de los blancos del proceso de fermentación es el dioctil ftalato que se encuentra, en proporciones entre 2.7% con el salvado de trigo (FC9) y 32.9% con la harina de trigo (FC3). En conjunto con los ésteres, los ácidos conforman los metabolitos de aparición más generalizada. Dentro de los denominados como otros compuestos (Figura 1) se encuentran aldehídos, amidas, fenoles, compuestos azufrados y fosforados, los que exhiben una distribución restringida y concentraciones muy bajas.



FC1 a FC13 Fuentes de carbono 1 a 13 (exceptuando FC6)
 B Extracto del blanco
 H Extracto de la harina de cereal

Figura 1. Comparación de la composición porcentual de los extractos en AcOEt de los blancos del proceso fermentativo y de las harinas de cereales, determinado con base en el análisis por CG-EM.

Composición química de los extractos en acetato de etilo del producto biotecnológico de la FEL de *Pleurotus ostreatus* y su variación con las fuentes de carbono empleadas

El análisis de la composición de los extractos del producto biotecnológico (micelio y medio agotado) obtenido con el empleo de las doce FC permitió determinar que los metabolitos pertenecen a varios grupos funcionales orgánicos tales como ácidos, ésteres, aldehídos, alcoholes y fenoles, resultados esperados pues son los compuestos que por vías metabólicas biosintetizan los hongos (Schnürer *et al.*, 1999).

Al comparar los ácidos presentes en los micelios y los medios agotados con los identificados en los blancos de las harinas de cereales, se puede deducir que todos los compuestos de este tipo son productos del metabolismo del hongo durante la fermentación, observaciones concordantes con los reportes de literatura, en donde se menciona que la disminución en el pH es un indicador de actividad fúngica generado por la producción de ácidos orgánicos volátiles de bajo peso molecular y ácidos fenólicos (Piškur *et al.*, 2011).

El ácido más ampliamente distribuido es el hexadecanoico (ácido palmítico) que se encuentra en trazas tanto en el micelio como en el medio agotado de las diferentes FC a excepción de la FC3 (harina de trigo), en donde su proporción es del 19.7% para el micelio y 11.1% para el medio de cultivo agotado, posicionando a la harina de trigo como una fuente de carbono viable para la producción de este metabolito. En cuanto a los ácidos grasos insaturados se identificó únicamente el ácido oleico en cantidades no cuantificables en el micelio cultivado con salvado de trigo (FC9). Estos resultados contrastan con lo reportado para los hongos en general (Kavishree *et al.*, 2008; Kalac, 2009) y para el caso particular del género *Pleurotus* (Kalac, 2009; Kanagasabapathy *et al.*, 2011; Smiderle *et al.*, 2012) en donde los autores mencionan que los ácidos grasos insaturados componen entre el 52 y el 87% de la composición grasa total y que el ácido oleico es el mayoritario.

El estudio en la distribución y cantidad de los ácidos pone de manifiesto que no hay una tendencia clara entre la relación C/N y la producción de ellos. Así por ejemplo en la

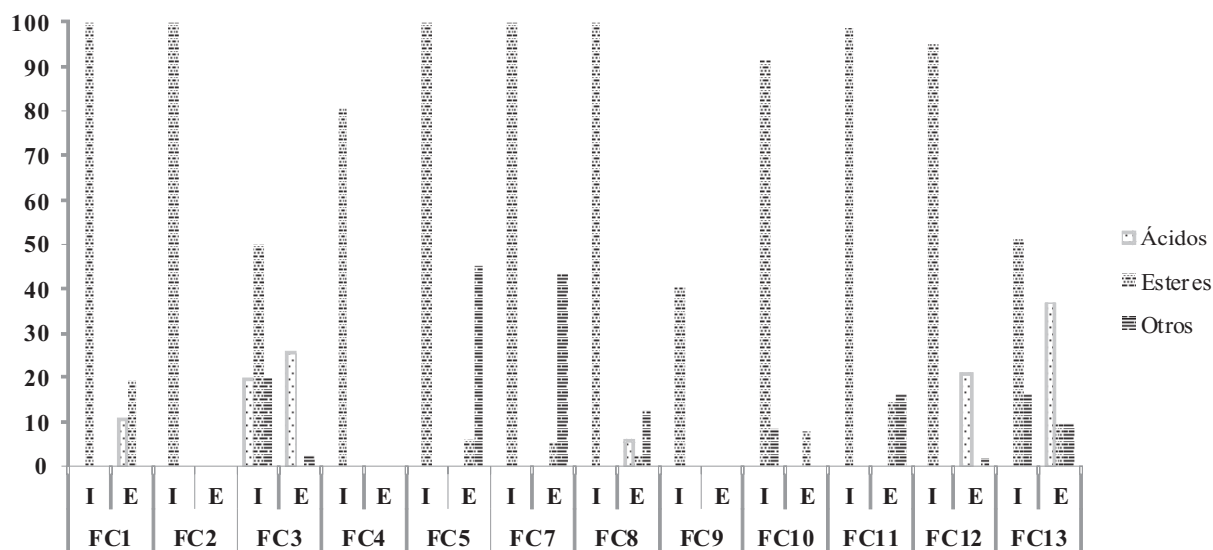
FC3, en donde se biosintetizan en mayor cantidad, hay una relación C/N intermedia ($18.03 \% \pm 0.26$) y cercana a la de la FC10 ($18.35 \% \pm 0.24$), que incluso permite catalogarlos estadísticamente dentro del mismo grupo homogéneo, y por ende esperar una producción similar, con esta última harina no hay aparición de los ácidos. Los resultados obtenidos contrastan con las investigaciones de Bessalova *et al.* (2002), quienes emplearon relaciones C/N de 8, 15 y 40, determinando que a mayor valor es menos favorable la lipogénesis en *P. ostreatus*, lo que permite inferir que el comportamiento no generalizado observado en este estudio es debido, tal vez, a que las fuentes de carbono son mucho más complejas que las empleadas en el trabajo citado, presentando no sólo cambio en la concentración de carbohidratos sino en la clase de los mismos, así como a la presencia de otros constituyentes propios de cada harina, factores que pueden incidir en la biosíntesis de estos metabolitos.

Con relación a los ésteres, que en varios casos constituyen los componentes mayoritarios de los extractos, se identificaron en total 10 en su gran mayoría etílicos derivados de ácidos grasos. El palmitato de etilo está en los micelios obtenidos con todas las fuentes de carbono en proporciones desde 2.7% en el medio agotado obtenido con harina de soya (FC8), hasta 50.4% en el micelio con la harina de arroz (FC4). El oleato de etilo es el segundo éster en importancia identificado en el producto biotecnológico de once de las FC y en proporciones que oscilan entre 12.8% en el micelio con FC9 hasta 56.4% con la FC2. De igual forma sucede con el linoleato de etilo que aparece con proporciones desde 5.4% en el micelio con la FC9 hasta 27.2% con la FC10. El estereato de etilo se encontró en el producto de la fermentación con todas las FC evaluadas, pero en porcentajes menores e incluso, en algunas ocasiones, en cantidades no cuantificables. Si bien estos ésteres se encontraron previamente en algunas de las harinas de cereales, la no aparición en el micelio de aquellos identificados para el

blanco permite deducir que son sintetizadas por el hongo y no incorporadas desde el medio de cultivo. La biosíntesis de estos compuestos ya ha sido reportada por otros autores (Kanagasabapathy *et al.*, 2011). Como se observa en la Figura 2, la presencia de los ésteres está más asociada con los micelios que con los medios agotados y son las harinas de cebada (FC1), de avena (FC2), de maíz (FC6), de soya (FC7), de maíz pinto (FC11) y la bienestarina (FC5) las fuentes de carbono que más favorecen la lipogénesis.

Al igual que como ocurre con los ácidos de los que provienen estos ésteres, no hay una tendencia clara entre su producción y la relación C/N de las FC, pero si se conserva la relación estructural mostrada por los ácidos, predominando los ésteres de ácidos grasos saturados sobre los insaturados, con el hexadecanoato de etilo como el componente mayoritario. Interesante resulta el hecho de que aparezcan algunos ésteres provenientes de ácidos que no fueron encontrados, y que son comúnmente aislados de hongos como el caso del pentadecanoato de etilo, el estearato de etilo y el linoleato de etilo, lo que hace suponer que en las condiciones de realización de la FEL se ve favorecida la producción de los ésteres frente a la de los ácidos. Se debe resaltar que el palmitato de etilo, presente en muy buena proporción en los micelios obtenidos con todas las FC empleadas y en menores proporciones en los medios con las FC1 y FC8, es reportado como compuesto responsable de la apoptosis en células tumorales humanas (Yu-Yi *et al.*, 2010), lo que permite pensar en futuras aplicaciones en el campo de la farmacología.

Así mismo, dentro de los compuestos identificados se encuentra un grupo de moléculas denotadas como otros (Figuras 1 y 2), que están en bajas proporciones y con distribución restringida, en los micelios obtenidos con las harinas de trigo (FC3), de trigo integral (FC10) y de maíz amarillo (FC13), en una concentración mayor en los medios agotados al emplear las bienestarina (FC5) y harina de maíz (FC7) como fuentes de carbono. Como componentes de este



FC1 a FC13 Fuentes de carbono 1 a 13 (exceptuando FC6)
 I Micelio
 E Medio agotado

Figura 2. Comparación de la composición porcentual de los extractos en AcOEt de los medios agotados y de los micelios de *Pleurotus ostreatus* cultivado con cada harina de cereal, determinado con base en el análisis por CG-EM.

grupo se tienen aldehídos, algunos ya identificados como componentes de la fracción volátil tanto en micromicetos como en macromicetos (Petrova *et al.*, 2007; Pinho *et al.*, 2008); alcoholes (bencílico) del cual también existen reportes de su presencia en macromicetos (Crespo *et al.*, 2008), incluso en la especie empleada para este estudio (Misharina *et al.*, 2009), observando ausencia total de los alcoholes de 8C, reportados como componentes de los volátiles fúngicos (Misharina *et al.*, 2009), lo que puede ser atribuido al hecho de que estos compuestos provienen del ácido linoléico (Kalac, 2009) que no se identificó en ninguno de los casos estudiados. Contrario a lo que ocurre con los componentes antes analizados, la producción del alcohol bencílico sí parece ser afectada directamente por la relación C/N del sustrato empleado, obteniéndose al utilizar las fuentes de carbono bienestarina (36.6% relación C/N 11.72 ± 0.34) y harina de soya (12.7 relación C/N 8.83 ± 0.03) para su cultivo, que tienen el menor valor de esta relación.

El 2-metoxi-5-vinilfenol también forma parte de

este grupo de compuestos, con un porcentaje del 16.4% en el micelio y los medios agotados obtenidos con harina de maíz pinto (FC12) y de siete granos (FC13). Este compuesto está comúnmente asociado con aromas “medicinales” (Harris *et al.*, 2009) y se encuentra dentro de los clasificados como potentes antioxidantes con una actividad comparable a la del α -tocoferol (Lau *et al.*, 2006; Terpic *et al.*, 2011). Acompañando a los metabolitos antes mencionados se encuentra la oleamida, identificada en el micelio al emplear harina de trigo integral (8.5%). Esta amida se ha identificado en el macromiceto *Antrodia camphorata* como constituyente de un extracto con demostrada actividad biológica contra líneas celulares tumorales (Yu-Yi *et al.*, 2010).

De los resultados de esta investigación se puede ver que no es posible generalizar la influencia de la FC empleada sobre la producción de los metabolitos secundarios, ya que cada caso es particular y que no sólo la relación C/N afecta la producción de estos compuestos y que el empleo de determinada FC está regido por la característica nutriceútica

buscada. Así mismo, debido a las diferentes actividades reportadas en literatura para los metabolitos fúngicos identificados, el producto biotecnológico obtenido mediante procesos de FEL empleando fuentes de carbono no convencionales, puede ser catalogado como una valiosa fuente de bioactivos, proporcionando además un valor agregado a los medios agotados, que en la mayoría de los casos de procesos biotecnológicos no son considerados como un producto útil, mediante su posterior empleo.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Laboratorio de Biotecnología y Bioprocesos de la Universidad de Antioquia por el cultivo y el suministro de las muestras.

Literatura citada

- AOAC., 2006. Official methods of analysis of the aoac. Washington, DC., USA.
- Belitz, H.-D., W. Grosch, P. Schieberle, 2009. Food chemistry. Springer.
- Crespo, R., N. Pedrini, M.P. Juárez, G.M. Dal Bello, 2008. Volatile organic compounds released by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Microbiological Research 163: 148-151.
- Gregori, A., M. Svagelj, J. Pohleven, 2007. Cultivation techniques and medicinal properties of *Pleurotus* spp. Food Technology and Biotechnology 45: 238-249.
- Guardia, M.L., G. Venturella, F. Venturella, 2005. On the chemical composition and nutritional value of *Pleurotus* taxa growing on umbelliferous plants (Apiaceae). Journal of Agricultural and Food Chemistry 53: 5997-6002.
- Harris, V., C.M. Ford, V. Jiranek, P.R. Grbin, 2009 Survey of enzyme activity responsible for phenolic off-flavour production by *dekkera* and *brettanomyces* yeast. Applied Microbiology and Biotechnology 81: 1117.
- Isikhuemhen, O.S., N.A. Mikiashvili, 2009. Lignocellulolytic enzyme activity, substrate utilization, and mushroom yield by *Pleurotus ostreatus* cultivated on substrate containing anaerobic digester solids. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 36: 1353-1362.
- Kalac, P., 2009. Chemical composition and nutritional value of european species of wild growing mushrooms: A review. Food Chemistry 113: 9-16.
- Kanagasabapathy, G., S.N.A. Malek, U.R. Kuppasamy, S. Vikineswary, 2011. Chemical composition and antioxidant properties of extracts of fresh fruiting bodies of *Pleurotus sajor-caju* (fr.) singer. Journal of Agricultural and Food Chemistry 59: 2618-2626.
- Kavishree, S., J. Hemavathy, B.R. Lokesh, M.N. Shashirekha, S. Rajarathnam, 2008. Fat and fatty acids of indian edible mushrooms. Food Chemistry 106: 597-602.
- Kim, S.S., J.S. Lee, J.Y. Cho, Y.E. Kim, E.K. Hong, 2010. Effects of c/n ratio and trace elements on mycelial growth and exo-polysaccharide production of *Tricholoma matsutake*. Biotechnology and Bioprocess Engineering 15: 293-298.
- Lau, A.P.S., A.K.Y. Lee, C.K. Chan, M. Fang, 2006. Ergosterol as a biomarker for the quantification of the fungal biomass in atmospheric aerosols. Atmospheric Environment 40: 249-259.
- Mandeeel, Q.A., A.A. Al-Laith, S.A. Mohamed, 2005. Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. World Journal of Microbiology and Biotechnology 21: 601-607.
- Manzi, P., S. Marconi, A. Aguzzi, L. Pizzoferrato, 2004. Commercial mushrooms: Nutritional quality and effect of cooking. Food Chemistry 84: 201-206.
- Misharina, T.A., S.M. Muhutdinova, G.G. Zharikova, M.B. Terenina, N.I. Krikunova, 2009. The composition of volatile components of cepe (*Boletus edulis*) and oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*). Applied Biochemistry and Microbiology 45: 187-193.
- Olfati, J.A., G. Peyvast, 2008. Lawn clippings for cultivation of oyster mushroom. International Journal of Vegetable Science 14: 98-104.
- Petrova, A., K. Alipieva, E. Kostadinova, D. Antonova, M. Lacheva, M. Gjosheva, S. Popov, V. Bankova, 2007 Gc-ms studies of the chemical composition of two inedible mushrooms of the Genus *Agaricus*. Chemistry Central Journal 1: 1-5.
- Pinho, P.G.d., B. Ribeiro, R.F. Gonçalves, P. Baptista, P. Valentão, R.M. Seabra, P.B. Andrade, 2008. Correlation between the pattern volatiles and the overall aroma of wild edible mushrooms. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56: 1704-1712.
- Piškur, B., M. Bajc, R. Robek, M. Humar, I. Sinjur, A. Kadunc, P. Oven, G. Rep, S.A.S. Petkovšek, H. Kraigher, D. Jurc, F. Pohleven, 2011. Influence of *Pleurotus ostreatus* inoculation on wood degradation and fungal colonization. Bioresource Technology 102: 10611-10617.
- Ragunathan, R., K. Swaminathan, 2003. Nutritional status of *Pleurotus* spp. Grown on various agro-wastes. Food Chemistry 80: 371-375.
- Rizki, M., Y. Tamai, 2011. Effects of different nitrogen rich substrates and their combination to the yield performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). World Journal of Microbiology and Biotechnology 27: 1695-1702.
- Rout, D., S. Mondal, I. Chakraborty, S.S. Islam, 2006. The structure of a polysaccharide from fraction-ii of an edible mushroom, *Pleurotus florida*. Carbohydrate Research 341: 995-1002.
- Sarangi, I., D. Ghosh, S.K. Bhutia, S.K. Mallick, T.K. Maiti, 2006. Anti-tumor and immunomodulating effects of *Pleurotus ostreatus* mycelia-derived proteoglycans. International Immunopharmacology 6: 1287-1297.
- Schnürer, J., J. Olsson, T. Börjesson, 1999. Fungal volatiles as indicators of food and feeds spoilage. Fungal Genetics and Biology 27: 209-217.
- Smiderle, F.R., L.M. Olsen, A.C. Ruthes, P.A. Czelusniak, A.P. Santana-Filho, G.L. Sasaki, P.A.J. Gorin, M. Iacomini, 2012. Exopolysaccharides, proteins and lipids in *Pleurotus pulmonarius* submerged culture using different carbon sources. Carbohydrate Polymers 87: 368-376.
- Terpinc, P., T. Polak, N. Segatin, A. Hanzlowsky, N.P. Ulrih, H. Abramovic, 2011. Antioxidant properties of 4-vinyl derivatives of hydroxycinnamic acids. Food Chemistry 128: 62-69.
- Tisdale, T.E., S.C. Miyasaka, D.E. Hemmes, 2006. Cultivation of the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on wood substrates in hawaii. World Journal of Microbiology and Biotechnology 22: 201-206.
- Wasser, S.P., 2011. Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. Applied Microbiology and Biotechnology 89: 1323-1332.

Yu-Yi, C., C. Chun-Sheng, C. Lan-Hsiang, W. Ting-Feng, 2010. Apoptotic effects of a high performance liquid chromatography (hplc) fraction of *Antrodia camphorata* mycelia are mediated by down-regulation of the expressions of four tumor-related genes in human non-small cell lung carcinoma a549 cell. *Journal of Ethnopharmacology* 127: 652-661.

Zapata, P., D. Rojas, L. Atehortúa, 2012. Production of biomass,

polysaccharides, and ganoderic acids using non-conventional carbon sources under submerged culture of the lingzhi or reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (w. Curt.:Fr) p. Karst. (higher basidiomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms* 14: 197-203.

Zhong, J.-J., J.-H. Xiao, 2009. Secondary metabolites from higher fungi: Discovery, bioactivity, and bioproduction. *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology* 113: 79-150.

