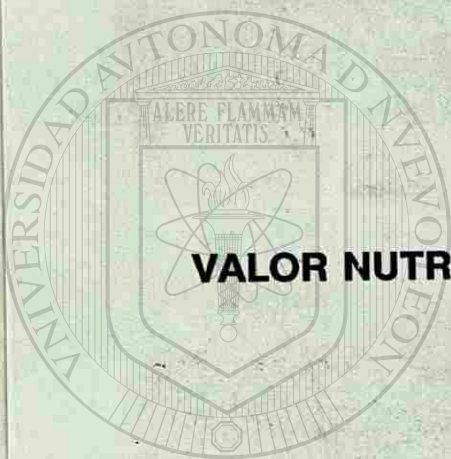


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE GRUADADOS



VALOR NUTRICIO DE TRES CEPAS MEXICANAS DE
Pleurotus ostreatus

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
ACADEMICO DE DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
ALIMENTOS

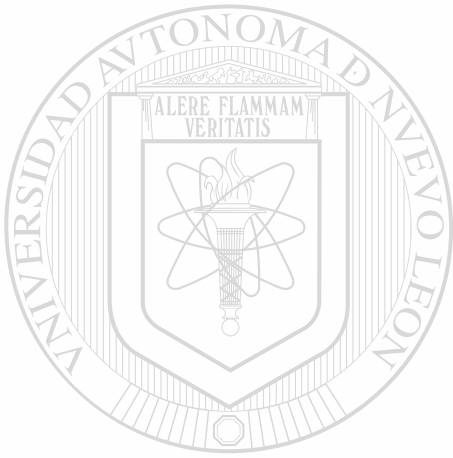
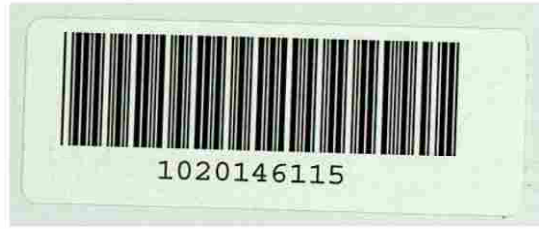
PRESENTA

MAYELA BAUTISTA JUSTO

MONTERREY, N.L.

JUNIO DE 1997

TD
Z5320
FCB
1997
B38



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

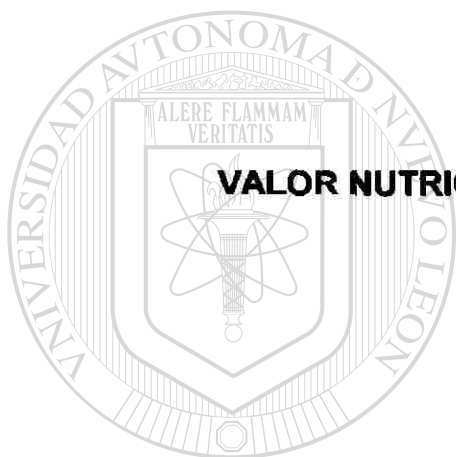
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



**VALOR NUTRICIO DE TRES CEPAS MEXICANAS DE
*Pleurotus ostreatus***

TESIS

UANL

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN ALIMENTOS**

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

PRESENTA

MAYELA BAUTISTA JUSTO

MONTERREY, N.L., MÉXICO

JUNIO DE 1997

A small, handwritten signature or mark in the bottom right corner of the page.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



**VALOR NUTRICO DE TRES CEPAS MEXICANAS DE
*Pleurotus ostreatus***

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN ALIMENTOS**


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

PRESENTA


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

MAYELA BAUTISTA JUSTO

DIRECTOR DE TESIS

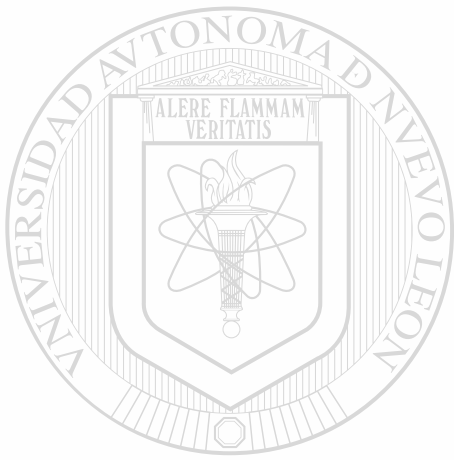

DRA. MA. GUADALUPE ALANÍS GUZMÁN

ASESOR EXTERNO


DRA. ELVIRA GONZÁLEZ FLORES

MONTERREY, N.L., MÉXICO

JUNIO DE 1997



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



FONDO
TESIS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



VALOR NUTRICO DE TRES CEPAS MEXICANAS DE *Pleurotus ostreatus*

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN ALIMENTOS

PRESENTA

MAYELA BAUTISTA JUSTO

COMISIÓN DE TESIS

Aprobada

DRA. MA. GUADALUPE ALANÍS GUZMÁN
(Director)


DRA. MA. JULIA VERDE STAR
(Secretario)

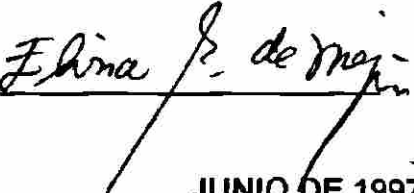
DR. BALTAZAR CUEVAS HERNÁNDEZ
(Vocal)

DRA. ELVIRA GONZÁLEZ FLORES
(Asesor externo)

MONTERREY, N.L.



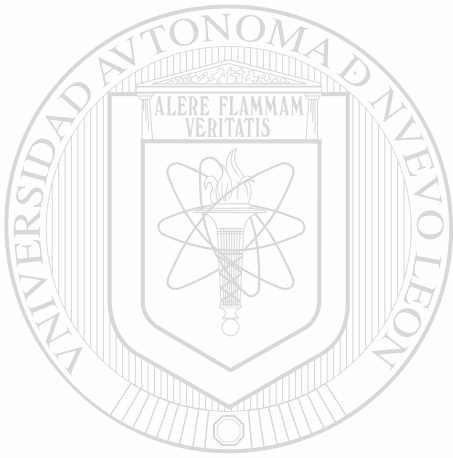




JUNIO DE 1997

051-29560

TD
Z5320
FCB
1997
B38



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

RESUMEN

En los últimos 25 años el cultivo mundial de hongos comestibles se ha incrementado, apreciándose por su exquisito sabor, contenido de nutrimentos y baja concentración de grasas saturadas. Los objetivos de este trabajo fueron efectuar un estudio químico y nutricio de las cepas de *Pleurotus ostreatus* de origen mexicano: INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897, bajo la hipótesis de que este hongo puede ser utilizado como fuente de aminoácidos esenciales, sin contribuir al consumo de grasas saturadas. Las setas se cultivaron en invernadero (80 ± 5 % de humedad relativa y 22 a 28 °C de temperatura). Se deshidrataron a 30 °C en horno de convección forzada y se molieron para su análisis. Se encontró diferencia estadística en la composición química y valor nutricio de las tres cepas estudiadas.

Los resultados más relevantes expresados en g/100 g en peso seco para las tres cepas fueron: humedad: de 89.80 ± 0.08 a 90.12 ± 0.05 ; proteína (N x 6.25): 24.64 ± 0.21 a 28.5 ± 0.26 ; extracto etéreo: 1.10 ± 0.16 a 1.85 ± 0.22 ; cenizas: 7.66 ± 0.23 a 8.79 ± 0.25 ; fibra cruda: 11.22 ± 0.11 a 11.82 ± 0.23 ; carbohidratos: 50.67 ± 0.80 a 54.01 ± 0.41 ; fibra dietética: 32.14 a 36.81 ; quitina de 4.03 ± 0.21 a 4.62 ± 0.10 . El perfil de ácidos grasos indicó un contenido de ácido linoleico de 63.60 y 68.45 % del total del extracto etéreo para las cepas CDBB-H-897 e INIREB-8 respectivamente. El contenido de aminoácidos esenciales fue superior en la cepa INIREB-8 con 322.85 mg/g de proteína (N x 6.25). La lisina biodisponible varió de 59.46 % para la CDBB-H-896 a 79.62 % para la CDBB-H-897, de la lisina total. La digestibilidad *in vivo* fue de 84.53 y 86.91 % para las cepas CDBB-H-897 e INIREB-8 respectivamente. El puntaje químico corregido por la digestibilidad verdadera fue de 54.87 a 65.83 %, este último valor para la INIREB-8, con leucina como primer limitante para las dos cepas. El valor proteínico relativo (VPR) con

Tetrahymena thermophila fue de 100.96 a 107.85 %. El contenido de ácidos nucleicos para las tres cepas estuvo entre 1.80 ± 0.01 y 1.99 ± 0.005 %. La proteína verdadera o precipitable con ácido tricloroacético estuvo entre 18.62 y 20.31 %, encontrándose una correlación significativa ($r= 0.85$) entre el N de aminoácidos y el N de proteína verdadera. El análisis de varianza entre el N total $\times 4.38$ (18.61 ± 1.49), N de proteína verdadera $\times 6.25$ (18.83 ± 1.22) y N de aminoácidos $\times 6.25$ (19.65 ± 0.59) no mostró diferencia significativa ($p < 0.05$), recomendándose el uso del factor 4.38 o la proteína precipitable con ácido tricloro acético para evaluar la proteína verdadera de las setas cuando no sea posible determinar aminoácidos. Las tres cepas presentaron concentraciones importantes de riboflavina (3.31 - 3.7 mg), tiamina (1.92 - 1.96 mg) y niacina (35.98 - 36.56 mg) % en peso seco.

Al suplementar algunas leguminosas y cereales como frijol, haba, lenteja, maíz, arroz y trigo con el 10 % de harina de setas deshidratadas, se lograron incrementos de aproximadamente el 20 % en el VPR.

De las tres cepas estudiadas la INIREB-8 presentó las mejores características aunque la CDBB-H-897 es muy similar a ésta. La cepa CDBB-H-896 se descartó por haber ocasionado un síndrome de toxicidad en las ratas del ensayo de digestibilidad *in vivo* recomendándose estudios posteriores para definir su inocuidad. Se determinó el perfil electroforético de las proteínas de las tres cepas. Los perfiles de la INIREB-8 y CDBB-H-897 fueron casi idénticos, observándose para ambas cepas una proteína cercana a los 29 kDa en gran concentración, esta banda estuvo ausente en el perfil de la cepa CDBB-H-896.

Se concluye que las setas estudiadas son excelentes fuentes de vitaminas, fibra dietética y ácido linoleico (esencial) y buenas fuentes de proteínas. Además su perfil de aminoácidos complementa muy bien el de los cereales y adecuadamente al de algunas leguminosas; por lo tanto, es muy recomendable promover su consumo.

ABSTRACT

The edible mushrooms production has increased in the last 25 years worldwide. They are appreciated for their pleasant flavor, nutrient content and low saturated fat concentration. The objective of this work deals with the chemical and nutritional evaluation of *Pleurotus ostreatus* strains: INIREB-8, CDBB-H-896 and CDBB-H-897 from Mexico, based on the hypothesis that mushrooms can be used as an essential amino acid source, without increasing the ingestion of saturated fat. The mushrooms were cultivated in a green house (80 ± 2 % relative humidity, 22-28 C temperature). They were dried at 30 C in an air forced oven and milled previous to their analysis. Stastical analysis revealed differences in chemical composition and nutritional value between the three strains.

The more relevant results (g/100 g on dry weight basis) were: moisture: 89.80 ± 0.08 - 90.12 ± 0.05 ; protein (N x 6.25): 24.64 ± 0.21 - 28.5 ± 0.26); lipids: 1.10 ± 0.16 - 1.85 ± 0.22 ; ash: 7.66 ± 0.23 - 8.79 ± 0.25 ; crude fibre: 11.22 ± 0.11 - 11.82 ± 0.23 ; carbohydrates: 50.67 ± 0.80 - 54.01 ± 0.41 ; dietary fiber: 32.14 - 36.81; chitin: 4.03 ± 0.21 - 4.62 ± 0.10 . The fatty acid profile, showed a linoleic acid content from 63.6 - 68.45 % of total lipids. The essential amino acid content was 322.85 mg/ g protein (N x 6.25), higher in INIREB-8 strain. The available lysine ranged from 59.46 to 79.62 % of the total lysine content.

The *In vivo* digestibility was 84.53 (CDBB-H-897) and 86.91 % (INIREB-8). The protein digestibility-corrected amino acid scoring (PDCAAS) was 54.87 and 65.83 % for CDBB-H-897 and INIREB-8 strains respectively. Leucine was the first limitant amino acid for the three strains. The relative protein value (RPV) using *Tetrahymena thermophila*, was 100.96 - 107.85 %. The nucleic acid content ranged from 1.78 - 1.99 % dry weight. The true protein (trichloroacetic acid precipitated) was 18.62 - 20.31 %, it was found a significant correlation ($r=0.85$) between true

protein N and amino acid nitrogen. Statistical analysis comparing total N x 4.38 (18.61 ± 1.49), true protein N x 6.25 (18.83 ± 1.22) and amino acid N x 6.25 (19.65 ± 0.59), revealed no significant differences ($p < 0.05$), for that reason it is recommended the use of 4.38 factor or TAC precipitable protein for the true protein evaluation in mushrooms, when the amino acid analysis is not possible. The three strains presented important concentrations of riboflavin (3.31 - 3.7 mg), thiamin (1.92-1.96 mg) and niacin (35.98 - 36.56 mg) on dry weight basis.

When some legumes and cereals like beans, lentils, rice, corn and wheat were supplemented with 10 % of dried INIREB-8 mushroom flour, the RPV increased in about 20 %.

INIREB-8 strain presented the best nutritional characteristics, although the CDBB-H-897 was similar to it. The CDBB-H-896 was eliminated, since its ingestion caused a toxicity syndrome in the rats on true digestibility assay. In order to establish the innocuity of the CDBB-H-896 strain more chemical and toxicological studies are necessary. The protein profile was determined by electrophoresis. INIREB-8 and CDBB-H-897 profiles were almost identical, showing a protein near to 29 kDa in a high concentration, this band was absent in CDBB-H-896 profile.

The conclusion was that the studied strains (except CDBB-H-896), are excellent vitamin, dietary fiber and linoleic acid sources and good sources of proteins. Moreover, their amino acid profile is an excellent complement for cereals and good for some legumes. It is highly recommended to promote the mushroom consumption.

ÍNDICE

Contenido	Página
Dedicatorias	v
Agradecimientos	ix
Reconocimientos	x
Resumen	xi
Abstract	xiii
Índice	xv
Índice de tablas y figuras	xix
I. Introducción	1
II. Objetivos	6
III. Hipótesis de trabajo	7
IV. Originalidad	8
V. Antecedentes	10
A. Datos históricos	10
B. Hongos cultivables	12
C. Morfología y clasificación	13
D. Composición química	15
1. Agua	15
2. Hidratos de carbono	16
3. Lípidos	17
4. Proteínas	19
5. Aminoácidos	22
6. Acidos nucleicos	25
7. Vitaminas	26

8. Minerales	26
E. Calidad nutricia	28
F. Evaluación de calidad de proteínas por métodos rápidos	30
G. Método de complementación	32
H. Caracterización de hongos por electroforesis de sus proteínas	33
I. Propiedades medicinales y biológicas	33
VI. Materiales y Métodos	36
A. Materiales	36
1. Origen de las cepas	36
2. Producción de setas	36
3. Preparación de las muestras	39
B. Métodos	40
1. Análisis químico	40
Análisis químico proximal	40
Fibra dietética	40
Quitina	41
Valor energético	41
Minerales	41
Perfil de ácidos grasos	41
Fraccionamiento de nitrógeno	42
Nitrógeno no proteico	42
Solubilidad de proteínas en alcohol y agua	43
Análisis de aminoácidos	43
Lisina biodisponible	44
Aminoácidos libres	45
Acidos nucleicos	47
Vitaminas	48

2. Calidad de Proteínas	48
Puntaje Químico Corregido por la digestibilidad	48
Digestibilidad verdadera	48
Valor proteínico relativo con	
<i>Tetrahymena thermophila WH14</i>	50
Digestibilidad <i>in vitro</i>	51
3. Electroforesis en gel de poliacrilamida SDS	51
VII. Diseño de experimentos y análisis estadístico.	54
VIII. Resultados	57
Análisis proximal	57
Valor energético	58
Fibra dietética	62
Lípidos (Perfil de ácidos grasos)	62
Minerales (Calcio y fósforo)	62
Quitina	64
<hr/>	
Vitaminas	64
Fraccionamiento de nitrógeno	65
Acidos nucleicos	66
Aminoácidos	68
Puntaje químico de aminoácidos	68
Lisina reactiva	70
Aminoácidos libres	71
Digestibilidad <i>in vitro</i>	72
Valor proteínico relativo (VPR)	72
Digestibilidad verdadera	75
Suplementación de cereales y leguminosas con harina de setas	83
Perfil electroforético	89

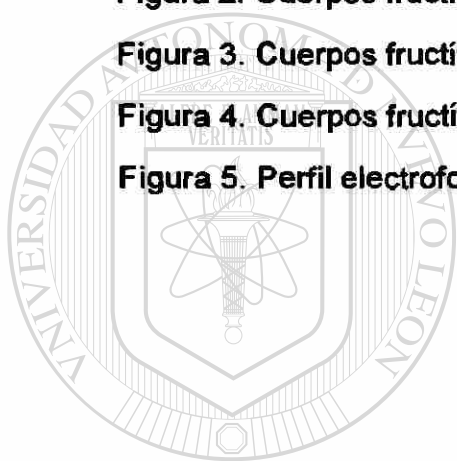
IX. Discusión	91
A. Composición química	91
Análisis proximal	91
Proteína	92
Lípidos	92
Minerales	93
Hidratos de carbono y fibra	95
Vitaminas	97
Fraccionamiento de nitrógeno.	98
Ácidos nucleicos	100
Aminoácidos	101
Lisina biodisponible (reactiva)	103
Aminoácidos libres	103
B. Calidad de proteínas	104
Digestibilidad <i>in vitro</i>	104
Valor proteínico relativo	105
Digestibilidad verdadera	107
Suplementación de cereales y leguminosas con setas	110
C. Perfil electroforético	113
D. Consideraciones finales	114
IX. Conclusiones	118
X. Bibliografía	119

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

	Página
Tabla 1. Análisis proximal de setas <i>Pleurotus ostreatus</i>	58
Tabla 2. Contenido de fibra dietética en setas <i>Pleurotus ostreatus</i>	62
Tabla 3. Acidos grasos en <i>Pleurotus ostreatus</i>	63
Tabla 4. Calcio y fósforo en setas	63
Tabla 5. Contenido de quitina en setas	64
Tabla 6. Vitaminas en setas <i>Pleurotus ostreatus</i>	65
Tabla 7. Fraccionamiento de nitrógeno en muestras de setas	66
Tabla 8. Comparación entre valores de proteína verdadera utilizando los factores de 4.38 y 6.25.	67
Tabla 9. Contenido total de ácidos nucleicos en setas <i>Pleurotus ostreatus</i> .	67
Tabla 10. Contenido de aminoácidos en setas <i>Pleurotus ostreatus</i> comparado con el patrón FAO, 1985.	69
Tabla 11. Puntaje aminoacídico de las cepas INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897 de <i>Pleurotus ostreatus</i> comparado con datos de la literatura.	70
Tabla 12. Lisina reactiva en <i>Pleurotus ostreatus</i>	71
Tabla 13. Aminoácidos libres en <i>Pleurotus ostreatus</i> .	71
Tabla 14. Digestibilidad <i>in vitro</i> de muestras de setas <i>Pleurotus ostreatus</i> .	73
Tabla 15. Valor proteínico relativo (VPR) de muestras de setas comparado con el de diversos alimentos.	73
Tabla 16. Valor proteínico relativo (VPR) y contenido de nitrógeno de la fracción de proteína soluble en agua.	74
Tabla 17. Valor proteínico relativo (VPR) y contenido de nitrógeno de la fracción soluble en alcohol.	74

Tabla 18. Valor proteínico relativo de la muestra completa y de las fracciones solubles en agua y en alcohol.	75
Tabla 19. Digestibilidad verdadera e índices de calidad proteínica de las cepas INIREB-8 y CDBB-H-897.	77
Tabla 20. Ganancia de peso de los animales empleados para el ensayo de la digestibilidad verdadera para la cepa INIREB-8.	78
Tabla 21. Datos empleados en el cálculo de la digestibilidad verdadera para la cepa INIREB-8.	78
Tabla 22. Ganancia de peso de animales en el ensayo de digestibilidad verdadera, para la cepa CDBB-H-896.	80
Tabla 23. Datos empleados para el cálculo de la digestibilidad verdadera para la cepa CDBB-H-896.	81
Tabla 24. Aumento de peso de animales del ensayo de digestibilidad verdadera para la cepa CDBB-H-897.	81
Tabla 25. Datos empleados en el cálculo de digestibilidad verdadera para la cepa CDBB-H-897.	82
Tabla 26. Consumo de alimento y pérdida de peso de ratas en dieta libre de nitrógeno.	82
Tabla 27. Contenido de nitrógeno en heces de ratas en dieta libre de nitrógeno.	83
Tabla 28. Digestibilidad <i>in vitro</i>, proteína y valor proteínico relativo de alimentos selectos solos y mezclados con harina de setas (INIREB-8).	87
Tabla 29. Puntaje químico y valor proteínico relativo en mezclas de alimentos selectos con harina de setas INIREB-8	

Tabla 30. Diferencias y similitudes en las variables estudiadas para tres cepas de <i>Pleurotus ostreatus</i>.	116
Tabla 31. Porcentaje de IDR que se cubren al consumir 250 g de setas INIREB-8.	117
Figura 1. Representación esquemática del cuerpo fructífero del <i>Pleurotus ostreatus</i>.	14
Figura 2. Cuerpos fructíferos de setas INIREB-8	59
Figura 3. Cuerpos fructíferos de setas CDBB-H-896	60
Figura 4. Cuerpos fructíferos de setas CDBB-H-897	61
Figura 5. Perfil electroforético.	90



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



I. INTRODUCCIÓN

En los albores del siglo XXI la pobreza y el hambre se han extendido considerablemente en todo el mundo invadiendo aún a los países desarrollados. En los Estados Unidos de Norteamérica, el desempleo y los bajos ingresos (Nestle y Guttmacher, 1992), así como el número de personas sin hogar, que varía entre doscientos mil y dos millones (Goyings y Csete, 1994), afectan negativamente a la alimentación y conducen a la desnutrición familiar. En contraste, en este mismo país la obesidad es causa de más de 300 000 muertes anuales, principalmente debido al consumo excesivo de grasas y alimentos con alta densidad energética (Blackburn, 1994). Se ha reportado que el 34 por ciento de la población adulta es obesa y está propensa a graves problemas sociales y de salud (Lachance, 1994).

Por otro lado, la pobreza en Latinoamérica, va cada día en aumento y en el último tercio del siglo XX la miseria en el medio rural se incrementó tanto, que los grandes centros urbanos latinoamericanos especialmente la ciudad de México, crecieron sin orden y proliferaron los cinturones de miseria, dando como resultado la desnutrición urbana, diferente y más compleja (Bourges, 1992). Entre 1981 y 1987 el número de mexicanos pobres creció de 32.1 a 41.3 millones (Anónimo, 1990).

El panorama presentado de carencias y excesos nutricionales, de alguna manera influyen en la orientación y desarrollo de la ciencia y tecnología de alimentos. Aunque, en los países en desarrollo se sigue luchando por la suficiencia alimentaria.

Es importante señalar que además del problema de carencias, en México también existe la obesidad aún en grupos de escasos recursos económicos, debido

al tipo de alimentos que se consumen y porque desafortunadamente se están importando los malos hábitos alimentarios norteamericanos (Anónimo, 1992).

En los Estados Unidos de Norteamérica, se trata de combatir la alta incidencia de obesidad desarrollando una gama de alimentos con bajo poder energético pero que contengan todos los nutrimentos (Blackburn, 1994). En el informe de la Academia Nacional de Ciencias de este país, sobre nutrición y ciencias de los alimentos, se señala como un punto importante para futuras investigaciones, el desarrollo tecnológico de mayor variedad de alimentos fortificados, bajos en grasa y valor energético, que contribuyan a una dieta saludable (National Academy of Science, 1994). Uno de los principales cambios en la industria alimentaria en 1996, se refiere a las enfermedades cardíacas y el cáncer y su relación con la dieta; surgiendo un elevado interés en alimentos con bajo contenido de grasa y reducido valor calórico, alimentos frescos, alimentos con procesamiento mínimo y "nutraceuticals" (Katz y Mermelstein, 1996)

La tendencia en los años noventas es disminuir el consumo de grasas saturadas, de los patrones alimentarios en todo el mundo, ya que ahora se prefieren los alimentos ricos en fibra y con poca grasa, como son los vegetales (Brian, 1990)

Uno de los componentes más importantes de los alimentos son las proteínas, y las fuentes más concentradas de ellas siguen siendo las de origen animal. Sin embargo, éstas también son ricas en ácidos grasos saturados. Por esta razón, todo alimento que aporte proteínas de buena calidad (equilibrada en aminoácidos esenciales), sin el inconveniente de las grasas saturadas, tendrá mejores expectativas para una dieta saludable.

En los países en desarrollo las proteínas y energía provienen principalmente de cereales. De hecho, la proporción de cereales en la dieta varía en relación

inversa con los ingresos, y la relación carbohidratos/energía de la dieta disminuye cuando aumentan los ingresos (FAO/OMS, 1973). Hoshiai (1980), en su estudio sobre la carencia de proteínas y desequilibrio de aminoácidos a nivel mundial, señala que las poblaciones con una alta ingesta en cereales, raíces y tubérculos, son deficitarias en lisina y clasificadas en la categoría de bajos ingresos, en tanto que las poblaciones con deficiencia en treonina tienen bajo consumo de cereales, raíces y tubérculos y son las de altos ingresos. Se deduce que cualquier fuente complementaria de proteínas, sobre todo aquellas que aporten lisina a la dieta de los grupos de poblaciones de escasos recursos, tienen un gran valor nutricional.

Los hongos que son alimentos con alto contenido en proteínas y aminoácidos esenciales (lisina entre ellos) y con bajo valor energético, han formado parte de la dieta del hombre desde tiempos remotos. A los hongos se les ha equiparado a la carne ya que hay especies que contienen hasta un 40 % de proteína (N x 4.38) en peso seco. Se han encontrado hongos con un contenido de lisina que oscila entre 174 y 841 mg/ g de nitrógeno de proteína corregida (N x 4.38) para *Lentinus edodes* y *Psalliota arvensis* respectivamente. Algunas especies superan a la proteína del huevo, que contiene 440 mg de lisina por gramo de nitrógeno (Crisan y Sands, 1978).

En México, los hongos se consumen tradicionalmente desde la época prehispánica y se han cultivado gracias a la gran variedad de microclimas existentes (Leal, 1985). Se calcula que existen en México por lo menos 185 000 especies diferentes de hongos de las cuales se conocen apenas 7 000 (Guzmán, 1996). Actualmente, se cultivan en el país los géneros *Agaricus* y *Pleurotus* (Leal, 1993); y se fomenta su producción en los estados de Puebla, Edo. de México, Veracruz, Chiapas, Querétaro y Guanajuato, entre otros.

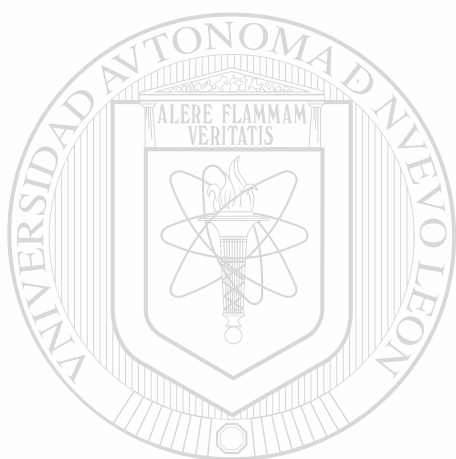
El género *Pleurotus* es una variedad de hongo comestible conocido por diversos nombres según la región (en Quintana Roo: kushun-ché, en Perote Ver.: hongo de maguey; en la zona de Xico: hongo de izote y en la región de El Lencero: hongo de Patancán); esta seta es consumida tradicionalmente por los habitantes de las zonas rurales (López, s/f).

Dentro de las características del *Pleurotus* se encuentra su crecimiento rápido, simplicidad de demandas nutricionales (gran variedad de substratos) y resistencia contra organismos y plagas (Rajarathnam y Bano, 1987), también se puede cultivar en un amplio intervalo de temperatura (Rajarathnam y Bano, 1989). Debido a que puede crecer sobre desechos agroindustriales, últimamente, en el estado de Guanajuato ha habido interés por su cultivo masivo.

Desde el punto de vista nutricional existe una gran controversia cuando se habla de las setas u hongos, especialmente si se refiere al contenido y calidad de proteínas, primero porque se sabe que contienen nitrógeno no proteico derivado de quitina y de aminoácidos libres poco conocidos (Bano y Rajarathnam, 1988); y segundo, porque su contenido de nitrógeno puede variar según el substrato y la especie (Zadrazil y Kurtzman, 1982; Rajarathnam y Bano, 1989). Lo que es innegable, es que los hongos son buenas fuentes de vitaminas, dentro de las que se encuentran: tiamina, riboflavina, niacina, biotina y ácido ascórbico (Crisan y Sands, 1978). Por otro lado, hay evidencia de que algunas especies de hongos poseen ciertas propiedades terapéuticas en la prevención de tumores, y como antimicóticos, antiparasitarios y antivirales (Cochran, 1978).

Dada la importancia de los hongos como fuente potencial de proteínas, y a su gran aceptación en México, en este trabajo se estudió la composición química y valor nutritivo de tres cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus*, con el objeto de

definir sus características nutricionales y ampliar el conocimiento con respecto a los beneficios que pudieran aportar a la dieta.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

II. OBJETIVOS

A. General

Caracterizar química y nutricionalmente tres cepas mexicanas de *Pleurotus ostreatus*; y determinar su aporte como complemento proteínico, en alimentos para humanos.

B. Específicos

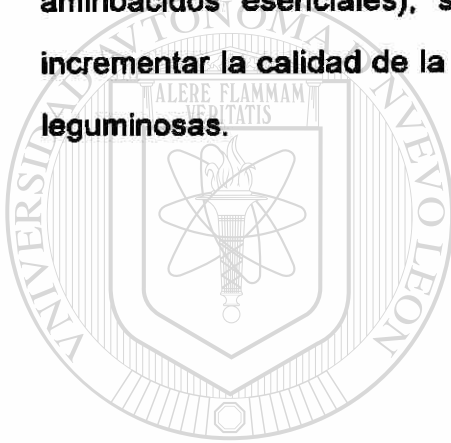
1. Caracterizar química y nutricionalmente la harina de las setas *Pleurotus ostreatus*.

2. Determinar la calidad nutricia de la proteína.

3. Identificar el perfil electroforético de las tres cepas.

III. HIPÓTESIS DE TRABAJO

El *Pleurotus ostreatus*, puede ser utilizado como un complemento (fuente de aminoácidos esenciales), sin contribuir al consumo de grasas saturadas, para incrementar la calidad de la proteína de la dieta típica cuya base son los cereales y leguminosas.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

V. ORIGINALIDAD

En la actualidad la producción de alimentos sigue siendo de primordial importancia, es por esto que el cultivo relativamente fácil de hongos ha tenido tanto éxito a nivel mundial. Los hongos se caracterizan además por su alto valor nutritivo. El *Pleurotus ostreatus* también conocido como seta es muy apreciado por su sabor exquisito y sobre todo por la facilidad de su cultivo. De 1986 a 1991 la producción mundial de esta seta aumentó de 169 000 a 917 000 t (442 %), China es el principal país productor (Chang y Miles, 1991).

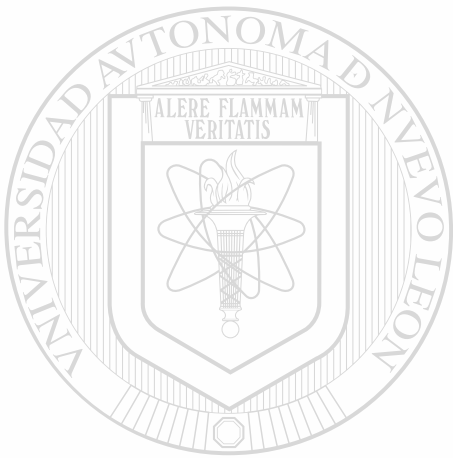
En México, también se está aumentando su producción y cada día cobran más importancia, porque existe el hábito de consumirlos y son apreciados en la dieta típica. Además, hay una gama muy amplia de hongos mexicanos, que crecen silvestres sobre todo en época de lluvias a través de todo el territorio. Sin embargo, sólo se cultivan los géneros *Agaricus* y *Pleurotus*. Las investigaciones realizadas hasta la fecha han abarcado aspectos taxonómicos, florísticos, microbiológicos, médicos, fitopatológicos y biológicos (Guzmán, 1990), por lo que hacen falta estudios sobre su caracterización química y valor nutritivo.

Debido a que la producción de setas se está incrementando en México, integrándose cada día más a la dieta de la población; es importante conocer su verdadero valor nutritivo y el beneficio que aporta como fuente de proteínas y otros nutrimentos.

La originalidad del presente trabajo estriba en que se estudiaron cepas mexicanas de *Pleurotus* y se evaluaron integralmente desde el punto de vista nutritivo.

Se considera que la caracterización química y evaluación nutritiva de estas setas mexicanas aportaron datos nutricionales muy importantes. De esencial relevancia fue su contenido de proteínas y perfil de aminoácidos esenciales que se complementa muy bien con el de los cereales; además de su contenido de vitaminas y fibra dietética. De esta forma se confirmó el gran potencial de estos alimentos no convencionales que cada día se consumen más en todo el mundo.

Se pudo seleccionar la mejor cepa de *Pleurotus ostreatus*, de las tres estudiadas; por lo que se podría recomendar y fomentar su cultivo para beneficiar a los consumidores.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

V. ANTECEDENTES

A. Datos históricos

El cultivo de hongos se remonta hacia el año 600 AC cuando por primera vez en China se cultivó el género *Auricularia*, desde entonces se han desarrollado diversos métodos para su cultivo (Chang y Miles, 1989). En el siglo XVII en Francia se inició el cultivo de *Agaricus* y recientemente, el de otros géneros como el *Pleurotus* (Leal, 1993). En los Estados Unidos de Norteamérica su cultivo se inició en la última parte del siglo XIX y el método permaneció en secreto durante mucho tiempo (Hill, 1967).

En 1986 la producción mundial de hongos comestibles fue de 2 182 miles de toneladas, de las cuales el 7.7 % correspondió a distintas especies de *Pleurotus*. En 1960 el consumo de hongos en España era de 20 g por persona por año, en tanto que en 1980 aumentó a 1 180 g; en el mismo período en Alemania Oriental varió de 150 a 2 450 g por persona por año, siguiéndose la misma tendencia en otros países Europeos, Estados Unidos de Norteamérica y Canadá (Bano y Rajarathnam, 1988).

Datos presentados por Chang y Miles (1991), revelan que la producción total mundial se incrementó notablemente en los últimos años; más de 120 países produjeron 4.3 millones de toneladas. El *Agaricus bisporus* o champiñón ocupa el primer lugar en la producción mundial (38 %) y el *Pleurotus* el segundo (25 %) siendo China el primer país productor de esta seta (International Society for mushroom Science, 1997).

La producción del *Pleurotus spp.* también ha aumentado en los últimos años. De 1986 a 1991 se incrementó de 169 000 a 917 000 t (442 %), China fue el

principal responsable de este crecimiento. En los Estados Unidos de Norteamérica la producción en 1995 fue de 881.8 t (Royse, 1997).

En México el consumo de hongos comestibles es una tradición que data de siglos y ha quedado plasmada en los códices indígenas y en las crónicas y escritos de la época de la colonia (López, 1986). Además, la población indígena y mestiza que vive en zonas templadas conoce desde tiempos prehispánicos, a los hongos y sabe diferenciar las especies comestibles de las alucinantes (Guzmán, 1977). En un estudio etnomicológico realizado en la zona de Acambay, Estado de México, se registraron 55 especies, 28 de ellas comestibles (Estrada-Torres y Aroche, 1987). Asimismo, Mata (1987), registró dos especies de macromicetos de uso actual en la zona de Pixoy, Valladolid, Yuc. En el uso de los hongos en Mesoamérica, destacan sus propiedades culinarias, farmacológicas y psicoterapéuticas (Guzmán, 1984). La importancia de los hongos a través de la historia en América Latina, así como su uso medicinal ha sido ampliamente discutida por Guzmán (1994).

Al hablar de hongos comestibles se usan frecuentemente diversas denominaciones: hongos, champiñones o setas; cabe aclarar que al género *Agaricus* spp se le conoce comúnmente como champiñón y a la generalidad de los hongos silvestres como setas (Leal, 1985). En este trabajo se usará indistintamente hongos o setas.

En 1931 por primera vez se cultiva en México el *Agaricus* y en 1974 se inicia el cultivo del *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kumm o setas (Martínez- Carrera et al., 1991).

B. Hongos cultivables

Los hongos comestibles se consideran como una fuente de alimentos de incalculable valor, por su calidad nutricia y porque pueden crecer en una gran variedad de substratos; los más comunes incluyen pajas (trigo, avena y arroz), serrín, desechos de algodón, heno, hojas de plátano, rastrojo de maíz y otros desechos agrícolas (Royse, 1997).

Los Ascomicetos y Basidiomicetos son los hongos factibles de cultivarse (Smith, 1978). Dentro de los Basidiomicetos se encuentran los hongos aparentes y conocidos como setas, cuescos de lobo, royas y tizones (Hill, 1967).

Los hongos cultivables fueron divididos tentativamente por Bels (1978), según su ocurrencia en la naturaleza, en cinco grupos:

1. Hongos que crecen sobre residuos frescos de plantas o casi frescos: *Lentinus*, *Pleurotus*, *Flammulina*, *Auricularia*, *Pholiota*, *Tremella*, *Agrocybe*, *Ganoderma* y *Coprinus*.

2. Hongos que crecen sobre compostas inmaduras: *Volvariella*, *Stropharia*, y *Coprinus*.

3. Hongos que crecen sobre compostas terminadas: *Agaricus*.

4. Hongos que crecen sobre suelo y humus: *Lepiota*, *Lepista*, *Morchella* y *Gyromitra*.

5. Hongos micorríticos: *Boletus*, *Cantharellus*, *Amanita*, *Tuber*, *Matsutake*, *Morchella* y *Lactarius*.

En condiciones naturales el *Pleurotus* crece sobre árboles o troncos de madera y es uno de los hongos más populares en muchos países subtropicales y zonas templadas. Cuando se cultiva artificialmente crece bien en la mayor parte de materiales agrícolas de desecho suplementados con aditivos. En su *habitat* natural su crecimiento es bueno en la época de lluvia. La temperatura óptima para la formación de micelio y formación de cuerpo fructífero es de 25°C y la humedad relativa entre el 70 y 80 % (Leong, 1982).

El género *Pleurotus* es cosmopolita y puede dividirse en cuatro secciones con un total de 39 especies. Algunos autores norteamericanos nombran "hongo ostión" a aquel cuyas esporas dejan una huella de color lila o grisácea sobre papel blanco y se refieren al *Pleurotus sapidus* (Eger, 1978).

C. Morfología y clasificación

Los hongos tienen un reino propio y obtienen sus nutrimentos absorbiendo materiales orgánicos e inorgánicos solubles, se caracterizan además porque sus paredes celulares contienen quitina. Los *Eumicofitas* u hongos son un grupo heterogéneo que comprende 77 085 especies descritas; 63 585 correspondientes a los hongos perfectos o verdaderos y 13 500 especies asociadas con algas y líquenes (Hudson, 1986). Se ha estimado que existen sobre la tierra unas 1 500 000 especies de hongos (Royse, 1997).

Existen en México por lo menos 185 000 especies de hongos de las cuales se conoce apenas el 3.5 % que corresponde a unas 7 000 especies (Guzmán, 1996). Se han estudiado más de 600 especies mexicanas de hongos y están depositadas

en el Herbario micológico de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, que cuenta con más de 32 000 especímenes (Guzmán, 1977).

El *Pleurotus ostreatus* representado en la Figura 1, pertenece a la clase Basidiomicetos, orden Agaricales (agaricáceos); familia Tricholomataceae (Tricoloma) (Chang y Hayes, 1978; Guzmán, 1977); tiene cuerpos fructíferos gimnocarposos lo cual significa que durante el desarrollo del esporóforo la lamela no se llega a cubrir con un velo. Las esporas se producen inmediatamente después de que la primera lamela se ha generado y un número muy grande de esporas pueden ser liberadas por cada cuerpo fructífero antes de que éste pueda ser usado para cultivo (Eger, 1978).

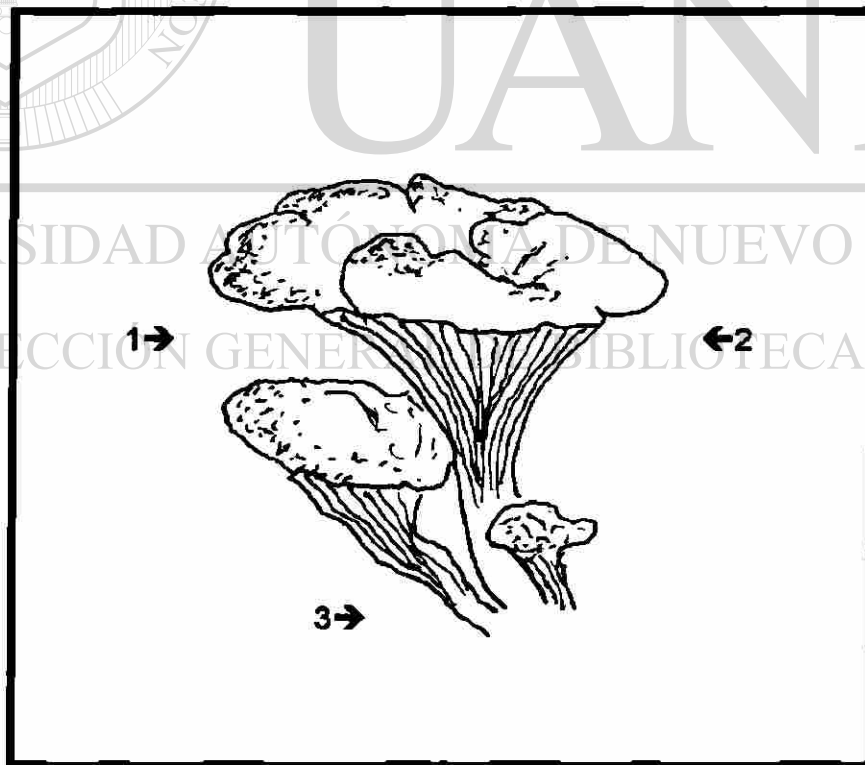


Figura 1. Representación esquemática del cuerpo fructífero del *Pleurotus ostreatus*. 1.Sombrero o pileo. 2.Hifas. 3.Estípite o tallo.

Las setas *Pleurotus ostreatus* fueron descritas por Guzmán (1977) como: "Hongos con sombrero liso, a veces algo escamoso hacia el centro o base; de 5 a 10 cm de ancho (o hasta 15 cm), grisáceo o café grisáceo con tonos o reflejos metálicos. Sus láminas son blancas o rosa amarillento en seco, poco o nada unidas entre sí en la base, más o menos delgadas y con bordes lisos, no tienen pie o éste es muy corto y mal definido. Carne blanca, carnosa-correosa con olor y sabor agradables. Crecen en grandes conjuntos sobre troncos tirados o árboles en zonas tropicales, subtropicales o bosques de pino y encino; en jardines, a veces sobre chopos, sauces o fresnos".

Guzmán (1977), describe además, 8 especies nativas que crecen en México: *Pleurotus smithii* Guzmán, cuyo tamaño va de 10 a 25 cm, *Pleurotus mexicanus* Guzmán (de 3 a 7 cm), *P. cornucopiae* (Paul.:Fr.) Roll., *P. dryinus* (Pers. ex Fr.) Kumm., *P. hirtus* (Fr.) Sing., *P. levis* (Berk. & Curt.) Sing., *P. ostreatus* (Jacq.:Fr) Kumm., *P. roseopileatus* Sing. Guzmán *et al.* (1995) agregan dos especies nativas más: *P. djamor* var. *roseus* y *P. djamor* var. *salmoneostramineus*.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



D. Composición química

1. Agua

Los hongos frescos generalmente contienen entre el 85 y 95 % de humedad, valores que pueden ser variables porque depende del tiempo de almacenamiento de la muestra, ya que los hongos pueden perder humedad aún a temperaturas de 3 °C (Crisan y Sands, 1978).

Bano y Rajarathnam (1988), informan que las especies de *Pleurotus* contienen aproximadamente 90 % de agua y que cualquier desviación significativa a

este valor puede deberse a las condiciones de cultivo tales como contenido de agua del substrato, temperatura ambiente y humedad relativa.

2. Hidratos de carbono

Una de las características más notables de los hongos es la composición química de sus paredes celulares, ya que la mayoría de ellos carece de celulosa (polímero característico de los vegetales); las paredes de las hifas de la mayor parte de los hongos contienen quitina, un polímero de la β -1,4-2-acetamido-2-deoxi-D-glucopiranososa; su contenido en la pared puede variar de 3 a 60 % en peso seco y está generalmente asociada con otros polisacáridos no celulósicos como glucanas, mananas, glucógeno, quitosanas, galactanas y poligalactosaminas. Los basidiomicetos pueden contener manano-quitina y quitina-glucana. La vasta mayoría de los hongos, incluyendo todos aquellos con hifas septadas típicas, tienen una pared de quitina-glucana. Otros tres grupos significativos son: celulosa-glucana, quitina-quitosana y manano-glucana (Hudson, 1986).

Los hongos frescos contienen relativamente grandes cantidades de carbohidratos (3 - 28 %) y fibra cruda (3 - 32 %). Estos pueden estar constituidos por una gran variedad de compuestos. En el *Agaricus bisporus* se pueden encontrar pentosas (xilosa y ribosa); metilpentosas (ramnosa y fucosa); hexosas (glucosa, galactosa y manosa); disacáridos (sacarosa); aminoazúcares (glucosamina y N-acetilglucosamina), azúcares alcoholes (manitol e inositol); azúcares ácidos (ácidos glucurónico y galacturónico); así como urónidos no identificados y metil-azúcares (Holtz, 1971; Crisan y Sands, 1978).

El contenido de fibra dietética en los hongos es debido a la hemicelulosa, sustancias como pectinatos y quitina (Levai, 1989). En el *Lentinus edodes* la fibra dietética del estípite está constituida por 8 polisacáridos, 5 glucosanas con enlace

glucosídico (1→3) y 3 con enlace (1→4), identificados como β-glucosanas o β-glucosanas+glucuronorilomanana (Zheng y Ding, 1995). Aplicando un método industrial, se han obtenido preparaciones de fibra dietética a partir del micelio del *Lentinus edodes* con una concentración de 77.63 % de carbohidratos y capacidad de absorción de agua de 7.39 g de agua/g (Byung-Woo *et al.*, 1995).

Cheung (1996), estudió la fibra dietética de cuatro especies comestibles de hongos: *Lentinus edodes*, *Lycophyllum shimeji*, *Pleurotus sajor-caju* y *Volvariella volvacea*, encontrando que la composición de fibra dietética total fue similar en el micelio, píleo y estípite. La composición de los azúcares reflejó que las β-glucanas fueron los principales polisacáridos constituyentes de la fibra, junto con la quitina, hemicelulosas y poliurónidos en menores proporciones. El 32 % de los azúcares totales en la fibra dietética total del micelio de *L. shimeji* fue galactosa

Los carbohidratos representan el mayor constituyente en las especies de *Pleurotus*, fluctuando en un intervalo de 46.6 a 81.8 % en peso seco. Se ha informado que contienen 4.2 % de carbohidratos solubles, 1.7 % de pentosanas y 32.3 % de hexosanas en peso seco; además de los polisacáridos como el glucógeno y la quitina (Bano y Rajarathnam, 1988).

3. Lípidos

El reino de los hongos atrae la atención de los químicos por su gran diversidad de ácidos grasos poco usuales y lípidos (Dembitsky *et al.*, 1993).

El valor energético de los hongos es muy bajo, debido a su escasa concentración de lípidos; ya que la mayoría de ellos contienen menos del 10 % y los hay con un contenido mínimo del 0.2 % como *Tremella fusiformis*. Existen también especies como *V. esculenta* que contiene 20.6 % (Bano y Rajarathnam, 1988). Se

considera que en promedio los hongos contienen entre 2 y 8 % de grasa (Crisan y Sands, 1978).

El extracto etéreo crudo, comprende compuestos representativos de todas las clases de lípidos incluyendo ácidos grasos libres, mono, di y triacilglicéridos, esteroides, esteroles, esteroles ésteres y fosfolípidos; varias especies de hongos son especialmente altas en ergosterol (0.2 a 270 mg/ 100 g en peso seco (Crisan y Sands, 1978).

Empleando la técnica de cromatografía en columna capilar Dembitsky *et al.* (1993) identificaron en ocho *Bacidiomicetos* 80 diferentes ácidos grasos, 43 saturados (iso-, anteiso- e hidroxiácidos), 34 monoenoico (iso-, anteiso-, e hidroxiácidos); 3 dienos y trienos; los hidroxiácidos variaron en las especies de hongos de 9.14 a 11.76 %; se encontró que los esfingolípidos contenían cadenas lineales de hidroxiácidos C15 - C 25 y cadenas largas de C22 - C26 en ceramidas de varios de los hongos estudiados.

El contenido de grasas de las distintas especies de *Pleurotus* oscila entre 1.8 y 9.4 % en peso seco y en promedio se considera un 2.85 %. Los principales ácidos grasos son el oleico (79.4 %), el palmítico (14.3 - 25.5 %) y el linoleico (6.3 - 59.4 %) (Stancher *et al.*, 1993; Bano y Rajarathnam, 1988).

También se ha encontrado escualeno, ergosterol libre y esterificado, así como ubiquinona 7. Las relativamente altas concentraciones de ácidos grasos insaturados, linoleico en particular en los cuerpos fructíferos del *Pleurotus*, hacen a sus especies interesantes desde el punto de vista nutricional para el ser humano (Bano y Rajarathnam, 1988).

4. Proteínas

Las proteínas son el componente más crítico que contribuye al valor nutricional de un alimento, por el hecho de que cuando hay una deficiencia de energía, la desnutrición proteínica se acentúa porque los aminoácidos pueden ser utilizados para el metabolismo energético dejando de participar en los papeles que corresponde a las proteínas (Sukhatme, 1970).

La desnutrición proteínica debe considerarse como un caso diferente de otras deficiencias y no porque los efectos de una carencia de proteínas sean más severos, sino por todos los papeles que las proteínas desempeñan en el metabolismo. Por ejemplo, mientras que la deficiencia de una coenzima puede reducir la actividad de una enzima e iniciar una serie de eventos negativos, la interferencia en la síntesis de proteínas afecta a la síntesis de todas las apoenzimas en una clase de orden jerárquico; entonces, las consecuencias son más difusas y más difíciles de reconocer en los estados tempranos de desnutrición, lo que afecta principalmente a los niños (Altschul, 1971).

Dentro de los papeles más importantes que las proteínas desempeñan en el organismo humano se pueden citar los siguientes: crecimiento y mantenimiento, como enzimas, en el equilibrio de fluidos corporales, en el equilibrio ácido-base, como anticuerpos, como hormonas, en transporte y coagulación sanguínea (Noss y Rady, 1993).

El primer análisis que se realiza para determinar el contenido de proteína cruda es la determinación de nitrógeno total, el cual se multiplica por el factor 6.25; basado en la suposición de que la mayoría de las proteínas contienen 16 % de nitrógeno, que son el cien por ciento digeribles y que casi no hay cantidades de nitrógeno no proteico presentes (Crisan y Sands, 1978; FAO/OMS, 1973).

El método de Kjeldahl para la determinación de nitrógeno total orgánico es un procedimiento ampliamente aceptado. Sin embargo, la selección de un factor apropiado de conversión (Nitrógeno: Proteína) para calcular el contenido total de proteína ha sido un punto controversial y las prácticas no son consistentes entre los laboratorios. El Comité de Factor de Conversión de la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (Baker, 1982), concluyó que: no existen factores precisos de conversión de N:P y reafirmó el continuo uso de una serie de factores compilados por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica, reimprimados en el AOAC (1984). Para la mayoría de los alimentos se recomienda un factor de 6.25; no obstante, para los alimentos que contienen mezclas de proteínas este factor es poco práctico.

Sosulski e Imafidon (1990) en su estudio sobre composición de aminoácidos y factores de conversión de nitrógeno a proteínas para alimentos vegetales y animales, informaron que de todas las muestras ensayadas el total de aminoácidos recuperados para los hongos fue el más bajo, menos de 4 500 mg/g de N de muestra y por lo tanto, la concentración de la mayoría de los aminoácidos parecía ser relativamente baja. El factor promedio para las muestras ensayadas fue de 5.68 ± 0.30 y para los hongos (*Agaricus spp.*) fue de 5.61.

Las investigaciones sobre la proteína cruda de los hongos sugieren que solamente entre el 34 y el 89 % de la proteína ($N \times 6.25$) es digerible. Este coeficiente reducido de digestibilidad puede parcialmente ser explicado por el hecho de que los hongos contienen cantidades significantes de nitrógeno no proteico en sus paredes celulares quitinosas (Crisan y Sands, 1978).

Danell y Eaker (1992) estudiaron la composición de aminoácidos totales de *Cantharellus cibarius* (Fries) y observaron que solamente 99 g Kg^{-1} en peso seco

del hongo, era proteína (77 %); lo cual implicó que los valores basados en el contenido total de nitrógeno, se habían sobrestimado entre el 70 y el 200 %. Por esta razón, concluyeron que el factor de conversión de nitrógeno a proteína fue alrededor de 4 y que aparentemente es diferente entre especies. Asimismo, señalaron que aunque los hongos contengan más proteínas que la mayoría de los vegetales no se debe sobrevaluar su valor nutricional.

Por otro lado, Ogawa *et al.* (1987) identificaron un nuevo análogo de N-(N- γ -L-glutamil-sulfo-L-alanil) glicina, en *Flammulina velutipes*; y obtuvieron un promedio de 65 % de nitrógeno proveniente de aminoácidos sugiriendo también que un factor de conversión práctico para los hongos podría ser alrededor de 4.

Al aislar la proteína de los hongos *Agaricus campestris* se encontró que el contenido de nitrógeno promedio es de 11.79 % y no de 16 % de N como lo es para la mayoría de las proteínas. Basados en este dato, el factor de conversión más apropiado para estimar la proteína del hongo, sería: $N \times 8.48$, siempre y cuando el nitrógeno no proteico de quitina y de aminoácidos libres pudiera ser ignorado (Fitzpatrick *et al.* 1946). Sin embargo, el factor más aceptado es el de 4.38 (Crisan y Sands, 1978).

El contenido de proteína cruda en los hongos muestra una extrema variación entre distintas especies. La proteína puede variar desde 4 a 9 % para especies de *Auricularia*, hasta valores tan altos como 44 % en peso seco, para especies de *Agaricus* (Crisan y Sands, 1978).

En cuanto a la solubilidad de las diferentes formas de nitrógeno en *Agaricus campestris*, se encontró que del nitrógeno total, el 60 % se solubiliza en el agua, el 88.6 % en solución salina al 10 %; 64 % en pH ácido de 4.05, el 80 % en pH 10 alcalino y el 51 % en alcohol al 80 % (Fitzpatrick *et al.*, 1946). En distintas especies

de *Pleurotus* se encontró que la proteína soluble constituye alrededor del 30 % (Rai *et al.*, 1988).

En las especies de *Pleurotus*, el contenido de proteína (N x 4.38); varía de 8.9 % para *P. opuntia* hasta 38.7 % para *P. limpidu* (Bano y Rajarathnam, 1988). La composición del substrato tiene una influencia significativa sobre el contenido de proteína de los hongos (Rajarathnam y Bano, 1989).

Estudios realizados por Zadrazil y Kurtzman (1982) revelaron que en el cultivo de *Pleurotus sajor-caju*, empleando paja de trigo como substrato, la suplementación del substrato con nitrato de amonio, pasta de soya o harina de alfalfa aumentó el contenido de nitrógeno en los cuerpos fructíferos a 5.32 % con nitrato de amonio, 5.46 % con alfalfa y a 8.8 % con pasta de soya; estos resultados muestran claramente una correlación entre la cantidad de suplemento orgánico y contenido de nitrógeno del basidiocarpo.

5. Aminoácidos

En general los hongos contienen todos los aminoácidos esenciales y existen informes muy amplios realizados por varios investigadores, acerca de estos componentes (Crisan y Sands, 1978; Samajpati, 1978; Bano y Rajarathnam, 1982; Ogawa *et al.*, 1987; Bano y Rajarathnam, 1988; Sosulski e Imafidon, 1990). Las variaciones en la concentración de aminoácidos en los hongos son muy amplias, lo mismo que el contenido de aminoácidos esenciales por lo que no es posible definir un patrón específico de éstos. Dentro de los aminoácidos más importantes se pueden mencionar los siguientes valores mínimos y máximos informados para distintas especies de hongos:

mg/g de N	Nombre	Valor	Nombre	Valor
Proteína (Nx4.38)	científico	mínimo	científico	máximo
Lisina	<i>Lentinus edodes</i>	174	<i>Psalliota arvensis</i>	841
Metionina	<i>B. versipellis</i>	34	<i>Termitomyces sp.</i>	625
Tirosina	<i>A. bisporus</i>	89	<i>Hyndum repandum</i>	608
Treonina	<i>Verpa</i>		<i>Cantharellus cibarius</i>	743
Triptófano	<i>Pleurotus sp.</i>	56	<i>Psalliota arvensis</i>	1060
Valina	<i>A. bisporus</i>	112	<i>Volvariella displasia</i>	607
Isoleucina	<i>Boletus edulis</i>	93	<i>Lepiota sp.</i>	821
Leucina	<i>M. deliciosa</i>	321	<i>Lepiota sp.</i>	777

Fuente: Crisan y Sands, 1978.

En lo que respecta al *Pleurotus*, se han encontrado valores de lisina entre 4.5 y 11.1 g de aminoácido por 100 g de proteína cruda corregida (N x 4.38) para el *Pleurotus ostreatus* y el *P. eous* respectivamente. Asimismo, el contenido de metionina se reportó entre 1.5 y 3 g por 100 g de proteína cruda corregida (Bano y Rajarathnam, 1988).

Una de las características más importantes en este rubro es la presencia de aminoácidos libres y otros compuestos nitrogenados en las setas. Altamura *et al.* (1967) y Hughes *et al.* (1958), informaron que varias especies de hongos contienen aminoácidos libres y compuestos relacionados tales como: metionin-sulfóxido, β -alanina, Ac. cisteico, hidroxiprolinas, hidroxilisinas, Ac. α -amino adípico, fosfoserina, cistationina, canavanina, ornitina; creatinina, citrulina, glucosamina y etanolamina. Altamura (1967), informó que *A. bisporus* contiene 53 diferentes compuestos nitrogenados.

Por su parte Sato *et al.* (1985), examinaron los cuerpos fructíferos de 113 clases de hongos y encontraron 20 aminoácidos libres comunes en las proteínas y 11 no proteínicos, con una considerable diferencia entre las especies de hongos, el promedio de aminoácidos libres totales fue de 213 $\mu\text{mol/g}$ en peso seco; el contenido de ácido glutámico, glutamina y alanina fue muy alto; dominando estos aminoácidos en la poza de aminoácidos libres. Las concentraciones de aminoácidos no proteínicos fueron comúnmente bajas; no obstante, los más ampliamente distribuidos fueron la ornitina, ácido γ -amino-n-butírico y cistationina. Estos autores concluyeron que parece que no hay ninguna correlación entre la poza de aminoácidos libres y grupos taxonómicos de hongos.

Se ha reportado que cerca de la quinta parte del nitrógeno total está en forma de aminoácidos libres. Estudios realizados en *P. serotinus*, *P. ostreatus* y *P. cornucopiae*, indicaron que el contenido de aminoácidos libres fue de 172; 290 y 590 μMol de aminoácidos por gramo, en cuerpo fructífero, informado en peso seco. Dentro de los compuestos nitrogenados y aminoácidos libres contenidos en *Pleurotus ostreatus* se pueden mencionar: urea, amonio, sacaropina, etanolamina; ácido aspártico, treonina, serina, N-(glutamil)-etanolamina, asparagina, ácido glutámico, glutatona oxidada, glutamina, N-acetil-L-ornitina, ácido α -amino adípico, ácido α -amino-N-butírico y cistationina (Bano y Rajarathnam, 1988).

El análisis de los hongos silvestres comestibles: *Termitomyces robustus*; *Thricholoma lobayensis* y *Volvariella esculenta*; reveló la presencia de 17 aminoácidos, con deficiencias de lisina, fenilalanina, metionina e isoleucina, cuando se compararon con los contenidos de los mismos aminoácidos en huevo; sin embargo, los aminoácidos más abundantes en todos los hongos fueron: glicina, ácido glutámico, alanina y ácido aspártico (Alofe, 1991).

Existen estudios que indican que hay especies de *Pleurotus* que son capaces de sintetizar una mayor proporción de aminoácidos esenciales y que cuando el balance total de aminoácidos (total de aminoácidos en los cuerpos fructíferos más los que contiene el substrato agotado), resulta positivo, el sabor es mejor y recuerda al de la carne; además, los cuerpos fructíferos de las cepas con balance positivo de N tienen una estructura más consistente y más sólida (Rajarathnam y Bano, 1989).

Haddad y Hayes (1978), encontraron que la proporción carbono:nitrógeno y la adición de sulfato inorgánico en medio líquido influencia la composición del micelio. La proporción óptima C:N para el crecimiento del micelio fue de 18:1, pero las cantidades de proteína y aminoácidos, metionina y cistina fueron generalmente mayores cuando la razón se excedió del límite óptimo para crecimiento. Asimismo, un incremento en los niveles de sulfato aumentó el contenido de aminoácidos azufrados.

Las diferencias entre el contenido de aminoácidos entre distintas cepas de la misma especie de hongos es un hecho y debe considerarse en la selección de cepas que se van a comercializar (Weaver *et al.*, 1977).

6. Ácidos nucleicos

El ácido ribonucleico es el predominante en las especies de *Pleurotus* estudiadas por diversos autores. El contenido total de ácidos nucleicos varía de 2.48 a 3.88 % en peso seco; este valor es bajo si se compara con el de otras proteínas unicelulares como *Candida utilis* (10.10 %) y *Aerobacter aerogenes* (12.30 %), por lo tanto, desde este punto de vista el *Pleurotus* no tiene problemas para incluirse en la alimentación humana (Bano y Rajarathnam, 1988).

También se han identificado 5' nucleótidos en *Tricholoma giganteum* como responsables del sabor en hongos deshidratados, encontrándose 1 250, 637, 863 y 566 mg/Kg de 5'-CMP, 5'AMP, 5'UMP y 5' GMP respectivamente (Fujita et al., 1991).

7. Vitaminas

En general, a los hongos se les considera buenas fuentes de vitaminas, dentro de las cuales se pueden mencionar: tiamina, riboflavina, niacina, biotina, cianocobalamina, ácido fólico y ácido ascórbico (Crisan y Sands, 1978).

Bano y Rajarathnam (1982), reportan los siguientes valores de contenido de vitaminas, para distintas especies de *Pleurotus*: tiamina de 1.6 a 4.8 mg, niacina de 46 a 108.7 mg, ácido ascórbico de 90 a 144 mg y cianocobalamina 1.4 mg, por 100 g en peso seco. Asimismo, se han encontrado concentraciones de 21.1 a 33.3 mg por 100 g peso seco, de ácido pantoténico y entre 1 222 y 1 412 µg de ácido fólico (Bano y Rajarathnam, 1986).

Otro estudio reveló que, de 38 cepas de hongos comestibles que se analizaron solamente 9 contenían cianocobalamina y la mayor productora fue la del *Pleurotus ostreatus* con una concentración de 1.4 mg/kg. Considerando la cantidad de vitaminas en 100 g de *Pleurotus*, estos valores podrían llenar los requerimientos humanos para riboflavina y ácido fólico; el contenido de estas vitaminas es similar al encontrado en 100 g de espinacas e hígado crudo. Como fuentes de estas vitaminas, tanto el *Pleurotus* como el *Agaricus* se pueden considerar en la misma categoría que el hígado y la espinaca (Bano y Rajarathnam, 1988).

8. Minerales

Los hongos presentan los mismos minerales del sustrato. En general contienen cantidades significativas de fósforo (P), sodio (Na) y potasio (K) y en

menor cantidad calcio (Ca) e hierro (Fe) (Crisan y Sands, 1978). En las trufas se han encontrado 2.49 % de K, 1.29 % de P y 0.68 % de azufre, (Beuchat y Brenneman, 1993).

Estudios realizados en *Pleurotus ostreatus*, indicaron que el K es el elemento más abundante, seguido del P y Mg (39 900; 13 387 y 1 836 mg/kg respectivamente), el contenido de sodio es bajo (195 mg/kg) y el de los microelementos Fe y Zn es de 90.3 y 67.6 mg/kg respectivamente, (Strmiskova *et al.*, 1992).

Dentro de los minerales traza, el Zn es el que se encuentra en mayores cantidades en todas las especies de *Pleurotus*, sugiriendo que estas setas tienen la tendencia a bioacumular Zn en sus cuerpos fructíferos. También, se ha observado la acumulación de metales pesados como Pb, Hg, Cd y V, en hongos que crecen en substratos con aguas negras (Bano y Rajarathnam, 1988; Vetter, 1993).

Strmiskova *et al.* (1992), cuantificaron el contenido de Pb, Hg y As en *Pleurotus ostreatus* encontrando que no excedieron los límites permitidos de 5, 0.5 y 5 mg/Kg en peso seco respectivamente; en cambio el 40 % de las muestras analizadas excedían los límites permitidos de Cd (0.5 mg/Kg).

En vista de los informes sobre contenido de minerales tóxicos como plomo, cadmio y mercurio, se sugiere hacer determinaciones periódicas de estos metales pesados en los cuerpos fructíferos, sobre todo cuando se varían las condiciones de cultivo (Bano y Rajarathnam, 1988).

E. Calidad nutricia

En su revisión Crisan y Sands (1978), encontraron que había muy pocos estudios *in vivo* sobre la calidad nutricia de los hongos y que los resultados de estas pruebas comparaban a la proteína de los hongos con la de la carne y otros vegetales. Investigaciones realizadas en los años cuarenta, indicaron que para mantener un equilibrio nutricional, un humano adulto de 70 kg de peso, requería entre 100 y 200 g de hongos (peso seco). Sin embargo, estudios posteriores confirmaron el hecho de que los hongos tienen un buen valor nutricional; pero que no pueden servir como única fuente de proteína. En ausencia de estudios en ratas, los autores consideraron válido determinar el valor nutricional de los hongos partiendo de datos de contenido de aminoácidos informados en la literatura. Con los datos recopilados calcularon el índice de aminoácidos esenciales utilizando el patrón de FAO, 1973, el valor biológico (empleando la ecuación de regresión de Oser, 1959) y el puntaje o calificación química basada en el aminoácido limitante comparado con una proteína patrón.

Los resultados del índice de aminoácidos esenciales estuvieron entre 72.9 y 98.6 para *Agaricus bisporus*; el *Pleurotus* se situó entre 70.3 y 91.3 cuando se usó el patrón de FAO, 1973. El valor biológico (V.B), calculado osciló entre 71.2 para *Morchella angusticeps*, 95.8 para *A. bisporus*, para el *Pleurotus* el VB fue de 45.3 a 68.0. En las conclusiones de este estudio se afirma que el valor nutricional de los hongos es variable aún entre las mismas especies y que por ejemplo, los valores de lisina biodisponible van desde 10 a 62 %, por lo que no se puede generalizar con respecto a la calidad nutricia. Por esta razón, habrá especies cuya contribución a la dieta sea muy buena y otras cuya aportación sea mínima (Crisan y Sands, 1978).

Bano y Rajarathnam (1988), hicieron los mismos cálculos para *Pleurotus* ya que los ensayos en animales seguían siendo muy escasos, encontrando que los aminoácidos limitantes para las especies estudiadas de este género son los azufrados; la fenilalanina y la tirosina son los segundos limitantes para las especies de *P.eous*, *P. florida*, y *P. flabellatus*. En algunas especies (*P.sajor-caju* y *P. florida*) el segundo limitante es isoleucina y el triptófano es el tercero en *P.eous* y *P.florida*. Dada la gran variación del valor nutritivo de *Pleurotus* encontrada, los autores sugirieron que lo deseable sería cultivar aquellas especies cuyo contenido de proteína fuera más alto y con un mejor equilibrio de aminoácidos, tomando en cuenta las ventajas que representa el cultivo de estas setas. Asimismo, en esta revisión se recomienda evaluar la contribución real de los hongos a la dieta humana, así como la calidad de la proteína y otros nutrimentos que pueden proporcionar como parte de la alimentación diaria.

En un trabajo comparativo entre la calidad de la proteína de cuatro lotes de setas (*Pleurotus ostreatus*), cultivados en Salamanca Gto. y procesados con salmuera y escabeche; se encontró que el Valor Proteico Relativo (VPR) evaluado con *Tetrahymena thermophila* WH14, y usando caseína como proteína estándar, aumentó de 94.5 (fresco) a valores entre 106.06 y 116.99 después de procesados y almacenados de 1 a 3 meses; al mismo tiempo se observó una pérdida de proteína cruda por solubilización en el líquido de cobertura, ya que de 24.6 % en el hongo fresco disminuyó a 11.36 % (setas escaldadas con microondas almacenadas 90 días) esta pérdida representó el 53.82 %. Se consideró que el material soluble posiblemente estaba constituido por nitrógeno no proteico y por aminoácidos libres, además de la fracción soluble de la proteína (Bautista-Justo, *et al.*, 1995)

Es sabido que el nitrógeno no proteico o nitrógeno no específico considerado como aquel N no tóxico que proviene de diferentes fuentes que son biológicamente

utilizables, influencia la adecuación aparente de la proteína en la dieta y en general de los requerimientos de aminoácidos esenciales específicos en humanos (Kies, 1974). El estudio realizado por Korslund (1974), sugiere que el nitrógeno no esencial puede contribuir significativamente a las necesidades de proteína de niños y adolescentes; por esta razón en la evaluación de la calidad de proteína debería considerarse también el nitrógeno no esencial como urea y aminoácidos libres, lo cual puede ser también aplicado a los hongos.

De lo anterior se deduce que es necesario evaluar las distintas especies de hongos cultivados en México, ya que el valor nutricional es característico de cada una de ellas y los valores informados en la literatura pueden servir como una guía muy aproximada, pero no se pueden tomar como valores reales para incluirlos en la dieta.

F. Evaluación de la calidad de las proteínas por métodos rápidos

Las proteínas provenientes de los alimentos tienen una gran variación en su contenido de aminoácidos, tanto las de origen animal, vegetal o fúngico contienen en promedio 20 aminoácidos comunes de los cuales 9: histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina son esenciales en la dieta humana. El índice de eficiencia proteínica (PER), fue reconocido en los Estados Unidos de Norteamérica y a nivel internacional como el método oficial para evaluar la calidad de proteínas desde 1919. Sin embargo, por los inconvenientes que presentaba, recientemente fue substituido por el método de calificación o puntaje químico corregido por la digestibilidad verdadera (Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scoring, cuyas siglas en inglés son: PDCAAS) (Henley y Kuster, 1994).

La Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos de Norteamérica (FDA) en la regulación de las etiquetas nutricionales (1993), está requiriendo la calidad de las proteínas de todos los alimentos destinados a la alimentación infantil (más de un año de edad) y para los adultos, usando el puntaje químico corregido por la digestibilidad (PQCD).

El cálculo del PQCD requiere de un analizador de aminoácidos y de animales para determinar la digestibilidad verdadera, por lo que si no se cuenta con el equipo y las instalaciones necesarias, en muchos casos no se podrá aplicar como un método rutinario.

Con el propósito de tener métodos más rápidos y económicos que puedan servir para seleccionar proteínas de alta calidad entre muchas muestras, desde hace muchos años las pruebas microbiológicas han sido investigadas.

El microorganismo que más se ha utilizado para medir la calidad de proteínas, es el protozoo *Tetrahymena*, porque tiene dos características importantes: a) sus requerimientos de aminoácidos esenciales son similares a los del hombre y a los de la rata y b) puede ingerir partículas de materiales sólidos (Frank *et al.*, 1975). ®

El método consiste en hacer crecer al microorganismo en un medio que contenga la proteína bajo prueba; la proteína puede utilizarse intacta (Rosen y Fernell, 1956; Stott *et al.*, 1963); o bien puede ser predigerida con distintas enzimas como: bromelina activada con ácido mercaptosuccínico (Baker *et al.*, 1978); tripsina, quimotripsina y peptidasa (Dryden *et al.*, 1977); tripsina y bromelina (Frank *et al.*, 1975); pepsina (Landers, 1975); tripsina y quimotripsina, peptidasa y proteasa (Satterlee *et al.*, 1979).

El crecimiento obtenido con la proteína bajo prueba, se compara con aquel obtenido con la caseína estándar y se calcula el valor proteínico relativo (VPR) o el T-PER según el método seleccionado (Pellett y Young, 1980).

En este trabajo se utilizó el método de VPR empleando *Tetrahymena thermophila* WH14 ATCC 30008, según Baker *et al.* 1978. Una de las ventajas de usar el método de Baker es que el crecimiento se mide por turbidez en un fotocolorímetro y es menos tedioso e inexacto que cuando se cuenta el número de células como se indica en otros métodos.

Por otro lado, entre los métodos más sencillos que hay para determinar la digestibilidad *in vitro* se encuentran los desarrollados por Hsu *et al.* (1977) y el de Satterlee *et al.* (1979) ya que en 15 ó 20 minutos se puede tener el resultado de la digestibilidad aparente (Swaisgood y Catignani, 1991; Pellet y Young, 1980).

G. Método de complementación

Sure (1946) encontró que la adición de 1 a 3 % de levadura, a las harinas de trigo o maíz, aumentó en un 70 a 300 % el crecimiento de los animales en experimentación y en un 35 a 97 % la utilización de la proteína.

En 1950 se formuló la INCAPARINA que es una mezcla de harinas vegetales calculada por el "método de complementación" desarrollado por el Dr. Bressani en el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá; basado en el contenido de aminoácidos esenciales y teniendo como base un cereal que se complementa con una leguminosa. Este alimento de alto valor nutritivo aún se fabrica en la ciudad de Guatemala (Bressani, 1994)

Actualmente, se conocen muy bien las mezclas óptimas de cereales y leguminosas para incrementar la calidad nutricia de las proteínas (Bourges, 1987). Se recomienda variar la dieta con el objeto de que los nutrimentos contenidos en un alimento se complementen con los de los otros que se ingieren al mismo tiempo (Casanueva, 1992). Por esta razón, para conocer el verdadero aporte de nutrimentos a la dieta, las setas se evaluaron también, mezcladas con otros alimentos comunes.

H. Caracterización de hongos por electroforesis de sus proteínas

Las proteínas son macromoléculas codificadas por el DNA, que es depositario de la información genética de la célula. Debido a esta propiedad, el análisis de proteínas puede dar un reflejo fiel de la composición del genoma y revelar la afinidad o diferencias genéticas entre organismos. En particular, el estudio de la movilidad electroforética de proteínas ha desarrollado un particular interés en taxonomía vegetal y animal (Mouches *et al.*, 1978).

En este estudio se identificó el perfil electroforético de las tres cepas estudiadas con el objeto de ver si existía alguna diferencia entre ellas, sobre todo porque en las pruebas biológicas, la cepa CDBB-H-896 tuvo un comportamiento diferente a las otras dos.

I. Propiedades medicinales y biológicas

El segundo atributo de los hongos se refiere a sus propiedades medicinales las que han sido reconocidas desde hace miles de años por las culturas

orientales, especialmente China y Japón. Algunos ejemplos incluyen a la *Auricularia spp.* que ha sido tradicionalmente usada para tratar la hemorroides y varios disturbios estomacales, *Tremella fusiformis* para mantener saludables los tejidos pulmonares, *V. volvacea* para disminuir la presión (Chang y Buswell, 1996).

Cochran (1978), revisó los efectos medicinales de los hongos superiores y encontró que pueden actuar como bactericidas, fungicidas, antiprotozoarios, antivirales y antineoplásicos.

Se ha observado también que el *Pleurotus ostreatus* y otras especies son capaces de destruir nematodos por la liberación de una toxina, evitando las plagas de nematodos durante su cultivo. Consecuentemente, el *Pleurotus* puede ser considerado como un agente biológico potencial para controlar estas plagas en otros cultivos agrícolas. De igual manera, se detectó un antibiótico denominado pleurotina en los filtrados de cultivo de *P. griseus* activo contra bacterias Gram +, algunas aminas biógenas y HCN que no se encuentran en niveles tóxicos (Bano y Rajarathnam, 1988).

Zhuang *et al.* (1993) purificaron una proteína que contiene un polisacárido en los cuerpos fructíferos de *Pleurotus sajor-caju* (*Fr*) cinco fracciones de estas proteínas mostraron actividad antineoplásica, dos fracciones contenían xiloglucanas con PM de 280 000 y 70 000 y en las otras se encontraron manano-galactanas xilanas y glucoxilanas.

Asimismo, se encontró actividad antineoplásica en polisacáridos aislados de *Polyporus confluent* (ningyotate) (Mizuno *et al.* 1992a) y en el hongo *Hericium erinaceum* (yamabushitake) (Mizuno *et al.* 1992 b).

El reciente interés en remedios tradicionales para varios desórdenes fisiológicos y el reconocimiento de la existencia de numerosos agentes biológicos en los hongos, llevó a establecer el término "mushrooms nutraceuticals", propuesto originalmente durante el simposio sobre "Bioconversión de desechos agrícolas en proteína fúngica" realizado por la UNESCO en Manila en 1993. Este término describe una nueva clase de compuestos que se extraen del micelio o de los cuerpos fructíferos de los hongos y abarcan tanto sus características nutricionales como medicinales (Chang y Buswell, 1996).

El aspecto medicinal de los hongos ha llegado a ser tan importante, que en 1991 se estimó que del valor total de la cosecha de hongos (8.5 billones de dólares), 1.2 billones se generaron de productos fúngicos. En 1987, en Japón se vendieron 358 millones de dólares tan solo del producto antineoplásico "Krestin" PSK (polisacárido unido a una proteína extraído del micelio de *C.versicolor*) con propiedades biológicas únicas que incluyen la estimulación de la maduración funcional de los macrófagos, prescrita en diferentes tipos de cáncer digestivo. Por lo anterior, la biotecnología de los hongos de donde se derivan los principales componentes de los "Nutraceuticals" representa actualmente el sector de mayor expansión en la industria de los hongos y se espera que pronto sea la rama más dominante (Chang y Buswell, 1996).

VI. MATERIALES Y METODOS

A. Materiales

1. Origen de las cepas

Se utilizaron las cepas del *Pleurotus ostreatus*: INIREB-8 proveniente del Instituto de Ecología de Jalapa, Ver. adquirida en el Centro de investigaciones Ecológicas del Sureste de Tapachula Chis. y las CDBB-H-896 y CDBB-H-897 del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional de la ciudad de México, D.F.

Las principales características por las que se seleccionaron estas cepas es que son de origen mexicano, además de las siguientes: para la cepa INIREB-8 se consideró que se produce comercialmente; en el caso de las cepas CDBB-H-896 y CDBB-H-897 que su identidad está bien establecida, ya que pertenecen a la colección de cultivos microbianos del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del CINVESTAV México y también porque crecen a temperaturas superiores a los 22°C, la que es muy importante porque en la zona de Irapuato Gto. en primavera y verano se llegan a alcanzar temperaturas hasta de 32 °C.

2. Producción de las setas

Las setas se cultivaron en el invernadero del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Guanajuato en la ciudad de Irapuato, Gto. utilizando paja de trigo como sustrato. Su producción constó de cuatro etapas:

- 1) Preparación del inóculo.
- 2) Preparación del sustrato.
- 3) Siembra e incubación.
- 4) Fructificación.

Preparación del inóculo

Para la preparación del inóculo se siguió el procedimiento descrito por Soto et al. (1991). El trigo se limpió y se remojó durante 16 horas, se escurrió y se colocó sobre papel periódico para eliminar el excedente de agua. Se colocaron 200 g del trigo hidratado en bolsas de polipapel de 16 x 22 cm en un autoclave a 121 °C durante 30 min. El material esterilizado se inoculó con el micelio de las distintas cepas de *Pleurotus* desarrollado previamente en agar papa dextrosa y se incubaron a 28 °C durante 10 a 15 días, hasta que el micelio colonizó todas las semillas.

Recuperación de las cepas

Se extrajo una parte pequeña del tejido de un hongo fresco seleccionado, se sembró en caja de Petri sobre agar papa-dextrosa y se incubó durante 10 a 15 días a 28 °C para el desarrollo del micelio. Con el objeto de evitar el envejecimiento de los inóculos esta operación se hace periódicamente, de preferencia cada dos meses.

Cultivo de setas

La temperatura de fructificación mantuvo registro entre 22 y 28 °C (correspondiente a la temperatura ambiente, ya que el invernadero no tiene control automático de temperatura) y la humedad relativa fue de 80 ± 5 %, el período de cultivo fue de enero a julio.

Preparación del sustrato

La paja de trigo seca se molió en un molino comercial utilizando un tamiz para tener partículas de 2 cm de largo aproximadamente. Se introdujo en costales de rafia especiales para granos y se remojó toda la noche.

Al siguiente día la paja se pasteurizó durante 1 hora a 80°C. Cuando se enfrió, la paja se dejó escurrir sobre una rejilla, cubriendo los costales con papel periódico para evitar la deshidratación excesiva.

Inoculación

Al siguiente día, una vez frío el sustrato se inoculó con la semilla de trigo en donde se había desarrollado el micelio, colocando en bolsas de plástico transparentes de 30 x 50 cm, en forma alterna, una capa de paja de trigo y una de las semillas del inóculo esparcidas sobre ésta. Cuando se alcanzó una altura de 30 cm aproximadamente, las bolsas se cerraron y se etiquetaron. Se incubaron a 28 °C durante 13 a 15 días. Al tercer día después de la inoculación se hicieron unas perforaciones a las bolsas para evitar la condensación del agua y promover el intercambio de gases. Después de este tiempo se removió la bolsa de plástico y los "pasteles" pasaron al invernadero con una humedad relativa de $80 \pm 5 \%$ y una temperatura promedio de 25 °C para permitir su fructificación.

Cosecha

Las setas se cosecharon cuando alcanzaron la madurez comercial, esto es cuando los cuerpos fructíferos están turgentes, completamente extendidos y con los bordes ligeramente rizados, evitando la pérdida de textura y el enroscamiento de los bordes (Kurtzman y Zadrazil, 1982). Se utilizó el cuerpo fructífero completo (pileo y

estípite), sólo se cortó la base del estípite (entre 0.5 y 1 cm) para evitar cualquier contaminación con el substrato.

3. Preparación de las muestras

Deshidratación y molienda

Las setas cosechadas de los dos primeros cortes, se deshidrataron a 30 °C en un horno de convección forzada marca B&T Searle Company BS2648 se molieron en un molino General Electric utilizando la malla 40 y se refrigeraron a 4 °C en bolsas de plástico selladas. Se mezclaron las muestras de las distintas cosechas para tener aproximadamente 1 Kg en peso seco, de cada cepa. Las muestras así preparadas se almacenaron en el refrigerador a 4°C para su análisis posterior.

4. Mezclas de cereales y leguminosas con harina de setas INIREB-8

Las muestras de frijol negro, frijol flor de mayo, lentejas, habas, arroz, pasta, soya, bolillo, tortilla y harina de maíz, se adquirieron en el mercado local.

Todos los alimentos fueron cocinados por métodos caseros convencionales. Los frijoles, lentejas, habas, arroz y pasta, se escurrieron y se deshidrataron en un horno de convección forzada B & T Searle Co. a 100 °C, durante toda la noche, después se molieron en un molino Retsch, pasando la muestra por un tamiz de malla 80. Las muestras se guardaron en frascos de vidrio cerrados en un refrigerador doméstico.

Se hicieron mezclas de los diversos alimentos con harina de setas INIREB-8 en proporciones de 90:10 y 50:50 respectivamente. Se pesaron las cantidades correspondientes del alimento y harina de setas para tener 100 g de cada una de las muestras de ensayo y se mezclaron manualmente en un recipiente de plástico

pasando la mezcla 2 veces por un tamiz de malla 20 para lograr una mejor homogeneización. Se guardaron en frascos de vidrio en un refrigerador doméstico.

B. Métodos

1. Análisis químico

Análisis químico proximal

Las determinaciones de humedad (935.29 A), proteína (978.04), extracto etéreo (920.39), fibra cruda (962.09), cenizas (923.03) y carbohidratos o extracto libre de nitrógeno (100 - la suma de los componentes anteriores), se realizaron de acuerdo a los métodos de la AOAC (1990), siguiendo las recomendaciones de Lau (1982).

Fibra dietética

El ensayo empleado determina el contenido total de fibra dietética en los alimentos, usando el método gravimétrico-enzimático (985.29) (AOAC, 1990), el resumen del procedimiento es el siguiente:

Las muestras desengrasadas y secas fueron gelatinizadas con una α -amilasa estable al calor y digeridas enzimáticamente con una proteasa y amiloglucosidasa para remover la proteína y almidón presente en la muestra. Se agregó etanol para precipitar la fibra dietética soluble. Los residuos se filtraron y lavaron con etanol y acetona. Se secaron y pesaron. A la mitad de la muestra se le analizó la proteína y la otra se calcinó. La fibra dietética total es el peso del residuo menos el peso de la proteína y las cenizas.

Quitina

La quitina se extrajo por el método de Bernath y Venkatasubramanian (1986) y se calculó según Meyers *et al.* (1973).

Valor energético

La energía se calculó con base en la materia seca, de acuerdo con la ecuación de Lau (1982):

$$\text{Kcal/100 g} = 2.62 \times (\% \text{ N} \times 6.25) + 4 \times (\% \text{ carbohidratos}) + 9 \times (\% \text{ de grasa})$$

Minerales

El calcio se cuantificó empleando el método del oxalato de amonio (927.02) y el fósforo con solución de molibdovanadato (964.06) (AOAC, 1990).

Perfil de ácidos grasos

La determinación de los ácidos grasos se hizo en un cromatógrafo de gases Varian 3700 para lo cual se siguió el procedimiento que a continuación se describe.

Preparación de la muestra

Las setas deshidratadas y molidas se extrajeron con éter etílico. Se pesó 1 g del extracto en un matraz bola, previamente tarado, se adicionaron 10 mL de metanol y 0.5 mL de ácido sulfúrico concentrado, se agitó vigorosamente para disolver la muestra y se reflujo en un baño maría durante 4 horas.

La muestra esterificada se extrajo con una mezcla de cloroformo:agua 200 + 8 en un embudo de separación y se agregó más cloroformo hasta completar 25 mL.

Se recuperó la capa de cloroformo con la muestra en un matraz de 25 mL. De esta muestra se midió 1 μ L y se inyectó al cromatógrafo de gases.

Condiciones del cromatógrafo

- Detector de ionización de flama
 - Sensibilidad de 1×10^{-11}
 - Empaque de la columna: GP 10 %, SP-2330 en Chromosorb WAW 100/120. 6' x 1/8" SS.
 - Temperatura de la columna: 150 - 190 °C con incrementos de 5 °C.
 - Temperatura del inyector 250°C
 - Presión del gas 40 PSI
 - Flujos de los gases: nitrógeno 20 mL/min, aire 300 mL/min, hidrógeno 30 mL/min.
-
- Tiempo de corrida: 25 min.

Se emplearon estándares de ácidos grasos de Sigma Chemical Co. (Supelco, 1982).

Fraccionamiento del nitrógeno

El nitrógeno total de las setas fue determinado por el método de microkjeldahl descrito por Joslyn (1970).

Nitrógeno no proteico

Para la determinación del nitrógeno no proteico se utilizó el método de Regestein, 1984; en el cual la muestra se suspendió y se agitó en una solución

buffer de pH 7 y la proteína se precipitó con ácido tricloroacético al 20 %, el sobrenadante se separó por centrifugación y se le determinó nitrógeno por el método de microKjeldahl (Joslyn, 1970).

El nitrógeno proteico se determinó restando el nitrógeno no proteico al nitrógeno total.

Solubilidad de proteínas en alcohol y agua.

Se pesaron aproximadamente 500 mg de muestra seca y se les agregaron 35 mL de agua o etanol al 25 %, se agitaron 30 min en un agitador rotatorio, se filtraron a través de un papel filtro Whatman No. 40, se lavaron los residuos y los filtrados se aforaron a 50 mL (Imafidon y Sosulski, 1990a). Se midió 1 mL y se siguió el método de Biuret para determinar la proteína soluble en alcohol o en agua. La curva estándar se hizo con albúmina (Layne, 1957). Los resultados de esta determinación se utilizaron para calcular el valor proteínico relativo de estas fracciones de proteínas.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Análisis de aminoácidos

Hidrólisis de la muestra

La muestra deshidratada y finamente molida (Malla 120), se desengrasó con éter etílico. Se hidrolizó con HCl 6N en un digestor Tecator modelo AB 24/40 durante 4 horas exactas a 145 ± 0.2 °C. El HCl se eliminó en un evaporador rotatorio marca Buchi modelo R, en un baño de agua a 75 °C (la operación se repitió 3 veces). El hidrolizado concentrado se filtró con vacío a través de papel filtro Whatman 541 sobre un buchner y matraz para filtración al vacío. Al hidrolizado filtrado se le

agregaron 2 mL de estándar de ácido alfa amino butírico y se aforó a volumen de 50 mL el pH se ajustó a 6.8 ± 0.2 con NaOH 5 N en un medidor de pH. Posteriormente la muestra se filtró a través de membrana Millipore tipo GV de $0.22 \mu\text{m}$ y se pasó lentamente a través de un "sep-pack C18" (Millipore Corporation, 1993a) con el objeto de purificarla. Se siguió el método para análisis de aminoácidos Waters AccQ.Tag (Millipore Corporation, 1993b).

Cromatografía

Se utilizó un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) Waters con detector de fluorescencia de barrido Waters 470, empleado una columna Nova-Pak C18, media del diámetro del poro: 60 \AA , tamaño de partícula: $4 \mu\text{m}$, $3.9 \times 150 \text{ mm}$; a una temperatura de $35 \text{ }^\circ\text{C}$, (Waters Division of Millipore, 1991), (Millipore Corporation, 1993).

Los aminoácidos se cuantificaron en la computadora del propio equipo por comparación de las áreas de un estándar preparado con concentraciones conocidas de aminoácidos y las áreas de los problemas.

El triptófano se determinó por método colorimétrico con dimetil-amino benzaldehído, después de hidrolizar las muestras con hidróxido de bario (Miller, 1967).

La cistina se determinó por cromatografía en papel hidrolizando la muestra con ácido per fórmico según el método de Block y Weiss (1956).

Lisina biodisponible (reactiva)

La lisina reactiva se cuantificó por el método de Hurrel *et al.* (1979). Este procedimiento se basa en la capacidad que tiene el colorante anaranjado ácido 12

de unirse a la proteína en sus grupos amino básicos y precipitarla para su cuantificación. Se realizan dos mediciones, una a la muestra a la que se le agrega el anhídrido propiónico el cual bloquea a los grupos ϵ de la lisina, mientras que la otra muestra no es tratada con anhídrido propiónico. La reacción con anhídrido propiónico provoca que los grupos ϵ -amino libres de las unidades de lisina se neutralicen, disminuyendo de esta forma la cantidad del colorante que precipita. La diferencia del colorante en el sobrenadante es una medida de la cantidad de lisina disponible en la muestra.

Aminoácidos libres

Para preparar la muestra se siguió el procedimiento para nitrógeno soluble de Regestein (1984) y Tokoro *et al.* (1987). Es decir se precipitó la proteína con ácido tricloroacético, se separó por centrifugación y en el centrifugado se determinaron los aminoácidos libres.

Se pesaron 500 mg de la muestra seca, se suspendieron en 25 mL de buffer de fosfatos de pH 7 y se agitaron por 15 minutos en un agitador rotatorio. Se agregaron 25 g de ácido tricloroacético al 20 % para precipitar la proteína, se centrifugaron y el sobrenadante se aforó a 50 mL con el buffer, de esta solución se tomaron alícuotas para hacer la cromatografía en papel.

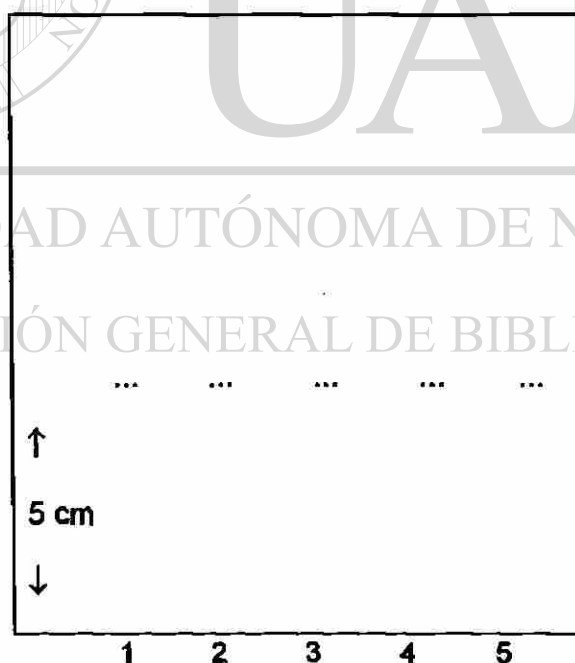
Para la cromatografía en papel se utilizó la técnica descrita por Block y Weiss (1956).

Se empleó papel Whatman No. 1 para cromatografía de 20 cm de ancho x 50 cm de largo. Se colocaron muestras de 10 μ L divididos en tres puntos, para cada muestra y estándar como se ilustra en la siguiente figura. Las cromatografías se

desarrollaron en una cámara de vidrio Pyrex de 60 cm de alto, por 30 cm de ancho y 30 cm de fondo.

Se utilizó un estándar de glicina. El estándar se preparó de acuerdo al siguiente procedimiento: se pesó 1 g de glicina previamente desecada a 105 °C durante 1 hora, se disolvió en 5 mL de HCl 2 N y se aforó al volumen. De esta solución concentrada se tomaron 10, 20, 30 y 50 mL y se aforaron a 100 estas soluciones contenían 1, 2, 3 y 5 mg de glicina/mL. De cada dilución se tomaron 10 μ L y se colocaron en el papel.

El solvente utilizado fue alcohol N-butílico:acético:agua; 250:60:250 v/v. Se empleó la capa superior después de mezclar y reposar (Block y Weiss, 1956).



Aplicación de estándares y problemas

Figura. Esquematización de la aplicación de muestras en el papel para cromatografía.

Se corrió la cromatografía durante 16 horas, después de las cuales los papeles se secaron y se volvieron a meter a la cámara para dejarla correr otras 16 horas. Transcurrido el tiempo, los papeles se secaron en un horno con aire caliente a 60 C.

Las manchas fueron reveladas introduciendo el papel en una probeta de 2 L con ninhidrina al 0.25 % en acetona (el papel se enrolla, se introduce y se saca rápidamente). Se dejó evaporar el solvente al aire y los papeles se calentaron en un horno de convección forzada a 90 C durante 15 min.

El papel con las manchas de los problemas y del estándar se cortó en cuadritos y se extrajo el color con 10 mL de etanol al 75 % en tubos de 20 mL de capacidad. Se agitaron en un vortex y se centrifugaron. Después se leyeron los extractos de color morado intenso en un espectrofotómetro a 540 nm. Se trazó la curva estándar con las lecturas de absorbancia y las distintas concentraciones de glicina.

Se calculó el contenido de aminoácidos libres en la muestra interpolando las lecturas en la curva estándar y se informaron como moles de glicina.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Acidos nucleicos

El contenido total de ácidos nucleicos se aisló en la siguiente forma: se pesaron 3 g de la muestra seca en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se adicionaron 125 mL de NaCl al 10 %. Se cubrieron los matraces con papel aluminio y se colocaron en baño de agua, manteniendo la temperatura a 85 C. La muestra se extrajo durante 1 hora, agitando ocasionalmente.

Las muestras se centrifugaron 20 min a 6500 rpm, el sobrenadante se vació en un Erlenmeyer de 250 mL y se enfrió en un baño de hielo durante 15 min. A la

solución fría se adicionaron suavemente 2 volúmenes de etanol absoluto previamente enfriado en hielo. Los matraces se agitaron y se dejaron reposar en el baño de hielo por otros 30 min. Se centrifugaron y los residuos se lavaron 2 veces con etanol al 80 %, una vez con etanol al 95 %, una vez con etanol:éter 3:1 y una vez con éter; centrifugando por 5 min después de cada lavado. El polvo seco se pesó y se calculó el porcentaje (Chargaff y Davidson, 1955); (Davidson, 1957).

Vitaminas

La tiamina y riboflavina se determinaron por métodos fluorométricos (953.17) y (940.33) respectivamente. El ácido ascórbico con diclorofenol indofenol (967.21) y la niacina por el procedimiento microbiológico (944.13), (AOAC, 1990).

2. Calidad de proteínas

Puntaje químico corregido por la digestibilidad

Se siguió el método descrito por Henley y Kuster (1994), para lo cual se cuantificó el nitrógeno total, se determinaron los aminoácidos esenciales y se compararon con el patrón de la FAO, 1985. Para la digestibilidad verdadera se utilizaron ratas de la raza Sprague-Dawley como animales de experimentación y se aplicó el método descrito en el informe de evaluación de calidad de proteínas de la FAO/WHO (1989).

Digestibilidad verdadera

Preparación de las dietas

Las setas se deshidrataron para que tuvieran menos de 10 % de humedad como lo indica el método. Se les determinó la fibra dietética y la grasa para poder

hacer el ajuste del contenido de estos componentes en la dieta. Los constituyentes de las dietas se indican en el siguiente cuadro.

Constituyente	INIREB- 8	CDBB-H896	CDBB-H-897
Setas	351.16	409.83	364.43
Aceite de maíz	91.50	88.07	93.92
Vitaminas	50.00	50.00	50.00
Almidón	507.34	452.10	491.65

Experimentación

Se emplearon ratas macho (*Sprague-Dawley*) de 50 - 70 g de peso. Se colocaron en jaulas individuales en un bioterio a 22 C de temperatura y una humedad relativa registrada entre 40 y 70 %. A las ratas se les proporcionó alimento comercial (Nutricubos de Purina) por 2 días para tener un período de aclimatación. Después se distribuyeron en 8 lotes de 4 animales cada uno, dos lotes para cada tratamiento, incluyendo la dieta libre de nitrógeno. Los animales se alimentaron por un período preliminar de 4 días y el período de balance fue de 5 días. Se recolectaron las heces y el alimento tirado diariamente. Al final se cuantificó el nitrógeno en las heces y en el alimento ingerido en peso seco.

Cálculos:

La digestibilidad verdadera se determina por la siguiente ecuación:

$$DV = 1 - (F - F_k) \times 100 / I$$

En donde:

I = Nitrógeno ingerido

F = Nitrógeno fecal

F_k = Nitrógeno fecal endógeno

Digestibilidad verdadera corregida

Para determinar la digestibilidad verdadera corregida, en el cálculo del nitrógeno ingerido solamente se consideró el nitrógeno de proteína verdadera (N x 4.38) y al nitrógeno excretado se le restó el N correspondiente a la quitina contenida en el alimento ingerido, luego se aplicó la fórmula para digestibilidad verdadera.

Índice de eficiencia proteínica (PER)

El PER se calculó considerando el período de balance de nitrógeno de 5 días, cuando se determinó la digestibilidad verdadera y no durante 28 días como lo indica el método estandarizado. El cálculo se hizo empleando la siguiente fórmula:

$$\text{PER} = \frac{\text{Ganancia de peso, (g)}}{\text{Proteína consumida, (g)}}$$

La razón proteínica neta (NPR) también se calculó en el período de balance de 5 días empleando la siguiente fórmula:

$$\text{NPR} = \frac{\text{Cambio en peso grupo experimental} + \text{pérdida de peso grupo DLN}^*}{\text{Proteína consumida por el grupo experimental, (g)}}$$

*DLN= Dieta libre de nitrógeno

Valor proteínico relativo con *Tetrahymena thermophyla*. WH14 ATCC 30008.

El VPR se determinó tanto en las muestras completas, en las fracciones solubles en agua y en alcohol como en mezclas de alimentos con harina de setas.

La muestra se digiere con bromelina y ácido mercaptosuccínico y se usa caseína como estándar de referencia (Baker *et al.*, 1978).

Digestibilidad *in vitro*.

Con la finalidad de evaluar la digestibilidad de las mezclas de cereales y leguminosas con harina de setas se empleó el método multienzimático de Hsu *et al.* (1977).

3. Electroforesis en gel de poliacrilamida SDS

La muestra se molió con nitrógeno líquido en un mortero, para romper las células. Se resuspendió en agua desionizada y se adicionó el buffer desnaturante a una concentración de 1:1. Se hirvió durante 5 a 6 min y se sonicó por 1 a 2 min. Se centrifugó, se colectó el sobrenadante y se corrió en gel de poliacrilamida, colocando 20 μ L en cada pozo. Se aplicaron 50 Volts los primeros 10 min y 100 Volts el resto del tiempo, en total 2 horas. Se uso una cámara Biorad y se siguió el método de Schägger y Von Jagow (1987), excepto que en lugar de tricína se uso glicina en el buffer de cámara.

Los marcadores de peso molecular empleados fueron los siguientes:

Marcador	Peso molecular (kDa)
Miosina	205.00
β -galactosidasa	116.25
Fosforilasa B	97.40
Albúmina sérica bovina	66.20
Ovalbúmina	45.00
Anhidrasa carbónica	29.00

Las soluciones empleadas fueron las siguientes:

Buffer de desnaturalización

Mezclar:

5 mL de buffer II

2 mL de SDS al 20 %

2 mL de glicerol

1 mL de 2-mercaptoetanol

1 mL de azul de bromofenol al 0.02 %

Almacenar a 4 °C

Buffer II

TRIS 0.05M en agua destilada, ajustar el pH a 6.8 con HCl.

Buffer de cámara

Mezclar:

TRIS-HCl 0.05 M

Glicina 0.38 M

SDS 0.10 %

Ajustar el pH a 8.8 con HCl y almacenar a 4 °C

Acrilamida/bisacrilamida

Acrilamida al 30 % con agua

Bisacrilamida al 0.8 % en agua

Filtrar las soluciones anteriores a través de un filtro Millipore (0.45 µm) y almacenar a 4 °C

Los geles se prepararon como se presenta a continuación:

	Gel separador	Gel de concentración
	12 mL 10 %	5 mL 4 %
Agua	2.67 mL	3.69 mL
Buffer Gel	3.99	1.50 mL
Glicerol	1.266	-----
Acrilamida/bisacrilamida	3.96	0.7995 mL
Tetrametil-etilen-diamino (TEMED)	12.00 μ L	6.0 μ L
Persulfato de amonio 10 %	120.00 μ L	37.5 μ L

Solución para teñir

Azul de Coomassie	250 mg
Metanol	45 mL
Ac. acético	9 mL
Agua (aforar a)	100 mL

Solución para desteñir

Ac. acético	75 mL
Metanol	50 mL
Agua	875 mL



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

VII DISEÑO DE EXPERIMENTOS Y ANALISIS ESTADISTICO

Para evaluar el valor nutricional de los hongos empleados en el presente estudio se utilizó un diseño completamente al azar. Se emplearon tres cepas de *Pleurotus ostreatus* y para cada una de ellas se hicieron tres repeticiones, dando un total de nueve lotes experimentales. Se hizo un análisis de varianza de un factor utilizando el paquete Microsoft Excel y la diferencia entre medias se estableció según la prueba de rangos múltiples de Duncan (Montgomery, 1991).

Las variables estudiadas fueron:

Proteína (N x 6.25)

Cenizas

Extracto etéreo

Fibra cruda

Hidratos de carbono

Calcio

Fósforo

Nitrógeno no proteico

Contenido de quitina

Nitrógeno de proteína verdadera

Ácidos nucleicos totales

Aminoácidos libres

Nitrógeno soluble en agua y en alcohol

Lisina reactiva

Puntaje químico corregido por la digestibilidad (PQCD)

Valor Proteínico Relativo (VPR)

Digestibilidad *in vitro*

Para el caso del VPR de setas en diversos alimentos (Tabla 15), se analizaron 8 muestras con tres repeticiones (24 lotes experimentales). Para los datos de la Tabla 16 se consideraron como tratamientos: el valor proteínico relativo de las muestras completas y el de las fracciones solubles en agua y en alcohol de las tres cepas (3 tratamientos con 9 repeticiones cada uno), el diseño también fue de bloques completamente al azar y para la diferencia entre medias también se aplicó la prueba de rangos múltiples de Duncan.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Para establecer la diferencia en la digestibilidad verdadera (estudio en ratas) entre las cepas INIREB-8 y CDBB-H-897 se hizo una prueba de t para varianza de dos muestras (Tablas 21 y 25).

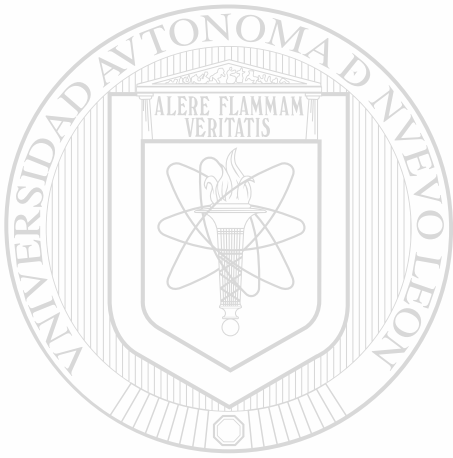
Se determinaron además las siguientes correlaciones:

Nitrógeno de proteína verdadera Vs nitrógeno de aminoácidos.

Valor proteínico relativo Vs puntaje químico de las mezclas de arroz con setas

Contenido de proteína total (N x 6.25) Vs. valor proteínico relativo de mezclas de arroz con setas.

Para determinar la significancia en las correlaciones se obtuvo el valor crítico de r empleando las tablas estadísticas para investigaciones agrícolas y médicas de Fisher y Yates citados por Levin, (1979).



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



VIII. RESULTADOS

A. Producción de setas

La primera cosecha de los cuerpos fructíferos se dio entre los 20 y 24 días para la cepa INIREB-8, entre 17 y 25 días para la CDBB-H-897 y para la CDBB-H-896 entre los 32 y 40 días a partir de la inoculación de la paja de trigo. Se observaron algunas diferencias en los cuerpos fructíferos de la cepa CDBB-H-896 con respecto a las otras dos, principalmente en que presentó un estípite más largo, la forma del sombrero fue más redonda y la textura más rígida. Los cuerpos fructíferos obtenidos con las tres cepas se presentan en las figuras 2, 3 y 4.

B. Composición química

Análisis proximal

El contenido de humedad fue de 90.10 ± 0.05 ; 89.8 ± 0.08 y 90.12 ± 0.05 g/100g para las cepas INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897 respectivamente, no se observó diferencia estadística ($p < 0.05$) entre estas medias.

En la Tabla 1 se presentan los resultados del análisis químico proximal, en la que se observa diferencia estadística ($p < 0.05$) en la composición de las tres cepas. La proteína (N x 6.25) osciló entre 24.64 y 28.5 g/100g en peso seco y se encontró diferencia estadística ($p < 0.05$) entre las tres cepas, con un menor contenido para la cepa CDBB-H-896, la concentración de proteína cruda informada para las especies de *Pleurotus* oscila de 8.9 a 38.7 g/100g en peso seco (Bano y Rajarathnam, 1988).

El extracto etéreo fue de 1.10 a 1.85 g/100 g peso seco; en este caso por su menor contenido, la cepa CDBB-H-897 fue diferente estadísticamente a las otras

dos. La concentración de cenizas fue mayor para la cepa CDBB-H-897 (8.79 %), y diferente estadísticamente a la de las cepas INIREB-8 y CDBB-H-896. El contenido de fibra cruda varió de 11.22 a 11.82 g/100 g en peso seco; este último valor corresponde a la cepa CDBB-H-896 y presentó diferencia estadística ($p < 0.05$) con respecto a las otras dos. El extracto libre de nitrógeno que corresponde a los hidratos de carbono, varió de 50.67 a 54.01 %; la cepa CDBB-H-896 presentó el mayor valor y fue diferente estadísticamente ($p < 0.05$).

Valor energético

El contenido energético para las cepas INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897 fue de 291.3, 297.14 y 286.6 Kcal/100 g de muestra, respectivamente, calculado con la fórmula de Lau (1982).

TABLA 1
ANÁLISIS PROXIMAL DE SETAS *Pleurotus ostreatus*.

Determinación	INIREB-8 Media \pm D.E.	CDBB-H-896 Media \pm D.E.	CDBB-H-897 Media \pm D.E.	F calculada*
Proteína (N x 6.25)	28.5 \pm 0.26 ^a	24.64 \pm 0.21 ^b	27.49 \pm 0.17 ^c	247.1782
Extracto etéreo	1.55 \pm 0.22 ^a	1.85 \pm 0.22 ^a	1.10 \pm 0.16 ^b	9.7166
Cenizas	8.05 \pm 0.25 ^a	7.66 \pm 0.23 ^a	8.79 \pm 0.25 ^b	16.3507
Fibra cruda	11.22 \pm 0.11 ^a	11.82 \pm 0.23 ^b	11.43 \pm 0.01 ^a	12.4252
Carbohidratos	50.67 \pm 0.80 ^a	54.01 \pm 0.41 ^b	51.17 \pm 0.10 ^a	35.6954

Los valores expresados en g /100 g de peso seco, representan la media de 3 determinaciones, superíndices distintos indican diferencia significativa a un nivel de confianza del 95 %
D.E. = Desviación Estándar.

* El valor crítico para F fue de 5.1432 para todos los casos.

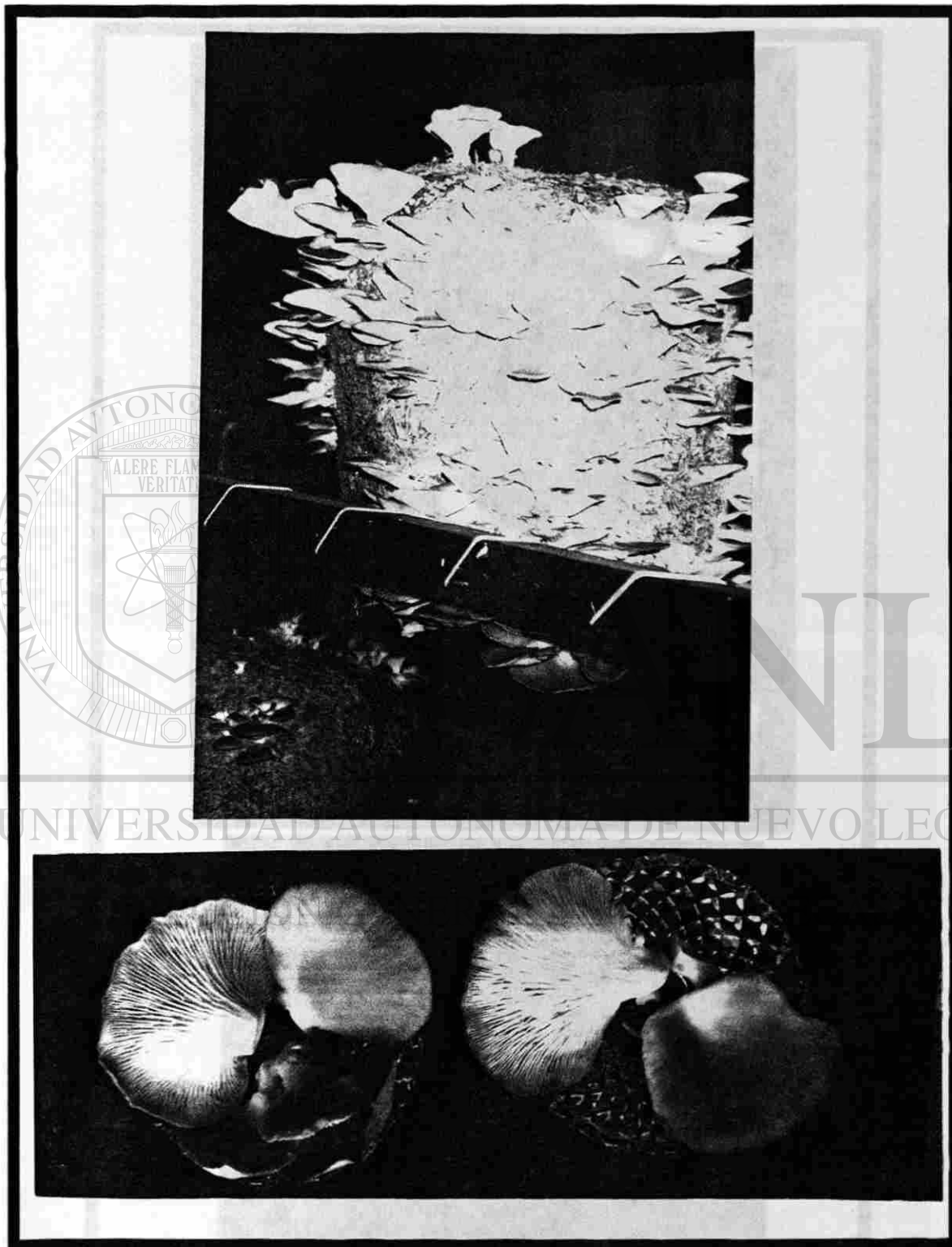


Figura 2. Cuerpos fructíferos de setas INIREB-8

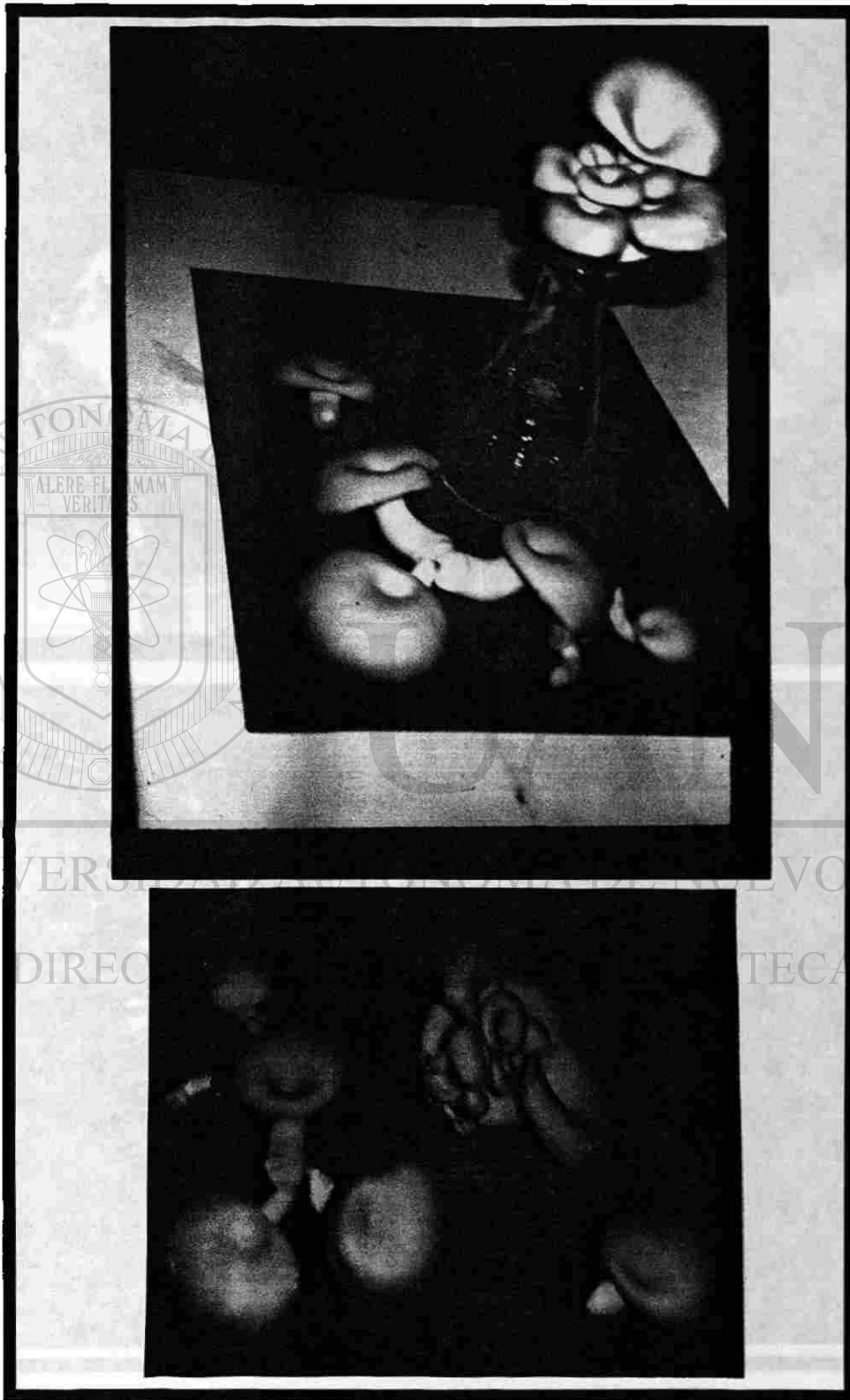


Figura 3. Cuerpos fructíferos de setas CDBB-H-896

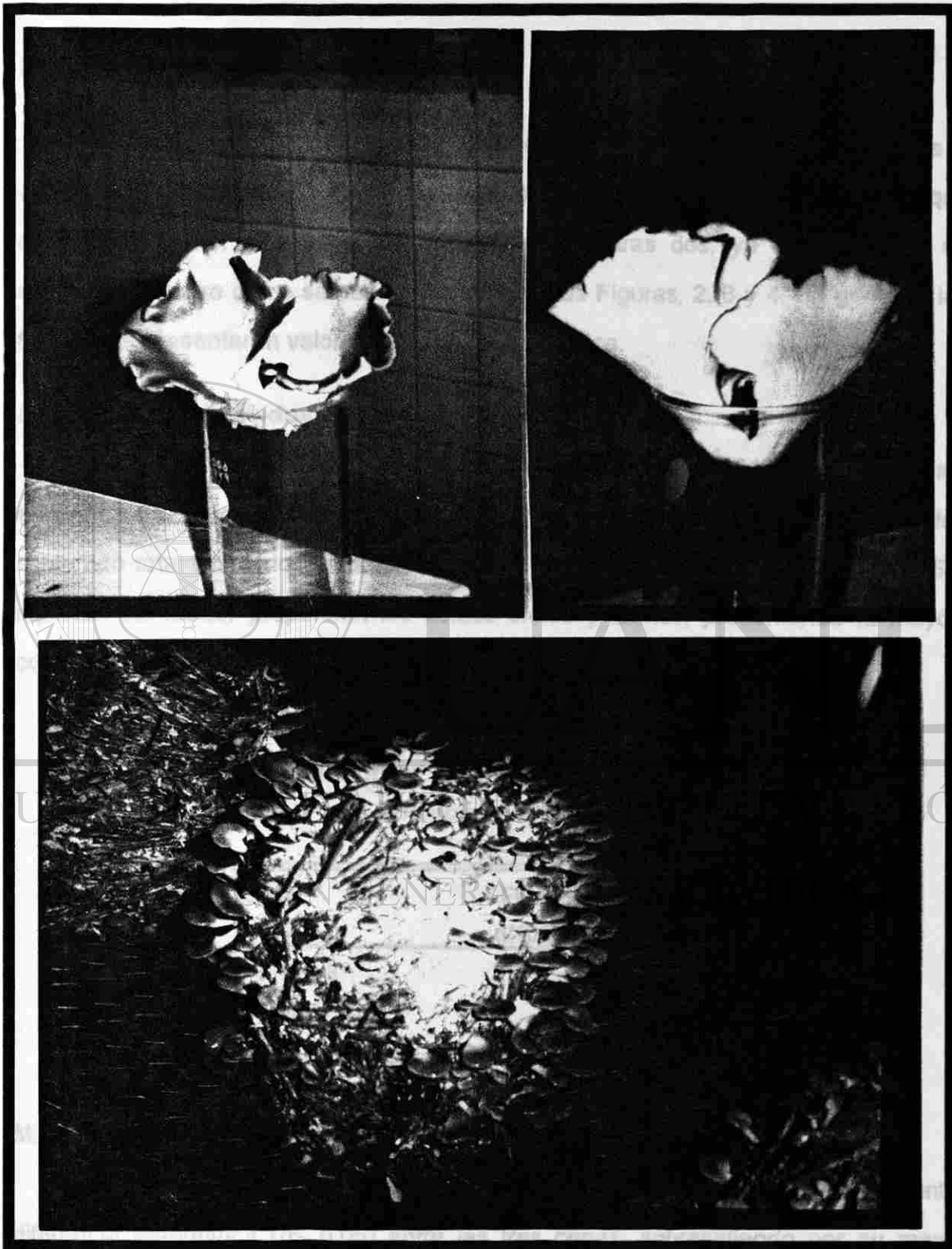


Figura 4. Cuerpos fructíferos de la cepa CDBB-H-897

Fibra dietética

Se observa en la Tabla 2 que el valor de fibra dietética total fue mayor para la cepa CDBB-H-896, igual que para la fibra cruda, tal vez esto se deba a que morfológicamente, esta cepa fue diferente a las otras dos, ya que presentó un estípites más largo como se puede observar en las Figuras, 2, 3 y 4. En general, las tres cepas presentaron valores altos de fibra dietética.

Lípidos (Perfil de ácidos grasos)

Se puede apreciar en la Tabla 3 que el ácido linoleico (C18:2) es el que se encuentra en mayor proporción en las tres cepas, con valores de 63.6 a 68.45 % del contenido total de lípidos, destacando por su menor valor la cepa CDBB-H-897. Se reportan en menor proporción los ácidos oleico y láurico, presentando la mayor concentración de éstos la cepa CDBB-H-896.

TABLA 2

CONTENIDO DE FIBRA DIETÉTICA EN SETAS

Pleurotus ostreatus.

Cepa	Fibra dietética total g/100 g en peso seco
INIREB-8	35.56
CDBB-H-896	36.81
CDBB-H-897	32.14

Minerales (Calcio y fósforo)

El valor de calcio fue de 0.79 a 1.85 g/100 g en peso seco y se encontró diferencia estadística ($p < 0.05$) entre las tres cepas, sobresaliendo por su menor contenido la CDBB-H-897. En el caso del fósforo la mayor concentración fue para la

cepa INIREB-8 y la menor para la CDBB-H-897; se observó diferencia estadística ($p < 0.05$) entre las tres cepas (Tabla 4).

TABLA 3
ACIDOS GRASOS EN *Pleurotus ostreatus*

Acidos grasos (%) del total de lípidos	INIREB - 8	CDBB-H-896	CDBB-H-897
Ac. Linoleico (Octadeca-9:12-dienoico)	68.45	64.45	63.60
Ac. Oleico (Octadeca-9-enoico)	13.13	14.60	14.60
Ac. Esteárico (Octadecanoico)	2.65	2.54	2.90
Ac. Palmítico (Hexadecanoico)	13.68	12.46	16.60
Ac. Mirístico (Tetradecanoico)	0.88	1.12	0.71
Ac. Láurico (Dodecanoico)	1.20	3.61	0.06

TABLA 4
CALCIO Y FÓSFORO EN SETAS

g/100 g en peso seco	INIREB-8 Media \pm D.E	CDBB-H-896 Media \pm D.E.	CDBB-H-897 Media \pm D.E.
Calcio	1.85 \pm 0.07 ^a	1.58 \pm 0.04 ^b	0.79 \pm 0.01 ^c
Fósforo	0.95 \pm 0.05 ^a	0.71 \pm 0.01 ^b	0.49 \pm 0.01 ^c

Los valores representan la media de 3 determinaciones.

D.E. = Desviación Estándar.

Superíndices distintos indican diferencia significativa $p < 0.05$.

Quitina

En la Tabla 5 se observa un contenido de quitina (polímero de la N-acetilglucosamina) entre 4.03 y 4.62 g/100 g en peso seco, Bano y Rajarathnam (1988) han informado valores entre 4.68 y 4.9 % en peso seco para *Pleurotus ostreatus*; en este caso destacó la cepa CDBB-H-896 por su contenido ligeramente mayor de quitina el cual fue estadísticamente diferente ($p < 0.05$) al de las otras dos cepas.

TABLA 5
CONTENIDO DE QUITINA EN SETAS

	Quitina g/100 g peso seco Media \pm D.E.	F calculada*
INIREB - 8	4.07 \pm 0.22 ^a	9.3532
CDBB-H-896	4.62 \pm 0.10 ^b	
CDBB-H-897	4.03 \pm 0.21 ^a	

Los valores representan la media de tres determinaciones.

D.E. = Desviación Estándar.

Superíndices distintos indican diferencia significativa a un nivel de confianza del 95 %.

*El valor crítico de F fue de 5.1432

Vitaminas

En la Tabla 6 se observan las concentraciones de vitaminas determinadas en la muestra seca, los valores de niacina están entre 35.98 y 36.56 mg/100 g, los de riboflavina entre 3.31 y 3.7 mg/100 g, los de tiamina se encuentran en el intervalo de 1.92 a 1.96 mg/100 g y los del ácido ascórbico entre 28 y 35 mg/100 g en peso seco. El contenido de estas vitaminas fue similar en las tres cepas.

TABLA 6
VITAMINAS EN SETAS *Pleurotus ostreatus*.

Cepa	Niacina	Riboflavina	Tiamina	Ac. Ascórbico
INIREB-8	36.26	3.61	1.92	30.00
CDBB-H896	35.98	3.31	1.95	28.00
CDBB-H-897	36.56	3.70	1.96	35.00

Nota: Los datos expresados en mg/100 g en peso seco representan la media de dos determinaciones.

Fraccionamiento de nitrógeno

Se puede apreciar en la Tabla 7 que no hubo diferencia estadística en el contenido de nitrógeno no proteico (1.84 - 1.95 %), en las tres cepas. En tanto que para el nitrógeno de proteína verdadera los valores estuvieron entre 2.98 y 3.25 g/100 g en peso seco, el menor valor correspondió a la cepa CDBB-H-896 que fue diferente estadísticamente ($p < 0.05$) a las otras dos cepas. El nitrógeno proteico representa entre el 71.05 a 75.63 % del nitrógeno total; al considerar el nitrógeno proveniente de aminoácidos el valor de este nitrógeno disminuye al intervalo de 68.52 a 71.98 %. Se encontró una correlación significativa $r=0.85$ (valor crítico $r=0.8114$) entre el nitrógeno de aminoácidos y el nitrógeno de proteína verdadera, estos valores fueron estadísticamente iguales a un nivel de confianza del 95 % cuando se aplicó la prueba de t.

En la Tabla 8 se presentan los valores comparativos de proteína cuando se calcularon del N de aminoácidos o de proteína verdadera multiplicados por 6.25 y el del nitrógeno total multiplicado por 4.38 se puede observar que empleando el factor de 4.38 los valores son muy similares entre sí, a excepción de la cepa CDBB-H-896

TABLA 7
FRACCIONAMIENTO DE NITRÓGENO EN MUESTRAS DE SETAS

Nitrógeno	INIREB-8	CDBB-H-896	CDBB-H-897	F calculada**
g/100 g en peso seco				
N no proteico*	1.95 ± 0.006	1.90 ± 0.10	1.84 ± 0.12	1.0532
Nitrógeno de aminoácidos**	3.20	2.70	3.16	
N de proteína verdadera	3.24 ± 0.05 ^a	2.98 ± 0.03 ^b	3.25 ± 0.13 ^a	9.9096

D.E. = Desviación Estándar.

a, b, Presentaron diferencia significativa a un nivel de confianza del 95 %.

* No presentó diferencia significativa.

** Media de dos determinaciones.

*** El valor crítico de F fue de 5.1432

cuyo nitrógeno de aminoácidos fue menor que el de proteína verdadera. Sin embargo, al hacer un análisis de varianza entre todos los valores de nitrógeno total (NT) multiplicados por 4.38, nitrógeno de proteína verdadera (NPV) y de aminoácidos (NAA) multiplicados por 6.25 para las tres cepas, se observaron las siguientes medias ± la desviación estándar: NT x 4.38= 18.61± 1.49, NPV x 6.25= 18.83 ± 1.22 y NAA x 6.25= 19.65 ± 0.59 y no se encontró diferencia estadística (p< 0.05) cuando se compararon las medias de contenido de proteína empleando estos tres métodos (F= 1.58, F crítica= 3.6823).

Acidos nucleicos

El contenido total de ácidos nucleicos se presenta en la Tabla 9 y se observa que el valor de 1.80 % para la cepa CDBB-H-896 fue menor y diferente estadísticamente (p< 0.05) al de las otras dos cepas, que por su parte mostraron

valores similares. El nitrógeno de estos componentes se considera como parte del nitrógeno no proteico.

TABLA 8
COMPARACIÓN ENTRE VALORES DE PROTEÍNA VERDADERA
UTILIZANDO LOS FACTORES DE 4.38 Y 6.25

Cepa	N. T. x 4.38*	N de A.A. x 6.25*	N. P. V. x 6.25*
INIREB - 8	19.72	20.00	20.25
CDBB-H-896	17.27	16.87	18.62
CDBB-H-897	19.26	19.75	20.31

N.T= Nitrógeno total

N de A. A = Nitrógeno de aminoácidos

N.P.V.= Nitrógeno de proteína verdadera

*g/100 g en peso seco

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

TABLA 9
CONTENIDO TOTAL DE ÁCIDOS NUCLEICOS EN SETAS *Pleurotus ostreatus*

Cepa	Ac. nucleicos totales (g/100 g en peso seco)	Valor de F	Valor crítico de F
INIREB-8	1.96 ± 0.02 ^a	180.25	5.143249
CDBB-H-896	1.80 ± 0.01 ^b		
CDBB-H-897	1.99 ± 0.005 ^a		

Superíndices distintos indican diferencia significativa (p< 0.05)

Aminoácidos

El contenido de aminoácidos para las tres cepas se presenta en la Tabla 10, en la que se observa que la cepa INIREB-8 tuvo el mayor contenido total de aminoácidos (746.45 mg/100 g de proteína) y la CDBB-H-896 el menor, en tanto que con respecto a los indispensables o esenciales la de menor contenido fue la CDBB-H-897 (296.30 mg/100 g de proteína); la cepa INIREB-8 fue la que más se acercó al patrón de FAO con 322.85 mg/100 g de proteína.

Se observan contenidos elevados de ácido glutámico, especialmente en la cepa CDBB-H-897 con una concentración de 164.75 mg/g de proteína. El contenido de ácido aspártico osciló entre 79.12 y 88.80 mg/g de proteína. Asimismo, se observan altas concentraciones de arginina (47.65 - 60.25), serina (33.10 - 35.50) y glicina (30.55 - 33.15). Destacan también los contenidos de aminoácidos azufrados metionina y cistina en las cepas INIREB-8 y CDBB-H-896 que sobrepasan los requerimientos de la FAO como se presenta más adelante.

Puntaje químico de aminoácidos

Se puede observar en la Tabla 11 que para la cepa INIREB-8 el puntaje químico o de aminoácidos fue de 75.75 % siendo la leucina el primer aminoácido limitante, le siguen la lisina y aminoácidos aromáticos (tirosina y fenilalanina). La calificación química para la CDBB-H-896 fue de 74.39 % con leucina como primer aminoácido limitante seguido de los aromáticos y lisina. Para la CDBB-H-897 el puntaje fue de 64.92 %, presentando los mismos aminoácidos limitantes que la cepa anterior.

Con el propósito de poder comparar los resultados de este trabajo con los informados por otros investigadores, se calcularon los puntajes químicos referidos al

TABLA 10
CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS EN SETAS *Pleurotus ostreatus* COMPARADO
CON EL PATRÓN FAO, 1985.

Aminoácidos mg/g de proteína (N x 6.25)	INIREB-8 Media ± D.E.	CDBB-H-896 Media ± D. E.	CDBB-H-897 Media ± D.E.	Patrón FAO 1985
Aspártico	84.20 ± 5.51	79.12 ± 0.25	88.80 ± 1.55	
Serina	33.85 ± 0.21	35.50 ± 0.55	33.20 ± 0.56	
Glutámico	147.65 ± 3.46	131.23 ± 4.99	164.75 ± 1.06	
Glicina	33.15 ± 0.77	31.00 ± 0.70	30.55 ± 0.49	
Histidina	19.95 ± 0.49	18.75 ± 0.70	18.60 ± 0.28	19
Arginina	49.40 ± 0.84	60.25 ± 0.49	47.65 ± 0.49	
Treonina	35.80 ± 0.84	36.25 ± 0.77	36.10 ± 0.28	34
Alanina	44.80 ± 0.42	43.45 ± 1.34	44.90 ± 0.14	
Prolina	30.55 ± 0.63	31.18 ± 0.01	30.65 ± 0.21	
Tirosina	25.10 ± 0.00	25.25 ± 0.07	24.30 ± 0.00	63*
Valina	35.85 ± 0.49	34.60 ± 0.14	33.00 ± 0.14	35
Metionina	14.80 ± 0.28	13.50 ± 0.0	13.55 ± 0.07	25**
Cistina	11.30 ± 0.50	12.50 ± 0.50	10.80 ± 0.50	
Lisina	50.40 ± 0.84	51.00 ± 0.14	48.40 ± 1.13	58
Isoleucina	30.25 ± 0.35	28.65 ± 0.21	26.90 ± 0.42	28
Leucina	50.00 ± 0.56	49.10 ± 0.28	42.85 ± 3.46	66
Fenilalanina	35.70 ± 0.56	28.35 ± 0.35	25.50 ± 0.98	
Triptofano	13.70 ± 0.50	12.80 ± 0.50	16.30 ± 0.50	11
Total	746.45	722.48	736.80	
Total de esenciales	322.85	311.00	296.30	339

* Total de aromáticos tirosina y fenilalanina

**Total de azufrados cistina y metionina

patrón de la FAO (1985), con los contenidos de aminoácidos en *P. ostreatus* reportados por Khanna y Garcha (1984) y Bano y Rajarathnam (1988); estos resultados muestran como aminoácidos limitantes a la lisina y a los azufrados (cistina y metionina), lo cual difiere de lo encontrado en este trabajo.

Lisina reactiva

Los valores de lisina reactiva (Tabla 12), estuvieron entre 188.11 y 240.72 mg/g de nitrógeno e indican que la biodisponibilidad de este aminoácido está entre el 59.46 y el 79.62 % de la lisina total, el valor más bajo y estadísticamente diferente ($p < 0.05$) se presentó en la cepa CDBB-H-896.

TABLA 11
PUNTAJE AMINOACÍDICO DE LAS CEPAS INIREB-8, CDBB-H-896 Y CDBB-H-897 DE
***Pleurotus ostreatus* COMPARADO CON DATOS DE LA LITERATURA**

	INIREB-8	CDBB-H-896	CDBB-H-897	<i>P.ostreatus</i> ¹	<i>P. ostreatus</i> ²
Histidina	105.00	98.68	97.89	221.00	89.47
Treonina	105.00	106.61	106.17	75.00	135.00
Tirosina +					106.00
fenilalanina	96.50	85.07	79.04	119.00	
Valina	102.40	98.85	94.28	135.00	157.00
Metionina +					76.00
cistina	101.20	104.00	97.40	100.00	
Lisina	86.89	87.93	83.44	56.65	77.58
Isoleucina	108.03	102.32	96.07	99.77	150.00
Leucina	75.75	74.39	64.92	97.47	103.00
Triptófano	124.54	116.36	148.00	—	118.00

¹ Khanna y Garcha, (1984).

² Bano y Rajarathnam, (1988)

TABLA 12
LISINA REACTIVA EN *Pleurotus ostreatus*

Cepa	Lisina Reactiva mg / g de N	F calculada	Valor crítico de F
INIREB-8	233.23 ± 0.15 ^a	123.9107	5.1432
CDBB-H-896	188.11 ± 0.30 ^b		
CDBB-H-897	240.72 ± 7.66 ^a		

Superíndices distintos indican diferencia significativa al 95 % de confianza.

Aminoácidos libres

La concentración de aminoácidos libres expresados en moles de glicina, así como el nitrógeno de aminoácidos libres se presenta en la Tabla 13. Se observa que la cepa CDBB-H-896 tuvo el menor contenido (0.1063 moles de glicina por 100 g en peso seco) y fue diferente estadísticamente ($p < 0.05$), con respecto a los valores de las cepas INIREB-8 y CDBB-H-897.

TABLA 13
AMINOÁCIDOS LIBRES EN *Pleurotus ostreatus*

Cepa	Aminoácidos libres Moles de glicina*	Nitrógeno de aminoácidos libres*	Valor de F	Valor crítico de F
INIREB-8	0.1332 ± 0.0001 ^a	0.033	43,524.27	5.143249
CDBB-H-896	0.1063 ± 0.0001 ^b	0.026		
CDBB-H-897	0.1332 ± 0.0001 ^a	0.033		

Superíndices distintos indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

*g/100 g en peso seco

C. Calidad de proteínas

Digestibilidad *in vitro*

En la Tabla 14 se muestran los valores de digestibilidad *in vitro* que se encuentran en el intervalo de 67.75 a 68.38 %. No se observó diferencia estadística entre los valores de las tres cepas.

Valor Proteínico Relativo (VPR)

El VPR de las setas comparado con el de otros alimentos se presenta en la Tabla 15. Se puede observar que el valor de 100.96 para la cepa CDBB-H-897 fue inferior y diferente estadísticamente al de las otras dos cepas y al de los demás productos analizados. Las cepas INIREB-8 y CDBB-H-896 presentaron diferencia estadística ($p < 0.05$) con respecto a la soya que alcanzó el mayor VPR (138 ± 5.72 %); no obstante, dieron valores iguales estadísticamente ($p < 0.05$) al de la albúmina (104.12 %), caseína + 0.3 % de metionina y al de la leche descremada en polvo (106.82 %). El VPR del huevo entero fue el segundo más alto y mostró diferencia estadística con respecto a todas las demás muestras.

En la Tabla 16 se presenta el contenido de nitrógeno y el VPR de la fracción proteínica soluble en agua. Se puede observar que no hay diferencia significativa ($p < 0.05$), entre el valor proteínico relativo para las tres cepas.

TABLA 14
DIGESTIBILIDAD *in vitro* DE MUESTRAS
DE SETAS

Cepa	Media \pm D. E.* %
INIREB - 8	67.75 \pm 0.54
CDBB-H-896	68.38 \pm 0.81
CDBB-H-897	68.38 \pm 0.81

*No hay diferencia significativa entre medias

TABLA 15
VALOR PROTEÍNICÓ RELATIVO (VPR) DE MUESTRAS DE SETAS
COMPARADO CON EL DE DIVERSOS ALIMENTOS

Muestra	V.P.R Media \pm D.E.
INIREB-8	107.21 \pm 0.20 ^d
CDBB-H-896	107.85 \pm 4.90 ^d
CDBB-H-897	100.96 \pm 1.06 ^c
Soya	138.00 \pm 5.72 ^a
Albúmina	104.12 \pm 0.00 ^d
Huevo entero	116.32 \pm 5.77 ^b
Caseína + 0.3 % de metionina	107.49 \pm 1.90 ^d
Leche descremada en polvo	106.82 \pm 0.00 ^d

Superíndices distintos indican que hay diferencia significativa ($p < 0.05$).

TABLA 16
VALOR PROTEÍNICÓ RELATIVO (VPR) Y CONTENIDO DE NITRÓGENO
DE LA FRACCIÓN DE PROTEÍNA SOLUBLE EN AGUA

Cepa	VPR*	Contenido de N*
	Media \pm D.E.	
INIREB - 8	106.59 \pm 2.31	1.22 \pm 0.06
CDBB-H-896	106.09 \pm 3.00	1.37 \pm 0.14
CDBB-H-897	103.78 \pm 0.56	1.25 \pm 0.005

*No hay diferencia significativa entre medias a un nivel del 95 % de confianza.
 Valor de F=1.38039 para el VPR y F= 2.3558 para el contenido de N.
 Valor crítico de F= 5.143249.

En la Tabla 17 se presenta el VPR y el contenido de nitrógeno de la fracción de proteína soluble en alcohol. Se observa un menor valor de contenido de nitrógeno (1.11 %), diferente estadísticamente ($p < 0.05$), en la cepa CDBB-H-896 con respecto a la INIREB-8 y a la CDBB-897. Asimismo, el menor valor proteínico relativo (101.11), fue para la misma cepa, que mostró diferencia estadística ($p < 0.05$) con respecto a las cepas CDBB-H-897 e INIREB-8.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

TABLA 17
VALOR PROTEÍNICÓ RELATIVO (VPR) Y CONTENIDO DE NITRÓGENO
DE LA FRACCIÓN DE PROTEÍNA SOLUBLE EN ALCOHOL

Cepa	VPR	Contenido de N
	Media \pm D.E.	Media \pm D.E.
INIREB-8	111.58 \pm 2.55 ^a	1.33 \pm 0.06 ^a
CDBB-H-896	101.11 \pm 1.85 ^b	1.11 \pm 0.08 ^b
CDBB-H-897	103.43 \pm 0.92 ^a	1.32 \pm 0.01 ^a

Superíndices distintos significan diferencia estadística ($p < 0.05$)
 Valor de F=25.1561 para VPR. F= 12.3130 para contenido de N.
 Valor crítico de F= 5.1432.

En la Tabla 18 se presentan los valores proteínicos relativos tanto para las muestras completas como para las fracciones de proteína solubles en agua y en alcohol, habiendo hecho la comparación entre los VPR para cada cepa, se consideró válido hacer un análisis de varianza para comparar los 9 valores de VPR para la proteína completa y aquellos de las fracciones solubles en agua y en alcohol. Las medias \pm la desviación estándar fueron: VPR muestra completa= 105.34 ± 4.15 , fracción soluble en agua= 105.49 ± 2.31 y fracción soluble en alcohol= 105.37 ± 5.03 . No se observó diferencia estadística $p < 0.05$ entre estas tres medias ($F = 0.0033$, F crítica= 3.4028)

TABLA 18

VALOR PROTEÍNICÓ RELATIVO DE LA MUESTRA COMPLETA Y DE LAS FRACCIONES SOLUBLES EN AGUA Y ALCOHOL

	VPR muestra completa	VPR fracción soluble en agua	VPR fracción soluble en alcohol
INIREB-8	107.21 ± 0.20	106.59 ± 2.31	111.58 ± 2.55
CDBB-H-896	107.85 ± 4.90	106.09 ± 3.00	101.11 ± 1.85
CDBB-H-897	100.96 ± 1.06	103.78 ± 0.56	103.43 ± 0.92

Digestibilidad verdadera

En la Tabla 19 se muestran los valores de digestibilidad verdadera, digestibilidad verdadera corregida, puntaje químico corregido por la digestibilidad, puntaje químico corregido por la digestibilidad verdadera corregida, índice de

eficiencia proteínica (PER) y razón proteínica neta (NPR), estos últimos calculados solamente en el periodo de balance y no durante 4 ó 2 semanas como lo indican los métodos estandarizados. Asimismo, con propósitos comparativos se incluyen las digestibilidades verdaderas y puntaje químico corregido por la digestibilidad de algunos alimentos comunes. Se puede observar que la cepa INIREB-8 presentó el mayor valor de digestibilidad verdadera y mostró diferencia estadística ($p < 0.05$) con respecto a la CDBB-H897. El PER que solamente considera la ganancia de peso, dio un valor muy bajo en promedio, pero con una gran variabilidad (0.64 ± 1.64) para la cepa CDBB-H-897 comparado con el de la INIREB-8; no obstante, este valor fue estadísticamente igual en las dos cepas. El NPR que corrige con el cambio de peso del grupo en dieta libre de nitrógeno mostró diferencia estadística entre las dos cepas, el puntaje químico corregido por la digestibilidad fue mayor para la cepa INIREB-8, por lo tanto ésta se clasificó como la de mejor calidad proteínica. Cuando se corrigió la digestibilidad verdadera considerando solamente el nitrógeno proteico los valores aumentaron en 5.09 y 5.53 % para la cepa INIREB-8 y CDBB-H-897 respectivamente, el puntaje químico corregido por este último valor de digestibilidad, también aumentó.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Se observa en la Tabla 20 que con excepción de un animal que perdió 1.2 g durante el periodo de balance los demás aumentaron de peso cuando se alimentaron con la cepa INIREB-8, por lo que los valores de digestibilidad fueron relativamente altos (Tabla 21).

TABLA 19
DIGESTIBILIDAD VERDADERA E ÍNDICES DE CALIDAD PROTEÍNICAS DE LAS CEPAS
INIREB-8 Y CDBB-H-897 COMPARADOS CON DATOS DE LA LITERATURA

Cepa	Digestibilidad verdadera (%)	P Q C D	(PER)	(NPR)
INIREB-8	86.91 ± 4.34 ^a (92.06 ± 4.73)	65.83 (69.73)	1.35 ± 1.54 ^a	5.81 ± 1.16 ^a
CDBB-H-897	84.53 ± 7.78 ^b (90.06 ± 7.82)	54.87 (58.46)	0.64 ± 1.64 ^a	6.73 ± 3.45 ^b
Harina de trigo	90.00*	41.00*		
Clara de huevo	100.00*	100.00*		
Frijol pinto	73.00*	57.00*		
Lentejas	85.00*	51.00*		
Came	98.00*	92.00*		

Superíndices distintos indican diferencia significativa ($p < 0.05$)

* (FAO/WHO/UNU), 1985

PQCD= Puntaje químico corregido por la digestibilidad

PER= Índice de eficiencia proteínica

NPR= Razón proteínica neta.

Los números entre paréntesis se refieren a la digestibilidad verdadera corregida y al puntaje químico corregido por ésta.

TABLA 20
GANANCIA DE PESO DE LOS ANIMALES EMPLEADOS PARA EL ENSAYO DE LA
DIGESTIBILIDAD VERDADERA PARA LA CEPA INIREB-8

No.	Peso inicial (g)	Peso al inicio del balance (g)	Peso Final (g)	Aumento de peso (g)
3	55.3	53.2	53.3	0.1
60	52.7	49.8	61.3	11.5
32	51.9	48.6	51.3	2.7
14	50.7	47.5	49.3	1.8
64	58.6	57.4	58.0	0.6
63	53.5	50.4	49.2	-1.2
10	51.3	51.9	55.8	3.9
28	50.2	49.8	54.6	4.8

TABLA 21
DATOS EMPLEADOS EN EL CÁLCULO DE LA DIGESTIBILIDAD VERDADERA
PARA CEPA INIREB-8

No.	Alimento ingerido (g)	Nitrógeno ingerido (g)	Nitrógeno excretado (g)	Nitrógeno metabólico* (g)	Digestibilidad %
3	22.5	0.4471	0.0686	0.0178	88.64
60	29.8	0.5922	0.1071	0.0233	85.88
32	19.7	0.3914	0.0403	0.0156	93.66
14	17.9	0.3557	0.0439	0.0142	91.65
64	22.2	0.4400	0.1050	0.0175	80.12
63	17.9	0.3560	0.0647	0.0141	85.80
10	24.9	0.4950	0.1019	0.0197	83.39
28	27.3	0.5420	0.0964	0.0216	86.19

*Se obtiene de multiplicar el nitrógeno metabólico de las ratas en dieta libre de nitrógeno (0.07912 mg/g) por los gramos de alimento consumido (dieta ensayada).

En el ensayo biológico para determinar la digestibilidad de la cepa CDBB-H-896 se observó una pérdida de peso de 0.5 a 6.7 g en el periodo de balance y de 12.7 a 21.8 g desde el inicio del experimento considerando también el periodo de adaptación al alimento (Tabla 22). Además, se murieron 3 animales en el tercero y cuarto días del balance. Estos animales presentaron los siguientes signos patológicos:

Sintomatología clínica

- Nerviosismo
- Apnea (Dificultad al respirar)
- Poca aceptación del alimento
- Pérdida de peso (hasta de 21.8 g)

Se muestra en la Tabla 23 que el consumo de alimento (CDBB-H-896) de las ratas No. 4, 21 y 50 fue de 12.5, 12.1 y 3.8 g respectivamente. Este consumo fue comparativamente menor al de los animales que ingirieron la cepa INIREB-8 (17.9 - 29.8 g).

Las ratas que se murieron fueron disecadas y presentaron la siguiente patología.

Patología macroscópica

- Los animales número 50 y 21 mostraron hemorragia intestinal y pulmonar.
- Las paredes del estómago se veían adheridas entre sí.

- La rata 4 sólo mostró hemorragia pulmonar y las paredes del estómago adheridas.

Posiblemente, esta cepa contenga algún compuesto tóxico, por esta razón no pudo ser incluido en la comparación de la digestibilidad verdadera, ni de los índices de calidad proteínica con las otras dos cepas.

TABLA 22
GANANCIA DE PESO DE ANIMALES EN EL ENSAYO DE DIGESTIBILIDAD VERDADERA
PARA LA CEPA CDBB-H-896

No.	Peso inicial (g)	Peso antes del balance (g)	Peso final (g)	Aumento de peso (g)	Pérdida de peso total (g)
4**	54.3	42.1	36.5	- 5.6	-17.8
59	53.6	42.9	37.9	-5.0	-15.7
21*	49.1	36.7	31.9	-4.8	-17.2
8	51.5	38.0	34.6	-3.4	-16.9
40	54.6	40.7	36.4	-4.3	-18.2
58	53.0	43.4	36.7	-6.7	-16.3
50**	49.8	34.0	28.0	-6.0	-21.8
38	50.0	37.8	37.3	-0.5	-12.7

* Se murió al tercer día del balance. ** Se murieron al cuarto día del balance.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

En el caso de los animales que ingirieron la cepa CDBB-H-897, se observó pérdida de peso de -0.7 y -3.9 g en el periodo de balance en las ratas 53 y 44 respectivamente y en la rata No. 7 se presentó coprofagia por lo que este valor no se incluyó en los cálculos (Tabla 24). En la Tabla 25 se presentan los datos empleados para el cálculo de la digestibilidad verdadera.

TABLA 23
DATOS EMPLEADOS PARA EL CÁLCULO DE LA DIGESTIBILIDAD
VERDADERA CEPA CDBB-H-896

No.	Alimento ingerido (g)	Nitrógeno ingerido (g)	Nitrógeno excretado (g)	Nitrógeno metabólico (g)	Digestibilidad %
4	12.5	0.2474	0.0430	0.0098	—
59	16.7	0.3305	0.1203	0.0132	67.59
21	12.1	0.2395	0.0507	0.0095	—
8	10.6	0.2100	0.0858	0.0091	63.47
40	33.7	0.6869	0.0700	0.0266	90.29
58	12.2	0.2415	0.0686	0.0096	75.56
50	3.8	0.0750	0.0220	0.0030	—
38	7.4	0.1464	0.0911	0.0058	41.70

TABLA 24

AUMENTO DE PESO DE ANIMALES DEL ENSAYO DE DIGESTIBILIDAD
VERDADERA PARA LA CEPA CDBB-H-897

Número	Peso inicial (g)	Peso antes del balance (g)	Peso final (g)	Aumento de peso (g)
27	54.5	53.9	54.9	1.0
45	52.0	46.3	52.5	6.2
53	50.6	46.0	45.3	-0.7
39	49.1	52.6	54.6	2.0
44	55.7	53.1	49.2	-3.9
47	52.5	48.9	50.0	0.1
7	51.8	44.8	45.9	1.1
52	50.3	49.0	49.4	0.4

En la Tabla 26 se presentan los datos de consumo de alimento y pérdida de peso de las ratas en dieta libre de nitrógeno. El contenido de nitrógeno en heces del mismo grupo de animales se muestra en la Tabla 27.

TABLA 25
DATOS EMPLEADOS EN EL CÁLCULO DE DIGESTIBILIDAD VERDADERA
PARA LA CEPA CDBB-H-897

No.	Alimento ingerido (g)	Nitrógeno ingerido (g)	Nitrógeno excretado (g)	Nitrógeno metabólico (g)	Digestibilidad verdadera (%)
27	21.0	0.384	0.0520	0.0166	90.78
45	20.5	0.375	0.0696	0.0162	85.75
53	16.2	0.296	0.0489	0.0128	87.80
39	27.1	0.494	0.1789	0.0214	68.10
44	20.2	0.369	0.0767	0.0159	83.54
47	23.3	0.426	0.0570	0.0184	90.94
7*	10.8	0.197	0.0096	0.0085	99.44*
52	20.6	0.376	0.0736	0.0163	84.79

*Se observó coprofagia.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

TABLA 26
CONSUMO DE ALIMENTO Y PÉRDIDA DE PESO DE RATAS EN DIETA LIBRE DE
NITRÓGENO

No.	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Pérdida de peso (g)	Alimento ingerido (g)
06	69.3	61.0	-8.3	44.8
48	69.4	58.8	-10.6	50.6
37	64.9	60.3	-4.6	38.8
57	62.5	54.0	-8.5	37.7
13	70.9	61.1	-9.8	45.6
15	71.0	58.7	-12.3	51.7
12	69.6	62.3	-7.3	37.9
24	69.7	62.0	-7.7	48.0

TABLA 27
CONTENIDO DE NITRÓGENO EN HECES DE RATAS EN DIETA LIBRE DE NITRÓGENO

No.	Peso de heces (g)	N en heces (%)	N en heces (mg)	mg de N/g de dieta
6	2.5914	1.4701	38.09	0.8503
48	2.4819	1.2559	31.17	0.6160
37	2.9303	1.2934	37.90	0.9768
57	1.6951	1.0677	18.09	0.4798
13	2.3752	1.5259	36.24	0.7947
15	2.2541	1.4387	32.43	0.6272
12	2.6066	1.3265	34.57	0.9121
24	2.8908	1.2647	36.56	0.7616

La media de mg N/ g de alimento fue 0.07912.

Suplementación de cereales y leguminosas con harina de setas

En la Tabla 28 se presentan los contenidos de proteínas, digestibilidad *in vitro* y valor proteínico relativo de alimentos selectos solos y mezclados con harina de setas INIREB-8.

En el caso de los contenidos de proteína en las mezclas de leguminosas con setas con excepción de la lenteja y soya, se observa un aumento significativo solamente cuando se combinan en la proporción 50:50; estos valores mostraron diferencia estadística ($p < 0.05$) con respecto a la muestra original dentro del mismo grupo. El contenido de proteína de la soya observa una disminución lógica cuando se combina con el 50 % de setas, por el menor contenido de proteína de las setas, este valor presenta diferencia estadística ($p < 0.05$) con respecto a la muestra original; la adición del 10 % de setas no surtió ningún efecto en la soya.

En la lenteja se observa una disminución de 27.01 a 24.24 % cuando se suplementó con el 10 % de harina de setas y un incremento en la mezcla 50:50, observándose diferencia estadística entre las tres muestras.

En el caso de la pasta para sopa se observó un incremento en la mezcla 50:50 y este valor fue diferente estadísticamente ($p < 0.05$) con respecto a la muestra original y a la suplementación 90:10.

La tortilla de maíz mejora aún con la adición del 10 %, en este caso se presentó diferencia estadística ($p < 0.05$), entre la muestra original y las dos suplementaciones.

El arroz suplementado con el 10, 20 y 50 % de harina de setas dio valores superiores de proteína, estadísticamente diferentes ($p < 0.05$), al del arroz solo. Se calculó la correlación entre la concentración de proteína y el VPR del arroz solo y mezclado con setas obteniéndose un valor de $r = 0.707$ el cual no fue significativo (valor crítico de $r = 0.95$ a un nivel de confianza de 0.05).

En el bolillo y la harina de maíz "Maseca", las dos muestras suplementadas dieron concentraciones superiores y presentaron diferencia estadística ($p < 0.05$) con respecto a las de las muestras originales.

En los valores de digestibilidad *in vitro* se observó una disminución tanto para las leguminosas como para los cereales.

El valor proteínico relativo del frijol negro, mejoró en un 23.41 % cuando se suplementó con 10 % de harina de setas y presentó diferencia estadística ($p < 0.05$) con respecto a la muestra original. No obstante, cuando se suplementó con el 50 % resultó estadísticamente igual a la suplementación con el 10 %. Al suplementar el frijol flor de mayo con el 10 % de harina de setas se observó un incremento del

21.06 % y este valor fue igual estadísticamente ($p < 0.05$) que el de la suplementación 50:50 pero diferente al de la muestra original.

En el caso del haba con la suplementación del 10 % se observó un incremento del 17.33 % en el VPR diferente estadísticamente ($p < 0.05$) al de la muestra sola, pero igual al de la suplementación con el 50 %. Los resultados de VPR de la lenteja suplementada con el 10 y el 50 % no presentaron diferencia estadística con respecto al de la muestra original. En el VPR de la soya se observó una disminución aparente ya que en el análisis estadístico no hay diferencia significativa, estos valores presentaron una gran variabilidad entre muestras con desviaciones estándar de hasta ± 18 .

El VPR se incrementó en 3.34 y 18.6 % cuando la pasta para sopa se suplementó con 10 y 50 % respectivamente y sólo se observó diferencia estadística ($p < 0.05$) entre las medias de la muestra sola y la de la mezcla 50:50. La tortilla de maíz suplementada con el 10 y el 50 % de setas incrementó en 13.74 y 19.61 % su VPR cuando la suplementación fue de 50 %; en este caso el valor de la tortilla sola fue diferente estadísticamente ($p < 0.05$) a los de las dos combinaciones.

En el arroz blanco los incrementos del VPR fueron de 21.73; 30.58 y 38.02 % cuando se suplementó con el 10, 20 y 30 % de harina de setas. En este grupo se observó diferencia estadística ($p < 0.05$) entre el arroz solo y las mezclas con setas.

En el caso del bolillo o pan francés aunque se observa un incremento en el VPR de las suplementaciones, éste no mostró ninguna diferencia estadística ($p < 0.05$), con respecto a la muestra original.

La harina de maíz "Maseca" suplementada con el 10 % de harina de setas incrementó su VPR en un 2.12 % y en 12.03 % cuando se agregó el 50 %. Sin

embargo, el análisis estadístico no reveló diferencia estadística ($p < 0.05$) entre estos valores.

Las dobladas con setas presentaron un valor menor que el de la tortilla de maíz solo y el platillo de coditos con setas mostró un VPR superior al de la pasta sola.

En la Tabla 29 se presenta el puntaje químico calculado con datos de contenido de aminoácidos de la literatura (FAO, 1970) y el valor proteínico relativo. En el caso de la tortilla se observaron incrementos graduales en ambos valores cuando se suplementó con harina de setas. La misma tendencia se presentó para el arroz, en este caso como se tenían 8 datos, se obtuvo la correlación entre el puntaje químico y el VPR dando un valor de $r=0.75$ la cual no fue significativa al nivel de confianza de 0.05 (valor crítico $r=0.95$).

Para el haba se presentó un incremento en el puntaje químico de 26.4 % en la mezcla 50:50 con respecto al haba sola y en el VPR también se observaron incrementos aunque estadísticamente iguales en las mezclas. En la lenteja el puntaje químico en la mezcla 90:10 apenas aumentó en 3.64 unidades y en 18.2 para la mezcla 50:50, en este caso el VPR no presentó diferencia estadística $p < 0.05$ entre la lenteja sola y mezclada con setas. Es interesante observar que en la soya el puntaje químico es prácticamente igual en la muestra sola y mezclada con setas y que en el VPR tampoco se encontró diferencia estadística entre las 3 muestras. En el caso del frijol flor de mayo los incrementos se observan tanto en el puntaje químico como en el VPR. Sin embargo, en el frijol negro el VPR para la mezcla 90:10 aparentemente tiene un valor ligeramente mayor que la mezcla 50:50; sin embargo, estos valores no presentaron diferencia estadística ($p < 0.05$).

TABLA 28
DIGESTIBILIDAD *in vitro*, PROTEÍNA Y VALOR PROTEÍNICÓ RELATIVO DE
ALIMENTOS SELECTOS SOLOS Y MEZCLADOS CON HARINA DE SETAS (INIREB - 8)

	Proteína N x 6.25 (%) media ± D.E	Digestibilidad <i>in vitro</i> (%)	V P R (%) media ± D.E
Frijol negro	23.53 ± 0.10*	83.74	80.60 ± 13.80*
Frijol negro + I - 8 (90:10)	23.64 ± 0.12*	72.88	104.01 ± 8.90**
Frijol negro + I - 8 (50:50)	27.55 ± 0.24**	74.69	102.34 ± 7.97**
Frijol flor de mayo	22.66 ± 0.09*	92.79	80.62 ± 8.26*
Flor de mayo + I - 8 (90:10)	23.82 ± 0.24*	71.07	101.68 ± 5.07**
Flor de mayo + I - 8 (50:50)	25.98 ± 0.58**	72.89	107.37 ± 11.27**
Haba	29.98 ± 0.27*	87.36	83.22 ± 5.46*
Haba + I - 8 (90:10)	29.54 ± 0.32*	70.16	100.55 ± 5.57**
Haba + I - 8 (50:50)	31.19 ± 0.28**	72.88	105.28 ± 10.00**
Lenteja	27.01 ± 0.05*	89.17	87.25 ± 8.31*
Lenteja + I - 8 (90:10)	24.24 ± 0.14**	71.07	100.12 ± 10.27*
Lenteja + I - 8 (50:50)	29.76 ± 0.29***	74.69	105.91 ± 14.21*
Soya	41.08 ± 0.56*	87.36	138.00 ± 5.72*
Soya + I - 8 (90:10)	41.07 ± 0.17*	83.74	106.39 ± 10.63*
Soya + I - 8 (50:50)	37.11 ± 0.00**	74.69	126.61 ± 18.84*
Pasta para sopa	15.29 ± 0.07*	96.41	88.23 ± 11.06*
Pasta + I - 8 (90:10)	15.08 ± 0.09*	74.69	91.57 ± 4.29*
Pasta + I - 8 (50:50)	21.21 ± 0.47**	72.88	106.83 ± 10.25**
Tortilla de maíz	11.27 ± 0.01*	89.17	88.63 ± 3.97*
T. de maíz + I - 8 (90:10)	13.14 ± 0.33**	69.26	102.37 ± 12.08**
T. de maíz + I - 8 (50:50)	21.27 ± 0.38***	72.88	108.24 ± 4.84**
Arroz blanco	10.57 ± 0.12*	92.79	64.44 ± 3.47*
Arroz blanco + I - 8 (90:10)	13.21 ± 0.22**	72.88	86.17 ± 7.06**
Arroz blanco + I - 8 (80:20)	13.94 ± 0.05***	77.40	95.02 ± 9.43**
Arroz blanco + I - 8 (50:50)	21.14 ± 0.05****	71.07	102.46 ± 10.92**
Bolillo	12.47 ± 0.16*	83.74	100.90 ± 9.71*
Bolillo + I - 8 (90:10)	13.99 ± 0.14**	72.88	115.97 ± 6.09*
Bolillo + I - 8 (50:50)	22.31 ± 0.00***	72.88	109.28 ± 9.66*
Harina de maíz (Maseca)	9.97 ± 0.34*	89.17	92.16 ± 10.25*
"Maseca" + I - 8 (90:10)	12.42 ± 0.48**	78.31	94.28 ± 10.86*
"Maseca" + I - 8 (50:50)	20.81 ± 0.19***	72.88	104.19 ± 11.33*
Dobladas de setas (platillo)	13.43 ± 0.41	86.45	78.00 ± 6.94
Coditos con setas (platillo)	16.72 ± 0.13	85.55	106.48 ± 11.64

* , ** , *** y **** presentaron diferencia significativa $p < 0.05$ dentro de un mismo grupo de alimentos.

TABLA 29
PUNTAJE QUÍMICO Y VALOR PROTEÍNICÓ RELATIVO EN MEZCLAS DE ALIMENTOS
SELECTOS CON HARINA DE SETAS INIREB-8

Alimento	Puntaje químico ¹	Valor proteínico relativo
Tortilla	60.72	88.63 ± 3.97*
Tortilla:setas 90:10	66.10	102.37 ± 12.08**
Tortilla:setas 50:50	87.63	108.24 ± 4.84**
Arroz	86.18	64.44 ± 3.47*
Arroz:setas 90:10	89.01	86.17 ± 7.06**
Arroz:setas 80:20	91.85	95.02 ± 9.43**
Arroz:setas 50:50	100.30	102.46 ± 10.92**
Haba	57.60	83.22 ± 5.46*
Haba:setas 90:10	68.04	100.55 ± 5.57**
Haba:setas 50:50	84.00	105.28 ± 10.00**
Lenteja	68.00	87.25 ± 8.31*
Lenteja:setas 90:10	71.64	100.12 ± 10.27*
Lenteja:setas 50:50	86.20	105.91 ± 14.21*
Soya	104.00	138.00 ± 5.72*
Soya:setas 90:10	104.04	106.39 ± 10.63*
Soya:setas 50:50	104.20	126.61 ± 18.84*
Frijol flor de mayo	76.00	80.62 ± 8.26*
Frijol:setas 90:10	78.84	101.68 ± 5.07**
Frijol:setas 50:50	90.02	107.37 ± 11.27**
Frijol negro	76.00	80.60 ± 13.80*
Frijol negro:setas 90:10	78.84	104.01 ± 8.90**
Frijol negro:setas 50:50	90.02	102.34 ± 7.97**

¹ Calculado con datos de contenido de aminoácidos publicados por la FAO (1970).

*, ** Presentaron diferencia estadística p < 0.05 en el mismo alimento.

Los aminoácidos limitantes en las leguminosas solas y mezclas fueron los azufrados.

D. Perfil electroforético

D. Perfil electroforético

En la Figura 5 se presenta el perfil electroforético de las tres cepas. Se realizó electroforesis de extractos de proteína total. Los resultados muestran que las cepas INIREB-8 y CDBB-H-897 tienen un patrón de proteínas casi idéntico, observándose 7 bandas de proteínas de peso molecular menor de 29 kDa. Ambas cepas, tienen una proteína de cerca de 29 kDa en una alta concentración, lo cual sugiere que tal vez sea una proteína estructural, de gran importancia para estos hongos, esta banda se encuentra ausente en la cepa CDBB-H-896; no obstante, ésta muestra también 7 bandas bien definidas por abajo de 29 kDa. Una peculiaridad distintiva de esta cepa con respecto a las otras dos, es que presenta una proteína menor a 29 kDa, en gran concentración. Se observa también en las tres cepas un grupo de proteínas de menor peso molecular que no fueron resueltas adecuadamente por este método. Asimismo, se pudieron diferenciar 4 bandas entre 29 y 45 kDa para la cepa INIREB-8 y CDBB-H-897; aparentemente, estas proteínas también se encuentran presentes en la CDBB-H-896 pero en menor concentración. Se aprecia una serie de proteínas entre 45 y 97.4 kDa que no están bien definidas. Dentro de las proteínas de alto peso molecular, cercanas a los 205 kDa se observan 2 bandas bien definidas en las tres cepas, sólo que la proteína más cercana a los 205 kDa apenas es perceptible en la cepa CDBB-H-896.

IX. DISCUSION

A.Producción de setas

Las diferencias más notables en la producción de setas fueron el tiempo más largo de fructificación y la morfología distinta para la cepa CDBB-H-896 con respecto a la INIREB-8 y a la CDBB-H-897, en tanto que éstas se comportaron prácticamente igual.

B.Composición química

Análisis proximal

El contenido de humedad promedio en las tres cepas fue de alrededor del 90 %, valores que están de acuerdo con los informados por Crisan y Sands, (1978).

Estos autores reportan un intervalo entre 85 y 95 % de humedad en distintos especímenes de hongos frescos, puntualizando que este valor depende de si las muestras se analizaron inmediatamente después de la cosecha o pasado algún tiempo de almacenamiento. Asimismo, señalaron que indudablemente la humedad es afectada por los factores ambientales como temperatura y humedad relativa durante el crecimiento y almacenamiento, así como por la cantidad de agua metabólica que puede ser producida (o utilizada) durante el almacenamiento. En este caso las muestras fueron analizadas inmediatamente después de la cosecha.

Energía

El valor energético fue mayor para la cepa CDBB-H-896 ya que ésta tiene también más alto contenido en grasas y carbohidratos, en lo que respecta al contenido de fibra dietética los valores de esta cepa fueron similares a los de la INIREB-8 en tanto que su contenido de quitina fue superior.

Proteína

En lo que respecta al contenido de proteína cruda (N x 6.25) presentado en la Tabla 1 se puede considerar un valor medio para las cepas INIREB-8 y CDBB-H-897 y bajo para la CDBB-H-896. Crisan y Sands, (1978), reportaron valores de proteína (N x 4.38) entre 8.9 y 38.7 g/100 g en peso seco para distintas especies de *Pleurotus*, valores que multiplicados por 6.25 dan un intervalo de 12.69 - 43.37 %. Por su parte Khanna y Garcha, (1984), reportaron contenidos de proteína (N x 6.25) de 26.94 a 37.19 % para distintas especies de *Pleurotus* y para *Pleurotus ostreatus* 27.38 %; este último valor es muy similar a los encontrados en este trabajo. La proteína es el componente más crítico de los hongos para ser cuantificada y valorada, debido a los constituyentes nitrogenados que no forman parte de ésta y que alteran su valor cuando se considera un factor de 6.25 como se discutirá más adelante.

Lípidos

Generalmente, los hongos se caracterizan por su bajo contenido de lípidos, Khanna y Garcha, (1984), reportaron entre 2.27 a 3.72 % de extracto etéreo para distintas especies de *Pleurotus*. Mostafa *et al.* (1991), registraron valores de 5.79 y 3.77 % en peso seco, para el píleo y estípite del *P.florida* respectivamente y para el *P. sajor-caju* 7.70 y 5.25 % para el píleo y estípite. Los valores para las tres cepas

estudiadas fueron ligeramente más bajas a los reportados por estos autores, pero similares al 1.20 % en peso seco que se reportó en un estudio con *P. ostreatus* (Muhammad *et al.*, 1988), como se observa en la Tabla 1. Se ha discutido que los hongos pueden contener desde menos de 1 hasta 15 a 20 % de lípidos en peso seco; sin embargo, un valor promedio más apropiado es de 2 - 8 % (Crisan y Sands, 1978).

Los componentes del extracto etéreo pueden contener toda clase de lípidos incluyendo ácidos grasos libres, mono, di y triglicéridos, esteroides, ésteres de esteroides y fosfolípidos. En este trabajo, se encontró que de los ácidos grasos el mayor constituyente fue el ácido linoleico (C18:2) como se muestra en la Tabla 3, este valor coincide con el contenido de 65 % (del total de los lípidos) de ácido linoleico en *Pleurotus ostreatus* informado por Kajuno y Miura (1985). La cepa CDBB-H-896 presentó el mayor contenido; posiblemente esto se deba a que los cuerpos fructíferos de esta cepa tenían un estípote más largo; existe evidencia de que el estípote contiene una mayor concentración de ácido linoleico que el sombrero o píleo, en tanto que este último contiene más ácido oleico (Summer, 1973). Por otro lado, Hughes (1962), reportó que las concentraciones de ácido linoleico en *Agaricus campestris* son excepcionalmente altas comparada con el de otros vegetales.

El ácido graso saturado de mayor concentración fue el ácido palmítico con valores de 12.46 a 16.6 %, estas cifras están de acuerdo con lo informado por Kajuno y Miura (1985) quienes encontraron 14 % de ácido palmítico en *Pleurotus ostreatus*.

Minerales

La concentración de cenizas con valores entre 7.66 y 8.79 % presentada en la Tabla 1, fue ligeramente más baja que las cifras de 10.98 a 13.44 % reportadas por

Khanna y Garcha (1984). Sin embargo, se encuentran en el intervalo de 6.1 a 10.7 % informado por Crisan y Sands (1978), para distintas especies de *Pleurotus*.

Los hongos, probablemente contienen cada mineral presente en el sustrato de crecimiento y en general se considera que incluyen cantidades significantes de fósforo, sodio y potasio y bajas concentraciones de calcio (Crison y Sands, 1978). En este estudio se encontró mayor concentración de calcio que de fósforo en las cepas INIREB-8 y CDBB-H-896 como se puede observar en la Tabla 4; no obstante, el contenido de fósforo coincide con el promedio (0.75 %) informado para distintas especies de *Pleurotus* por Lau (1982), con excepción de la cepa CDBB-H-897 que presentó un menor valor (0.49 ± 0.01 %). Los valores de calcio reportados por Bano y Rajarathnam (1988) y Mostafa *et al.* (1991) para distintas especies de *Pleurotus* están entre 0.023 y 1.18 % y los de fósforo entre 0.650 y 1.8 %. Posiblemente el elevado contenido de calcio se deba a que la paja de trigo empleada como sustrato contenía una alta concentración de este mineral (2.42 %) y bajo contenido de fósforo (0.15 %). Por otro lado, algunos minerales se concentran más en el píleo que en el estípite. Vetter (1994) encontró menor concentración de calcio (0.089 %) en el sombrero que en el estípite (0.1056 %), en tanto que para el fósforo fue a la inversa 1.19 % en el sombrero y 0.617 % en el estípite. Este autor concluyó que la mayor parte de los minerales determinados se encontraron en mayor concentración en el sombrero o píleo, con excepción del bario, cadmio, cromo, hierro, litio y estroncio cuya concentración fue casi idéntica en ambas partes del hongo. Por lo anterior, se deduce que también puede haber variabilidad en el contenido de calcio y fósforo según la proporción de píleo y estípite.

Hidratos de carbono y fibra

El contenido de fibra cruda que se muestra en la Tabla 1 se encuentra dentro del intervalo reportado para el *Pleurotus ostreatus* de 7.5 a 11.9 % (Crisan y Sands, 1978). Mostafa *et al.* (1991), reportaron valores de fibra de 9.01 y 10.26 % en peso seco para el pileo de *P. florida* y *P. sajor caju* y de 14.5 y 17.46 % para el estípite de los mismos hongos respectivamente. El mayor contenido de fibra encontrado para la cepa CDBB-H-896 está de acuerdo con lo reportado por Mostafa *et al.* (1991), ya que esta cepa tiene un estípite más largo y esta parte del cuerpo fructífero contiene el mayor contenido de fibra. Se considera que la mayor parte de los hongos cultivados contienen entre el 5 y 15 % de fibra cruda determinada por el método de la AOAC (Lau, 1982).

Tradicionalmente, el contenido de fibra cruda que se ha usado en el análisis de alimentos, representa solamente el residuo que queda después del tratamiento ácido y alcalino de la muestra y está constituida principalmente por celulosa y lignina. En cambio, la fibra dietética considera la mayor parte de los polisacáridos entre los que se encuentran además de la celulosa, hemicelulosas, pectinas, otros heteropolisacáridos y la lignina (Luke, 1984). El contenido de fibra dietética presentado en la Tabla 2 fue inferior al 47.5 % reportado por Kurasawa *et al.* (1982); estos autores encontraron 11.6 % de celulosa y 27.8 % de hemicelulosa en *Pleurotus ostreatus*. Sin embargo, fue superior al de otros alimentos de consumo frecuente en México, que se consideran ricos en fibra dietética total como la naranja florida (14.5 %), mango (14.3 %), calabacita (16.2 %), aguacate (17.2 %), lenteja (17.9 %), tacos (7.2 %) y champiñones enlatados (28.6 %) todos calculados en peso seco (Marlett, 1989).

Posiblemente el alto contenido de fibra dietética de las setas sea el responsable de sus propiedades hipocolesterolémicas (Guzmán, 1994; Bobek, 1995). Hernández *et al.* (1992), revisaron varios estudios en los que se indica que la enfermedad coronaria, que se encuentra entre las principales causas de morbilidad y mortalidad en México, muestra una relación inversa con el consumo de fibras dietéticas (especialmente las contenidas en verduras y frutas); al parecer esas fibras evitan que se reabsorban los ácidos biliares en el intestino grueso, produciéndose así menos colesterol endógeno. Por otro lado, la relación entre las propiedades fisicoquímicas de la fibra dietética y su efecto fisiológico muestra que, la capacidad de retención de agua de polisacáridos con grupos polares como hemicelulosas, pectinas y gomas, afectan el peso de las heces, la velocidad de tránsito en el estómago e intestino delgado y la absorción de nutrimentos. Asimismo, la capacidad de adsorción de compuestos orgánicos que presentan la lignina, pectina y hemicelulosa, causan interacción y excreción de ácidos biliares y carcinógenos (Rosado, 1989). Dentro de los principales componentes encontrados en la fibra del *Pleurotus* están las hemicelulosas y pectinas, por lo que se podría pensar que éstas contribuyen a la disminución del colesterol.

El contenido de hidratos de carbono (Tabla 1) fue de 50.67 a 54.01 %, éste es uno de los componentes más importantes en las setas, las distintas especies de *Pleurotus* contienen entre 46.6 y 81.8 % de carbohidratos; 4.2 % de carbohidratos solubles, 1.7 % de pentosanas y 32.3 % de hexosanas en peso seco (Bano y Rajarathnam, 1988).

Los carbohidratos poliméricos incluyen glucógeno, y quitina polímero de la N-acetil-glucosamina (celulosa fúngica) componente estructural de las paredes celulares de los hongos, aunque este componente se considera dentro de la fibra dietética en este estudio también se determinó en forma separada como se observa

en la Tabla 5, las concentraciones que variaron de 4.03 a 4.62 % en peso seco fueron ligeramente menores al 4.9 % en peso seco reportado por Hammond (1980), para cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus*. La quitina es el constituyente nitrogenado principal que afecta el contenido de proteína cuando se determina a través del método de Kjeldalh que cuantifica el nitrógeno total, por lo tanto también reduce el coeficiente de digestibilidad (Crisan y Sands, 1978; Bano y Rajarathnam, 1988).

Existe evidencia de que durante el almacenamiento del *P. ostreatus* puede haber cambios químicos en los cuerpos fructíferos. Hammond (1980), observó que al almacenar setas frescas durante 4 días a 2 y 18°C el contenido de quitina aumentó de 4.9 a 5.2 y 7.2 % respectivamente y el de carbohidratos disminuyó de 17.2 a 16.5 y 15.0 % determinado en las mismas muestras. En este estudio el mayor valor de quitina fue para la cepa CDBB-H-896 al igual que el contenido de fibra.

Vitaminas

Se considera que las especies de *Pleurotus* contienen todas las vitaminas (excepto ácido ascórbico) en altas concentraciones si se comparan con las de otros vegetales, siendo particularmente ricos en riboflavina y ácido fólico (Bano y Rajarathnam, 1988). Bano y Rajarathnam (1983), encontraron valores de ácido ascórbico de 92 a 144 mg/100 g en peso seco, de 1.36 a 2.23 de tiamina, de 6.66 a 8.97 de riboflavina y de 60 a 73.3 mg/100g en peso seco de niacina, con excepción de la tiamina las concentraciones de las vitaminas reportadas en este trabajo estuvieron por abajo de estos valores informados para distintas especies de *Pleurotus* (Tabla 6). Posiblemente, el almacenamiento y el secado afectaron las concentraciones de algunas de las vitaminas determinadas, como el ácido ascórbico que es fácilmente oxidable (Fennema, 1976).

Sin embargo, en el siguiente cuadro se muestra que los valores de las vitaminas determinadas en este trabajo, están por encima de las de algunos vegetales comunes que se consideran ricos en vitaminas y en el caso de la tiamina es superior al contenido del hígado de res.

	Tiamina	Riboflavina	Niacina
Acelga*	0.56	2.58	5.61
Brócoli*	0.64	1.1	5.5
Calabacita italiana*	1.0	1.0	8.33
Hígado de res*	0.86	9.23	42.52
INIREB-8	1.92	3.61	36.26

*Datos tomados de las Tablas de Composición de Alimentos Mexicanos, (INNSZ/CONAL, 1992), Expresados en mg/100 g del alimento en peso seco.

Fraccionamiento de nitrógeno

El contenido de nitrógeno no proteico con valores entre 1.84 y 1.95 % fue estadísticamente igual en las tres cepas y representa del 41.9 al 48.19 % del nitrógeno total, determinado químicamente (Tabla 7). Sin embargo, si se considera el nitrógeno proveniente de aminoácidos (como proteína verdadera) y se resta al nitrógeno total, el contenido de nitrógeno no proteico disminuye al intervalo de 28.02 a 31.48 %. Se sabe que los hongos y setas en general contienen componentes nitrogenados como la quitina, aminoácidos poco comunes, urea, amonio y ácidos nucleicos (Ogawa *et al.*, 1987; Bano y Rajarathnam, 1988; Danell y Eaker, 1992; Fujihara *et al.*, 1995).

La diferencia entre los valores de nitrógeno no proteico calculados por los dos métodos se podría explicar porque en las primeras cifras se está considerando el

nitrógeno de los componentes que no precipitaron con ácido tricloroacético; por lo tanto, incluye aminoácidos libres y pequeños péptidos. Esto está de acuerdo con la definición de Imafidon y Sosulski (1990), que consideran el nitrógeno no proteico como el constituyente de péptidos tan pequeños que no pueden precipitar y ser filtrados, aminoácidos libres, amidas y otros componentes nitrogenados no poliméricos de plantas y animales. En tanto que, cuando se determinan los aminoácidos totales se incluyen tanto los aminoácidos libres como aquellos de los pequeños péptidos, debido a que la hidrólisis con HCl 6N no es selectiva para proteínas completas. Este último valor es más útil cuando se desea determinar la calidad de la proteína ya que dentro de los aminoácidos libres se encuentran algunos que son esenciales y comunes en las proteínas como la treonina, serina, cistina, lisina, leucina, metionina, ácido aspártico e histidina entre otros (Bano y Rajarathnam, 1988), a estos hay que agregar aquellos que resulten de la hidrólisis de los péptidos pequeños.

El nitrógeno proveniente de aminoácidos constituye entre el 68.52 y el 71.98 %. Los resultados obtenidos en este trabajo, confirman lo reportado por otros investigadores. Ogawa *et al.* (1987), encontraron que el 65 % del nitrógeno de *Flammulina velutipes* provenía de aminoácidos sugiriendo un factor de conversión de nitrógeno a proteína de alrededor de 4. Danell y Eaker (1992) reportaron que el 77 % del nitrógeno de *Cantharellus cibarius* (Fries) es de aminoácidos; se ha sugerido el factor de 4.38 y no el de 6.25 para calcular el verdadero contenido de proteína de los hongos (Crisan y Sands, 1978). Fujihara *et al.* (1995) encontraron un factor promedio de 3.99 ± 0.76 para distintos géneros de hongos y de 4.15 para el *Pleurotus ostreatus*; estos autores concluyeron que el mejor método para determinar la proteína verdadera de los hongos es por análisis de aminoácidos.

Los valores de proteína calculados del N de aminoácidos o de proteína verdadera multiplicados por 6.25 y el nitrógeno total multiplicado por 4.38 son muy similares entre sí (Tabla 8). Adicionalmente, el análisis de varianza entre los resultados de proteína determinada por estos tres métodos no reveló diferencia estadística ($p < 0.05$). Este resultado confirma que el uso del factor 4.38 para hongos es el más apropiado, como lo proponen Crisan y Sands (1978), sobre todo cuando no se tiene la facilidad de determinar aminoácidos o proteína verdadera.

Considerando los resultados de este trabajo se podría sugerir también el método por precipitación con ácido tricloroacético [Regestein y Regestein, (1984)], ya que se encontró una correlación significativa a un nivel de confianza de 0.05 ($r=0.85$) entre el nitrógeno de aminoácidos y el nitrógeno de proteína verdadera; estos valores fueron estadísticamente iguales a un nivel de confianza del 95 %.

Acidos nucleicos

Considerando que las setas son organismos pluricelulares de crecimiento rápido, resulta importante la concentración de ácidos nucleicos. Esto se debe a que el catabolismo de las bases púricas en el ser humano produce ácido úrico, compuesto poco soluble a pH fisiológico que puede formar cristales que se depositan en las articulaciones causando artritis o gota. Sin embargo, el contenido de 1.8 a 1.99 % en peso seco de ácidos nucleicos totales representa una ingesta segura, tomando en cuenta que las setas contienen aproximadamente 90 % de agua y que un consumo de 250 g de setas frescas aportarían a la dieta 0.5 g de ácidos nucleicos. El Grupo Asesor de Proteínas y Energía de las Naciones Unidas (PAG, 1970), recomiendan como segura una ingesta diaria de hasta 4 g de ácidos nucleicos (2 g provenientes de proteína unicelular). El contenido de ácidos nucleicos reportado para distintas especies de *Pleurotus* puede variar desde 2 hasta 4 % en

peso seco. Bano y Rajarathnam (1988) informaron contenidos de 2.46 a 2.91 % en peso seco para distintas especies de *Pleurotus* y para levaduras como *Candida utilis* 10.1 %. Asimismo, Li (1984) reportó un contenido de 2.93 % en peso seco de ácidos nucleicos totales en *P. cystidiosus* y 4.06 % para *P. sajor-caju* con una concentración de 2.56 y 3.85 % de RNA respectivamente. Todos los alimentos contienen ácidos nucleicos en mayor o menor grado. Arasu et al. (1981), reportaron concentraciones de 1.77 mg de ácidos nucleicos totales/ g de carne de res fresca (60 % de humedad). Por su parte, Imafidon y Sosulski (1990)b determinaron el contenido total de estos componentes en diversos alimentos y una de sus observaciones fue que, comparado con los productos de origen animal los granos contienen altas concentraciones de nitrógeno de ácidos nucleicos (0.221-0.423) mg/g) relativo a su bajo contenido de proteína; asimismo, los vegetales de hoja como la lechuga (0.728 mg/g) y la col (0.654 mg/g) fueron los de mayor concentración; de 20 muestras analizadas; los autores concluyeron que existe una correlación negativa altamente significativa ($r = -0.63$) entre el contenido de nitrógeno de ácidos nucleicos (mg/g de N) y la concentración total de N (%) en los alimentos. Estudios de toxicidad aguda realizados con *Candida utilis* con un contenido reducido de ácidos nucleicos del 2.02 % (RNA:1.72 y DNA:0.26 %) mostraron que a las 7 semanas de experimentación, con niveles de 40 y 60 % de *Candida utilis* en la dieta, los animales de ensayo (ratas blancas raza Wistar) no mostraron síntomas de toxicidad (Bautista-Justo, 1981). Por lo anteriormente expuesto, se puede ver que el contenido de ácidos nucleicos en las setas estudiadas (1.8 a 1.99 mg/g en muestra fresca con 90 % de humedad), no representa ningún problema en la nutrición humana.

Aminoácidos

El perfil de aminoácidos de las proteínas de las tres cepas de *Pleurotus* determinado en este trabajo, indica que son ricas en aminoácidos indispensables

cuando se compara con el patrón de la FAO (1985). Sin embargo, el contenido total de aminoácidos (21.27 % en peso seco, para la cepa INIREB-8, 17.80 % para la CDBB-H-896 y 20.25 % para la CDBB-H-897) fue menor que el encontrado por Fujihara *et al.* (1995) para *Pleurotus ostreatus* cultivado (32.95 %); aunque similar al promedio de 20.33 ± 4.515 para 13 especies de hongos reportado por los mismos autores. Por otra parte, los valores se encuentran en el intervalo de 13.64 a 20.44 % reportado por Wan *et al.* (1990) para distintas muestras de *Pleurotus ostreatus*.

Estudios realizados por Muhammad y Khan (1988), mostraron que el contenido de aminoácidos individuales en diversas clases de hongos varía considerablemente; por ejemplo, el contenido de metionina va de 0.34 a 1.99 g/100 g; leucina e isoleucina 1.4 a 3.89 g/100 g. Por otro lado, en los hongos silvestres se han encontrado valores muy bajos de contenido total de aminoácidos esenciales (5.3 %). Se puede considerar que el contenido total de aminoácidos en las setas estudiadas es bueno y está de acuerdo con lo informado por otros autores.

Los aminoácidos limitantes para la cepa INIREB-8 fueron la leucina (75.75 %) y la lisina (86.89 %). En el caso de la cepa CDBB-H-896 el primer limitante también fue la leucina (74.39 %) y como segundos limitantes se encontraron a los aromáticos (85.07 %). La cepa CDBB-H-897 se comportó igual que la anterior, encontrando como primer limitante a la leucina (64.92 %) y a los aromáticos (79.04 %) como segundos. Estos datos difieren de los presentados en la Tabla 11 en donde se puede observar que Khanna y Garcha (1984), reportaron a la lisina (56.65 %) como primer limitante y Bano y Rajarathnam (1988) a los azufrados con un puntaje de 76; estos últimos autores encontraron a la lisina como segundo limitante con un valor muy cercano al anterior (77.58).

La calificación química para distintas especies de *Pleurotus* oscila entre 40 y 71.8 % con los siguientes aminoácidos limitantes enlistados en orden decreciente de importancia: aromáticos (fenilalanina y tirosina), azufrados (cistina y metionina), triptófano, leucina, lisina y valina (Bano y Rajarathnam, 1988). Son muchos los factores que influyen en el contenido de los diferentes aminoácidos, entre ellos las condiciones de cultivo y el substrato (Crisan y Sands, 1978; Bano y Rajarathnam, 1989). El contenido total de aminoácidos indispensables fue ligeramente menor que el del patrón de FAO en la cepa INIREB-8, en tanto que las otras dos cepas presentaron concentraciones inferiores. Es de especial importancia el contenido de lisina y triptófano en las setas estudiadas ya que precisamente son los aminoácidos que se encuentran deficientes en el maíz que es la base de la alimentación en México.

Lisina biodisponible (reactiva)

Los valores de lisina reactiva (Tabla 12) indican que la biodisponibilidad de este aminoácido está entre el 59.46 y el 79.62 % de la lisina total, este valor se considera alto, ya que Crisan y Sands (1978), informaron un intervalo de 10 a 62 % de lisina biodisponible en diversas clases de hongos.

Aminoácidos libres

Se sabe que los cuerpos fructíferos de los hongos en general contienen aminoácidos libres. Oka *et al.* (1981), determinaron que el 70 % del nitrógeno extraído en etanol (60 % del N total de los cuerpos fructíferos) en *Agaricus bisporus* correspondía a aminoácidos libres, principalmente ornitina, N-(γ -glutamil)-4-hidroxianilina y ácido γ - amino butírico; Oka *et al.* (1984), estudiaron al *Pleurotus ostreatus* y reportaron por primera vez la existencia del aminoácido N δ -acetil-L-ornitina. Por otro lado, Sato *et al.* (1985) analizaron los aminoácidos libres de 113

clases de hongos y encontraron 20 aminoácidos libres comunes en las proteínas y 11 no proteínicos; aunque se detectaron grandes diferencias entre las diversas clases de hongos, un promedio de aminoácidos libres fue de 213 $\mu\text{mol/g}$ de materia seca predominando la alanina, el glutámico y la glutamina de los proteicos y la ornitina, el ácido γ -amino butírico y la cistationina de los no proteínicos. Fujihara *et al.* (1995), reportaron un contenido de 7.83 % en peso seco de aminoácidos libres en *Pleurotus ostreatus* con un total de 32.95 % de aminoácidos. En este trabajo el contenido de aminoácidos libres fue de 0.1063 a 0.1332 moles de glicina/100 g de muestra con un valor de 0.026 a 0.033 % de nitrógeno de aminoácidos libres. Estos valores de contenido de nitrógeno son similares a los de espinaca (0.032 %), (0.059), berenjena (0.034 %) y col china (0.037 %) (Tokoro *et al.*, 1987). Se requerirían estudios posteriores para la identificación de cada uno de estos aminoácidos.

C. Calidad de proteína

Digestibilidad *in vitro*

Los resultados de la digestibilidad *in vitro* fueron de 67.75 para la cepa INIREB-8 y de 68.38 % para las otras dos cepas. Estas cifras son similares al valor de 67.6 % reportado por Levai (1989) para *Pleurotus sp. cfr. Florida type H 7* determinado también por el método de Hsu *et al.* (1977). Estos valores fueron menores que los de la digestibilidad *in vivo*, posiblemente en el método *in vitro* los altos valores de fibra interfirieron con la acción de las enzimas. Por otro lado, tomando en cuenta que en este método el peso de la muestra está de acuerdo al contenido de proteína cruda ($N \times 6.25$), si al pesar la muestra se hubieran considerado los valores de proteína verdadera, al tener una mayor cantidad de

muestra (proteína), posiblemente la caída de pH hubiera sido mayor dando valores más altos de digestibilidad. Cabe mencionar aquí que mientras se siga usando el factor 6.25 como se indica en los métodos estandarizados, los hongos siempre estarán en desventaja con respecto a los otros alimentos cuando se trate de evaluar la calidad de su proteína, sería muy importante por esta razón usar el factor 4.38.

Valor Proteínico Relativo (VPR)

En la Tabla 15 se puede observar que el VPR de las setas fue diferente estadísticamente que el de la soya que alcanzó un valor de 138 % y al del huevo entero (116.82 %). Sin embargo, fue similar al de la caseína, albúmina (104.12 %) y leche descremada en polvo (106.82 %). Empleando el mismo método Baker *et al.* (1978) reportaron valores de 116 para leche entera en polvo, 142 para huevo entero, 145 para clara de huevo y 135 para leche descremada en polvo. Se observó en este trabajo que el método utilizado clasificó a la soya como a la mejor proteína y a la albúmina, a la caseína estándar y a la leche descremada en polvo en un nivel equiparable al obtenido para la proteína de las setas. Stott *et al.* (1963), en un estudio efectuado con *Tetrahymena pyriformis W* encontraron al huevo entero como la mejor fuente proteínica; sin embargo, algunas fuentes de proteína de origen animal fueron inferiores (harina de carne) a algunos concentrados proteínicos vegetales. En el presente estudio no se encontró correlación entre los valores de lisina reactiva con respecto a los del valor proteínico relativo, sugiriendo que la lisina no fue el aminoácido limitante para la *Tetrahymena* probablemente debido al contenido de este aminoácido en las muestras estudiadas.

El contenido de nitrógeno en la proteína soluble en el agua con valores de 1.22 a 1.37 % (7.62 a 8.56 % de proteína N x 6.25), no mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las tres cepas (Tabla 16). Estas cifras representan el 26.75, 34.77 y

28.47 % de proteína soluble para las cepas INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897 respectivamente, calculado en relación a la proteína total. Se considera que estos resultados están dando el contenido de proteína, porque fue analizado por el método de Biuret cuyo principio se basa en el desarrollo del color cuando reaccionan sustancias que contienen 2 ó más enlaces peptídicos y forman un complejo con las sales de cobre en solución alcalina. Estos datos coinciden con los de Rai *et al.* (1988), quienes reportaron que la proteína soluble de varias especies de *Pleurotus* constituye alrededor del 30 % de la proteína total. El VPR de las fracciones de proteína soluble en agua fue estadísticamente igual al de la harina de setas (proteína completa), lo que sugiere que estas proteínas probablemente del tipo globulinas junto con los aminoácidos libres que también debieron solubilizarse en el agua, tienen un buen equilibrio de aminoácidos.

Se ha establecido que el tipo de fracción de proteína es más importante que la proteína cruda por sí misma. Estudios hechos por Sivaprakasam (1983), sobre las fracciones de proteínas del *Pleurotus sajor-caju* mostraron un mayor contenido en albúminas, globulinas y glutelinas, y menor en prolaminas, las cuales se sabe incrementan el valor nutritivo de las proteínas.

El nitrógeno proteico soluble en alcohol que varió de 1.11 a 1.33 % (6.93 a 8.31 % de proteína N x 6.25) representó el 29.16, 28.17 y 30.06 % para las cepas INIREB-8, CDBB-H-896 y CDBB-H-897 respectivamente (Tabla 17), la cepa de menor contenido, diferente estadísticamente a las otras dos fue la CDBB-H-896. El VPR de las fracciones solubles en alcohol al 25 % también fue menor para la cepa CDBB-H-896. Los valores para las cepas INIREB-8 y CDBB-H-897 fueron estadísticamente iguales ($p < 0.05$) y también dieron valores similares al de las setas completas, aún al de la CDBB-H-896. Nuevamente se puede decir que las proteínas solubles en alcohol, pueden contener un buen equilibrio de aminoácidos que al ser

utilizados por el microorganismo de ensayo (*Tetraymena thermophyla*), dieron un alto VPR, equiparable y en algunos casos superior al de la caseína.

El análisis de varianza entre los valores proteínicos relativos de las setas completas y los de las fracciones solubles en alcohol y agua (Tabla 18) no mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) y las medias fueron muy similares entre sí oscilando entre 105.34 y 105.49, con lo cual se confirma que tanto las proteínas solubles en agua como en alcohol pueden contener suficientes aminoácidos para cubrir los requerimientos de la *Tetrahymena*, ya que este microorganismo es extremadamente sensible a todos los aminoácidos indispensables para el hombre (Ej. metionina 2 mg %, triptófano 1 mg %, lisina 10 mg %) (Frank et al., (1975).

Digestibilidad verdadera

Los valores de digestibilidad verdadera determinada en ratas fueron de 84.53 % para la cepa CDBB-H-897 y 86.91 % para la INIREB-8. Estos son similares al 84.1 % del *P. sajor-caju* reportado por Thayuvamanan y Manickam (1980). Se observa en la Tabla 19 que el frijol pinto tiene menor digestibilidad verdadera que las muestras estudiadas, en tanto que las lentejas dieron valores similares a los de las setas. La carne, harina de trigo y clara de huevo presentan digestibilidades superiores.

Después de hacer la corrección en la digestibilidad verdadera, los valores para la cepa INIREB-8 resultaron superiores al de las lentejas y al de la harina de trigo. Por lo anterior, se considera que la proteína de las setas estudiadas tiene una alta digestibilidad. Este resultado refuerza la recomendación de que cuando se determine la calidad de proteína de los hongos por lo menos se emplee el factor de 4.38 para evaluar la proteína verdadera.

Tanto el aumento de peso (Tablas 20 y 24), como el consumo de alimento (Tablas 21 y 25) para las cepas INIREB-8 y CDBB-H-897 fueron bajos. Este fenómeno ya había sido observado por Fitzpatrick *et al.* (1946), al determinar la calidad de proteína del *Agaricus campestris* en ratas; estos autores encontraron que el bajo consumo se debía a que a las ratas no les gustaba la dieta que contenía hongos y por lo tanto los animales no crecieron tan bien como se esperaba. Tal vez esto se podría solucionar si en lugar de proporcionar las dietas en polvo, se hicieran tabletas o "pellets". Para esto, se tendría que proponer y validar una modificación al método estándar para digestibilidad, que permitiera el uso de un aglutinante sin valor calórico y libre de nitrógeno para que no alterara el valor de la digestibilidad.

El PQCD con valores de 54.87 y 65.83 % para las cepas CDBB-H-897 e INIREB-8 respectivamente, fue superior al de las leguminosas e inferior a los de la carne y clara de huevo. Al calcular el puntaje químico con el valor de digestibilidad corregida, se aumenta a 58.46 y 69.73 % para las mismas cepas.

El índice de eficiencia proteínica calculado con el aumento de peso y proteína consumida, fue más bajo en la cepa CDBB-H-897 que el de la INIREB-8; no obstante, no se observó diferencia estadística posiblemente debido a la gran variabilidad de los resultados. Se observaron valores menos variables en el NPR que considera la pérdida de peso de los animales en dieta libre de nitrógeno, en este caso sí se observó diferencia estadística. Tal vez este último valor se explique porque el aumento de peso promedio para las 8 ratas que consumieron la cepa INIREB-8 fue mayor (3.02 g), en tanto que para las que ingirieron la CDBB-H-897 fue de 0.85 g, con un consumo de alimento promedio de 22.79 y 19.96 g respectivamente.

El caso de la cepa CDBB-H-896 se discute por separado debido al síndrome de toxicidad presentado por los animales que consumieron esta cepa. Como se observa en la Tabla 22 todos los animales perdieron peso (entre 9.6 y 15.8 g) desde el período de adaptación de 4 días, por lo que al iniciar el período de balance estas ratas tenían pesos muy bajos (34.0 - 42.9 g) y tres de ellas murieron antes de concluir el ensayo. El consumo de alimento promedio (Tabla 23) de los animales que sobrevivieron al ensayo, fue de 16.12 g, menor si se compara con el de las otras dos cepas y aún con los animales que ingirieron la dieta libre de nitrógeno que consumieron 44.38 g en promedio. La única diferencia aparente en la dieta de estos animales aparte de la cepa, fue la cantidad de harina de setas agregada ya que por su bajo contenido de proteínas fue mayor que la de las otras dos cepas, por lo tanto era más polvosa. Considerando que aún los animales que no ingirieron proteína sobrevivieron al estudio y los resultados de los ensayos con las otras dos cepas, se podría pensar que la cepa CDBB-H-896 contiene alguna toxina que causó la muerte de los animales o que la inhalación del polvo haya provocado la irritación de los bronquios y el tejido pulmonar como sucede en algunos tipos de neumoconiosis; se ha reportado que la inhalación a corto plazo de concentraciones elevadas de ciertas materias puede dar lugar a cambios agudos en el pulmón (edema, necrosis e inflamación purulenta); asimismo, la inhalación de la materia a concentraciones más bajas, durante períodos prolongados, puede provocar alteraciones crónicas (fibrosis e incluso neoplasia), dentro de las principales respuestas creadas en el pulmón luego de la inhalación de algunas sustancias como el polvo de algodón se encuentra la broncoconstricción (OPS/OMS, 1980).

Zadrazil y Kurtzman (1982), reportaron casos de trabajadores que presentaron alergia a las esporas del *Pleurotus*; los principales síntomas fueron: fatiga, dolor en las extremidades, dolor de cabeza, tos y fiebre de hasta 39 C, los

síntomas aparecían 4 a 6 horas después del primer contacto con las esporas y desaparecían en dos días de descanso sin estar en contacto con el *Pleurotus*, sufriendo una recaída si no se tomaban precauciones, en estos casos se recomendó el uso de mascarillas contra gases. Se han observado también alergias a otros hongos cultivados como *Lentinus edodes*, *Agaricus bisporus* y *Alternaria spp.* (Zadrazil y Kurtzman, 1982). En los Estados Unidos de Norteamérica se presenta el mismo problema de alergia a las esporas en los cultivadores de setas y lo que se hace es introducir una corriente de aire fresco 1 ó 2 horas antes de la cosecha de las setas o bien usar la mascarilla apropiada (Royse, 1997). Se desconoce la causa de la muerte de los animales que ingirieron la cepa CDBB-H-896, pero la hemorragia pulmonar bien pudo ser causada por las esporas o también por alguna toxina propia del hongo, aunque si hubieran sido las esporas se habrían observado los mismos síntomas para las otras dos cepas. Como ésta es una cepa experimental, en caso de querer comercializarla se requerirían más estudios no solo nutricionales sino de toxicidad aguda y crónica para probar su inocuidad.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Suplementación de cereales y leguminosas con harina de setas

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Se observa en la Tabla 28 que el efecto de la suplementación de la harina de setas sobre el contenido de proteínas fue significativo en los cereales aún en las mezclas 90:10 (cereal:setas). Sin embargo, en las leguminosas se presentó diferencia estadística sólo en las mezclas (50:50), con excepción de la lenteja. Estos valores son lógicos porque el intervalo de contenido de proteína en los cereales estudiados va de 9.97 a 15.29 % (inferiores a los de las setas), en tanto que las leguminosas presentaron contenidos entre 22.66 y 41.8 %.

En el caso de la digestibilidad *in vitro* (Tabla 28), se observa una disminución en todas las muestras suplementadas con respecto a la muestra original, debido también a que los valores de digestibilidad *in vitro* son inferiores en las setas.

En lo que respecta al VPR para las leguminosas, se observó un aumento que fue diferente estadísticamente entre la muestra original y la suplementada en proporción 90:10. Sin embargo, las suplementaciones 90:10 ó 50:50 fueron estadísticamente iguales; en este caso se podría recomendar solamente la mezcla 90:10. Probablemente el incremento en VPR se debió al contenido de aminoácidos azufrados en las muestras estudiadas ya que como se sabe generalmente las leguminosas son deficientes en metionina y cistina; no obstante a pesar de que con la adición de la harina de setas se incrementó el contenido de estos aminoácidos, los limitantes en todas las leguminosas estudiadas y sus respectivas mezclas fueron los azufrados como se puede constatar por el puntaje químico presentado en la Tabla 29. La excepción en este bloque fueron la lenteja y la soya. En el caso de la lenteja posiblemente no se observó ningún efecto debido a que su contenido de proteína (27.01 %) es casi igual al de la harina de setas (28.5 %). En la soya el VPR presentó una disminución aparente ya que en el análisis estadístico no se observó diferencia significativa $p < 0.05$ ($F = 4.6079$ con valor crítico de $F = 5.1432$), esto se explica porque el puntaje químico fue prácticamente igual (104) en la soya sola y en las mezclas con setas como se presenta en la Tabla 29.

Las mezclas de cereales con setas mostraron un incremento en el VPR tanto en las suplementaciones con el 10 % como con el 50 % (Tabla 28). En el caso de la pasta para sopa la mejor proporción fue la de 50:50 que presentó diferencia estadística con respecto a la muestra original y a la mezcla 90:10. En la tortilla de maíz se observa un incremento en la proporción 90:10 mostrando diferencia estadística ($p < 0.05$) con respecto a la muestra original, posiblemente esto se deba a

que las setas estudiadas contienen triptófano y lisina, aminoácidos deficientes en el maíz, esto se confirma al observar un incremento en el puntaje químico calculado con datos de contenido de aminoácidos en tortilla reportados por la FAO (1970) como se observa en la Tabla 29.

En el caso del arroz se observan incrementos graduales en el VPR de las diferentes mezclas que oscilan entre 21.73 y 38.02 %. Para este caso el puntaje químico también se incrementa (Tabla 29); sin embargo, la correlación entre el puntaje químico y el VPR de la muestra sola y las mezclas con setas no fue significativa ($r=0.75$, valor crítico de $r=0.95$). La correlación entre la concentración de proteína y el VPR de las mezclas de arroz con setas ($r=0.707$, valor crítico de $r=0.95$), tampoco fue significativa, harían falta estudios con un mayor número de muestras para poder validar estadísticamente el efecto de la suplementación ya que en este caso sólo se manejaron 4 pares de datos.

En el caso de la harina de maíz el VPR de las diferentes mezclas fue igual estadísticamente ($p < 0.05$), sin embargo, es notable el incremento de proteína con la suplementación. En el caso de las dobladas con setas no se observa ningún efecto en el VPR con respecto a la harina de maíz sola aunque la proteína se incrementó en un 3.46 %, lo cual ya es benéfico, posiblemente se requiera una mayor cantidad de setas para lograr un incremento en el VPR. Sin embargo, el platillo de coditos con setas tuvo un mejor VPR y contenido de proteína que la muestra sola de pasta para sopa. Se deduce de estos resultados que las combinaciones de cereales con setas son muy recomendables para elevar el VPR de la dieta. El puntaje químico por arriba del 76 % es similar al de algunas mezclas óptimas de maíz con diversas leguminosas como el frijol, garbanzo y haba, que en proporciones aproximadas del 79 % de maíz con 21 % de leguminosa dan calificaciones químicas entre 75 y 76 % (Bourges, 1987).

Se observó en este trabajo, una gran variabilidad en los resultados del ensayo con *Tetrahymena* para las repeticiones de las diferentes mezclas ensayadas, lo que no se presentó en las proteínas purificadas; posiblemente esto se deba a la homogeneización de las muestras o al propio comportamiento del microorganismo. Otros autores observaron crecimientos de 59 - 66; 38 - 51 y 20 - 36 (organismos /ml x 10⁻⁴), para distintas muestras de caseína, levadura y trigo respectivamente (Stott, 1963).

En lo que se refiere a la correlación entre el método de valor proteínico relativo con *Tetrahymena*, se requiere de más estudios con un mayor número de muestras, al eliminar un lote de animales en el ensayo biológico el número de muestras se redujo por lo que no fue posible determinar la correlación.

D. Perfil electroforético de proteínas

El que las cepas INIREB-8 y CDBB-H-897 presenten un patrón de proteínas casi idéntico, sugiere que pudieran tener la misma información genética y quizás ambas cepas son variantes naturales entre sí. Sin embargo, la cepa CDBB-H-896[®] presenta un patrón proteico algo diferente lo cual indica que efectivamente es una cepa distinta a las anteriores. Los resultados morfológicos, químicos y toxicológicos refuerzan la hipótesis anterior. Mouches *et al.* (1978), determinaron el perfil electroforético de grupos de hongos superiores entre ellos dos cepas de *Pleurotus ostreatus* una comercial y otra silvestre, detectándose alrededor de 50 bandas de proteínas y encontraron que este tipo de análisis permite una asociación en el conjunto de cepas porque tienen un perfil electroforético común específico pero existen ligeras diferencias cualitativas debido precisamente al tipo de cepa, estos resultados coinciden con los presentados en este estudio con respecto a la cepa

CDBB-H-896. Estos autores sugieren el análisis electroforético bidimensional que separa proteínas en función de su punto isoelectrónico y peso molecular para ser aplicado a estudios taxonómicos en hongos superiores ya que este análisis permite una mejor definición de la afinidad o diferencias entre géneros, especies y cepas. Sería recomendable que en estudios posteriores se realizara electroforesis bidimensional en geles de poliacrilamida de mayor tamaño y a diferentes concentraciones, con el fin de observar mejor, hasta qué punto las cepas estudiadas presentan similitud o diferencia con respecto a su patrón de proteínas, además de estudiar el tipo de proteínas que se encuentran en las fracciones solubles en agua y en alcohol y tratar de correlacionarlas con su valor nutricional.

E. Consideraciones finales

Con el objeto de visualizar las similitudes y diferencias encontradas en las tres cepas de *Pleurotus ostreatus* estudiadas se presenta la Tabla 30. Se puede observar que de 18 variables presentadas la cepa CDBB-H-896 sólo mostró 6 iguales a la cepa INIREB-8, por lo que se puede concluir que estas dos cepas difieren notablemente. La cepa CDBB-H-897 mostró igualdad en 11 de las variables o sea que tiene una mayor similitud a la INIREB-8. Por sus cualidades nutricias y por su rápido desarrollo y fácil cultivo la cepa INIREB-8 resultó ser la mejor. En tanto que, la de menor contenido de proteína y con características tóxicas fue la CDBB-H-896, por lo que ésta no se recomienda para el consumo humano, hasta definir con más estudios la causa de su toxicidad.

Uno de los objetivos de este trabajo fue determinar el aporte de nutrimentos a la dieta diaria, por lo que a continuación se presenta (Tabla 31) el cálculo referido a una ración de 250 g de setas frescas de la cepa INIREB-8.

Considerando la ingestión diaria recomendada en la norma oficial mexicana NOM-050-SCFI-1994 (Diario oficial, 1996).

De acuerdo con lo observado en Tabla 31 se puede decir que las setas estudiadas principalmente son fuentes de vitaminas, fibra dietética, ácido linoleico y proteínas. No se consideran fuentes ricas de calcio y fósforo. Su contenido de lípidos es bajo siendo su principal componente el ácido linoleico, por lo que no contribuyen al consumo de grasas saturadas con lo cual se confirma la hipótesis de este trabajo.



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

TABLA 30

**DIFERENCIAS Y SIMILITUDES EN LAS VARIABLES ESTUDIADAS PARA TRES
CEPAS DE *Pleurotus ostreatus***

Variable	INIREB-8	CDBB-H-896	CDBB-H-897
Proteína (N x 6.25)	a	b	c
E. Etéreo	a	a	b
Cenizas	a	a	b
Fibra cruda	a	b	a
Carbohidratos	a	b	a
Calcio	a	b	c
Fósforo	a	b	c
Quitina	a	b	a
N no proteico	a	a	a
Ac. nucleicos	a	b	a
Lisina reactiva	a	b	a
Aminoácidos libres	a	b	a
Digestibilidad <i>in vitro</i>	a	a	a
VPR	a	a	b
VPR fracción soluble en agua	a	a	a
VPR fracción soluble en alcohol	a	b	a
Digestibilidad verdadera	a	c	b
Patrón electroforético	a	b	a

TABLA 31

CONTENIDO DE NUTRIMENTOS EN 250 g DE SETAS FRESCAS (INIREB-8)

Nutriente	IDR*	Contenido en 250 g de setas frescas	Porcentaje de IDR*
Proteína (g)	75	7.3	9.73
Tiamina (mg)	1.5	0.48	32.00
Riboflavina (mg)	1.7	0.90	53.00
Niacina (mg)	20	9.06	45.30
Vitamina C (mg)	60	7.5	12.5
Calcio (mg)	800	0.46	0.06
Fósforo mg	800	0.24	0.03
Fibra dietética (g)	No establecida	8.89	
Ac. linoleico (g)	No establecida	0.26	
Lisina biodisponible (mg)	No establecida	58.30	
Energía kJ, (Kcal)		314.94 (74.12)	

*Ingestión diaria recomendada.

X. BIBLIOGRAFÍA

Alofe, F.V. 1991. Amino acids and trace minerals of three edible mushrooms from Nigeria. J. Food Comp. Analysis. 4(2):167-174.

Altamura, M. R., F. M. Robins, R. E. Andreotti, L. Long Jr. y T. Hasselstrom. 1967. Mushroom ninhydrin-positive compounds. Amino acids, related compounds and other nitrogenous substances found in cultivated mushroom, *Agaricus campestris*. J. Agric. Food Chem. 15:1040-1045.

Altschul, A. M. 1971. Remarks at the Anson Memorial Dinner. En: Amino Acid Fortification of Protein Foods. N. S. Scrimshaw y A. M. Altschul, (Eds.). MIT Press. Massachusetts. EEUU. pp. xxiv.

Anónimo. 1990. La pobreza en México. Cuadernos de Nutrición. 13(6):5-11.

Anónimo. 1992. Obesidad. Mesa redonda. Doc. Cuadernos de Nutrición 15 (1):17-32.

Arasu, P., R. A. Field, W.G. Kruggel y G. J. Miller. 1981. Nucleic acid content of bovine bone marrow, muscle and mechanically deboned beef. J. Food Sci. 46:114-116.

Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C. 1990. Official methods of the AOAC. 15th ed. Arlington, Virginia, USA. K. Herlich (Ed.). pp. 59-87, 1049-1106.

1984. Official methods of the AOAC. 14th ed. Washington, D.C.

- Baker, D. 1982. Report on cereal foods, General reference report. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 65:715-722.
- Baker, H., O. Frank, I. Rusoff, R. A. Morck y S. H. Hutner. 1978. Protein quality of foodstuffs determined with *Tetrahymena thermophyla* and rat. *Nutrit. Rep. Inter.* 17(5):525-536.
- Bano, Z. y S. Rajarathnam. 1982. *Pleurotus* as a nutritious food. En: *Tropical Mushrooms biological Nature and Cultivation Methods*. S.T. Chang y T.H. Quimio, (Eds.) The Chinese University Press. Hong Kong. China. pp.363-379.
- Bano, Z. y S. Rajarathnam. 1988. *Pleurotus* mushrooms. Part II. Chemical composition, nutritional value, post-harvest physiology, preservation, and role as human food. *CRC Crit. Rev. in Food Sci. and Nutrit.* 27 (2): 87-158.
- Bano, Z y S. Rajarathnam. 1986. Vitamins values of *Pleurotus mushrooms*. *Qual Plant Plant Foods Hum. Nutr.* 36:11-15.
- Bautista-Justo, M., G. Patiño Lara, R. Ocaña-Camacho y Z. Gamiño-Sierra. 1995. Efecto del procesamiento por salmuera sobre la calidad de la proteína del *Pleurotus ostreatus*. En: *Harvest and Postharvest Technologies for Fresh Fruits and Vegetables. Proceedings of the International Conference*. L. Kushwaha, R. Serwatowski y R. Brook (Eds.). ASAE. St. Joseph, Michigan. pp 356-361.
- Bautista-Justo M. 1981. Caracterización química biológica y funcional de la proteína de *Candida utilis* con bajo contenido de ácidos nucleicos. Tesis (Magister-Scientificae)-Universidad de San Carlos de Guatemala,

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia-INCAP/CESNA-Curso de Postgrado en Ciencias y Tecnología de Alimentos. Guatemala, C.A. pp. 57-58

Bels, P. J. 1978. Foreword. En: **The biology and cultivation of edible mushrooms**. S.T. Chang y W.A. Hayes, (Eds.). Academic Press. New York. U.S.A. pp. xviii.

Bernarth, F. R. y K. Venkatasubramanian. 1986. **Methods of enzyme immobilization**. In: **Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology**. American Society for Microbiology. De Main, A. L. y N. A. Solomon,(Eds). pp. 230-248.

Beuchat, L. R., T. B. Breneman y C. R. Dove. 1993. **Composition of the pecan truffle (*Tuber texense*)**. Food Chem. 46(2):189-192.

Blackburn, G. L. 1994. **Treatment and prevention of human obesity**. Food Technol. 48 (2):13-15.

Block, R. J. y K. W. Weiss. 1956. **Estimation of amino acids in protein hydrolysates by paper chromatography**. En: **Amino Acid Handbook**. R. J. Block y K. W. Weiss (Eds.). Thomas C.C. Publisher. pp. 71-109.

Bobek, P., L. Ozdin, L. Kuniak. 1995. **The effect of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*), its ethanolic extract and extraction residues on cholesterol levels in serum, lipoproteins and liver of rat**. Nahrung:39:88-99.

Bourges, H. 1992. **II Taller Latinoamericano sobre nutrición y salud en areas urbanas**. Cuadernos de Nutrición 15 (5):8-10.

- Bourges, H. 1987. **Las leguminosas en la alimentación humana. 2a. parte.** Cuadernos de Nutrición 10(2):17-32.
- Bressani, R. 1994. **Entrevista.** Cuadernos de Nutrición 17(2):39-43.
- Brian, R. 1990. **Marketing system from fresh product in the United States.** En: **Post-harvest handling, a systems approach.** R. L. Shwifelt y E. Stanley, (Eds.). Academic Press, Inc. pp. 7-24.
- Byung-Woo, L., K. Tae-Jong, Ch. Soo-Hyun, I. Geun-Hyung y Y. Moo-Young. 1995. **Physical properties of the dietary fiber prepared from *Lentinus edodes* mycelia.** Korean J. of Food Sci. and Technol. 27(2):147-150.
- Casanueva, E. 1992. **Grupos de alimentos. El caso de México.** Cuadernos de Nutrición 15(5):37-41.
- Cochran, K. W. 1978. **Medical effects.** 1978. En: **The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms.** S. T. Chang y W. A. Hayes, (Eds.). Academic Press. New York. U.S.A. pp. 169-185.
- Crisan, E. V. y A. Sands. 1978. **Nutritional Value.** En: **The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms.** Chang, S. T. y W. A. Hayes, (Eds.). Academic Press. New York. pp. 137-167.
- Chang, S. T. y K. Y. Chang. 1973. **Quantitative changes in proteins during morphogenesis of basidiocarp of *Volvariella volvacea*.** Mycologia 65:355-364.
- Chang S. T. y W. A. Hayes. 1978. **Preface.** En: **The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms.** S. T. Chang y W. A. Hayes, (Eds.). Academic Press. New York. U.S.A. pp. xix-xxi.

- Chang, S. T. y P. G. Miles. (1991). Recent trends in world production of cultivated edible mushrooms. *Mushroom J.* 504:15-18.
- Chang, S. T. y J. A. Buswell. 1996. Mushroom nutraceuticals. *World J. Microbiol & Biotechnol.* 12:473-475.
- Chang, S. T. y P. G. Miles. 1989. *Edible Mushrooms and their Cultivation*. CRC Press. Boca Raton, Florida. USA. 91 p.
- Chargaff, E. y J. N. Davidson. 1955. *The Nucleic Acids*. Vol. I (Capítulos 10 y 11) y II (Capítulos 16 y 18). Academic Press, N. Y.
- Cheung, P. C. K. 1996. Dietary fiber content and composition of some cultivated edible mushroom fruiting bodies and mycelia. *J. Agric. Food Chem.* 44(2):468-471.
- Danell, E. y D. Eaker. 1992. Amino acid and total protein content of edible mushrooms, *Cantharellus cibarius* (fríes). *J. Sci. Food Agric.* 60:333-337.
- Davidson, J. N. 1957. *The Biochemistry of the Nucleic Acids*. John Wiley, N. Y. (Capítulos VIII y IX).
- Dembitsky, V. M., T. Rezanka, E. E. Shubina. 1993. Chemical constituents of some higher fungi. 1. Fatty acid and phospholipid compositions of basidiomycetes. *Crypt. Bot.* 3:373-377.
- Diario Oficial. 1996. Norma Oficial Mexicana NOM-050-SCFI-1994, Información Comercial-Disposiciones Generales para Productos. Miércoles 24 de enero de 1996. pp. 25-90.

Dryden, M. J., J. G. Kendrick, L. D. Satterlee, L. J. Schroeder y R. G. Block. 1977. **Predicting protein digestibility and quality using an enzyme-*Tetrahymena pyriformis* W bioassay.** J. of Food Biochemistry 1:35-44.

Eger, G. 1978. **Biology and breeding of *pleurotus*.** En: **The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms.** S.T Chang y W.A. Hayes, (Eds.). Academic Press. New York. pp. 497-499.

Estrada-Torres A y R. M. Aroche. 1987. **Acervo etnomicológico en tres localidades del municipio de Acambay, Estado de México.** Rev. Mex. Mic. 3:109-131.

FAO/OMS. 1973. **Necesidades de energía y proteínas.** Informe de un Comité Especial Mixto FAO/OMS de expertos. Organización Mundial de la Salud. Serie de Informes Técnicos. No. 522. Ginebra Suiza. pp. 18-19.

FAO (Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación).
1970. **Contenido de aminoácidos de los alimentos y datos biológicos sobre las proteínas.** FAO:Estudios sobre nutrición No. 24. Tercera impresión 1981. 285 p.

Fennema, O. R. 1976. **Principles of Food Science. Part I. Food Chemistry.** O. R. Fennema (Ed.). Marcel Dekker, INC. New York and Bassel. pp. 348-384.

Food and Drugs Administration (FDA). 1993. **Food labeling; General provisions; nutrition labeling; label format; nutrient content claims; health claims; ingredient labeling; state and local requirements; and exemptions; final rules.** Food and Drug Admin., Fed. Reg. 58(3):2101-2106.

Fitzpatrick, W.H., W.B. Esselen, Jr. y E. Weir. 1946. **Composition and nutritive value of mushroom protein.** J. Am. Diet. Assoc. 22:318-323.

Frank, O., H. Baker, S. H. Hunter, I. Rusoff y R. A. Morck. 1975. **Evaluation of protein quality with the phagotrophic protozoan *Tetrahymena*.** En: **Protein nutritional quality of food and feeds.** M. Friedman, (Ed.). Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 203 - 209.

Fujihara, S., A. Kasuga, Y. Aoyagi, T. Sugahara. 1995. **Nitrogen-to-protein conversion factors for some edible mushrooms.** J. Food Sci. 60:1045-

1047.

Fujita, T., S. Komemushi, y K. Yamagata. 1991. **Contents of amino acids, organic acids and 5'-nucleotides in *Tricholoma giganteum*.** J. of Sc. Food Agric. 55(1):159-162.

Goyings, N y J. Csete. 1994. **Dietary intake of homeless families in Wisconsin: Lessons for nutrition educators.** J. Nutr. Educ. 26(2):62-68.

Guzmán, G. 1977. **Identificación de hongos comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera.** 2a. reimpresión de la 1a. edición, 1980. LIMUSA. México, D. F. México. 452 p.

Guzmán, G. 1984. **El uso de los hongos en mesoamérica.** Ciencia y Desarrollo X(59):17-27.

Guzmán, G. 1990. **La micología en México.** Rev. Mex. Mic. 6:11-20

Guzmán, G. 1994. **Los hongos en la medicina tradicional de Mesoamérica y de México.** Rev. Iberoamer. Micol. 11:81-85.

Guzmán, G., L. Montoya, V. M. Bandala, G. Mata y D. Salmones. 1995. **Studies in the genus *Pleurotus*, IV. Observations on the pink forms growing in Mexico based in the interbreeding of two different strains.** *Mycotaxon* 53:247-259.

Guzmán, G. **Cuántos hongos crecen en México?** 1996. *Ciencia y Desarrollo* XXII(127):86-89.

Haddad, N. A. y W. A. Hayes. 1978. **Nutritional factors and the composition of *Agaricus bisporus* mycelium.** *Mushrooms Sci.* X (Part III):715-722.

Hammond, J. B. W. 1980. **The composition of fresh and stored oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*).** *Phyto-chem.* 19:2565.

Henley, E. C. y J. M. Kuster. 1994. **Protein quality evaluation by protein digestibility-corrected amino acid scoring.** *Food Technol.* 48(4):74-77.

Hernández, M., S. Parra, E. López, J. Salmerón y A. Ramírez. 1992. **Consumo de fibras dietéticas, su relación con algunas enfermedades crónicas y degenerativas en México.** En: *Memoria del III Simposio Internacional Sobre*®

Fibra Dietética. L. A. Mejía, H. Bourges y J. L. Rosado, (Eds.). Editado por: Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología y Kellogg de México, S. A. de C. V. pp. 13-29.

Hill, J. B., L. O. Overholt, H. W. Popp y A. R. Grove. 1967. **Tratado de Botánica.** Ed. Omega, S.A. Barcelona, España. pp. 544-545.

Holtz, R. B. (1971). **Qualitative and quantitative analyses of free neutral carbohydrates in mushroom tissue by gas-liquid chromatography and mass spectrometry.** *J. Agric. Food Chem.* 19:1272-1273.

- Hoshiai, K. 1980. Imbalance of essential aminoacids, an approach to the problems of protein shortage in the world. CEER, Chem. Eng. Rev. 12:12-16.
- Hsu, H. W., D. L. Vavak, L. D. Satterlee y G. A. Miller. 1977. A multienzyme technique for estimating protein digestibility. J. Food Sci. 42:1269-1273.
- Hudson, H. J. 1986. Fungal biology. Ed. Edward Arnold. London. Reino Unido. pp.5.
- Hughes, D. H., D. L. Lynch y G. F. Somers. 1958. Chromatographic identification of the amino acids and carbohydrates in cultivated mushroom *Agaricus campestris* L.ex. Fries. J. Agric. Food Chem. 6:850-853.
- Hurrel, R. H., P. Lerman y K. J. Carpenter. 1979. Reactive lysine in foodstuffs as measured by a rapid dye-binding procedure. J. Food Sci. 44:1221-1231.
- Imafidon, G. I. y F. W. Sosulski. 1990a. Nonprotein nitrogen contents of animal and plant foods. J. Agric. Food Chem. 38:114-118.
- Imafidon, G. I. y F. W. Sosulski. 1990b. Nucleic acid nitrogen of animal and plant foods. J. Agric. Food Chem. 38(1):118-120.
- Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ) /Coordinación General de la Comisión Nacional de alimentación. 1992. Tablas de uso práctico del valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México. INNSZ /CONAL. pp.5B-14A.
- International Society for Mushroom Science. 1997. Major edible mushroom (Original consultado en internet: <http://www.hri.ac.uk/isms/page3.htm>).

- Joslyn, M. A. 1970. **Methos in Food Analysis**. 2nd. Ed. M. A. Joslyn, (Ed.). Academic Press. U.S.A. pp. 605-609.
- Kajuno, C. y H. Miura. 1985. **Chemical constituents of *Pleurotus ostreatus***. Nippon Shokuhin Kogyo Gakki-Shi (J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol) 32:338.
- Kurasawa, S., T. Sugahara y J. Hayashi. 1982. **Studies of dietary fiber of mushrooms and edible wild plants**. Nutr. Rep. Int. 26:167
- Katz, F. y N. H. Mermelstein. 1996. **"1996 the year in review"** Food Technol. 50(12):46-49.
- Khanna, P. y H. S. Garcha. 1984. ***Pleurotus* mushroom - a source of food protein**. Mush. Newsletter for the tropics 4(3):9-12.
- Kies, C. 1974. **Comparative value of various sources of nonspecific nitrogen for the human**. J. Agr. Food Chem. 22(2):190-193.
- Korslund, M. K. 1974. **Nonessential nitrogen utilization by children and adolescents**. J. Agr. Food Chem. 22(2): 187-189.
- Lachance, P. A. 1994. **Human obesity. Scientific status summary**. Institute of Food Technologists Expert Panel on Food Safety and Nutrition. Food Technol. 48(2):127-128.
- Landers, R. E. 1975. **Relationship between protein efficiency ratio of foods and Relative Nutritive Value measured by *Tetrahymena pyriformis* W bioassay techniques**. En: Protein nutritional quality of foods and feeds. M. Friedman, (Ed.). Marcel Dekker, Inc. New York, USA. pp. 185-202.

- Lau, O. 1982. **Methods of chemical analysis of mushrooms.** En: **Tropical Mushrooms. Biological nature and cultivation methods.** S.T. Chang y T. H. Quimio, (Eds.). The Chinese University Press. Hong Kong. pp. 87-116.
- Layne, E. 1957. **Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins.** En: **Methods in Enzymology.** v.3. S. P. Colowick y N. O. Kaplan, (Eds.). Academic Press. New York. pp. 447-454.
- Leal, L. H. 1985. **El cultivo del champiñón y otros macromicetos comestibles.** En: **Prospectiva de la Biotecnología en México.** Compilador: R. Quintero. Editado por la Fundación Javier Barros Sierra, A.C. y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. pp.235 - 257.
- Leal, L. H. 1993. **Producción de hongos comestibles.** En: **Biotecnología Alimentaria.** M.G. Garibay, R. Quintero y A. López-Munguía, (Eds.). Limusa, Noriega Editores. México, D.F. México. pp. 24-27.
- Leong, P. C. 1982. **Cultivation of *Pleurotus* mushrooms on cotton waste substrate in Singapore.** En: **Tropical Mushrooms Biological Nature and Cultivation Methods.** S. T. Chang y T. H. Quimio, (Eds.). The Chinese University Press. Hong Kong. pp. 349-361.
- Levai, J. 1989. **Nutritional and utilizable value of some cultivated mushroom.** **Mushroom Sci.** XII:295-304.
- Levin, J. 1979. **Fundamentos de estadística en la investigación social.** 2a. ed. Harla. México, D.F. p. 287
- Li, G. S. F. 1984. **Nucleic acid content of Shiitake, *Lentinus edodes*.** **Mush. Newsletter for the tropics** 4(3):14.

López, R. A. s/f. **Cultivo Doméstico de Hongos Comestibles**. Cuadernos de Extensión Universitaria. Universidad Veracruzana. Jalapa, Ver. México. 21 p.

López, R. A. 1986. **Hongos comestibles y medicinales de México**. Natura. Ed. Posada. México, D.F. México.

Luke, B. 1984. **Principles of Nutrition and Diet Therapy**. Little Brown and Company. Boston/Toronto. 424-426.

Marlett, J. 1989. **Definición y análisis de la fibra dietética en los alimentos**. En: **Fibra y Salud**. Memoria del 2 Simposio Internacional sobre fibra dietética. L. A. Mejía, H. Bourges y J. L. Rosado, (Eds.). INNSZ/Kellog de México, S.A. de C. V. México, D. F. México.

Martínez-Carrera, D. R., R. Leben, P. Morales, M. Sobal y A. Larque-Saavedra. 1991. **Historia del cultivo comercial de hongos comestibles en México**. *Ciencia y Desarrollo* XVI(96):33-43.

Mata, G. 1987. **Introducción a la etnomicología Maya de Yucatán. El conocimiento de los hongos en Pixoy, Valladolid**. *Rev. Mex. Mic.* 3:175-187.

Meyers, S. P., J. P. Rutledge y S. C. Sonu. 1973. **Variability in proximate analysis of different processed shrimp meals**. *Feedstuffs* 45(47):34.

Miller, E. L. 1967. **Determination of the tryptophan content of feedingstuffs with particular reference to cereals**. *J. Sci. Fd. Agric.* 18:381-386.

Millipore Corporation. 1993a. **Waters Sep-Pak Cartridge. Care and use Manual**. Millipore Corporation, Milford, MA. 51 p.

Millipore Corporation. 1993b. **Waters AccQ. Tag Chemistry package. Instruction Manual.** WAT 052 874, REV0. Millford. 45 p.

Mizuno, T., M. Ando, R. Sugie, H. Ito, K. Shimura, T. Sumiya y A. Matsura. 1992a. **Antitumor activity of some polysaccharides isolated from edible mushroom, ningyotake, the fruiting body and the cultured mycelium of *Polysporus confluens*.** *Biosc, Biotechnol and Biochem.* 56(1):34-41.

Mizuno, T., T. Wasa, H. Ito, C. Suzuki y N. Ukai. (1992b). **Antitumor-active polysaccharides isolated from the fruiting body of *Heridium erinaceum* an edible and medicinal mushroom called yamabushitake or houtou.** *Biosc. Biotechnol. and Biochem.* 56 (2):347-348.

Montgomery, D.G. 1991. **Diseño y Análisis de Experimentos.** Grupo Editorial Ibero- Americana. México, D.F.

Mostafa, H. El-Kattan., Z. A. Helmy, M. Abd El-Hay El-Leithy y K. A. Abdelkawi. 1991. **Studies on cultivation techniques and chemical composition of oyster mushrooms.** *Mush. J. Tropics.* 11:59-66.

Mouches, C., P. Duthil, N. Poitou, J. Delmas y J. M. Bove. 1981. **Caracterisation des especes truffieres par analyse de leurs proteines en gels de polyacrilamide et application de ces techniques a la taxonomie des champignons.** *Mush. Science* XI:819-831.

Muhammad, W. A. S. y S. Khan. 1988. **Composition of wild and cultivated mushrooms of Pakistan.** *Mush. J. Tropics.* 8:47-51.

National Academy of Science. 1994. **Issues Report Opportunities in the Nutrition and Food Sciences.** *Food Technol.* 48(3):24-27.

Nestle, M. y S. Guttmacher. 1992. **Hunger in the United States: rationale, methods, and policy implications of state hunger surveys.** *J. Nutr. Educ.* 24(Suppl):185-187.

Noss, W. E. y S. Rady. 1993. **Understanding Nutrition.** West Publishing Company. Minneapolis, U.S.A. pp. 174.

Ogawa, T., Y. Oka y K. Sasaoka. 1987. **Amino acid profiles of common cultivated mushrooms including the identification of N-N- γ -L-glutamyl 3-sulfo-L-Alanyl) glycine in *Flammulina velutipes*.** *J. Food Sci.* 52(1):135-136 y 154.

Oka, Y., T. Hideaki, T. Ogawa y K. Sasaoka. 1981. **Quantitative determination of the free amino acids and their derivatives in common edible mushroom, *Agaricus bisporus*.** *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 27:253-262.

Oka, Y., T. Ogawa y K. Sasaoka. 1984. **First evidence for the occurrence of N δ -Acetil-L-ornitine and quantification of the free amino acids in cultivated mushroom, *Pleurotus ostreatus*.** *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 30:27-35.

Organización Panamericana de la Salud (OMS)/Organización Mundial de la Salud (OPS). 1980. **Criterios de Salud Ambiental 6. Principios y métodos para evaluar la toxicidad de las sustancias químicas. Parte I.** Publicado por: Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente y la Organización Mundial de la Salud. pp. 233-234.

Pellett, P. L. y V. Young. 1980. **Evaluación Nutricional de Alimentos Proteínicos.** Universidad de las Naciones Unidas. WHTR-3 UNUP-129. pp.107-112.

Protein Advisory Group (PAG). 1970. **Guideline No. 4 UNICEF. Food and Agriculture Organization/World Health Organization, New York.**

Rai, R., D. Saxena, R. C. Upadhyay y H. S. Shoi. 1988. **Comparative nutritional value of various *Pleurotus* species grown under identical conditions.** *Mush. J. Trop.* 8:93-98.

Rajarithnam, S. y Z. Bano. 1987. **Pleurotus mushrooms. Part. I. A. Morphology, life cycle, taxonomy, breeding and cultivation.** *CRC Crit. Rev. in Food Sci. and Nutrit.* 26(2):157-223.

Rajarithnam, S. y Z. Bano. 1989. ***Pleurotus* mushrooms. Part III. Biotransformations of natural lignocellulosic wastes: commercial applications and implications.** *CRC Crit. Rev. in Food Sci. and Nutrit.* 28(1):31-104.

Regestein, J. M. y C. E. Regestein. 1984. **Food Protein Chemistry. An introduction for food scientists.** *Food Science and Technology*, Academic Press, Inc. pp.326-349.

Rosado, J. L. 1989. **Propiedades fisicoquímicas de la fibra dietética y su efecto gastrointestinal.** En: *Fibra y Salud. Memoria del 2 Simposio Internacional sobre fibra dietética.* L. A. Mejía, H. Bourges, J. L. Rosado (Eds.). INNSZ/Kellogg de México, S. A. de C. V. México, D. F. México. pp. 15 - 22.

Rosen, G. D. y W. R. Fernell. 1956. **Microbiological evaluation of protein quality with *Tetrahymena pyriformis* W. 2. relative nutritive values of proteins in foodstuffs.** *Brit. J. Nutr.* 10:156 -169.

Royse, D. J. (1997). **Specialty mushrooms and their cultivation.** En: *Horticultural Reviews, Volume 19.* J. Janick, (Ed.). John Wiley & Sons, Inc. pp. 59-97.

Samajpati, N. 1978. **Nutritive value of some Indian edible mushrooms.** Mushroom Sci. X (Part II). Proceedings of the tenth International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi. France. pp. 695-703.

Satterlee, L. D., H. F. Marshall y J. M. Tennyson. 1979. **Measuring protein quality.** J. Am. Oil Chemist Soc. 56:103-109.

Sato, E. Y. Aoyagi y T. Sugahara. 1985. **Contents of free amino acids in mushrooms.** Nipp. Shokuhin Kogyo Gakkaishi 32(7):509-521.

Smith, A. H. 1978. **Morphology and classification.** En: **The Biology and Cultivation of Edible Mushrooms.** S. T. Chang y M. A. Hayes, (Eds.). Academic Press. New York. U.S.A. pp. 3-33.

Sosulski, F. W. y G. I. Imafidon. 1990. **Amino acid composition and nitrogen-to-protein conversion factors for animal and plant foods.** J. Agric. Food Chem. 38:1351-1356.

Soto-Velazco C., A. Arias y S. Fausto. 1991. **Elaboración de inóculos en bolsas de polipapel para el cultivo del *Pleurotus ostreatus*.** Memorias del IV Congreso Nacional de Micología. Tlaxcala, Tlax. México. Sociedad Mexicana de Micología. pp. 94.

Schägger, H y G. Von Jagow. 1987. **Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa.** Anal. Biochem. 166:368-379.

Sivaprakasam, K. 1983. **Nutritive value of sporophores of *Pleurotus sajor-caju*.** En: **Proceeding of National Symposium on Science and Cultivation of**

edible fungi. Srinagar, pp. 57-58. (Original no consultado, citado por Mostafa H. El-Kattan, *et al.* 1991. *Mush. J. Trop.* 11:59-66)

Stancher, B., G. Procida y M. Calabrese. 1993. Characterization of the main cultivated mushrooms in Italy III. The lipid fraction: Determination of fatty acid composition. *FSTA.* 25 (1): 1J156.

Stott, J. A., H. Smith y G. D. Rosen. 1963. Microbiological evaluation of protein quality with *Tetrahymena pyriformis* W. a simplified assay procedure. *Brit. J. Nutr.* 17:227-233.

Strmiskova, G., F. Strmiska y J. Dubravicky. 1992. Mineral composition of oyster mushroom. *Nahrung* 36 (2):210-212.

Sukhatme, P. V. (1970). Incidence of protein deficiency in relation to different diets in India. *Br. J. Nutr.* 24:477-487.

Supelco. 1982. Chromatography Supplies, GC-HPLC-TLC. Catálogo 20. International. Bellefonte, Pennsylvania. pp 16.

Summer, J. L. 1973. The fatty acid composition of basidiomycetes. *N. Z. J. Bot.* II:435-442.

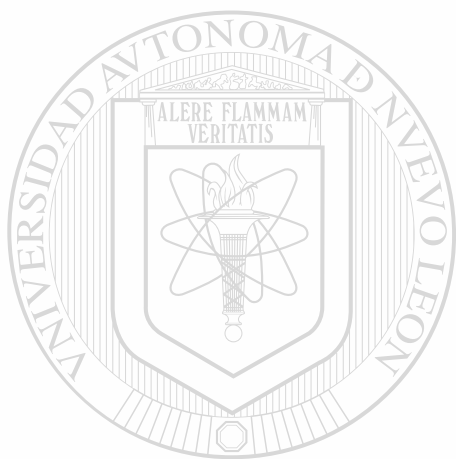
Sure, B. 1946. Nutritional improvement of cereals. *J. of Amer. Dietet. Assoc.* 22:494-502.

Swaigood, H. E. y G. L. Catignani. 1991. Protein digestibility: *In vitro* methods of assessment. *Advances in food and nutrition research* Vol. 35. Academic Press. pp. 185-236.

- Thayumanavan, B. y A. Manickam. 1980. Protein quality of the sporophores of the fungus *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer. *Indian J. Nutr. Diet.* 17:140.
- Tokoro, N., M. Sawada, Y. Sugamuna, M. Mochizuki, K. Masuzawa, Y. Aoyama y K. Ashida. 1987. Nitrogen composition of vegetables common to Japan. *J. of Food Composition and analysis.* 1:18-25.
- Vetter, J. 1993. Toxic elements in certain higher fungi. *Food chemistry* 48 (2):207-208.
- Vetter, J. 1994. Mineral elements in the important cultivated mushrooms *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus*. *Food Chemistry* 50:277-279.
- Wang, L., L. Yuyue y Y. Xiaoxian. 1990. Analysis of amino acid content of 30 varieties of edible fungi. *Mush. J. Tropics.* 10:74-78.
- Waters Division of Millipore. 1991. *Silica Analytical Column. Care and use. Manual.* Waters Publications. 43 p.
- Weaver, J. C., M. Kroger y L. R. Kneebone. 1977. Comparative protein studies (Kjeldahl, dye binding, amino acid analysis) of nine strains of *Agaricus bisporus* (Lange) imbach mushrooms. *J. of Food Sci.* 42 (2):364-366.
- World Health Organization. FAO. 1985. *Energy and Protein Requirements. FAO/WHO/UNU Expert consultation. Technical report series 724.* Geneve. World Health Organization. 66 p.
- Zadrazil, F. y R. H. Kurtzman. 1982. The biology of *Pleurotus* cultivation in the tropics. En: *Tropical Mushrooms Biological Nature and Cultivation Methods.* S. T. Chang y T. H. Quimio, (Eds.). The Chinese University Press. Hong Kong. pp. 277-298.

Zheng, J. X. y X. L. Ding. 1995. **Dietary fibre from *Lentinus edodes*. I. Isolation and identification of its structure.** Food & Ferm. Indust. 3:1-10.

Zhuang, C., T. Mizuno, A. Shimada, H. Ito, C. Suzuki, Y. Mayuzumi, H. Okamoto, M. Yan y L. Jingxuan. 1993. **Antitumor protein-containing polysaccharides from a Chinese mushroom fengweigu or houbitake, *Pleurotus sajor-caju* (Fr) Sing.** Biosc. Biotechnol and Biochem. 57(6):901-906.

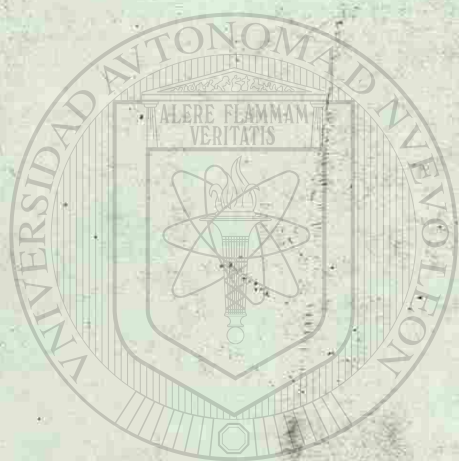


UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS





UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®