



*Cultivos alternativos a partir de producción de biomasa y fenoles del hongo
Pleurotus Ostreatus, con base en materias primas de bajo costo y residuos
agroindustriales*

*Alternative crops from the production of biomass and phenols from the Pleurotus
Ostreatus mushroom, based on low-cost raw materials and agro-industrial waste*

*Culturas alternativas a partir da produção de biomassa e fenóis do cogumelo
Pleurotus Ostreatus, a partir de matérias-primas de baixo custo e resíduos
agroindustriais*

Ana Kristin Epinosa-Palma ¹

anita423@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0006-5512-3501>

Correspondencia: anita423@gmail.com

Ciencias Técnicas y Aplicadas
Artículo de Investigación

*** Recibido:** 02 de mayo de 2025 ***Aceptado:** 25 de junio de 2025 *** Publicado:** 08 de julio de 2025

- I. Investigadora Independiente. Profesional egresada de la Universidad de las Américas (UDLA) y Universidad Internacional de la Rioja (UNIR). Magister en Gestión Ambiental y Energética en las Organizaciones. Ingeniería en Biotecnología, Ecuador.

Resumen

Pleurotus ostreatus es un hongo lignícola saprófito conocido como hongo ostra, posee una gran adaptabilidad y versatilidad para tolerar temperaturas hasta los 32 °C. Su cultivo por lo general se realiza en medios sólidos, sin embargo, el cultivo en medio líquido ha demostrado tener grandes ventajas mejorando su desarrollo. Por lo mencionado, se presenta una investigación que tuvo como objetivo general optimizar un medio de cultivo alternativo con base en residuos agroindustriales y materias primas de bajo costo para la producción de biomasa y fenoles a partir del hongo *Pleurotus ostreatus*. Se aplicaron métodos de cultivo, analíticos y estadísticos para evidenciar los parámetros adecuados que permitan tener un incremento en la producción de biomasa y fenoles en medios sumergidos por un periodo de tiempo de fermentación de 10 días. Los resultados demostraron durante el tiempo de validación del medio de cultivo sumergido el cual tenía todos los nutrientes, pH, concentraciones de carbono y nitrógeno adecuadas para el crecimiento del hongo de las variedades Gris y Rosa, mostrando que existe una diferencia significativa cuando se utiliza como fuente de sustrato al salvado de trigo. En la variedad Gris el valor p fue de 2.2×10^{-6} para la biomasa, para los fenoles se obtuvo un valor de p de 3.571×10^{-7} . Para la variedad Rosa se obtuvo el valor de p de 2.2×10^{-6} para la biomasa y para los fenoles el valor de p fue de 3.617×10^{-6} en el análisis ANOVA. Además, se demostró que el incremento del pH genera una disminución en el crecimiento de la biomasa de las dos variedades analizadas en este estudio, ya que se evidencia un crecimiento de biomasa a partir del 4to día culminando el 8vo día y manteniendo rangos de crecimiento bajos. Se concluye, con base en los resultados obtenidos que, el suministro de salvado de trigo como fuente de carbono influye de manera positiva en la producción de metabolitos secundarios como lo son los fenoles, además, por su 4 composición natural este actúa como fuente de nitrógeno, sin embargo, el utilizar fuentes de nitrógeno alternativas demuestran que existe un incremento en el crecimiento de micelio de las variedades Gris y Rosa para la obtención de metabolitos de interés.

Palabras clave: Hongo ostra; *Pleurotus ostreatus*; Alimentación; Biomasa; Fenoles; Cultivo Líquido; Agroindustrial.

Abstract

Pleurotus ostreatus is a saprophytic lignicolous fungus known as oyster mushroom. It is highly adaptable and versatile, tolerating temperatures up to 32°C. Its cultivation is usually carried out in

solid media; however, cultivation in liquid media has shown significant advantages, improving its development. Therefore, a study is presented with the general objective of optimizing an alternative culture medium based on agro-industrial waste and low-cost raw materials for the production of biomass and phenols from the *Pleurotus ostreatus* fungus. Cultivation, analytical, and statistical methods were applied to determine the appropriate parameters for increasing biomass and phenol production in submerged media for a 10-day fermentation period. The results demonstrated that during the validation time of the submerged culture medium, it had all the nutrients, pH, carbon and nitrogen concentrations suitable for the growth of the fungus of the Gray and Pink varieties, showing that there is a significant difference when wheat bran is used as a substrate source. In the Gray variety, the p-value was 2.2×10^{-6} for biomass, for phenols a p-value of 3.571×10^{-7} was obtained. For the Pink variety, a p-value of 2.2×10^{-6} was obtained for biomass and for phenols the p-value was 3.617×10^{-6} in the ANOVA analysis. Furthermore, it was shown that increasing pH leads to a decrease in biomass growth in the two varieties analyzed in this study, with biomass growth evident starting on the 4th day and culminating on the 8th day, maintaining low growth rates. Based on the results obtained, it is concluded that the use of wheat bran as a carbon source positively influences the production of secondary metabolites such as phenols. Furthermore, due to its natural composition, it acts as a nitrogen source. However, the use of alternative nitrogen sources shows an increase in mycelial growth of the Gray and Pink varieties for obtaining metabolites of interest.

Keywords: Oyster mushroom; *Pleurotus ostreatus*; Food; Biomass; Phenols; Liquid Culture; Agroindustry.

Resumo

O *Pleurotus ostreatus* é um fungo lignícola saprófita conhecido como cogumelo-ostra. É altamente adaptável e versátil, tolerando temperaturas até 32°C. O seu cultivo é geralmente realizado em meios sólidos; no entanto, o cultivo em meios líquidos tem demonstrado vantagens significativas, melhorando o seu desenvolvimento. Assim sendo, é apresentado um estudo com o objetivo geral de otimizar um meio de cultura alternativo baseado em resíduos agroindustriais e matérias-primas de baixo custo para a produção de biomassa e fenóis do fungo *Pleurotus ostreatus*. Foram aplicados métodos de cultivo, analíticos e estatísticos para determinar os parâmetros apropriados para

aumentar a produção de biomassa e fenóis em meios submersos durante um período de fermentação de 10 dias. Os resultados demonstraram que durante o tempo de validação do meio de cultura submerso, este apresentou todos os nutrientes, pH, concentrações de carbono e azoto adequados para o crescimento do fungo das variedades Cinza e Rosa, mostrando que existe uma diferença significativa quando se utiliza o farelo de trigo como fonte de substrato. Na variedade Cinza, o valor de p foi de $2,2 \times 10^{-6}$ para a biomassa, para os fenóis obteve-se um valor de p de $3,571 \times 10^{-7}$. Para a variedade Rosa, foi obtido um valor de p de $2,2 \times 10^{-6}$ para a biomassa e para os fenóis o valor de p foi de $3,617 \times 10^{-6}$ na análise ANOVA. Além disso, foi demonstrado que o aumento do pH leva a uma diminuição do crescimento da biomassa nas duas variedades analisadas neste estudo, com um crescimento da biomassa evidente a partir do 4º dia e culminando no 8º dia, mantendo baixas taxas de crescimento. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que a utilização do farelo de trigo como fonte de carbono influencia positivamente a produção de metabolitos secundários, como os fenóis. Além disso, devido à sua composição natural, atua como fonte de azoto. No entanto, a utilização de fontes alternativas de azoto demonstra um aumento do crescimento micelial das variedades Cinza e Rosa para a obtenção de metabolitos de interesse.

Palavras-chave: Cogumelo-ostra; *Pleurotus ostreatus*; Alimentos; Biomassa; Fenóis; Cultura Líquida; Agroindústria.

Introducción

A nivel mundial la desnutrición persiste como una crisis humanitaria, afectando a cientos de millones de personas en todo el mundo y obstaculizando el progreso hacia el desarrollo sostenible, las últimas cifras revelan una realidad alarmante que exige una acción coordinada y urgente. Según el informe *El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo 2024* de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), el Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola (FIDA), el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF), el Programa Mundial de Alimentos (PMA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que alrededor de 735 millones de personas padecieron hambre en el año 2022. Esta cifra representa un retroceso significativo en los esfuerzos por erradicar el hambre, exacerbado por los impactos de la pandemia de COVID-19, los conflictos, el cambio climático y las crisis económicas (FAO et al., 2024).

En este orden de ideas, la desnutrición adopta múltiples formas, incluyendo la subalimentación, la deficiencia de micronutrientes, el sobrepeso y la obesidad. La desnutrición infantil sigue siendo una preocupación crítica, la UNICEF, en su informe *El estado mundial de la infancia 2023*, señala que aproximadamente 148 millones de niños menores de cinco años sufrieron de retraso en el crecimiento (demasiado bajos para su edad), 45 millones padecieron emaciación (demasiado delgados para su altura) y 37 millones tenían sobrepeso en el año 2022, estas condiciones tienen consecuencias a largo plazo en el desarrollo físico y cognitivo, perpetuando ciclos de pobreza y desigualdad (UNICEF, 2023).

Asimismo, la comunidad internacional reconoce la urgencia de alcanzar el Objetivo de Desarrollo Sostenible 2 (ODS): Hambre Cero para 2030. Sin embargo, las tendencias actuales sugieren que se necesitan esfuerzos mucho más ambiciosos y coordinados para revertir el aumento del hambre y la desnutrición, invertir en sistemas alimentarios sostenibles, fortalecer la agricultura local, mejorar el acceso a una nutrición adecuada y abordar las causas profundas de la pobreza y la desigualdad son pasos esenciales para lograr que se disminuyan los niveles de desnutrición, Organización de las Naciones Unidas (ONU 2018).

Bajo este contexto, se han realizado estudios que confirman los avances del uso del hongo *Pleurotus ostreatus*, comúnmente conocido como hongo ostra, que ha demostrado un gran potencial en el desarrollo de cultivos alternativos sostenibles. Su capacidad para crecer en una amplia variedad de residuos agroindustriales de bajo costo y producir biomasa rica en nutrientes y compuestos fenólicos valiosos lo convierte en un recurso prometedor. Tiene la capacidad de degradar lignina, fenoles y polifenoles en un 60% de su contenido original por lo que es una de las especies más utilizadas en el campo de la investigación (Kumar, 2020).

A su vez, tiende a desarrollarse de acuerdo en una relación entre Carbono/Nitrógeno que se le suministre por lo que va a depender de la administración de vitaminas, minerales requeridos para un mejor crecimiento. La biomasa del hongo *Pleurotus ostreatus* es una fuente rica de proteínas de alta calidad, fibra dietética, vitaminas como la riboflavina, niacina y folatos, y minerales como el potasio, hierro y selenio (Akter et al., 2022). Esta composición nutricional lo convierte en un alimento valioso para el consumo humano, especialmente en regiones donde la seguridad alimentaria es un desafío, puesto que es apto para el consumo humano, animal y un excelente biofertilizante, también es una fuente natural de compuestos fenólicos, antioxidantes que tienen

diversos beneficios para la salud, en alimentos funcionales, cosméticos y productos farmacéuticos (Contreras et al., 2022).

Una de las ventajas clave de su cultivo, es su capacidad para crecer en una amplia variedad de residuos agroindustriales, que son subproductos de bajo costo de diversos procesos agrícolas e industriales. Esto no solo reduce los costos de producción, sino que también ayuda a resolver el problema de la gestión de residuos, entre ellos; paja de cereales como el trigo, arroz, cebada, aserrín y virutas de madera, bagazo de caña de azúcar, hojas y tallos de maíz, cáscaras de café, pulpa de remolacha, entre otros.

Este contexto permite afirmar que se requieren más investigaciones para optimizar los procesos de cultivo y extracción, y para explorar todo el potencial de *Pleurotus ostreatus* como un cultivo alternativo prometedor. Una de las principales motivaciones de la investigación que se presenta, la cual tiene propósito aportar hallazgos innovadores respecto al cultivo que puedan servir para promover alternativas sustentables con el aprovechamiento de este recurso.

Importancia del problema

Las cifras por desnutrición y hambre en el mundo son alarmantes, se le adiciona también la denominada deficiencia de micronutrientes, siendo un fenómeno insidioso, también llamado *hambre oculta*, el cual, continúa afectando a una porción significativa de la población mundial, estimándose en más de dos mil millones de individuos (FAO, 2024).

La OMS (2023) ha enfatizado que estas deficiencias pueden comprometer la función inmunológica, incrementando la vulnerabilidad a enfermedades infecciosas y obstaculizando el desarrollo cerebral óptimo, especialmente en niños, la carencia de vitaminas y minerales esenciales como el hierro, el yodo, el zinc y la vitamina A, conlleva graves implicaciones para la salud humana, el desarrollo cognitivo y físico, y la productividad económica (Black et al., 2021). Existe una compleja interacción entre las deficiencias de múltiples micronutrientes y el aumento del riesgo de enfermedades no transmisibles en etapas posteriores de la vida.

En la mayoría de los casos, los organismos internacionales han intensificado sus esfuerzos para abordar esta crisis multifacética a través de intervenciones coordinadas. El Programa Mundial de Alimentos (PMA) desempeña un papel crucial al proporcionar asistencia alimentaria vital en situaciones de emergencia humanitaria y al implementar programas a largo plazo destinados a fortalecer la resiliencia de las comunidades vulnerables frente a la inseguridad alimentaria.

Por otro lado, iniciativas innovadoras en biotecnología y fortificación de alimentos están emergiendo como herramientas prometedoras para mejorar el contenido nutricional de los alimentos básicos y aumentar el acceso a micronutrientes esenciales en poblaciones vulnerables (Bouis y Saltzman, 2017), que sigue siendo relevante por su impacto, pero se complementa con investigaciones más recientes en implementación.

Una de ellas es la exhaustiva investigación de las propiedades del hongo *Pleurotus ostreatus*, el cual ofrece una solución sostenible y económicamente viable para la producción de alimentos, la generación de productos de valor añadido y la gestión de residuos. Se ha comprobado que, la biomasa de este hongo es un recurso valioso para la alimentación humana y animal, mientras que sus compuestos fenólicos tienen diversas aplicaciones en las industrias alimentaria, cosmética y farmacéutica.

Comúnmente, su estudio se ha realizado en medios sólidos de cultivo, pero según investigaciones recientes como la propuesta por Nieto y Chegwin (2010) se ha evidenciado que, en medios líquidos y sumergidos genera una ventaja importante, debido a que, los nutrientes se encuentran en constante agitación generando un mejor crecimiento de la biomasa y de metabolitos de interés y aplicación en el campo de la ciencia, entre estos se destacan los fenoles, glucanos, lacasas y lignina peroxidasas.

Los fenoles son compuestos orgánicos aromáticos que tienen como grupo funcional un hidroxilo, se encuentran presentes en concentraciones mínimas por la fermentación natural que poseen los hongos y bacterias como es el caso de *Pleurotus ostreatus*. Su clasificación está dividida en fenoles simples, ácidos fenólicos donde se encuentra el ácido benzoico, ácido cinámico y el ácido gálico, siendo este uno de los más importantes para la determinación de fenoles en hongos y polifenoles que abarcan a los taninos (Kumar, 2020).

En los hongos, los metabolitos secundarios más encontrados son los polifenoles los cuales poseen acciones como: agentes reductores, antioxidantes que protegen a las células contra el daño oxidativo y limitantes en el riesgo de enfermedades degenerativas. Esta especie de hongos por medio de procesos metabólicos es capaz de generar metabolitos de interés comercial. Pero como se evidencia en estudios, su desarrollo se lo ha realizado en medios de cultivo sólidos puesto que se necesita su cuerpo fructífero que es el producto más apreciado en el mercado. Al realizar cultivos en medio líquido la investigación es escasa, ya que no existen suficientes estudios que revelen las

condiciones adecuadas del medio de cultivo para el desarrollo de *Pleurotus ostreatus* y su posterior comercialización obteniendo metabolitos de interés (Ferrer-Romero et al., 2019).

Esta especie ha demostrado tener una gran adaptabilidad y versatilidad por su capacidad de tolerar temperaturas altas que oscilan entre los 23 y 32°C presentando un mejor desarrollo a una temperatura de 28°C, en donde ha sido capaz de resistir a plagas y enfermedades que se encuentran en la naturaleza (Tesfay et al., 2020). Además, para obtener un desarrollo adecuado del hongo *Pleurotus ostreatus* se debe mantener un control de pH en un rango de 4.5 a 7, siendo el óptimo de 5.5 y una humedad de sustrato entre 60 y 70%.

Lo estudios realizados utilizando sustratos y componentes de bajo costo para la producción de biomasa y fenoles en esta especie de hongos se lo ha realizado en medios de cultivo como PDA y MEA, brindando un desarrollo dentro de los parámetros normales en los cuales crece el hongo. Sin embargo, el realizar un proceso de escalado genera una elevación de costos de producción y de tiempo para obtener metabolitos secundarios, por lo que se han investigado opciones a partir de residuos agroindustriales como el salvado de trigo y harina de trigo que poseen un alta cantidad de nitrógeno y carbono de forma natural, permitiendo un crecimiento vigoroso, pero no se tienen datos concretos que suministrándole estos residuos agroindustriales el hongo sea capaz de producir suficientes metabolitos secundarios y que su crecimiento se de en un medio de cultivo sumergido (Nieto y Chegwin, 2010).

Es por esto, que la evaluación de estos metabolitos secundarios como lo son los fenoles es de gran importancia por sus propiedades antioxidantes, en las cuales se encuentran: impedir que los metales catalicen sus reacciones de oxidación aun cuando son susceptibles a ser oxidados y actuar como agentes quelantes (Meléndez et al., 2015).

Además, plantear una metodología adecuada para la obtención de fenoles va a permitir que exista una producción de biomasa fúngica en condiciones controladas, optimizando parámetros cinéticos y reduciendo la probabilidad de contaminación. Así como una mejor producción de metabolitos secundarios como lo son los fenoles (Ferrer et al., 2016).

Adicionalmente, el hacer uso del salvado de trigo como sustrato influye en un desarrollo del hongo de manera positiva, puesto que, este sustrato tiene concentraciones altas de almidón como fuente de energía útil, además de vitaminas y minerales lo cual ayuda a tener un mejor desarrollo del hongo *Pleurotus ostreatus* (Arévalo, 2016).

Materiales y métodos

Se propuso como objetivo general Optimizar un medio de cultivo alternativo con base en residuos agroindustriales y materias primas de bajo costo para producción de biomasa y fenoles a partir del hongo *Pleurotus Ostreatus*.

Inóculo

Las cepas de las tres variedades del hongo *Pleurotus ostreatus* obtenidas por la Universidad de las Américas, fueron inoculadas en cajas Petri con medio Potato Dextrose Agar (PDA) para la variedad gris y blanca y en medio de Malt Extract Agar (MEA) para la variedad rosa. Cada una de las cepas fueron incubadas a una temperatura de 25°C durante 10 días en un ambiente oscuro (Petre, 2015).

Pre inóculo medio líquido

Se realizaron raspados del micelio de *Pleurotus ostreatus* con la ayuda de un aza de Drigalsky de las variedades Gris y Blanca en harina de trigo integral, mientras que para la variedad Rosa se realizaron raspados en salvado de trigo.

Cultivo en medio líquido

Se realizó la formulación del medio de cultivo en el cual se emplearon harina de trigo integral y salvado de trigo como fuente principal de carbono, ambos en concentraciones de 40 g/L. Además, se utilizó como fuente de nitrógeno extracto de levadura 2g/L y KNO₃ 4g/L. Asimismo, se emplearon diferentes sales como: KH₂PO₄ 0.8 g/L, MgSO₄ 0.5 g/L y Na₂HPO₄ 0.2 g/L. Para realizar este cultivo se prepararon 200 mL de volumen de medio de cultivo para realizar este paso.

Determinación de biomasa

Para la curva de calibrado de las variedades del hongo *Pleurotus ostreatus* se hicieron diluciones seriadas de 10 mL. A continuación, se determinó la biomasa a 600 nm en el espectrofotómetro. Para la determinación del peso seco se prepararon 33 capuchones de aluminio por cada variedad y se los dejó en la estufa por un lapso de 24 h. Las diluciones realizadas previamente se centrifugaron a 10.000 rpm por 10 min y se realizaron 3 lavados con agua estéril.

Curva de calibrado de ácido gálico

Para la determinación de fenoles se utilizó la curva de calibrado de ácido gálico $R^2 = 0.9985$. Esta curva se realizó preparando una disolución de ácido gálico de 0.1 g/L y se hizo una dilución 1:10, conjuntamente se preparó una disolución de carbonato de sodio al 20%. Después de obtener estas disoluciones se diluyó 1:2 el reactivo Folin-Ciocalteu, en tubos de ensayo cubiertos con papel

aluminio se realizaron diluciones de 20 μ L, 30 μ L, 40 μ L, 60 μ L y 80 μ L respectivamente, inmediatamente se agregó 250 μ L del reactivo Folin-Ciocalteu y se lo agitó, se agregó 750 μ L de la disolución realizada previamente hasta aforar a 2 mL con agua destilada y se lo dejó reposar en oscuridad por 2 horas. Para realizar el blanco se adicionaron 250 μ L del reactivo Folin-Ciocalteu y 750 μ L de carbonato de sodio al 20% y la absorbancia se leyó a 760 nm. Cada ensayo se realizó por triplicado donde se obtuvo una desviación estándar de cada experimento y un promedio de fenoles presentes por tratamiento en mg/L.

Cuantificación de fenoles

Para la determinación de fenoles se utilizó el método colorimétrico planteado por Singleton y Rossi (Marina et al., 2008). En un tubo cónico de 15 mL se adicionaron 100 μ L del medio donde fueron cultivadas las variedades del hongo *Pleurotus ostreatus* Blanca, Gris y Rosa, 1600 μ L de agua destilada y 200 μ L del reactivo Folin-Ciocalteu. A cada uno de los tubos se les realizó agitación por vórtex y se los dejó en reposo durante 8 minutos. Como siguiente paso, se adicionaron 100 μ L de carbonato de sodio al 20% y se lo dejó en oscuridad por dos horas. Culminado el tiempo se leyó la absorbancia a 760 nm en el espectrofotómetro. Esta metodología se repite para la validación del contenido de fenoles en el medio de cultivo optimizado de las variedades del hongo *Pleurotus ostreatus* gris y rosa por un periodo de 10 días.

Selección de variables para la producción de fenoles

Para realizar un análisis de la fuente de carbono, nitrógeno y pH para una mayor producción de fenoles se analizó a cada variedad de hongo bajo 4 tratamientos distintos y con concentraciones de nutrientes investigadas en bibliografía. Cada uno de estos resultados fue realizado por triplicado, se realizó una fermentación de 10 días en oscuridad, 25 °C y a 150 rpm. Por último, para determinar la concentración de fenoles totales en las muestras se utilizó la curva ácido gálico realizada previamente.

En primer lugar para la variedad Gris en el tratamiento 1 se utilizó 30 g/L de harina de trigo como fuente C, 4 g/L de KNO₃ como fuente de N y un pH de 5.7; en el tratamiento 2 se utilizó 30 g/L de harina de trigo como fuente C, 2 g/L de extracto de levadura como fuente de N y un pH de 5.7; en el tratamiento 3 se utilizó 30 g/L de salvado de trigo como fuente C, 4 g/L de KNO₃ como fuente de N y un pH de 6.5 y en el tratamiento 4 se utilizó 30 g/L de salvado de trigo como fuente C, 2 g/L de extracto de levadura como fuente de N y un pH de 6.5.

Para la variedad Rosa en el tratamiento 1 se utilizó 30 g/L de harina de trigo como fuente C, 4 g/L de KNO₃ como fuente de N y un pH de 5.7; en el tratamiento 2 se utilizó 30 g/L de harina de trigo como fuente C, 2 g/L de extracto de levadura como fuente de N y un pH de 5.7; en el tratamiento 3 se utilizó 30 g/L de salvado de trigo como fuente C, 4 g/L de KNO₃ como fuente de N y un pH de 6.5 y en el tratamiento 4 se utilizó 30g/L de salvado de trigo como fuente C, 2 g/L de extracto de levadura como fuente de N y un pH de 6.5.

Y por último, para la variedad Blanca el tratamiento 1 tuvo concentraciones de 30 g/L de harina de trigo como fuente C, 4 g/L de KNO₃ como fuente de N y un pH de 5.7; en el tratamiento 2 se utilizó 30 g/L de harina de trigo como fuente C, 2 g/L de extracto de levadura como fuente de N y un pH de 5.7; en el tratamiento 3 se utilizó 30 g/L de salvado de trigo como fuente C, 4 g/L de KNO₃ como fuente de N y un pH de 6.5 y en el tratamiento 4 se utilizó 30 g/L de salvado de trigo como fuente C, 2 g/L de extracto de levadura como fuente de N y un pH de 6.5.

Diseño central compuesto optimización 1

Al haber analizado el contenido de fenoles en las variedades del hongo *Pleurotus ostreatus* se realizó un diseño central compuesto aleatorio de la variedad Gris y Rosa, puesto que presentaron mayor contenido de fenoles.

Para esto, se realizaron 18 experimentos por variedad a diferentes concentraciones de carbono, nitrógeno y variaciones de pH. Los valores de cada una de las concentraciones de la fuente de carbono, nitrógeno y pH se determinaron en base a literatura. Se utilizó el programa Statistica (Mariano, 2015) para realizar la tabla con cada una de las variables y sus respectivas concentraciones (Tabla 1)

Los valores de los axiales se determinaron en base al programa estadístico Statistica y se calcularon mediante la siguiente fórmula:

$$cod = \frac{no\ cod - valor\ central}{salto}$$

Tabla 1 Diseño central compuesto variedad Gris y Rosa

Variedad Gris	Salvado de Trigo (g/L)	KNO ₃ (g/L)	pH
+ Axial	47	5	7.34
+1	40	4	7
0	30	3	6.5

-1	20	2	6
-Axial	13	1	5.66
Variedad Rosa	Salvado de Trigo (g/L)	Extracto de Levadura (g/L)	pH
+ Axial	47	4	7.34
+1	40	3	7
0	30	2	6.5
-1	20	1	6
-Axial	13	0.318	5.66

Análisis estadístico

Para determinar si existen diferencias significativas en cada medio de cultivo para la producción de fenoles y biomasa se realizó un análisis ANOVA en el programa RStudio con cada una de las variedades del hongo *Pleurotus ostreatus*.

Diseño central compuesto optimización final

Una vez obtenido los resultados donde se decidió ampliar los rangos de estudio para la optimización del medio de cultivo sumergido del hongo *Pleurotus ostreatus*, se realizó un segundo diseño central compuesto aleatorio de las variedades Gris y Rosa. Para esto, se realizaron 18 experimentos por cada variedad utilizando diferentes concentraciones de carbono, nitrógeno y pH. Las concentraciones de cada una de las variables que fueron analizadas se determinaron en base a los resultados preliminares obtenidos durante la primera optimización. Se utilizó el programa Statistica (Mariano, 2015) para realizar la Tabla 2 con cada una de las variables y sus respectivas concentraciones.

Los valores de los axiales se determinaron en base a la siguiente fórmula:

$$cod = \frac{no\ cod - valor\ central}{salto}$$

Tabla 2 Diseño central compuesto variedad Gris y Rosa

Variedad Gris	Salvado de Trigo (g/L)	KNO3 (g/L)	pH
+ Axial	57	9	9.84
+1	50	8	9.5
0	40	6	9

-1	30	4	8.5
-Axial	23	3	8.16
Variedad Rosa	Salvado de Trigo	Extracto de Levadura (g/L)	pH
	(g/L)		
+ Axial	57	7.36	8.84
+1	50	6	8.5
0	40	4	8
-1	30	2	7.5
-Axial	23	1	7.15

Condiciones de cultivo en medio sumergido

Se colocaron 1500 mL de medio de cultivo estéril en un matraz de 2000 mL. Estos medios fueron inoculados con el 20% del preinóculo optimizado (v/v). Se incubaron los matraces de las variedades Gris y Rosa durante 10 días en oscuridad a 150 rpm y 25 °C.

Crecimiento de la biomasa en el medio de cultivo optimizado

El crecimiento de la biomasa se llevó a cabo basándose en la metodología de la determinación de masa del micelio por la técnica de gravimetría dada por (Ferrer et al., 2019).

Resultados y discusión

Determinación de biomasa

Se colocaron las muestras con la biomasa recuperada en los capuchones y se los dejó en la estufa durante 48 horas a 75 °C hasta obtener un peso constante. Por último, los valores del peso seco obtenido se relacionaron con la absorbancia de cada muestra. En la Tabla 2 se muestran los valores obtenidos en la curva de calibración de biomasa de las variedades Gris, Rosa.

Tabla 3 Resultados curva de calibrado variedad gris y rosa

Curva de calibrado variedad Gris						
	R1 (g/L)	R2 (g/L)	R3 (g/L)	Biomasa g/L	Absorbancia (nm)	Desviación
1	3.922	3.244	3.556	3.574	0.158	0.339
2	4.267	3.200	3.511	3.659	0.179	0.549
3	3.654	3.889	3.678	3.740	0.217	0.129
4	3.989	3.500	3.968	3.819	0.303	0.276

5	4.544	4.022	3.556	4.041	0.351	0.495
6	4.156	4.522	3.778	4.152	0.389	0.372
7	4.667	4.478	3.578	4.241	0.426	0.582
8	3.778	4.889	4.200	4.289	0.465	0.561
9	3.656	5.322	4.011	4.330	0.470	0.878
10	4.556	4.689	4.156	4.467	0.534	0.278

Curva de calibrado variedad Rosa

	R1 (g/L)	R2 (g/L)	R3 (g/L)	Biomasa g/L	Absorbancia (nm)	Desviación
1	1.344	1.444	2.100	1.630	0.034	0.410
2	1.822	1.822	2.044	1.896	0.072	0.128
3	2.233	2.133	1.822	2.063	0.092	0.214
4	1.800	2.000	2.500	2.100	0.100	0.361
5	2.033	2.033	2.200	2.089	0.101	0.096
6	2.511	2.511	2.033	2.352	0.163	0.276
7	1.922	3.000	2.233	2.385	0.149	0.555
8	2.378	2.778	2.578	2.578	0.195	0.200
9	3.067	3.067	2.556	2.896	0.234	0.295
10	3.067	3.222	2.378	2.889	0.255	0.449

Curva de calibrado de Ácido Gálico

Cada ensayo se realizó por triplicado donde se obtuvo una desviación estándar de cada experimento y un promedio de fenoles presentes por tratamiento en mg/L.

Tabla 4 Concentraciones para realizar curva de calibrado de Ácido Gálico

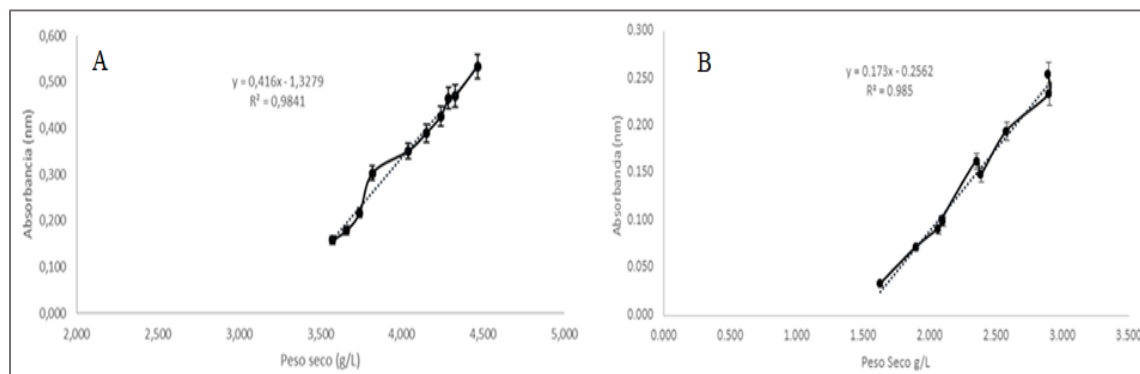
Concentración Gálico (mg/L)	Ácido	R1 (nm)	R2 (nm)	R3 (nm)	Promedio (nm)	Desviación
1		0.0580	0.0410	0.0560	0.0517	0.0076
2		0.0960	0.0930	0.0840	0.0910	0.0051
3		0.1210	0.1360	0.1150	0.1240	0.0088
4		0.1370	0.1560	0.1680	0.1540	0.0128
5		0.1380	0.2230	0.2340	0.1873	0.0429

Crecimiento de la biomasa en el medio de cultivo optimizado

El crecimiento de la biomasa se lleva a cabo basándose en la metodología de la determinación de masa del micelio por la técnica de gravimetría dada por (Ferrer et al., 2019).

Para determinar el crecimiento de la biomasa, se tomaron puntos cada 24 horas durante 10 días. Para cada alícuota se obtuvo 1 mL el cual fue medido en el espectrofotómetro a 600 nm y se calculó la concentración tomando en cuenta la curva de calibrado realizada previamente.

Gráfico 1 Curva de calibrado variedad Gris y Rosa



Nota: (A) Curva de calibrado variedad gris. (B) Curva de calibrado variedad rosa

Para poder determinar la biomasa de las variedades Gris y Rosa del hongo *Pleurotus ostreatus* se obtuvieron las curvas de calibrado que se muestran en el Gráfico 1 (A y B). Para la variedad Gris se obtuvo un valor de $R^2 = 0,9841$, donde se demuestra que existe una buena concentración en base a las diluciones realizadas, a pesar de que el punto 4 presenta una ligera variación en la linealidad de la curva.

Según el estudio realizado por Rodríguez et al. (2019), se manifiesta que existen cambios durante la construcción de la curva de calibrado por errores al momento de realizar las muestras, o existen errores experimentales que afectan y alteran la dispersión de los datos. Sin embargo, esto no va a ser un factor que impacte al momento de contrastar la producción de biomasa en el crecimiento de *Pleurotus ostreatus*, ya que, además, se demuestra que tomando en cuenta la totalidad de la concentración de la biomasa esta se ajuste a una regresión lineal y se ve reflejada en los valores que se demuestran en la curva de calibrado de biomasa (Rodríguez et al., 2019).

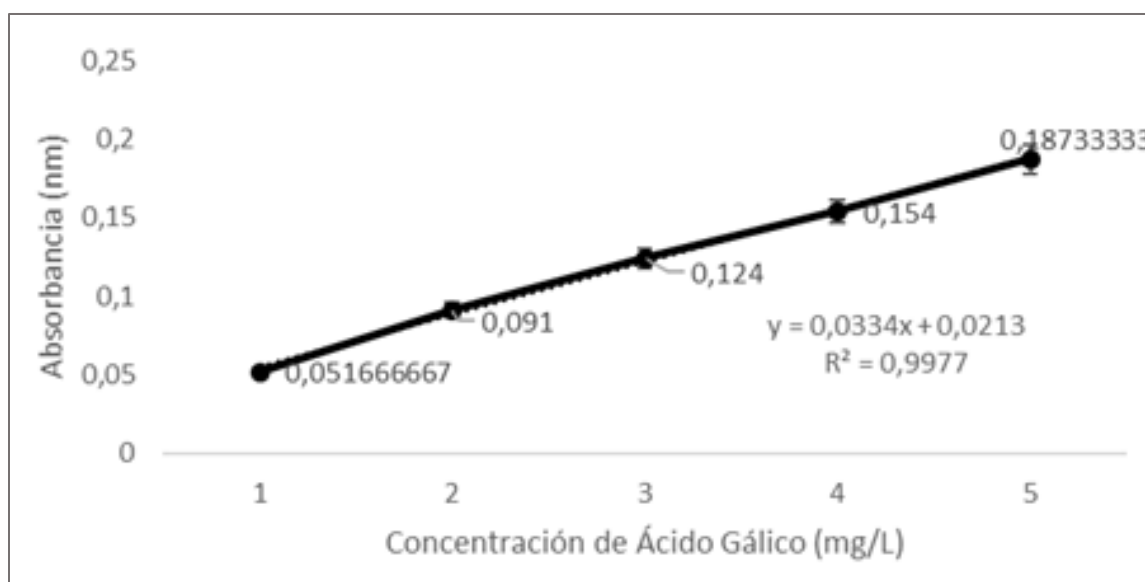
Por otro lado, la variedad Rosa presentó un valor de $R^2 = 0,985$, obteniendo menos linealidad en diversos puntos que la variedad Gris. Con base en, el estudio realizado por Tipán (2016) se puede

demostrar que el comportamiento observado de la biomasa producida con las diluciones realizadas tiende a variar por el tiempo de fermentación y el pH utilizado en el medio. Ya que, se recomienda tener un pH máximo de 5.5 para que la producción de biomasa se evidencie mejor, a su vez es importante ensayar tiempo de fermentación entre 6 y 12 días para que la concentración de biomasa sea más fiable. A pesar, de las dispersiones obtenidas, la curva de calibrado para esta variedad se encuentra dentro de los rangos con valores mayores a $R^2 = 0.9$, lo cual indica que se trabajó utilizando la metodología adecuada para la obtención de biomasa en el hongo (Tipan,2016).

Determinación de Fenoles

Para la determinación de fenoles se realizó una curva de calibrado de ácido gálico en donde se obtuvo valor de R^2 de 0.9977, este dato da una linealidad buena la cual permite calcular la cantidad de fenoles de manera precisa en las muestras que a ser analizadas. El punto de la recta que presenta una mayor desviación es el quinto de con un valor de 0.0429.

Gráfico 2 Curva de calibrado de Ácido Gálico



El valor obtenido en la curva de calibrado para fenoles totales se contrastó con la curva de fenoles realizada por Vera (2021) donde se obtuvo un valor R^2 de 0.9975, el obtenido en este estudio es de R^2 de 0.9977 lo cual demuestra que las diluciones realizadas para la obtención de la curva de calibrado son fiables, obteniendo así concentraciones viables para la determinación de fenoles en el hongo *Pleurotus ostreatus* (Vera, 2021).

Selección de variables

En la Tabla 5 se observa que los resultados de la variedad Gris, evidencia que existe una mayor concentración de fenoles en el tratamiento 3 con un valor de 39.26 mg/L y la menor concentración de fenoles obtenida en esta variedad es del tratamiento 1 con un valor de 6.1 mg/L.

Tabla 5 *Concentración de fenoles variedad Gris*

RESULTADOS VARIEDAD GRIS						
	R1 (nm)	R2 (nm)	R3 (nm)	Promedio (nm)	Concentración de Fenoles (mg/L)	Disp.
1	0.213	0.282	0.178	0.2243	6.1	0.052918
2	1.25	1.177	1.26	1.2291	36.18	0.045138
3	1.239	1.470	1.286	1.3319	39.26	0.12248
4	0.282	0.178	0.273	0.2443	6.7	0.057622

En la Tabla 7 se observan los resultados obtenidos de la variedad Blanca, en donde el mejor tratamiento fue el 2 obteniendo una concentración de fenoles de 24.4 mg/L y el tratamiento con la menor producción de fenoles fue el 3 teniendo una concentración de 5.9 mg/L.

Tabla 7 *Concentración de fenoles variedad Blanca*

RESULTADOS VARIEDAD BLANCA						
	R1 (nm)	R2 (nm)	R3 (nm)	Promedio (nm)	Concentración de Fenoles (mg/L)	Disp.
1	0.312	0.365	0.359	0.3453	9.72	0.029023
2	0.847	0.862	0.802	0.837	24.44	0.031225
3	0.191	0.189	0.273	0.2177	5.9	0.047931
4	0.213	0.178	0.282	0.2243	6.1	0.052918

En la Tabla 8 se puede observar los resultados de la variedad Rosa, la cual evidencia que existe una mayor concentración de fenoles en el tratamiento 4 con un valor de 32.58 mg/ y la menor concentración de fenoles obtenida en esta variedad es del tratamiento 1 con un valor de 10.72 mg/L.

Tabla 8 Concentración de fenoles variedad Rosa

RESULTADOS VARIEDAD ROSA						
	R1 (nm)	R2 (nm)	R3 (nm)	Promedio (nm)	Concentración de Fenoles (mg/L)	Disp.
1	0.379	0.364	0.393	0.3787	10.72	0.014503
2	0.799	0.745	0.755	0.7663	22.32	0.028729
3	0.917	0.983	0.898	0.9327	27.3	0.044613
4	1.174	0.937	1.216	1.109	32.58	0.150429

Los resultados evidencias que, el contenido de fenoles totales resultantes de los primeros experimentos se los puede comparar con los resultados obtenidos por Ayşenur (2016) el cual usó un medio de cultivo sólido a base de desechos de cultivo de papas, maní y aserrín de nogal con naranjo para el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus*. En este estudio se tomó 1 kg de cada residuo las cuales fueron procesadas previamente. Para la determinación de fenoles se utilizó el método Folin-Ciocalteu donde se obtuvo que el mejor medio de cultivo fue el que contenía como sustrato al aserrín de nogal con naranjo debido a las composiciones que tiene este sustrato, por lo que se obtuvo una concentración de 2.672 +/- 0.03 mg de ácido gálico por gramo de medio de cultivo (Ayşenur et al., 2016).

Comparándolo con los resultados obtenidos en este estudio, utilizando un medio sumergido con salvado de trigo y harina de trigo, se demostró que existe una mayor producción de metabolitos secundarios cuando los medios tienen altos contenidos de fibra ya que la menor concentración de fenoles fue de 5.9 mg/L en la variedad Blanca y la mayor fue de 39.26 mg/L de la variedad Gris. Esto se puede deber a que en un medio líquido los nutrientes tienen mayor biodisponibilidad lo que hace que se genere una mayor cantidad de metabolitos de interés. Esto se debe a que en un medio líquido los nutrientes tienen mayor biodisponibilidad lo que hace que se genere una mayor cantidad de metabolitos de interés.

Por otro lado, al contrastar los resultados obtenidos con el estudio realizado por Ferrer (2016) el cual uso un medio líquido de YPG se obtuvo una máxima producción de fenoles de 98.88 mg/L que a comparación de los 39.26 mg/L de fenoles obtenidos en la variedad Gris en este proyecto es menor, aunque cabe recalcar que esta cantidad fue obtenida a los 7 días y 12 horas de la inoculación del hongo en medio YPG , mientras que el resultado que se obtuvo en medio de cultivo con salvado de trigo se analizó a los 10 días de fermentación (Ferrer et al., 2019).

Los resultados obtenidos se pueden dar por las composiciones que tiene el salvado de trigo que son la celulosa (9.9/100 g), hemicelulosa (33/100 g) y lignina (9/100 g) mientras que el YPG solo posee glucosa (28.4 g/L). Por lo que, el uso de un medio de cultivo con varias fuentes de carbono hace que el hongo no acepte de mejor manera el nutriente a comparación de un medio clásico como el YPG que solo tiene glucosa como fuente de carbono (Chaquilla et al., 2018).

Optimización diseño central compuesto

Compuesto de fenoles variedad Gris *Pleurotus ostreatus*

A partir de la obtención de fenoles se utilizó un diseño central compuesto para la optimización del medio, determinando las concentraciones adecuadas a las que debe estar el medio de cultivo. En la Tabla 9, se observan los valores codificados y decodificados de las variables a analizar que son: fuente de carbono, fuente de nitrógeno y pH para conocer la influencia en la determinación de fenoles y biomasa de la variedad Gris y Rosa de *Pleurotus ostreatus*.

Tabla 9 Diseño central compuesto determinación de fenoles y biomasa variedad Gris y Rosa *Pleurotus ostreatus*

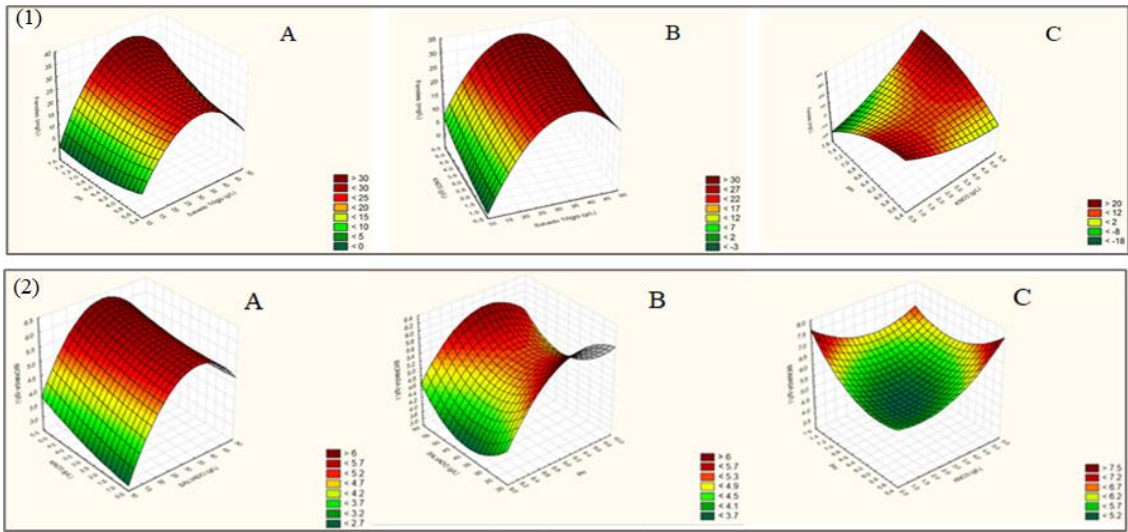
VARIEDAD GRIS									VARIEDAD ROSA							
EXP	Sustrato		Nitrógeno KNO3		pH		Biomasa Fenoles		Sustrato		Nitrógeno KNO3		pH		Biomasa Fenoles	
	Código	(g/L)	Código	(g/L)	Código	(g/L)	(g/L)	(mg/L)	Código	(g/L)	Código	(g/L)	Código	(g/L)	(g/L)	(mg/L)
1	-1	20	-1	2	-1	6	4.896	5.210	-1	20	-1	1	-1	6	27.602	25.299
2	-1	20	-1	2	1	7	4.901	2.305	-1	20	-1	1	1	7	37.873	3.144
3	-1	20	-1	4	-1	6	5.634	1.946	-1	20	-1	3	-1	6	32.361	47.844
4	-1	20	1	4	1	7	5.536	3.892	-1	20	1	3	1	7	35.825	23.952
5	1	40	-1	2	-1	6	5.197	21.138	1	40	-1	1	-1	6	37.723	24.042
6	1	40	-1	2	1	7	6.060	2.575	1	40	-1	1	1	7	37.331	2.695
7	1	40	1	4	-1	6	6.166	0.928	1	40	1	3	-1	6	38.536	49.641
8	1	40	1	4	1	7	6.144	4.251	1	40	1	3	1	7	32.994	18.174
9	-1.682	13	0	3	0	6.5	3.206	7.455	-1.682	13	0	2	0	6.5	44.771	19.311
10	1.682	47	0	3	0	6.5	5.072	34.162	1.682	47	0	2	0	6.5	32.211	7.485

11	0	30	-1.682	1	0	6.5	5.795	5.329	0	30	-1.682	4	0	6.5	36.970	15.539
12	0	30	1.682	5	0	6.5	5.601	31.557	0	30	1.682	0.318	0	6.5	36.789	19.132
13	0	30	0	3	-1.682	5.66	5.348	14.371	0	30	0	2	-1.682	5.66	36.096	15.808
14	0	30	0	3	1.682	7.34	5.995	7.365	0	30	0	2	1.682	7.34	36.217	8.832
15 (C)	0	30	0	3	0	6.5	5.233	7.066	0	30	0	2	0	6.5	1.217	5.449
16 (C)	0	30	0	3	0	6.5	5.834	14.461	0	30	0	2	0	6.5	35.976	6.976
17 (C)	0	30	0	3	0	6.5	5.875	1.377	0	30	0	2	0	6.5	24.078	29.521
18 (C)	0	30	0	3	0	6.5	5.913	8.623	0	30	0	2	0	6.5	36.488	14.461

Nota: De la concentración de la fuente de carbono, nitrógeno y pH para la producción de biomasa y fenoles en la variedad Gris y Rosa de *Pleurotus ostreatus*

Con base en los resultados obtenidos se realizaron los gráficos de superficie de respuesta de la variedad Gris (Ver Gráfico 3 - A, B, C), y de la variedad Rosa (Ver Gráfico 4 - A, B, C), donde se decide ampliar los rangos de estudio durante la optimización.

Gráfico 3 Superficie de respuesta de la concentración de fenoles y biomasa variedad Gris *Pleurotus ostreatus*



Nota: (1) Respuesta de concentración de fenoles; A) Salvado de trigo en función del Nitrógeno (KNO_3), B) Salvado de trigo en función del pH, C) Nitrógeno (KNO_3) en función del pH. (2) Respuesta de concentración de biomasa; A) Salvado de trigo en función del Nitrógeno (KNO_3), B) Salvado de trigo en función del pH, C) Nitrógeno (KNO_3) en función del pH.

Para la determinación de la producción de biomasa como se evidencia en el Gráfico 3, la zona de color rojo oscuro de las variables analizadas indica que existe una producción alta de biomasa mientras que las zonas marcadas en verde y amarillo presentan una producción mínima. En la variedad gris los resultados fueron: una concentración de 38 g/L para el salvado de trigo como fuente de carbono, 6 g/L de KNO₃ como fuente de nitrógeno y un pH de 9. Esto se determinó con las gráficas de superficie y con la Tabla 9 que muestra los valores críticos para esta variedad.

En el Grafico 3 (1 – ABC) se analiza la producción de fenoles de la variedad Gris, donde se observó que la mayor producción de estos se da en concentraciones de salvado de trigo de 30-50 g/L, un pH de 6-7 y con 2-4 g/L de KNO₃. Estudios realizados por Ferrer (2019) demuestran que para la producción de metabolitos secundarios de interés es importante mantener concentraciones de fuente de carbono altas, puesto que la producción de metabolitos aumentará, tomando en cuenta el tiempo de fermentación y la fuente de nitrógeno suministrada ya que con base en los resultados obtenidos se puede evidenciar que la fuente de nitrógeno en concentraciones bajas y altas aportará de manera positiva para la producción de fenoles (Ferrer et al., 2019).

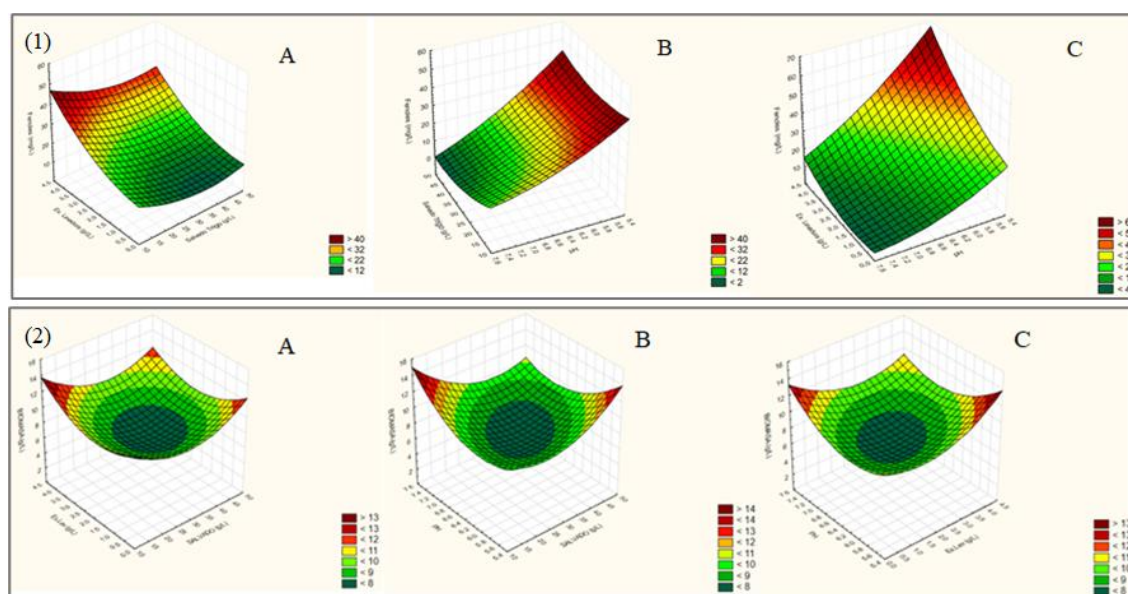
Además, Serna et al. (2006) demuestra la influencia del pH en la producción de metabolitos secundarios es un factor importante, esto se debe a que en un rango de 3-7 se va a obtener un mejor desarrollo de metabolitos de interés, lo cual indica que se debe ampliar los rangos de estudio para una mayor obtención de fenoles en esta variedad (Serna et al., 2006). Por otro lado, para la producción de biomasa en la variedad Gris el diseño central compuesto indica que existe una mayor producción en concentraciones de 30-50 g/L de salvado de trigo, un pH de 7.5 y 2-4 g/L de KNO₃ como se observa en el Grafico 3 (2 – ABC).

En estudios como los de Melaunori et al. (2022) se determina la concentración de biomasa en diferentes cepas del hongo *Pleurotus ostreatus*, el cual evidencia que existe una mayor producción utilizando como fuente de sustrato al salvado de trigo, incluso demuestra que este sustrato genera mayor producción en un periodo de tiempo corto, por lo que es posible reducir el tiempo de fermentación para la obtención de biomasa en esta especie (Melanouri et al., 2022). Sin embargo, del pH se deben mantener en concentraciones bajas con un máximo de 6.5 ya que no solo la fuente de carbono es necesaria para la obtención de biomasa sino, debe existir una relación de C/N y pH para generar una mayor producción de biomasa.

Compuesto de fenoles variedad Rosa *Pleurotus ostreatus*

De la misma manera, se realizó un diseño central compuesto para la variedad rosa, para determinar las concentraciones óptimas a las que se debe encontrar el medio de cultivo. Como se evidencia en la Tabla 9, se observan los valores codificados y decodificados de las variables a analizar que son: fuente de carbono, fuente de nitrógeno y pH para conocer la influencia en la determinación de fenoles y biomasa de la variedad Rosa de *Pleurotus ostreatus*. Con base en los resultados obtenidos se realizaron gráficas de superficie de respuesta, donde se decide ampliar los rangos de estudio durante la optimización.

Gráfico 4 Superficie de respuesta de la concentración de fenoles y biomasa variedad Rosa *Pleurotus ostreatus*



Nota: (1) Respuesta de concentración de fenoles; A) Salvado de trigo en función del Nitrógeno (KNO_3), B) Salvado de trigo en función del pH, C) Nitrógeno (KNO_3) en función del pH. (2) Respuesta de concentración de biomasa: A) salvado de trigo en función del Nitrógeno (extracto de levadura), B) salvado de trigo en función del pH, C) Nitrógeno (extracto de levadura) en función del pH.

Para la producción de biomasa se muestra que la zona de color rojo oscuro de las variables analizadas indica que existe una producción alta de biomasa mientras que las zonas marcadas en verde y amarillo presentan una producción mínima de biomasa. En la variedad Rosa los resultados fueron: pH con un valor crítico de 6.47; salvado de trigo en una concentración de 30.63 g/L y extracto de levadura en 2.07 g/L como se evidencia en la Tabla 9. Para tener una mejor producción de biomasa en esta variedad se decide ampliar los rangos de estudio.

Tabla 10 Valores críticos variedad Rosa *Pleurotus ostreatus*

	Valor mínimo	Valor Crítico	Valor observado	Máximo
Salvado de Trigo (g/L)	13.00000	30.63295	47.00000	
Extracto de Levadura (g/L)	0.31800	2.07151	4.00000	
pH	5.65900	6.47803	7.34100	

En el Gráfico 4 (1-ABC) que corresponde a la variedad Rosa los rangos de concentraciones que producen mayor cantidad de fenoles son 25-50 g/L de salvado de trigo, un pH 5.4-6.4 y 3.5-4 g/L de extracto de levadura. Tomando en cuenta estudios previos se demuestra que la producción de metabolitos secundarios por hongos saprofitos tiene una relación de producción cuando adquiere el suministro de nutrientes, sales, fuentes de carbono altas en carbohidratos; además, se debe tomar en cuenta factores como el pH, tiempo de incubación y temperatura ya que si estos se alteran y no son los adecuados la producción de fenoles se va a ver reducida generando pérdidas en la producción de metabolitos de interés (Huang, 2010).

Por otro lado, para esta variedad como se observa en el Gráfico 4 (2-ABC) la mayor cantidad de biomasa se da en concentraciones de 50 g/L de salvado de trigo, pH de 7.5 y una concentración de extracto de levadura de 4.5 g/L. Guillén et al. (2014) determinó que al incrementar la concentración de la fuente de carbono se aumenta la producción de biomasa, pero esto genera que exista un bajo rendimiento en relación a la biomasa y fuente carbono, demostrando que se necesita un constante suministro de la fuente de carbono seleccionada (Guillén et al., 2014). Con base en los resultados obtenidos se optó por realizar un segundo proceso de optimización para la biomasa y fenoles teniendo en cuenta que los fenoles al ser un metabolito secundario no están relacionados con el desarrollo del organismo.

Optimización 2 diseño central compuesto

Diseño central compuesto de fenoles y biomasa variedad Gris

Mediante la aplicación de un diseño central compuesto, se obtuvieron gráficas de superficie de respuesta para conocer la relación entre las variables de fuente de carbono, fuente de nitrógeno y pH para determinar la influencia de estas en la producción de fenoles y biomasa. Por medio de

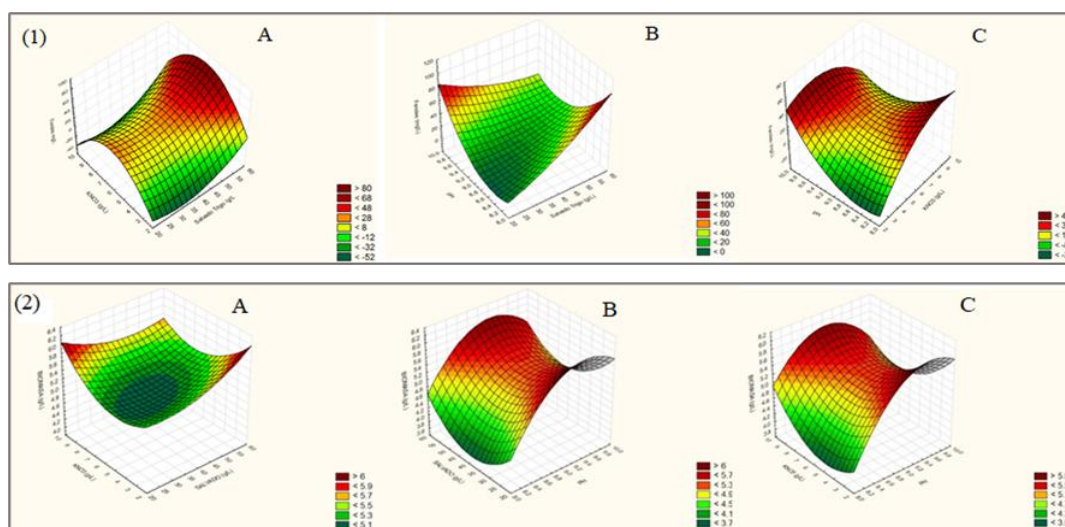
estas gráficas se determinó la máxima producción de fenoles y biomasa y las concentraciones que deben tener cada una de las variables como se observa en el Grafico 5.

La zona de color rojo oscuro de las variables analizadas indica que existe una producción alta de fenoles Gráfico 5 (1 - ABC), mientras que las zonas marcadas en verde y amarillo presentan una producción mínima de este metabolito secundario. En la variedad Gris los resultados fueron: una concentración de 35 g/L para el salvado de trigo como fuente de carbono, 6 g/L de KNO3 como fuente de nitrógeno y un pH de 8. Además, se muestra la Tabla 11 del diseño central compuesto para esta variedad con un total de 18 experimentos.

Tabla 11 Diseño central compuesto determinación de fenoles y biomasa variedad Gris y Rosa *Pleurotus ostreatus*

VARIEDAD GRIS									VARIEDAD ROSA								
EXP	Sustrato		Nitrógeno KNO3		pH		Biomasa		Fenoles	Sustrato	Nitrógeno KNO3		pH		Biomasa		Fenoles
	Código	(g/L)	Código	(g/L)	Código	(g/L)	(g/L)	(g/L)	(mg/L)	Código	(g/L)	Código	(g/L)	Código	(g/L)	(g/L)	(mg/L)
1	-1	30	1	8	-1	8.5	5.041	5		-1	30	1	8	-1	8.5	10.111	72.994
2	-1	30	-1	4	-1	8.5	4.997	2.156		-1	30	-1	4	-1	8.5	10.146	18.443
3	-1	30	0	6	0	9	5.553	3.413		-1	30	0	6	0	9	11.308	77.425
4	-1	30	1	8	1	9.5	5.3	10.419		-1	30	1	8	1	9.5	11.25	51.108
5	1	50	-2	3	0	90	5.423	2.964		1	50	-1	3	0	90	11.082	50
6	1	50	-1	4	1	9.5	5.495	19.222		1	50	-1	4	1	9.5	11.227	13.743
7	1	50	1	8	1	9.5	5.062	20.659		1	50	1	8	1	9.5	10.66	27.036
8	1	50	1.682	9	0	9	5.579	9.251		1	50	1.682	9	0	9	11.718	78.922
9	-1.682	23	-1	4	-1	8.5	4.995	7.665		-1.682	23	-1	4	-1	8.5	10.747	68.353
10	1.682	57	1	8	-1	8.5	5.295	63.473		1.682	57	1	8	-1	8.5	11.36	24.701
11	0	40	0	6	0	9	5.562	22.485		0	40	0	6	0	9	11.683	52.156
12	0	40	0	6	0	9	5.557	7.485		0	40	0	6	0	9	10.527	65.808
13	0	40	0	6	-1.682	8.16	3.942	22.156		0	40	0	6	-1.682	8.16	10.799	71.587
14	0	40	0	6	0	9.5	6.002	33.114		0	40	0	6	0	9.5	10.932	64.76
15	0	40	0	6	1.682	9.84	4.92	55.15		0	40	0	6	1.682	9.84	9.608	39.072
(C)																	
16	0	40	0	6	0	9	4.216	26.138		0	40	0	6	0	9	8.55	23.323
(C)																	
17	0	40	-1	4	1	9.5	5.221	9.641		0	40	-1	4	1	9.5	12.336	78.952
(C)																	
18	0	40	0	6	0	9	4.569	30.15		0	40	0	6	0	9	11.562	68.952
(C)																	

Nota: De la concentración de la fuente de carbono, nitrógeno y pH para la producción de biomasa y fenoles en la variedad Gris y Rosa de *Pleurotus ostreatus*

Gráfico 5 Superficie de respuesta de la concentración de fenoles y biomasa variedad *Gris Pleurotus ostreatus*

Nota: **(1)** Respuesta de concentración de fenoles; A) Salvado de trigo en función del Nitrógeno (KNO₃), B) Salvado de trigo en función del pH, C) Nitrógeno (KNO₃) en función del pH. **(2)** Respuesta de concentración de biomasa: A) salvado de trigo en función del Nitrógeno (extracto de levadura). B) salvado de trigo en función del pH. C) Nitrógeno (extracto de levadura) en función del pH.

La zona de color rojo oscuro de las variables analizadas indica que existe una producción alta de biomasa Gráfico 5 (2 – ABC) mientras que las zonas marcadas en verde y amarillo presentan una producción mínima de biomasa. En la variedad Gris los resultados fueron: una concentración de 35 g/L para el salvado de trigo como fuente de carbono, 6 g/L de KNO₃ como fuente de nitrógeno y un pH de 8.

Con base en los resultados obtenidos se puede asegurar que se necesita una mayor concentración de salvado de trigo y de KNO₃ como fuente de nitrógeno para que exista una mayor producción de fenoles. A su vez en la producción de biomasa se puede observar que se necesitan concentraciones altas de carbono y nitrógeno para una mejor producción, además de un pH en rangos superiores a 9. Ferrer et al. (2019) evidencia que el tiempo de cultivo en una de las variables que influye en la producción de fenoles puesto que en la determinación de fenoles dada por *Leucopaxillus giganteus* en fermentación sumergida obtuvo un mejor comportamiento a los 15 y 60 días manteniendo concentraciones altas de carbono y nitrógeno para la obtención de este metabolito secundario (Ferrer et al., 2019).

En el caso de la biomasa se puede inferir que la concentración se debe mantener en 40-50 g/L de la fuente de carbono para no tener un valor dependiente en el efecto de la relación C/N, sin

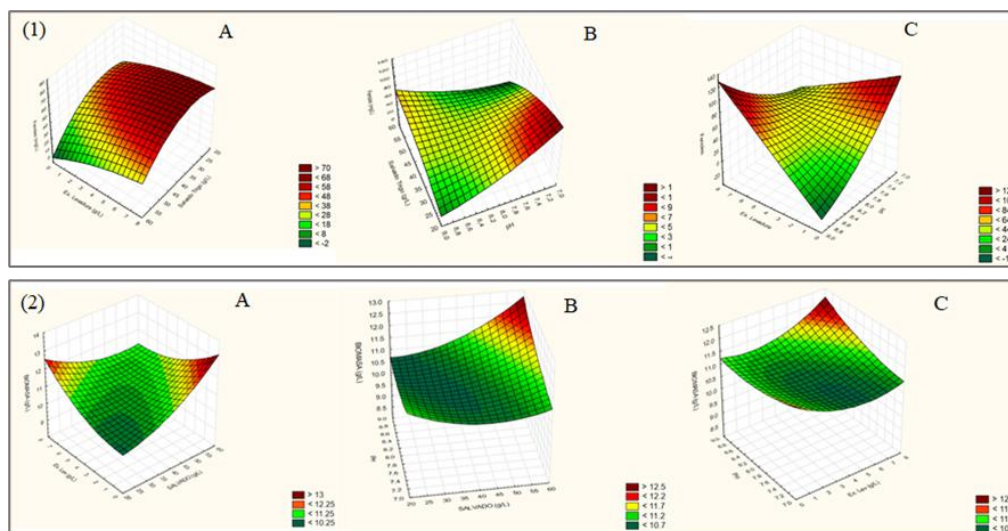
embargo, en concentraciones bajas de la fuente de carbono para la producción de biomasa la relación entre C/N puede llegar a ser significativa lo cual determina que exista una baja producción de biomasa (Ferrer et al., 2019).

Diseño central compuesto de fenoles y biomasa variedad Rosa

De la misma forma, se realizó un diseño central compuesto para la variedad osa donde se obtuvieron gráficas de superficie de respuesta para estudiar la relación entre las variables de pH, fuente de carbono, fuente de nitrógeno y su influencia en la producción de fenoles y biomasa. El Grafico 6 de superficie de respuesta muestran las concentraciones adecuadas para la obtención de fenoles como metabolito secundario del hongo *Pleurotus ostreatus* y la producción de biomasa del mismo.

La zona que se encuentra en color rojo oscuro de las variables analizadas indica que existe una producción máxima de fenoles, mientras que, las zonas en color amarillo y verde presentan una producción baja de fenoles. En base a esto, se obtienen los resultados de optimización para la variedad rosa que son: 35g/L de salvado de trigo como fuente de carbono, 8 g/L de extracto de levadura como fuente de nitrógeno y un pH de 7. Además, se muestra la Tabla 11 del diseño central compuesto para esta variedad con un total de 18 experimentos.

Gráfico 6 Superficie de respuesta de la concentración de fenoles y biomasa variedad Rosa *Pleurotus ostreatus*



Nota: (1) Respuesta de concentración de fenoles; A) Salvado de trigo en función del Nitrógeno (extracto de levadura), B) Salvado de trigo en función del pH, C) Nitrógeno (extracto de levadura) en función del pH. (2) Respuesta de concentración de biomasa: A) Salvado de trigo en función del Nitrógeno (extracto de levadura), B) Salvado de trigo en función del pH. C) Nitrógeno (extracto de levadura) en función del pH

En cuanto a la biomasa se puede observar que se necesitan concentraciones de salvado de trigo altas con un pH en rangos de 5-9 para obtener una mejor producción, además de un contenido de extracto de levadura superior a los 6 g/L, por lo que basándose en las gráficas se determinaron las concentraciones de las variables analizadas que son: 35 g/L de salvado de trigo como fuente de carbono, 8 g/L de extracto de levadura como fuente de nitrógeno y un pH de 7.

En el caso de la variedad Rosa de *Pleurotus ostreatus* se puede evidenciar que para que exista una mejor producción de compuestos fenólicos se deben mantener concentraciones de salvado de trigo y extracto de levadura como fuente de nitrógeno altas, manteniendo el pH en 7-8. Autores como Petre (2015) mencionan que, la determinación de la fuente de carbono y nitrógeno es muy importantes para la obtención de metabolitos secundarios de interés.

Es por esto que el extracto de levadura en varias ocasiones no es la mejor fuente de nitrógeno ya que no suele ser tan efectiva, más bien es utilizada como suplemento de minerales y vitaminas para un mejor desarrollo del hongo *Pleurotus ostreatus*. Sin embargo, en la producción de metabolitos como los fenoles se ha demostrado que las concentraciones de extracto de levadura entre 6-8 g/L actúan de manera positiva para obtener una mejor producción de fenoles totales (Petre, 2015).

Para la biomasa ocurre algo distinto, puesto que, basándose en las gráficas obtenidas la concentración de salvado de trigo se debe mantener en rangos elevados, pero el extracto de levadura no tiene una diferencia significativa ya que en concentraciones mínimas o altas se va a ver una producción de biomasa, tomando en cuenta que el pH para la producción de biomasa se debe encontrar en rangos más bajos entre 4.5-6 es por ello que en la gráfica se muestra una baja producción de biomasa a pH alto.

En este caso, coinciden Guillén et al. (2014), quienes muestran que los hongos de pudrición blanca como lo es *Pleurotus ostreatus* para que exista una producción elevada de biomasa el pH óptimo debe ser 5.5 ya que a pH mayores a 6 el crecimiento se ve afectado (Guillén et al., 2014). Por otro lado, Confortin et al (2008) observó que existe un incremento gradual de biomasa cuando el pH logra llegar a 7, tomando en cuenta que esto puede variar en dependencia de la variedad que se esté utilizando del hongo y los metabolitos producidos por el mismo, por lo que se puede incrementar o reducir su crecimiento en pH más altos o bajos (Confortin et al., 2008).

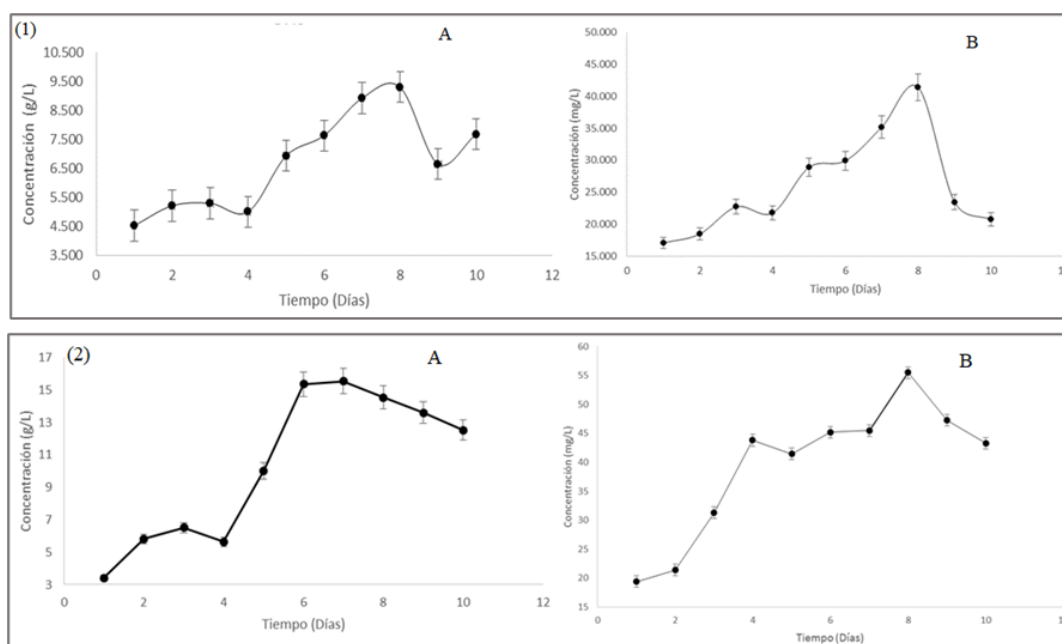
Validación del crecimiento de biomasa y fenoles por un periodo de 10 días

Durante 10 días de fermentación se evaluó el crecimiento de biomasa y fenoles en el medio de cultivo alternativo para la variedad Gris y Rosa descrito en puntos anteriores. Se construyeron

curvas de crecimiento tomando una alícuota de 6mL cada 24 horas por el tiempo establecido. Como se observa en el Gráfico 7 (1-AB) para la variedad Gris la fase de latencia se mantiene durante 4 días para la producción de biomasa.

En el caso de los fenoles a partir del tercer día existe un incremento en la concentración de este metabolito secundario. La fase exponencial se mantiene durante el día 5 al día 9 hasta llegar a tener una concentración de 9.049 g/L de biomasa. En los fenoles la fase exponencial se mantiene a partir del día 3 al día 8 con una concentración final de 41.377 mg/L; por lo que es posible evidenciar un aumento significativo en el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* de esta variedad utilizando las concentraciones adecuadas de salvado de trigo, KNO₃ y un pH de 8.

Gráfico 7 Curvas de biomasa y fenoles variedad Gris y Rosa *Pleurotus ostreatus*



Nota: **(1)** Variedad Gris; (A) Curva de crecimiento de biomasa, (B) Curva de concentración de fenoles por 10 días.

(2) Variedad Rosa; (A) Curva de crecimiento de biomasa, (B) Curva de concentración de fenoles por 10 días.

Para la variedad Rosa, se obtuvieron curvas de crecimiento como se muestran en el Gráfico 7 (2 – AB), donde se observó que la fase de latencia para la producción de biomasa se mantiene a su vez hasta el cuarto día; para los fenoles en el tercer día este empieza a tener un mejor desarrollo. La fase exponencial se mantuvo para la producción de biomasa del día 4to al 7mo con un valor de 15.55 g/L demostrando que a partir de ese día existe un periodo de latencia reduciendo la producción de biomasa ya que el día 10 es el que presenta una menor concentración de biomasa.

Para los fenoles en esta variedad la producción aumenta desde el día 3 al día 8 con una concentración final de 55.48 mg/L; a su vez es posible evidenciar un aumento significativo en la producción de biomasa y fenoles pese a que los metabolitos secundarios son los que se encuentran en mayor concentración durante los 10 días de fermentación para la variedad Rosa de *Pleurotus ostreatus*.

En las curvas de crecimiento de biomasa de las variedades Gris y Rosa, se observó que por 4 días se mantiene la fase de latencia, a partir del quinto día empieza la fase exponencial, sin embargo, para las dos variedades se evidencia un descenso en la producción de biomasa durante el día 9 y 10. Estudios realizados por Vamanu (2012) demuestran que es normal que la fase de latencia se mantenga durante los cuatro primeros días, mientras que la fase estacionaria es posible evidenciarla entre el sexto y séptimo día lo cual manifiesta que para la obtención de metabolitos secundarios de interés es óptimo tener mayores concentraciones en este lapso de tiempo.

Además, Mumpini (2017) demostró que existen casos en los cuales la fase estacionaria se prolonga hasta el día 28 lo cual permite tener mayor concentración de metabolitos secundarios, pero es importante tomar en cuenta los requerimientos, condiciones de cultivo, sustrato y fuente de nitrógeno utilizada para que la producción se vea reflejada en un periodo de tiempo más largo. Estudios realizados por Bettin (2011) han demostrado que, al cabo de 177 horas, existe un descenso en la concentración celular para la producción de biomasa hasta en un 69%.

Esto se debe a que el hongo *Pleurotus ostreatus* reporta este problema en fermentación sumergida ya que se produce una autólisis del micelio. Otro de los factores que pudieron afectar en la producción de biomasa durante 10 días es que, como se nota el crecimiento varía con el paso de los días y se asocia a que a partir del día 5 existen aumentos de viscosidad en el medio de cultivo y esto ocasiona que sea más difícil obtener una homogeneización de la muestra (Bettin et al., 2011). Por otro lado, en la determinación de los fenoles esta no se encuentra asociada de forma directa al crecimiento. Por lo que, se deben favorecer las condiciones para tener un máximo rendimiento del producto final. Como se menciona, existe un aumento y descenso de la concentración de fenoles en diferentes días. Lo cual se debe a que puede existir una limitación en la fuente de carbono y está empezado a disminuir causando estrés, esto provoca que exista una alteración por día en la concentración de metabolitos secundarios obtenida.

Es notable que la concentración fenólica empieza a aumentar a partir del segundo día, teniendo variaciones que van a depender de lo explicado anteriormente (Ferrer et al., 2016). En el análisis

estadístico ANOVA, se obtuvo un valor de p de 7.39×10^{-6} para la biomasa, para los fenoles se obtuvo un valor de p de 3.571×10^{-7} en la variedad Gris. Para la variedad Rosa se obtuvo el valor de p de 2.2×10^{-6} para la biomasa y para los fenoles el valor de p fue de 3.617×10^{-6} es decir, existen diferencias significativas en el crecimiento de la biomasa de las dos variedades del hongo *Pleurotus ostreatus*.

A su vez, en la concentración de fenoles por medio de los valores obtenidos por el análisis estadístico se demostró que también existen diferencias significativas en la concentración de fenoles determinada durante los 10 días de validación del medio de cultivo optimizado. Estos valores se pueden contrastar basándose en el estudio de Pérez y Castañeda (2016) donde se demuestra que el uso de componentes como la fuente de carbono, nitrógeno y sales para el desarrollo de los hongos es importante ya que el resultando va a ser proporcional a la cantidad de biomasa que se obtenga en el medio durante los días requeridos (Pérez y Castañeda, 2016).

Tabla 12 Parámetros cinéticos obtenido a partir de las concentraciones de biomasa y fenoles

	$\mu_{\text{máx.}}$ (h ⁻¹)	td (h)	rx (g/L*día)	rp (mg/L*día)	qp (día ⁻¹)	Yp/x (gp/gx)
Variedad Gris	0.006	107	1.317	4.905	5.27E-04	4.56E-03
Variedad Rosa	0.021	33.20	0.203	4.860	3.70E-04	3.51E-03

Nota: medio alternativo a base de salvado de trigo

Finalmente, es importante calcular los parámetros cinéticos a partir de las concentraciones iniciales y finales tanto de biomasa como de fenoles como se observa en la Tabla 10, las cuales fueron determinadas con base en la fase exponencial para obtener una mejor concentración de los parámetros analizados. Al contrastar los parámetros obtenidos en base en los estudios realizados por Salmenes et al. (2018) en *Pleurotus ostreatus* para determinar fenoles se utilizaron componentes como el ftalato (DEHF) el cual ayuda a que la concentración de fenoles aumente, debido a esto se obtuvo un valor de la velocidad máxima de crecimiento $\mu_{\text{máx.}}$ de 0.018 y 0.21 (h^{-1}) determinando que la biomasa con el suministro de este componente ayuda a tener un mejor desarrollo.

Además, se reportó que esta especie después de 96 horas de crecimiento en medio líquido sin adición de xenobióticos es capaz de desarrollarse en el mismo (Salmones, 2018). Por otro lado, en estudios como el de Bettin et al, (2011) el valor de la $\mu_{\text{máx}}$ es similar a la obtenida en este estudio donde utilizaron como fuente de carbono el trigo y un tiempo de fermentación de 14 días, por lo que se puede asegurar que el tiempo de fermentación es uno de los factores importantes para obtener el valor de μ_{max} y ver el desarrollo de la biomasa en un medio de cultivo sumergido (Bettin et al., 2011). Para el tiempo de duplicación se puede observar que en la variedad Rosa es menor a comparación de la Gris lo que evidencia que a la variedad Gris le toma más tiempo en multiplicarse tardando 107 horas. Comparando con el estudio de Navarro (2018) el tiempo de duplicación para diferentes cepas de hongos en las que se encuentra también *Pleurotus ostreatus* se obtuvo un valor de 5.20 h^{-1} y para *P. djamor* un td de 6.26 h^{-1} , esto fue realizado utilizando como fuente de carbono a la glucosa, lo que se demuestra en este estudio es que la glucosa influye a que el tiempo de duplicación sea menor que con el suministro de otras fuentes de carbono.

Con base en lo demostrado en el análisis de González, la fuente de carbono puede retardar al tiempo de duplicación de *Pleurotus ostreatus* (Navarro, 2018). Adicionalmente, Godínez et al. (2009) realizó estudios de *Pleurotus ostreatus* utilizando diferentes fuentes de nitrógeno y pH donde evidencia que el q_p llega a tener valores mayores cuando el medio de cultivo tiene concentraciones de pH entre 4.5 y 6, debido a que en los hongos de pudrición blanca la regulación del pH en el medio inicial ayuda a que el valor de q_p sea mayor y que no existan interacciones con otros compuestos que se encuentren en el medio de cultivo.

Sin embargo, es importante aclarar que este estudio fue realizado para determinar lacasas (Zaragoza et al., 2009), en contraste con el estudio de Beltrán et al (2021) se manifiesta que en varias ocasiones para la determinación de metabolitos secundarios en medios sumergidos con hongos es importante que el pH esté en concentraciones altas para que se pueda obtener mayores concentraciones por lo que el valor de q_p puede variar con relación al estudio a realizar (Beltrán et al., 2021).

Conclusiones

La optimización de un medio de cultivo alternativo en fase sumergida, fundamentado en la valorización de residuos agroindustriales y materias primas de bajo costo, para la producción dual de biomasa fúngica y compuestos fenólicos a partir del hongo saprófito *Pleurotus ostreatus*,

representa un avance significativo hacia una biorrefinería más sostenible y económicamente viable. Los resultados obtenidos en esta investigación no solo corroboran el potencial de este hongo como un eficiente biorreactor, sino que también iluminan las intrincadas interacciones entre la composición del medio, las condiciones de cultivo y la producción de metabolitos primarios y secundarios de alto valor añadido.

La identificación del salvado de trigo como una fuente de carbono particularmente eficaz para la inducción de altas concentraciones de fenoles reviste una importancia considerable. Este residuo agroindustrial, abundante y a menudo subutilizado, emerge como un sustrato no solo económico sino también inductor de vías metabólicas secundarias en *Pleurotus ostreatus* conducentes a la síntesis de estos compuestos bioactivos. Los fenoles, conocidos por sus potentes propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas, tienen amplias aplicaciones en las industrias alimentaria, farmacéutica y cosmética. La capacidad de obtenerlos a partir de un subproducto de la agricultura añade una dimensión de sostenibilidad y circularidad a su producción, alineándose con los principios de la economía circular y la biotecnología verde.

Asimismo, la selectividad observada en las fuentes de nitrógeno, con el extracto de levadura y el nitrato de potasio (KNO_3) favoreciendo la producción de biomasa y fenoles respectivamente en diferentes variedades del hongo, subraya la importancia de la adaptación del medio a las necesidades nutricionales específicas de cada cepa para maximizar la producción del metabolito de interés. El extracto de levadura, rico en aminoácidos, vitaminas del grupo B y otros factores de crecimiento estimula el metabolismo primario y, por ende, el crecimiento micelial. Por otro lado, la respuesta diferencial al KNO_3 sugiere que la disponibilidad y la forma del nitrógeno pueden influir en las rutas metabólicas secundarias, desviando el flujo de carbono hacia la síntesis de fenoles bajo ciertas condiciones.

No obstante, la influencia del pH en la producción de biomasa y fenoles revela una relación compleja y a menudo antagónica, la observación de que un pH más bajo favorece el crecimiento micelial, en concordancia con la literatura científica sobre el cultivo de *Pleurotus ostreatus*, destaca la importancia de mantener condiciones óptimas para la actividad enzimática involucrada en la asimilación de nutrientes y la síntesis de componentes celulares. En contraste, la tendencia de un pH más alto a incrementar la concentración de metabolitos secundarios como los fenoles sugiere la activación de mecanismos de estrés o la modulación de enzimas clave en la vía fenilpropanoide, la principal ruta biosintética de estos compuestos. Esta dicotomía subraya la necesidad de una

optimización precisa del pH, posiblemente mediante estrategias de control dinámico durante la fermentación, para equilibrar la producción de biomasa y la acumulación de fenoles.

El análisis cinético de la producción de biomasa y fenoles a lo largo de un periodo de fermentación de 10 días proporcionó información valiosa sobre la dinámica metabólica de *Pleurotus ostreatus* en el medio optimizado, la constatación de una alta producción de fenoles entre los días 2 y 8, y valores elevados de biomasa durante la fase exponencial (días 4, 6 y 8), sugiere una secuencia temporal en la que la biomasa se acumula inicialmente, seguida de una intensa actividad metabólica secundaria que culmina en la producción de fenoles. Esta información es crucial para el diseño de estrategias de cosecha optimizadas, permitiendo la recuperación selectiva de biomasa y fenoles en los momentos de máxima concentración.

La comparación con otros estudios en fermentación sumergida resalta la eficiencia del medio optimizado en términos de tiempo de producción y rendimiento de metabolitos. En conjunto, estos resultados conclusivos del estudio resaltan el potencial biotecnológico de los residuos agroindustriales como sustratos de bajo costo para el cultivo de *Pleurotus ostreatus* y la producción simultánea de biomasa y compuestos fenólicos. La optimización del medio, considerando la fuente de carbono, la fuente de nitrógeno y el pH, emerge como una estrategia clave para modular la actividad metabólica del hongo y dirigir el flujo de carbono hacia la producción de los metabolitos deseados. Este enfoque no solo reduce los costos de producción al valorizar residuos, sino que también contribuye a la sostenibilidad ambiental al disminuir la dependencia de medios de cultivo convencionales y reducir la generación de desechos.

Referencias

1. Akter, M., Halawani, R., Ayed, F., y Taleb, A. (2022). Utilization of Agro-Industrial Wastes for the Production of Quality Oyster Mushrooms. *Sustainability*, 14(2). doi:<https://www.mdpi.com/2071-1050/14/2/994>
2. Arévalo, S. (2016). Optimización de la producción del agente de biocontrol candida sake (CPA-1). In Universitat de Lleida (pp. 1–18). <https://acortar.link/9mx25J>
3. Ayşenur, Y., Sibel, Y., Ceyhun, K., y Can, Z. (2016). Total Phenolics, Flavonoids, Tannin Contents and Antioxidant Properties of *Pleurotus ostreatus* Cultivated on Different Wastes and Sawdust. *International Journal of Secondary Metabolite*, 4(1), 1–9. <https://doi.org/10.21448/ijsm.252052>

4. Beltrán Delgado, Y., Morris Quevedo, H., Domínguez, O. D., Batista Corbal, P., y Llauradó Maury, G. (2021). Mycochemical composition and antioxidant activity of *pleurotus ostreatus* mushroom in different growth stages. *Acta Biológica Colombiana*, 26(1), 89–98. <https://doi.org/10.15446/abc.v26n1.84519>
5. Bettin, F., Da Rosa, L. O., Montanari, Q., Calloni, R., Gaio, T. A., Malvessi, E., Da Silveira, M. M., y Dillon, A. J. P. (2011). Growth kinetics, production, and characterization of extracellular laccases from *Pleurotus sajor-caju* PS-2001. *Process Biochemistry*, 46(3), 758–764. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.12.002>
6. Chaquilla-Quilca, G., Balandrán Quintana, R. R., Mendoza-Wilson, A. M., y Mercado-Ruiz, J. N. (2018). Propiedades y posibles aplicaciones de las proteínas de salvado de trigo. *CienciaUAT*, 12(2), 137. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v12i2.883>
7. Confortin, F. G., Marchetto, R., Bettin, F., Camassola, M., Salvador, M., y Dillon, A. J. P. (2008). Production of *Pleurotus sajor-caju* strain PS-2001 biomass in submerged culture. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 35(10), 1149–1155. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0394-x>
8. Contreras, N., Del Olmo, M., García, R., y Vidal, G. (2022). *Pleurotus* Spp., producción, cultivo y propiedades. 81-106. <https://acortar.link/jbFKYi>
9. Ferrer-Romero, J. C., María Mas-Diego, S., Beltrán-Delgado, Y., Rodríguez-Quiala, Y., Joaquín, H., y Quevedo, M. (2019). Optimization of medium composition for the production of *Pleurotus ostreatus* biomass and phenols in submerged fermentation with response surface methodology.
10. Ferrer-Romero, J. C., Mas-Diego, S. M., Beltrán-Delgado, Y., Morris-Quevedo, J., y Díaz-Fernández, U. (2016). Estudio cinético de la producción de biomasa y compuestos fenólicos por *Pleurotus ostreatus* en fase sumergida. Scielo.
11. Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia. (2023). Estado Mundial de la Infancia 2023: Para cada infancia, vacunación. Florencia: Centro Mundial de Investigaciones y Estudios Prospectivos. <https://acortar.link/OrGtvd>
12. Guillén-Navarro, G. K., Márquez-Rocha, F. J., y Sánchez-Vázquez, J. E. (2014). Producción de biomasa y enzimas ligninolíticas por *Pleurotus ostreatus* en cultivo sumergido. *Revista Iberoamericana de Micología*, 15(4), 302–306.

13. Huang. (2010). Determinación de metabolitos secundarios a partir de la cepa nativa cv15nd aislada del páramo cruz verde, Departamento de Cundinamarca. 9(1), 76–99.
14. Jeannette Nieto, I., y Chegwin A, C. (2010). Influencia del sustrato utilizado para el crecimiento de hongos comestibles sobre sus características nutraceuticas. Revista Colombiana de Biotecnología, XII(1), 169–178.
15. Kumar, K. (2020). Nutraceutical Potential and Processing Aspects of Oyster Mushrooms. Current Nutrition y Food Science, 16, 3-14.
doi:<http://dx.doi.org/10.2174/1573401314666181015111724>
16. Mariano, Á. (2015). Manejo Básico de Statistica 7. 1–11.
17. Marina, D., Avella, G., Alberto, C., García, O., y Cisneros, A. M. (2008). Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para Alimentación Animal. Simposio de Metrología, 1–5.
http://cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf
18. Melanouri, E. M., Dedousi, M., y Diamantopoulou, P. (2022). Cultivating *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* mushroom strains on agro-industrial residues in solid-state fermentation. Part I: Screening for growth, endoglucanase, laccase and biomass production in the colonization phase. Carbon Resources Conversion, 5(1), 61–70.
<https://doi.org/10.1016/j.crcon.2021.12.004>
19. Meléndez, J., Castillo, S., Peña, Y., y Yépez, T. (2015). Degradación de compuestos fenólicos en efluentes simulados por acción de la enzima lacasa obtenida a partir del hongo *Pleurotus Ostreatus* (Degradation of Phenolic compounds in simulated effluents by action of the enzyme laccase obtained from fungus *Pleuro*).
20. Mumpuni, A., Ekowati, N., Purnomowati, P., y Purwati, E. S. (2017). Growth and Protein Content Establishment of *Pleurotus ostreatus* on Liquid and Solid Medium. Biosaintifika: Journal of Biology y Biology Education, 9(3), 572.
<https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v9i3.11660>
21. Navarro, P. (2018). Recuperación de proteínas del proceso de fabricación de extractos de malta para la elaboración de un concentrado proteico. 93.
<http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/153365>
22. Nieto, J., y Chegwin, C. (2010). Efecto del sustrato en hongos nutraceuticos169Rev. Colomb. Biotecnol. Vol. XII No. 1 Julio 2010 169-178 169Influencia del sustrato

- utilizado para el crecimiento de hongos comestibles sobre sus características nutraceuticas. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 169-178.
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/15631>
23. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura; Fondo Internacional de Desarrollo Agrícola; Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia; Programa Mundial de Alimentos; Organización Mundial de la Salud. (2024). *El Estado de la Seguridad Alimentaria y la Nutrición en el Mundo. Financiación para acabar con el hambre la inseguridad alimentaria y la malnutrición en todas sus formas*. Roma.
<https://acortar.link/SwEq6q>
24. Organización de las Naciones Unidas. (2018). *Objetivos del Desarrollo Sostenible*.
<https://acortar.link/QhBzd5>
25. Pérez, B., y Castañeda, S. (2016). Propagación in vitro de orquídeas nativas como una contribución para la conservación ex situ. *Biotecnología Vegetal*, 16(3), 143–151.
26. Petre, M. (2015). *Mushroom Biotechnology: Developments and Applications*. In *Mushroom Biotechnology: Developments and Applications*. Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/C2014-0-03106-1>
27. Ricco, R. A., Agudelo, I. J., y Wagner, M. L. (2015). Métodos empleados en el análisis de los polifenoles en un laboratorio de baja complejidad. *Lilloa*, 52(2), 161–174.
<http://www.lilloa.org.ar/revis/lilloa/2015-52-2/07.pdf>
28. Rodríguez-Ortiz, G., García-Aguilar, J. Á., Leyva-López, J. C., Ruiz-Díaz, C., Enríquez-Del Valle, J. R., y Santiago-García, W. (2019). Structural biomass and by compartments of *Pinus Patula* regeneration in clearcutting sites. *Madera y Bosques*, 25(1).
<https://doi.org/10.21829/myb.2019.2511713>
29. Salmones, D. (2018). *Pleurotus djamor*, un hongo con potencial aplicación biotecnológica para el neotrópico. *Scientia Fungorum*, 46, 73–85.
<https://doi.org/10.33885/sf.2017.46.1177>
30. Sánchez, I. (2012). Nutrientes y compuestos bioactivos del trigo: fibra y polifenoles
31. Serna, C. P., Cadavid, A. S., Armando, A., Vega, S., Alberto, B., y Rojano, R. (2006). Establecimiento de un medio de cultivo sumergido para una cepa nativa de un hongo Poliporal Establishment of a submerged culture medium for a native strain of a Poliporal mushroom. *VIII*, 5–13.

32. Tesfay, T., Godifey, T., Mesfin, R., y Kalayu, G. (2020). Evaluation of waste paper for cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) with some added supplementary materials. *AMB Express*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-020-0945-8>
33. Vamanu, E. (2012). Biological activities of the polysaccharides produced in submerged culture of two edible *Pleurotus ostreatus* mushrooms. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/565974>
34. Varnero María T, Quiroz Madelaine S, y Á. C. H. (2010). Utilización de residuos forestales lignocelulósicos para producción del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*). *Información Tecnológica*, 21(2), 13–20. <https://doi.org/10.1612/inf.tecnol.4154it.09>
35. Vera, M. E. F. (2021). Evaluación de la capacidad antioxidante del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus*).
36. Zaragoza Monroy, A. R., Moreno Hernández Duque, J. L., Rodríguez, M. G., y Guevara Lara, F. (2009). Análisis de los compuestos fenólicos de los hongos comestibles huitlacoche (*Ustilago maydis*) y setas (*Pleurotus ostreatus*) y evaluación de algunas de sus posibles propiedades nutraceuticas. Quinto Congreso Estatal “La Investigación en el Posgrado.”

© 2025 por el autor. Este artículo es de acceso abierto y distribuido según los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).