

Centro de Estudios de Biotecnología Industrial

INFLUENCIA DE LA LUZ EN LA CALIDAD PROTEICA DE *PLEUROTUS OSTREATUS* VAR. *FLORIDA*

Dra. Rosa Catalina Bermúdez Savón, Lic. Humberto Joaquín Morris Quevedo, Dr. Carlos Donoso Fernández, Lic. Clara Esther Martínez Manrique y Dr. Edgar Iván Ramos Sevilla

RESUMEN

Se evaluó el efecto del tiempo de exposición a la luz durante el período de fructificación de *Pleurotus ostreatus* var. *florida* en la concentración de proteínas totales y su calidad, expresada en función de la composición aminoacídica. El cultivo se desarrolló mediante fermentación en estado sólido sobre residuales cacaoteros en Ecuador, y las fructificaciones recibieron períodos de luz de 4, 8 y 12 h. No se apreciaron variaciones en la concentración de proteínas totales, que mostraron valores de 28,37, 28,68 y 28,89 %, en los cultivos expuestos a 4, 8 y 12 h de luz, respectivamente. La luz no influyó en la composición aminoacídica de *P. ostreatus* y el índice modificado de aminoácidos esenciales fue como promedio 57,88. La metionina constituyó el primer limitante, al representar 47,8 % del requerimiento, respecto al huevo entero. Estos resultados permitieron abordar con mayor profundidad el potencial nutricional de *P. ostreatus* cultivado sobre subproductos agrícolas.

DeCS: AGARICALES; PLEUROTUS; AMINOACIDOS; PROTEINAS.

El reciente ascenso experimentado en el campo de la medicina natural y tradicional como una alternativa para el tratamiento de varios trastornos fisiológicos y el reconocimiento de numerosos modificadores biológicos en las setas comestibles, ha conducido a la definición del término “setas nutricéuticas”.¹

El conocimiento de los hongos se ha incrementado de tal forma, que actualmente es motivo de investigación por numerosos especialistas. Han surgido nuevos conocimientos que incluyen aspectos taxonómicos, ecológicos, nutricionales y más reciente, los temas farmacológicos y bioquímicos.

Uno de los aspectos más explotados es su utilización como alimento humano, por su fácil y masiva propagación en sustratos naturales y sus características organolépticas. Algunas especies se destacan por su valor nutricional, en particular por su calidad proteica, y para su cultivo se han implementado tecnologías semicomerciales o comerciales.²

Los hongos del género *Pleurotus* son potentes agentes biológicos que convierten los subproductos orgánicos no comestibles en alimentos humanos de buena palatabilidad. Además, hacen posible la producción de alimentos independientemente del

proceso de fotosíntesis. Su eficiencia de conversión de proteína por unidad de área y por unidad de tiempo, es muy superior a las fuentes de proteína animal.³

En Ecuador no se ha valorado la potencialidad ecológica y económica de muchos subproductos agrícolas, que en la mayoría de los casos son quemados o arrojados a los basureros, quebradas y ríos, sin ningún tratamiento previo, y contribuyen de esta manera a la degradación del ecosistema.⁴ Entre las ventajas que ofrece el cultivo de *Pleurotus* se destacan: la posibilidad de cultivarse en climas tropicales, la simplicidad en la tecnología de producción y la posibilidad de utilizar una amplia gama de sustratos, entre estos una gran variedad de subproductos agrícolas e industriales como la paja de arroz, el bagazo de caña, la pulpa de café, los residuales del cacao y el pasto seco, entre otros.⁵

La síntesis de muchos compuestos celulares difiere ampliamente cuando los hongos son cultivados en ausencia o presencia de luz natural.⁶ En un trabajo previo, se refirió el efecto de la luz en la concentración de micosteroides de *Pleurotus ostreatus* var. *florida*.⁷ En la presente investigación, se evalúa la influencia de la luz sobre el contenido de proteínas totales y su calidad, expresada en función de la composición aminoacídica, en la biomasa de *P. ostreatus* cultivado mediante fermentación en estado sólido (FES), en un sustrato basado en subproductos del cacao.

MÉTODOS

La investigación se realizó en el Departamento de Biotecnología de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicada en la ciudad de Riobamba, a 2 756 m sobre el nivel del mar con una temperatura ambiente promedio de 15 °C y una humedad relativa de 30-40 %.

Cepa utilizada: se empleó la cepa de *Pleurotus ostreatus* var. *florida* CP-184, cedida gentilmente por la colección del Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (Universidad de Oriente, Cuba).

Preparación del inóculo: se utilizaron frascos de vidrio transparentes en los que se depositó aproximadamente 400 g de semillas de trigo lavadas, hidratadas y sumergidas en una solución de Benomyl 0,02 %, para luego someterlas a esterilización a 121 °C y 15 lb/pulgadas² de presión durante 1 h. La proporción de inóculo adicionado al sustrato equivale a 10 % en relación con el peso húmedo.

Fermentación en estado sólido: los residuales del cacao fueron sometidos a un proceso de secado solar por exposición directa durante 7 d. El material vegetal fue triturado y tamizado hasta alcanzar un tamaño aproximado de 2 x 2 cm; luego fue lavado, hidratado, pasteurizado y sumergido en una solución de Benomyl 0,02 %. El sustrato nuevamente fue secado al sol hasta alcanzar una humedad de 65-70 %.

Se mezclaron 2 kg de sustrato húmedo con 200 g de inóculo. Con esta mezcla se llenaron las bolsas plásticas (15 x 10 pulgadas) que se almacenaron en un armario en completa oscuridad a una temperatura de 25-28 °C durante 10-20 d. Las bolsas se perforaron al tercer día de haber inoculado el sustrato. Luego de la colonización las bolsas fueron colocadas bajo luz indirecta en la planta donde se cultivaron los hongos. Se diseñaron 3 grupos experimentales, conformados por 6 bolsas plásticas, que contenían 2 kg de sustrato húmedo. Cada grupo fue expuesto diariamente a la luz en su fase de fructificación durante períodos de 4, 8 y 12 h, con intensidades de 400 a 600 lux. En el cultivo del *P. ostreatus* se controlaron las variables siguientes: pH inicial del sustrato, 6,5; temperatura, 28 °C; humedad, 80%; aereación y remoción del CO₂,

3 veces al día. Cuando los hongos alcanzaron la madurez fueron cosechados y pesados. Se realizó un total de 3 cosechas por cada bolsa a intervalos de 10 d.

Determinación del contenido de proteína bruta: se estimó en hongos cultivados en sustrato de cacao por un período de 50 d, a partir de los valores de nitrógeno total determinados por el método Kjeldhal, empleando 6,25 como factor de conversión.⁸

Determinación de la composición aminoacídica: las muestras (25 mg) fueron hidrolizadas con 5 mL de HCl 6 N en tubos con tapa de rosca recubierta con teflón a 110 °C durante 22 h. Las determinaciones se llevaron a cabo en un analizador automático de aminoácidos, mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en el INIAP (Ecuador).

Índice modificado de aminoácidos esenciales: el índice modificado de aminoácidos esenciales (MEAA) se calculó mediante el procedimiento propuesto por Oser,⁹ según las modificaciones realizadas por Mitchell.¹⁰ Debido a la destrucción del triptófano durante la hidrólisis ácida, las concentraciones de este aminoácido no fueron consideradas para el cálculo del MEAA.

*Cómputo proteico de la FAO/OMS:*¹¹ se expresó la cantidad de cada aminoácido esencial en la proteína fúngica como su contribución porcentual respecto al total de aminoácidos esenciales. Se calcularon, a continuación, las relaciones entre los porcentajes de cada aminoácido esencial en la proteína evaluada y la proteína del huevo entero, refiriendo la menor de estas como el cómputo proteico.

RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran los resultados relacionados con el contenido de proteína bruta en la biomasa de *P. ostreatus*, cultivado en sustrato de cacao, comparados

con procedimientos similares realizados sobre pulpa de café y con datos de *Agaricus bisporus*. No se apreciaron mayores variaciones en el contenido de proteína bruta de la biomasa fúngica en los cultivos de *P. ostreatus* expuestos a los diferentes regímenes de iluminación.

Tabla 1. Proteína bruta en la biomasa de *Pleurotus ostreatus* cultivado en sustrato de cacao en comparación con cultivos en pulpa de café y *A. bisporus*

Basidiomicetos	Contenido de proteína bruta (g %, base seca)
<i>P. ostreatus</i> (4 h de exposición a la luz)	28,37
<i>P. ostreatus</i> (8 h de exposición a la luz)	28,68
<i>P. ostreatus</i> (12 h de exposición a la luz)	28,89
<i>P. ostreatus</i> (cultivado en pulpa de café)	28,90
<i>Agaricus bisporus</i>	26,30

La tabla 2 registra la composición aminoacídica por HPLC de la biomasa de los 3 grupos experimentales de *P. ostreatus*, en comparación con la proteína de referencia de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO)¹² y otras proteínas de hongos comestibles y alimentos convencionales.¹³ Se identificaron 16 aminoácidos de los 20 presentes en las proteínas. Los aminoácidos glutamina, asparagina, cisteína y triptófano no se identificaron debido a las transformaciones que sufren al emplear en la metodología una hidrólisis ácida. La luz no influyó en la composición aminoacídica de *P. ostreatus* y el índice modificado de aminoácidos esenciales fue como promedio 57,88.

La determinación del cómputo proteico de la FAO/OMS (tabla 3) demostró que la metionina constituye el primer limitante de esta fuente proteica, al aparecer como una fracción que representa 47,8 % del requerimiento para un patrón balanceado, tomando como referencia el huevo entero.

Tabla 2. Composición aminoacídica (g/16 g N) de la proteína de *Pleurotus ostreatus* en comparación con el patrón FAO y proteínas de hongos comestibles y alimentos convencionales

Aminoácidos	<i>P. ostreatus</i> (4 h)	<i>P. ostreatus</i> (8 h)	<i>P. ostreatus</i> (12 h)	Patrón FAO	<i>A. bisporus</i>	Trigo
Ile	2,75	3,03	2,69	4,00	4,29	3,80
Leu	4,54	4,95	4,70	7,00	7,18	6,40
Lys	3,52	3,55	4,01	6,50	trazas	2,70
Met	0,84	0,97	1,10	3,50 (Met + Cys)	trazas	1,60
Phe	9,23	10,32	10,30	6,00 (Phe + Tyr)	4,41	4,60
Thr	3,17	3,45	3,28	4,00	4,90	2,90
Val	3,59	3,73	3,46	5,00	5,28	4,30
Tyr	2,07	2,26	2,21		2,20	3,20
Ala	6,27	6,48	5,84		9,58	3,40
Arg	4,30	4,28	5,26		5,47	4,30
Asp	6,83	7,84	7,09		10,68	5,00
Glu	10,68	11,57	15,12		17,18	27,70
Gly	3,66	3,90	3,84		5,09	3,80
His	2,39	2,05	2,90		2,20	2,10
Pro	2,75	3,17	2,66		6,08	10,10
Ser	3,27	3,62	3,56		5,21	4,80
MEA A	56,0	58,08	59,55			59,84

Tabla 3. Determinación del cómputo proteico de la FAO/OMS para la proteína de *Pleurotus ostreatus* (los aminoácidos se expresan como porcentaje del total de aminoácidos esenciales)

Amino-ácido	<i>P. ostreatus</i> (4 h, G-4)	<i>P. ostreatus</i> (8 h, G-8)	<i>P. ostreatus</i> (12 h, G-12)	Huevo entero	Relación G-4/huevo entero (%)	Relación G-8/huevo entero (%)	Relación G-12/huevo entero (%)
His	7,44	5,97	8,37	4,90	-	-	-
Lys	10,96	10,35	11,57	14,70	74,5	70,4	78,7
Met	2,6	2,83	3,17	6,00	43,3	47,2	52,8
Phe	28,75	30,08	29,73	10,40	-	-	-
Tyr	6,45	6,58	6,38	7,20	89,6	91,4	88,6
Phe + Tyr	35,2	36,67	36,10	17,60	-	-	-
Leu	14,14	14,43	13,56	16,60	85,2	86,9	81,7
Ile	8,57	8,83	7,76	11,10	77,2	79,5	69,9
Val	11,18	10,87	9,98	13,40	83,4	81,1	74,5
Thr	9,87	10,05	9,47	9,20	-	-	-

DISCUSIÓN

Los avances biotecnológicos actuales dan cuentas de la importancia del cultivo de los hongos comestibles, debido a su extraordinaria actividad metabólica, que ha permitido su desarrollo en condiciones óptimas para obtener biomasa de definida utilidad.¹³

La calidad y cantidad de luz que recibe el hongo en su fase de fructificación es un factor importante en el rendimiento y la eficiencia biológica.⁷ Aunque dirigida por las características genéticas, la síntesis celular de los hongos es controlada por factores del ecosistema (luz, calor, temperatura, humedad y sustrato).

En contraposición a los resultados referidos por Bermúdez y otros⁷ acerca de las

variaciones significativas en las concentraciones de micosteroles de *P. ostreatus*, en dependencia del tiempo de exposición a la luz durante el período de fructificación, en el presente trabajo se demostró que la luz no afecta el contenido de proteína bruta ni los niveles de aminoácidos en la biomasa fúngica obtenida.

Los contenidos de proteína bruta de la biomasa de *P. ostreatus* en los 3 grupos experimentales (4, 8 y 12 h de exposición a la luz) resultaron similares a los referidos para el mismo hongo cultivado sobre pulpa de café (28,90 %). En *A. bisporus*, especie más comercializada a escala internacional, los niveles de proteína bruta fueron de 26,3 %. En general, los hongos pueden ser comparados en términos de su contenido de proteínas expresado en base seca (28 %), con la mayoría de los vegetales frescos.¹⁴

En este estudio no se refieren los niveles de triptófano en la composición de las proteínas de *P. ostreatus* debido a su destrucción durante la hidrólisis ácida. Si bien este hongo contiene los restantes aminoácidos considerados como esenciales, estos aparecen en concentraciones relativamente inferiores a las de la proteína de referencia de la FAO. No obstante, esos niveles resultaron superiores o equivalentes a los de alimentos convencionales como el trigo, particularmente en el caso de la lisina, aminoácido que aparece como limitante de muchos cereales, por lo que *P. ostreatus* podría constituir una fuente apropiada para mejorar la calidad de estos alimentos. La lisina y metionina en *A. bisporus* se encuentran en trazas, lo que realza el valor de *P. ostreatus* en adición a ventajas ya conocidas como son: simplicidad de la tecnología de producción, la posibilidad de utilizar una amplia gama de sustratos orgánicos y el hecho de poder ser cultivado en climas de temperaturas tropicales.⁵

Las concentraciones de los diferentes aminoácidos en una fuente proteica pueden no guardar relación con su disponibilidad biológica. Al respecto, la determinación del índice modificado de aminoácidos esenciales (MEAA) es un método que brinda resultados muy próximos a los obtenidos en los ensayos biológicos de alimentación. El índice en *P. ostreatus* fue como promedio 57,88, aunque inferior al de la caseína (92,24), mostró un valor muy similar al del trigo (59,84).

Una proteína balanceada se define como aquella en la cual los aminoácidos esenciales están presentes en proporciones óptimas unos respecto a otros, para una mayor eficiencia en la formación de nuevos tejidos y reparación de los ya existentes.¹⁵ El cómputo proteico de la FAO/OMS asume este criterio como punto de partida para la evaluación de la calidad de una proteína. La aplicación de este procedimiento a la proteína de *P. ostreatus* evidenció que la metionina constituye el primer aminoácido limitante, al aparecer como una fracción que representa 47,8 % del requerimiento para un patrón balanceado, tomando como referencia el huevo entero. Este fenómeno es muy común en otros microorganismos¹⁶ y cabe señalar, además, que la metionina es en cierta medida, lábil en las condiciones de hidrólisis ácida y por eso, los valores referidos pueden subestimar su concentración real en la proteína fúngica.

Producir hongos comestibles del género *Pleurotus* para utilizar su biomasa como alimento y fuente comercial de suplementos dietéticos resulta una alternativa prometedora, porque el proceso biotecnológico empleado es relativamente sencillo. Los resultados de este trabajo abren nuevas posibilidades para estudiar con mayor profundidad su potencial nutricional, cultivado sobre subproductos agrícolas como el cacao.

SUMMARY

The effect of time of exposure to light during the in total protein concentration and its quality, expressed in amino-acid composition, was evaluated. The cultivation was carried out by solid-state fermentation on residual cacao plantations in Ecuador and their fruits were subjected to light for 4h, 8h and 12h. No variation was observed in total protein concentrations, which showed values of 28,37 %, 28,68 % and 28,89 % in cultures exposed to light for 4, 8 and 12 hours respectively. Light does not have an effect on the amino-acid composition of *P. ostreatus* and the modified index of essential amino-acids was 57.88 as average. Methionine was the first limitation since it represented 47,8% of the requirement in relation to the complete egg. These results allow dealing more deeply with the nutritional potential of *P. ostreatus* grown upon agricultural byproducts.

Subject headings: AGARICALES; PLEUROTUS; AMINO ACIDS; PROTEINS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chang ST, Buswell JA. Mushroom nutraceuticals. *World J Microbiol Biotechnol* 1996;12:473-6.
2. Guzmán G, Mata G. El cultivo de los hongos comestibles. México DF: Instituto Politécnico Nacional, 1990:245.
3. Rodríguez N, Zuluaga J. Cultivo de *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quéf. en pulpa de café. *Cenicafé* 1994;45:85-92.
4. Donoso CR. Influencia de la luz en la composición lipídica y proteica del *Pleurotus ostreatus var. florida*. [Tesis de Maestría] Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 1999.
5. Monroy O, Viniegra G. Biotecnología para el aprovechamiento de los desperdicios orgánicos. México DF: AGT, 1990. p.260.
6. Quimio T, Chang S, Royle D. Technical guidelines for mushroom growing in the tropics. Plant production and protection paper. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 1990. p.155.
7. Bermúdez RC, Donoso C, Martínez CE, Ramos EI, Morris HJ. Efecto de la luz en la concentración de micosteroles de *Pleurotus ostreatus var. florida*. *Rev Cubana Aliment Nutr* 2002;16 (en prensa).
8. A.O.A.C. Official methods of analysis. 13 ed. Washington, DC: Association of Official Agricultural Chemists; 1980
9. Oser BL. Method for integrating essential amino acid content in the nutritional evaluation of protein. *J Am Diet Assoc* 1951;27:396-402.
10. Mitchell HH. Biological values of proteins and amino acids interrelationships. En: Spector H, Peterson MS, Friedman TE, eds. Symposium on methods for the evaluation of nutritional adequacy and status. Washington, DC: National Research Council; 1954. p. 13-28.
11. Food and Agriculture Organization of the United Nations Protein Requirements. Report of a joint FAO/WHO expert group. Rome: FAO;1965. (Tech Rept Ser;no. 301).
12. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Amino acid content of foods and biological data on proteins. Rome: FAO, 1970: (Nutritional Studies; no. 24).
13. Trigos A, Zayas T, Ortuño L, Sobal M, Morales P. Contenido de ergosterol en algunas especies cultivadas de *Pleurotus*. *Micol Neotrop Apl* 1994;7:43-6.
14. Arboleda A, Silva R. Cultivo del hongo *Pleurotus* en desechos agrícolas. [Tesis de Maestría] Ambato: Universidad Técnica de Ambato; 1985.
15. Reeds PJ, Beckett PR. Proteínas y aminoácidos. En: Ziegler EE, Filer LJ Jr, eds. Conocimientos actuales sobre nutrición 7. ed. Washington DC: Organización Panamericana de la Salud; 1997. p. 73-94.
16. Becker EW. Biotechnology and microbiology. Cambridge: University Press; 1994. p. 293.

Recibido: 10 de febrero de 2003. Aprobado: 10 de septiembre de 2003.

Dra. Rosa Catalina Bermúdez Savón. Centro de Estudios de Biotecnología Industrial. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Oriente. PO Box 4011, Santiago de Cuba CP 90 400. Cuba. Teléf: 632095. Correo electrónico: catalina@cebi.uo.edu.cu