

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA
DE LOS RECURSOS NATURALES

*Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Ingeniera en
Biotecnología de los Recursos Naturales*

TRABAJO EXPERIMENTAL:

**“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL HONGO
OSTRA (*Pleurotus ostreatus*)”**

AUTORA:

MARÍA ESTHELA FLORES VERA

TUTORA:

BQF. SILVIA MONSERRATH TORRES SEGARRA, MGS.

CUENCA - ECUADOR

2021

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, María Esthela Flores Vera con documento de identificación N° 0302087325, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL HONGO OSTRA (*Pleurotus ostreatus*)”**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniera en Biotecnología de los Recursos Naturales*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autora me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, octubre de 2021.



María Esthela Flores Vera

C.I. 0302087325

CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL HONGO OSTRA (*Pleurotus ostreatus*)”**, realizado por María Esthela Flores Vera obteniendo el *Trabajo Experimental*, que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, octubre de 2021.



Bqf. Silvia Monserrath Torres Segarra, MGS.

C.I. 0103597225

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, María Esthela Flores Vera con documento de identificación N° 0302087325, autora del trabajo de titulación: “**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL HONGO OSTRA (*Pleurotus ostreatus*)**”, certifico que el total contenido del *Trabajo Experimental*, es de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, octubre de 2021.



María Esthela Flores Vera

C.I. 0302087325

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación va dedicado primeramente a Dios, quien ha guiado mis pasos y me ha llenado de sabiduría para tomar las decisiones correctas frente a cualquier dificultad que se me ha presentado.

A mi padre Fabián por su apoyo incondicional, quien creyó en mí desde el primer momento en que elegí la carrera universitaria.

A mi madre Miriam quien me apoyó y alentó para continuar, cuando parecía que me iba a rendir.

A mis hermanos Mauro, Eduardo y Andrés quienes han sido un gran ejemplo a seguir, brindándome su cariño y consejos en momentos difíciles.

A la memoria de mi querida amiga Alejandra Caragolla, fallecida poco antes de que pueda ver culminada mi tesis; por ser esa amiga incondicional que con cada sonrisa, consejo y paz que me transmitía me motivaba siempre para seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por guiarme para alcanzar esta meta en mi vida.

A mis padres por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ellos pude llegar a esta instancia.

A mis hermanos y cuñada por nunca dejarme sola pese a las adversidades de la vida y por enseñarme que las cosas que valen la pena no se obtienen de manera fácil.

A mi tutora de tesis, Bqf. Silvia Torres por haber compartido sus conocimientos en el presente trabajo de investigación, por tenerme paciencia y convertirse en más que una profesora una amiga que siempre la llevaré en mi corazón.

A mis profesores quienes durante estos años me compartieron sus conocimientos y me enseñaron que lo más importante en esta vida es luchar por nuestros sueños.

A mis amigas incondicionales Majo, Dome, Xime, Liz, Gaby, Fernanda, Ali, Sofí y Keyla quienes me apoyaron en los momentos más difíciles de mi vida con sus consejos y su amistad, la misma que nació en las aulas de clase y espero que trascienda toda una vida. Gracias por nunca dejarme sola.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO I.....	1
1.1 Introducción	1
1.2 Planteamiento del problema	1
1.3 Pregunta de investigación.....	2
1.4 Justificación.....	2
1.5 Limitación del problema	3
1.6 Objetivos	3
1.6.1 General.....	3
1.6.2 Específicos.....	3
1.7 Hipótesis.....	4
CAPÍTULO II	5
2.1 Estado de Arte	5
2.2 Marco conceptual.....	7
2.3 Bases teóricas.....	8
2.3.1 <i>Pleurotus ostreatus</i> (<i>Pleurotus spp</i>).....	8
2.3.2 Clasificación taxonómica del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	9
2.3.3 Condiciones de crecimiento de <i>Pleurotus ostreatus</i>	10
2.3.4 Composición química del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	10
2.3.5 Propiedades medicinales de <i>Pleurotus ostreatus</i>	11
2.3.6 Metabolitos presentes en <i>Pleurotus ostreatus</i>	12
2.3.7 Métodos de extracción	13
2.3.8 Capacidad antioxidante.....	16
CAPÍTULO III.....	17
3.1 Nivel de investigación	17
3.1.1 Población y muestra.....	17
3.1.2 Variables	17
3.1.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	18
3.1.4 Técnicas de procesamiento y análisis de datos	18
3.2 Procesos.....	18
3.2.1 Etapa 1: Recolección del material biológico (<i>Pleurotus ostreatus</i>).....	18
3.2.1.1 Tratamiento de la materia prima	19
3.2.2 Obtención de los extractos.....	19

3.2.3 Etapa 2: Caracterización cualitativa	21
3.2.4 Etapa 3: Determinación de la capacidad antioxidante	26
3.2.5 Cuantificación de compuestos fenólicos	28
CAPÍTULO IV	32
4.1 Fase 1.....	32
4.1.1. Obtención del extracto etanólico	32
4.1.2 Obtención del extracto acuoso	32
4.2 Fase 2.....	33
4.2.1 Caracterización cualitativa de la muestra	33
4.3 Fase 3.....	37
4.3.1 Determinación de la capacidad antioxidante.....	37
4.3.2 Cuantificación de compuestos fenólicos totales.....	46
4. 4 Fase 4.....	48
4.4.1 Comparación de la capacidad antioxidante de los extractos del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> frente a un compuesto sintético.....	48
CAPÍTULO V.....	52
CONCLUSIONES.....	52
RECOMENDACIONES.....	53
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54
ANEXOS.....	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de <i>P. ostreatus</i> J. (Aldaz,2018).....	9
Tabla 2. Preparación de soluciones en distintas fracciones.....	23
Tabla 3. Preparación de los extractos.....	24
Tabla 4.Tabla referencial para la preparación de fracciones.....	27
Tabla 5. Tabla referencial para la preparación de fracciones con ácido gálico.....	29
Tabla 6. Tabla referencial para la preparación de fracciones para cuantificar fenoles.....	30
Tabla 7. Tabla referencial de la preparación de extractos para cuantificar fenoles.....	30
Tabla 8. Datos de la obtención del extracto etanólico.....	32
Tabla 9. Datos de la obtención del extracto acuoso.....	32
Tabla 10. Resultados de la marcha fitoquímica de cada extracto.....	33
Tabla 11. Resultados de las absorbancias de las soluciones preparadas con albúmina de suero bovina (BSA).....	35
Tabla 12. Resultados de las absorbancias de los extractos para cuantificación de proteínas.....	36
Tabla 13. Resultados del porcentaje de proteína presente en los extractos.....	36
Tabla 14.Resultados de porcentaje de captación de radicales libres del ácido ascórbico puro.....	38
Tabla 15. Resultados de porcentaje de captación de radicales libres del ácido ascórbico en pastilla (Vitamina C).....	40
Tabla 16.Resultados de porcentaje de captación de radicales libres del extracto etanólico de <i>Pleurotus ostreatus</i> J.....	42
Tabla 17. Resultados de porcentaje de captación de radicales libres del extracto acuoso de <i>Pleurotus ostreatus</i> J.....	44
Tabla 18. Resultados de absorbancia del ácido gálico para fenoles totales.....	46
Tabla 19. Fenoles totales presentes en el extracto etanólico del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> J.....	47
Tabla 20.Fenoles totales presentes en el extracto acuoso del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> J.....	47
Tabla 21.Prueba de Shapiro Wilks.....	49
Tabla 22.ANOVA.....	50
Tabla 23.Prueba estadística Dunnet.....	50

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1.Hongo Pleurotus ostreatus J. (Fungipedia).....	8
Imagen 2.Estructuras químicas de compuestos fenólicos (Peñarrieta et al., 2014).	12
Imagen 3.Muestra de Pleurotus ostreatus J.	18
Imagen 4. Proceso de secado de Pleurotus ostreatus J.	19
Imagen 5. Extracto etanólico en el vapor.	20
Imagen 6. Filtración al vacío del extracto acuoso.	20
Imagen 7.Marcha fitoquímica del extracto etanólico y acuoso de Pleurotus ostreatus J.....	21
Imagen 8. Determinación de alcaloides en el extracto etanólico y acuoso de Pleurotus ostreatus.	22
Imagen 9.Determinación de fenoles en el extracto etanólico y acuoso de Pleurotus ostreatus J. 22	
Imagen 10.Determinación de azúcares reductores en el extracto etanólico y acuoso de Pleurotus ostreatus J.	24
Imagen 11.Determinación de carbohidratos en el extracto etanólico y acuoso de Pleurotus ostreatus J.	25
Imagen 12.Determinación de flavonoides en el extracto acuoso de Pleurotus ostreatus J.....	26
Imagen 13. Pleurotus ostreatus J.	64
Imagen 14. Polvo fúngico de Pleurotus ostreatus J.	64
Imagen 15.Extracto acuoso de Pleurotus ostreatus J.	65
Imagen 16.Maceración del extracto etanólico y acuoso de Pleurotus ostreatus J.	65
Imagen 17.DPPH preparado.	66
Imagen 18 .Espectrofotómetro Genesys 20.....	66

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Porcentaje de inhibición y concentración de albúmina de suero bovina (BSA).	35
Gráfico 2. Porcentaje de inhibición y concentración del ácido ascórbico puro.	39
Gráfico 3 Porcentaje de inhibición y concentración del ácido ascórbico en pastilla.	41
Gráfico 4. Porcentaje de inhibición y concentración del extracto etanólico de <i>Pleurotus ostreatus</i> J. ...	43
Gráfico 5. Porcentaje de inhibición y concentración del extracto acuoso de <i>Pleurotus ostreatus</i> J.	45
Gráfico 6. Valores del <i>IC</i> 50 del ácido ascórbico puro, ácido ascórbico en pastilla, extracto etanólico y extracto acuoso.....	45
Gráfico 7. Porcentaje de inhibición y concentración del ácido gálico. Fuente (Elaboración del autor).	46
Gráfico 8. Contenido de fenoles en el extracto etanólico y acuoso de <i>Pleurotus ostreatus</i> J.	48

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Lista de abreviaturas.....	63
Anexo 2. Materia prima	64
Anexo 3.Preparación de los extractos	65
Anexo 4.Capacidad antioxidante	66

RESUMEN

En la actualidad el interés por la búsqueda de materia prima para elaborar productos naturales que presenten propiedades antioxidantes y con ello sustituirlos en la industria cosmética, farmacéutica y alimentaria está en auge; por lo que existen varios estudios de especies vegetales que han demostrado tener capacidad antioxidante, sin embargo nuestro país no cuenta con estudios referentes a hongos que posean dicha capacidad, tal es el caso del género *Pleurotus ostreatus* J. que ocupa el segundo lugar en producción a nivel mundial. El presente trabajo evalúa la capacidad antioxidante del extracto alcohólico y acuoso del hongo ostra – *Pleurotus ostreatus* J. frente a un compuesto comercial. Para el desarrollo experimental se elaboró el extracto etanólico y acuoso en una relación 7:1, luego se ejecutó un tamizaje fitoquímico identificando la presencia de alcaloides, fenoles, proteínas, azúcares reductores, carbohidratos, y flavonoides. Posteriormente se determinó la capacidad antioxidante a partir de la metodología DPPH (1,1- difenil-2-picril-hidrazilo) utilizando ácido ascórbico puro como estándar de comparación con diferentes concentraciones con un valor del IC_{50} de 20,779 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y un porcentaje de inhibición de 81,521% mientras que para el extracto alcohólico del hongo se obtiene como resultado un porcentaje de inhibición de 47,264% y un valor del IC_{50} de 32,845 $\mu\text{g}/\text{mL}$, en cuanto al extracto acuoso un valor del IC_{50} de 17,617 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y un valor de 86,461% de inhibición con lo que resulta el extracto acuoso poseer mayor capacidad antioxidante que el extracto etanólico y el patrón de referencia. Con respecto al compuesto sintético (Vitamina C) el valor del IC_{50} es de 115,631 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y un porcentaje de inhibición de 14,166%, el análisis estadístico se hizo por bloques completos al azar, con lo cual se acepta la hipótesis alternativa con lo que se refleja que ambos extractos resultan con mayor capacidad antioxidante que el compuesto artificial.

Además el método Folin Ciocalteu permitió cuantificar la concentración de fenoles totales utilizando ácido gálico como curva patrón, los resultados se expresan en valores equivalentes a miligramos de ácido gálico por litro, obteniendo un valor de 31,303 mg/L en el extracto acuoso y en el extracto alcohólico un valor de 0,899 mg/L, el cual no es significativo.

Palabras clave: *Pleurotus ostreatus*, extracto, flavonoides, fenoles, DPPH.

ABSTRACT

At present the interest in the search for raw materials to produce natural products that have antioxidant properties and with this to replace them in the cosmetic, pharmaceutical and food industry is booming; so there are several studies of plant species that have shown to have antioxidant capacity, such is the case of the genus *Pleurotus ostreatus* J, which ranks second in production worldwide. The present work evaluates the antioxidant capacity of the alcoholic and aqueous extract of the oyster fungus - *Pleurotus ostreatus* J. against a commercial compound For the experimental development, the ethanol and aqueous extract was prepared in a 7: 1 ratio, then a phytochemical screening was carried out identifying the presence of alkaloids, phenols, proteins, reducing sugars, carbohydrates, and flavonoids. Subsequently, the antioxidant capacity was determined from the DPPH methodology (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) using pure ascorbic acid as a comparison standard with different concentrations with a value of IC_{50} of 20,779 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and an inhibition percentage of 81,521%, while for the alcoholic extract of the fungus, an inhibition percentage of 47,264% and a value of the IC_{50} of 32,845 $\mu\text{g}/\text{mL}$ are obtained, as for the aqueous extract a value of IC_{50} of 17.617 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and an inhibition percentage of 86.461%, which is why it is determined that the aqueous extract has a higher antioxidant capacity than the alcoholic extract and the reference standard. With respect to the synthetic compound (Vitamin C), the value of the IC_{50} is 115.631 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and an inhibition percentage of 14.166%, the statistical analysis was done by complete random blocks, with which the alternative hypothesis is accepted, which reflects that both extracts have a higher antioxidant capacity than the artificial compound.

In addition, the Folin Ciocalteu method allowed to quantify the concentration of total phenols using gallic acid as a standard curve, the results are expressed in values equivalent to milligrams of gallic acid per liter, obtaining a value of 31.303 mg/L in the aqueous extract and in the extract alcoholic a value of 0.899 mg /L, which is not significant.

Keywords: *Pleurotus ostreatus*, extract, flavonoids, phenols, DPPH.

CAPÍTULO I

1.1 Introducción

El desarrollo y progreso de la humanidad desde el siglo anterior es inusitado; el costo de aquello, empero, es preocupante en tanto la afectación al ecosistema resulta irreversible y, las secuelas inconmensurables, con grave riesgo a la supervivencia de la humanidad.

En ese contexto, la búsqueda de alternativas de emprendimiento y satisfacción de necesidades de la población necesariamente deben guardar armonía y compatibilidad con el cuidado de la hoy denominada aldea global, planeta tierra; reemplazar lo sintético con un adecuado y óptimo aprovechamiento de recursos naturales, es tarea de todos.

La presente investigación pretende cumplir tal objetivo; aprovechar los beneficios de los hongos comestibles, estos alimentos nutraceuticos con diferentes beneficios nutricionales y medicinales para favorecer la salud del consumidor. Adicionalmente, el mercado inherente a los citados alimentos ya en el 2016 superó los 27 mil millones de dólares (Mordor,2017) monto que acredita su importancia en la economía mundial.

Pleurotus ostreatus J. más conocido como champiñón, resalta entre los hongos más cultivados en el mundo y, al destacarse en el ámbito nutricional, medicinal y gastronómico, habida cuenta de los compuestos bioactivos y propiedades antioxidantes que lo distinguen; obligan a circunscribir la investigación de aquel.

1.2 Planteamiento del problema

Cuando los oxidantes superan la cantidad de antioxidantes ocurre un estrés oxidativo, que provoca daños importantes en biomoléculas y componentes celulares lo cual está asociado con enfermedades crónico-degenerativas y envejecimiento prematuro. Debido a lo anterior, es

importante la búsqueda de productos naturales con propiedades antioxidantes para la utilización en la producción cosmética y medicinal al incluirse en la dieta diaria para que ayuden al mantenimiento de la salud.

Actualmente *Pleurotus ostreatus* J. es una especie de hongo fácil de conseguir; sin embargo, el desconocimiento de su naturaleza fitoquímica limita el desarrollo de formulaciones enriquecidas en metabolitos bioactivos con potencialidades terapéuticas. En este trabajo de investigación experimental se pretende determinar la actividad antioxidante que contienen este hongo, para utilizarlo como materia prima en la industria.

1.3 Pregunta de investigación

¿Cuál es la capacidad antioxidante del *Pleurotus ostreatus* J.?

1.4 Justificación

Toda molécula capaz de prevenir o retrasar la oxidación se le denomina antioxidante, para estabilizar compuestos biológicos desapareados por el ataque de los radicales libres estas moléculas donan uno o más de sus electrones. Para Valenzuela y Pérez (2016), la industria de cosméticos, alimentos y medicamentos buscan sustituir los compuestos artificiales en la producción y adicionar antioxidantes de origen natural al producto final, por lo que existe una creciente demanda de antioxidantes naturales, incluso algunos de ellos pueden tener un efecto más potente o similar que los artificiales.

Entre las sustancias con poder antioxidante presentes de manera natural destacan: tocoferoles, carotenoides, lecitina, derivados fenólicos (Badui, 2013). El hongo objeto de esta investigación es considerado como alimento nutracéutico porque ofrece propiedades nutricionales y medicinales para el potencial consumidor.

En la producción de hongos comestibles *Pleurotus ostreatus* J. denominado orellana o champiñón ostra, se ubica en el segundo puesto a nivel mundial. En esta misma línea Gani *et al.* (2017) manifiestan que se caracteriza por presentar en sus extractos capacidad antioxidante, anti-tirosinasa, antitumoral (Behera *et al.*, 2015) cardioprotectora, hepatoprotectora (Zhang y Zho, 2016), hipocolesterolémica, hipoglucémica, inmunomoduladora (Fong *et al.*, 2016) y osteoprotectora (Arias *et al.*, 2017).

Por ello surge la importancia de evaluar la capacidad antioxidante de *Pleurotus ostreatus* J, pues la industria espera métodos de extracción que a más de económicos y eficientes, permitan aprovechar recursos y generen mayores utilidades.

1.5 Limitación del problema

Entre las principales limitantes se encuentran la utilización del lugar físico de trabajo y el tiempo requerido por cuanto pueden estar ocupados en otros trabajos de investigación.

1.6 Objetivos

1.6.1 General

Evaluar la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles totales presentes en extractos etanólicos y acuosos del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus* J.) mediante técnicas de laboratorio, para un posible uso en la industria.

1.6.2 Específicos

Identificar de manera cualitativa los extractos alcohólico y acuoso del hongo ostra (*Pleurotus ostreatus* J.) a través de un screening fitoquímico para caracterización de metabolitos presentes.

Determinar la cuantificación de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu comprobando su capacidad antioxidante.

Evaluar el nivel de capacidad antioxidante de *Pleurotus ostreatus* J. en relación a una sustancia sintética a través del análisis estadístico para determinación del poder reductor.

1.7 Hipótesis

El hongo comestible (*Pleurotus ostreatus* J.) posee compuestos fenólicos que le confieren capacidad antioxidante convirtiéndose en un alimento nutracéutico.

CAPÍTULO II

2.1 Estado de Arte

En la investigación de Batista *et al.* (2016), se determinó la concentración de polifenoles y la actividad antioxidante *in vitro* presente en los extractos acuosos de *Pleurotus ostreatus* J, mediante la utilización del tratamiento térmico de la biomasa celular que facilita la liberación de compuestos fenólicos con elevada capacidad secuestrante de especies reactivas de oxígeno con valores de 38 mg/100 g para el extracto micelial y 58 mg/100 g para el extracto de cuerpos fructíferos, evidenciando que los extractos acuosos del micelio y cuerpos fructíferos poseen propiedades antioxidantes.

Se han estudiado diez especies de hongos comestibles (*Agaricus bisporus* J, *Amanita brunnescens* G, *Armillariella polymyces* P, *Amanita garabitoana* T, *Boletus edulis* B, *Cantharellus lateritius* B, *Laccaria amethystina* C, *Lactarius deliciosus* L, *Neolentinus ponderosus* R y *Pleurotus ostreatus* J.) evaluando la capacidad antioxidante de los extractos acuosos y etanólicos. Los extractos acuosos obtuvieron mejores resultados que los etanólicos, corroborando de esta manera que estas especies estudiadas poseen actividad antioxidante y pueden sustituir a los compuestos artificiales (Belloso *et al.*, 2015).

Se evaluó en el estudio de Cruz (2012), el contenido de fenoles y flavonoides como la actividad antioxidante de extractos hidrosolubles del género *Pleurotus ostreatus* cepa CCEBI-3024, a través de los ensayos del radical 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH) , 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico) (ABTS), y poder reductor e inhibición de la peroxidación lipídica en membranas eritrocitarias. Los resultados obtenidos evidencian las propiedades de los extractos obtenidos de *Pleurotus ostreatus* J. en el tratamiento a daños causados por el estrés oxidativo.

En el trabajo de Duarte *et al.* (2020), se utilizó la maceración dinámica con etanol al 50% y una relación sólido/solvente de 1:30 como técnica de extracción de metabolitos secundarios de *Pleurotus ostreatus* J, estos resultados revelaron que el hongo estudiado posee polisacáridos, azúcares reductores y polifenoles.

El método de Folin Ciocalteu que empleó Gavilánez y Mejía (2019), para identificar la concentración de polifenoles totales en extractos etanólicos y metanólicos de los hongos *Pleurotus ostreatus* J. y *Lentinula edodes* B, y el método TBARS (Tiobarbituric acid reactive species) para la actividad antioxidante. El hongo *Pleurotus ostreatus* J. presentó mayor concentración de polifenoles en los dos tipos de extractos así como una inhibición de la peroxidasa de 88,04% y 89,49% *Lentinula edodes* B.

En la investigación de Grifoll *et al.* (s.f), los hongos con mayor capacidad antioxidante fueron *Agrocybe aegerita* V, *Hypsizigus ulmarius* B. y *Agaricus bisporus* J. alcanzando inhibiciones de 87,86, 88,08 y 88,36%, respectivamente. *Pleurotus ostreatus* J. resultó tener un poder antioxidante intermedio con una inhibición de 86,20% a una concentración de 2 mg/mL; además en los extractos metanólicos las especies *Agrocybe aegerita* V, *Hypsizigus ulmarius* B, *Agaricus bisporus* J. y *Pleurotus ostreatus* J. presentan IC₅₀ más bajos, produciendo una inhibición entre el 80 y el 90% reflejando el poder antioxidante. En cuanto a los resultados de fenoles totales se evidencia de igual manera mayor contenido en las especies de hongos anteriormente mencionados.

En la investigación de Morales (2016), se estudió los cambios en los parámetros fisiológicos y fisicoquímicos en compuestos con actividad antioxidante en carpóforos de cuatro cepas de *Pleurotus* durante el almacenamiento a baja temperatura. La actividad antioxidante aumentó en todos los carpóforos de las cepas, identificando concentración de compuestos fenólicos, ácido ascórbico y actividad antioxidante.

Se han utilizado diferentes métodos como el de tipo indirecto, el método de reducción del radical DPPH y el método de poder reductor (PR) para obtener la actividad antioxidante de cepas silvestres reconstituidas e híbridas de *Pleurotus*, en los cuales se comprobó la capacidad de secuestro de radicales libres y la transferencia de electrones, respectivamente (Oropeza, 2017).

2.2 Marco conceptual

Antioxidante: Compuestos que inhiben la aparición de la oxidación y pueden clasificarse como naturales o sintéticos (Holla *et al.*, 2019).

Extracto: Compuesto obtenido de sustancias biológicamente activas utilizando un solvente ya sea alcohólico o acuoso (Santamaria *et al.*, 2015).

Radicales libres (RL): Son átomos o grupos de átomos muy reactivos con un electrón libre, para alcanzar estabilidad electroquímica recorren el organismo pretendiendo robar un electrón de las moléculas que son estables. El radical libre al sustraer el electrón para aparearse ocasiona que la molécula estable deje el electrón libre iniciando una reacción que destruye las células (Carvajal, 2017).

Estrés oxidativo: Se presenta cuando los radicales libres se vuelven mayores que la capacidad del cuerpo para controlarlos ocasionando peroxidación lipídica y enfermedades que se propagan en el cuerpo humano (Alkadi, 2020).

Principio activo: Distintos compuestos que se caracterizan por tener estructuras químicas casi idénticas (Santamaria *et al.*, 2015).

Hongo macromiceto: Se caracteriza por poseer píleo cubierto en la madurez por hifas en forma de saco o copa en la base del estípite unido al ápice del tallo en su parte céntrica (Estrada y Ramírez, 2019).

2.3 Bases teóricas

2.3.1 *Pleurotus ostreatus* (*Pleurotus spp*)

El género *Pleurotus* pertenece a los hongos basidiomicetos de pudrición blanca, con capacidad de secretar enzimas que degradan compuestos lignocelulósicos convirtiéndolos en compuestos más sencillos y de fácil asimilación por el suelo (Hurtado, 2015).

Para Royse (2017), *Pleurotus ostreatus* J. constituye el segundo lugar a nivel mundial de producción de los hongos comestibles cultivados comercialmente, con una producción de 6.46×10^9 Kg anual. Las especies de *Pleurotus* se caracterizan por su tiempo de crecimiento corto, en comparación con otros hongos. Su valor socioeconómico y ecológico se debe a su forma simple y barata de cultivar, así como también la ventaja de que su cuerpo fructífero no es atacado por enfermedades y plagas (Moro, 2015).

Pleurotus ostreatus J. posee un alto contenido de agua y bajo valor calorífico (1510 kJ/Kg partes comestibles), por lo que es adecuado para su inclusión en dietas controladas por calorías. El pileus de *Pleurotus ostreatus* J. a más de tener un buen sabor contiene cualidades nutricionales deseadas en dietas vegetarianas (Ávila *et al.*, 2016).



Imagen 1. Hongo *Pleurotus ostreatus* J. (Fungipedia)

De acuerdo a Bermeo (2017), las características del hongo *Pleurotus ostreatus* J. son:

Sombrero: De tamaño variable, hay individuos de 5 cm y otros mayores a 15 cm, de forma típica de ostra. Existen múltiples variedades de acuerdo al color de seta que puede ser desde gris verde, azules e incluso próximas al pardo. La cutícula es lisa, el borde se presenta enrollado en los especímenes jóvenes, permaneciendo fino y ondulado.

Láminas: Muy decurrentes de color blanquecino.

Pie: Color blanquecino, corto y totalmente lateral.

Carne: Compacta y tenaz de color blanco, olor fúngico suave, sabor agradable y dulce.

2.3.2 Clasificación taxonómica del hongo *Pleurotus ostreatus*

De acuerdo con Aldaz (2018), la taxonomía de *Pleurotus ostreatus* J. conocido popularmente como hongo ostra se detalla a continuación:

Tabla 1

Taxonomía de Pleurotus ostreatus J.

Reino:	Fungi
División superior:	Basidiomycota
Superclase:	Hymenomycetes
Orden:	Agaricales
Familia:	Tricholomataceae
Género:	Pleurotus
Especie:	<i>Pleurotus ostreatus</i>

Fuente: (Aldaz,2018).

2.3.3 Condiciones de crecimiento de *Pleurotus ostreatus*

La calidad y rendimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* J. dependerá de la relación sólido/solvente. Además, la temperatura y la humedad son factores importantes en el cultivo, en la etapa de incubación la temperatura debe ser de 24 – 27 °C con un 70-80% de humedad y en la fase de fructificación las temperaturas óptimas para crecimiento micelial son 15 – 18 °C incrementándose la humedad de 80 – 90% (Rodrigues *et al.*, 2019).

2.3.4 Composición química del hongo *Pleurotus ostreatus*

Para Deepalakshmi y Mirunalini (2014), *Pleurotus ostreatus* J. contiene una cantidad entre el 20 y 35% de proteína cruda en su masa seca.

Son bajos en lípidos y contienen los nueve aminoácidos esenciales (Kalac, 2009). Sus compuestos fenólicos, terpenos, esteroides y polisacáridos, tienen varias actividades biológicas (Shang *et al.*, 2015), a más de ello pueden promover la salud por poseer compuestos con actividad antifúngica, antioxidación, antiproliferativa, anti-tumorigénico (Kim *et al.*, 2015) y actividad antihiperlipidémica.

Para Kim *et al.* (2011), los hongos son generalmente bajos en grasas saturadas y altos en fibra y proteínas llegando a reducir el colesterol nocivo de la sangre y actuar como un supresor del apetito. Polisacáridos de estructura molecular compleja están presentes en *Pleurotus ostreatus* J. con unidades de (1,3)- β -D-glucanos, lineales y ramificados, reportados con actividad antitumoral (Ayala *et al.*, 2016); permite aislar el pleuran, un polímero con cadenas de enlaces glicosídicos β -1-3 y β -1-6, con actividad antiinflamatoria.

2.3.5 Propiedades medicinales de *Pleurotus ostreatus*

Efectos antitumorales: El hongo previene el desarrollo de tumores teniendo una acción efectiva para combatir la producción de células cancerígenas por sus propiedades de polisacáridos con su compleja estructura molecular (Sejnavi, 2015).

Efectos antivirales: Empleado en el tratamiento de enfermedades autoinmunes como lupus y artritis reumatoide, ya que los polisacáridos presentes en este hongo actúan contra virus y bacterias (Sejnavi, 2015).

Efecto antiinflamatorio: Los componentes aromáticos volátiles son responsables del aroma, sabor y alta capacidad antibacteriana y antiinflamatoria (Sejnavi, 2015).

Control del colesterol: Consumir con frecuencia este hongo disminuye los ácidos grasos en la sangre y la acumulación de colesterol malo en el hígado, además en estudios realizados se reporta la presencia de lovastatin que se emplea como materia prima para la fabricación de medicamentos que combate la hipercolesterolemia (Sejnavi, 2015).

Efecto hepatoprotector: Este hongo protege al 40% de la estructura hepática como comprueban los estudios desarrollados en ratas que ingirieron alcohol etílico y posteriormente se les administró el hongo comestible, procedimiento que puede aplicarse en el ser humano.

Efecto antihipertensión: El potasio presente en el hongo ayuda a la disminución de la hipertensión arterial y las metaloproteínas favorecen la absorción intestinal de sus minerales.

Efecto antioxidante: El hongo protege a las células de estrés oxidativo, favorece el correcto funcionamiento del sistema nervioso, reduce el cansancio, la fatiga y ayuda al normal desarrollo del metabolismo energético y la producción de colágeno (Nutrinat, 2016).

2.3.6 Metabolitos presentes en *Pleurotus ostreatus*

Alcaloides: Químicamente son compuestos heterocíclicos con nitrógeno sintetizados a partir de aminoácidos que poseen actividades farmacológicas de gran interés (Cassiano, 2010). De acuerdo a Ijeh *et al.* (2009), los cuerpos fructíferos de este hongo son ricos en alcaloides, encontrados en dosis no tóxicas.

Fenoles: Los fenoles están formados por dos o tres grupos OH en su estructura aromática en las posiciones 1, 2, 3, o 5; con actividad antibiótica, antioxidante, citotóxica y antiparasitaria (Peñarrieta *et al.*, 2014).

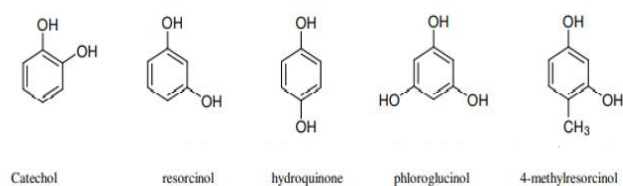


Imagen 2. Estructuras químicas de compuestos fenólicos (Peñarrieta *et al.*, 2014).

Flavonoides: Para Calabrone *et al.* (2015), los flavonoides son una familia de compuestos fenólicos, su estructura consta de dos anillos fenólicos conectados entre sí por un puente de tres carbonos lo que le confiere la capacidad para atraer radicales libres, reaccionar con las especies reactivas de oxígeno y de formar complejos con el hierro protegiendo del daño producido por agentes oxidantes como son los compuestos sintéticos presentes en alimentos, contaminación ambiental y rayos UV. Las subfamilias de acuerdo a la estructura de los flavonoides son: las flavanonas, las flavonas, los flavonoles, y los flavanoles.

Carbohidratos: Llamados también hidratos de carbono, glúcidos o azúcares; químicamente son aldehídos o cetonas polihidroxilados, constituyen entre el 50% y el 80% de

la dieta de la población al ser los compuestos orgánicos más abundantes en la naturaleza (Granito *et al.*, 2013).

De acuerdo a Wade (2011), los carbohidratos son la principal fuente de energía de los organismos vivos, su estructura química determina la funcionalidad y características organolépticas de los alimentos, con funciones estructurales como la celulosa que forma parte de las paredes de las plantas y los glúcidos que conforman el exoesqueleto de los artrópodos.

De acuerdo al número de monómeros los carbohidratos se clasifican en monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos, por la ubicación del grupo carbonilo son aldosas o cetosas y por el número de carbonos que contiene la cadena son triosas, tetrasas y pentosas.

Proteínas: Son macromoléculas formadas por un conjunto de 20 aminoácidos, de los cuales nueve no son sintetizados por el organismo por lo que necesitan ser incorporados a partir de la dieta; también ejercen funciones estructurales y algunas proteínas actúan como enzimas, hormonas, mensajeros, transportadores y componentes del sistema inmune. (Bohrer, 2017). Para Nieto (2020), el contenido de proteína cruda en *Pleurotus ostreatus* es de 28,6%.

Azúcares reductores: Son glúcidos de tres a siete átomos de carbono que tienen un grupo carbonilo intacto y presentan un equilibrio en forma abierta, es decir una mutarrotación. Son azúcares reductores la glucosa, fructosa, galactosa y manosa (Cabrera, 2019).

2.3.7 Métodos de extracción

2.3.7.1 Maceración

Para Cujic *et al.* (2016), la maceración es una técnica tradicional de extracción de metabolitos que contactan el material biológico con el solvente a utilizar por un tiempo determinado, el solvente conocido también como menstruo, es el líquido con el que se pretende

trabajar sean estos; agua, alcohol, metanol. La mezcla de este material biológico con el solvente es conocido como tintura.

Parámetros como la naturaleza biológica y química de los compuestos del material de estudio, la destreza del investigador y el procedimiento aplicado influyen en el resultado de la maceración (Azmir *et al.*, 2013).

2.3.7.2 Métodos de extracción de metabolitos con solventes

La extracción es la disgregación de sustancias en dos fases para aumentar la cantidad de metabolitos y evitar procesos que puedan interferir en los análisis (Wandersleben,2016). Para muestras sólidas se emplea Soxhlet mientras que la decantación se usa en muestras líquidas que son las usadas con más frecuencia. La extracción de metabolitos por maceración dinámica de *Pleurotus ostreatus* J. varía entre 0,4% y 22%.

Screenig Fitoquímico

Para Flores y Aguirre (2019) el screenig fitoquímico hace referencia a las pruebas fitoquímicas para evaluar el contenido de alcaloides, saponinas, flavonoides, quinonas, glucósidos, proteínas, terpenoides, cumarinas y fenoles en una especie.

Pruebas para determinar alcaloides

El ensayo de Dragendorff es un método colorimétrico que permite identificar la presencia de alcaloides empleando el reactivo en una solución por lo que se forma un precipitado naranja o rojizo (Espada *et al.*, 2016).

Pruebas para determinar fenoles

Según Gutiérrez *et al.* (2020) el método de Folin Ciocalteu se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico.

Prueba para determinar proteínas

Para determinar proteínas se emplea el método de Bradford usando albúmina de suero bovino, posteriormente se elabora una curva de calibración a partir de diferentes concentraciones de BSA y agua destilada (Tehrani *et al.*, 2013).

Prueba para medición de azúcares reductores

Para determinar azúcares reductores se usa el método del ácido dinitrosalicílico (DNS) utilizando la glucosa como medio de comparación (Duarte *et al.*, 2020); en Argentina el procedimiento oficial para determinar azúcares reductores desde el año 2015 es el empleo del método colorimétrico de Fehling, su fundamento es la reacción de los azúcares reductores con el cobre en medio alcalino (Cobos, 2017).

Prueba para determinación de carbohidratos

Según Duarte *et al.* (2020), los métodos más adecuados para determinar los carbohidratos totales son los del ácido sulfúrico y fenol, en donde se usa la glucosa como referencia.

Prueba de determinación de flavonoides

Se realiza la prueba denominada Shinoda a partir de los extractos colocados en tubos de ensayo en donde se agregan magnesio en polvo y ácido clorhídrico al 10% hasta el desprendimiento de hidrógeno (Khanam *et al.*, 2015).

Los colores rosados, anaranjado o fresa indican prueba positiva (Rondón *et al.*, 2018).

2.3.8 Capacidad antioxidante

La actividad antioxidante es la capacidad que tiene una sustancia para inhibir la degradación oxidativa, a todo antioxidante se le denomina terminador de cadena gracias a la capacidad que tiene para reaccionar con radicales libres.

Una alta actividad anti radicalaria no siempre se correlaciona con una alta capacidad antioxidante puesto que la actividad estabilizadora está determinada por la reactividad de un antioxidante frente a los radicales libres, y los antioxidantes miden la capacidad para atrasar la degradación oxidativa, existen casos de compuestos fenólicos sintéticos con alta reactividad y moderada actividad antioxidante (Londoño, 2017).

Determinación de la capacidad oxidante

Método DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

De acuerdo con Andzi (2016), el método se basa en la medida de la absorbancia del radical DPPH 100 μM (3,9 mL) disuelto en metanol al 80%, a la longitud de onda de 517 nm. Posteriormente se añade la muestra o patrón, se homogeniza cuidadosamente la mezcla, y se mantiene en la oscuridad durante 30 minutos.

La concentración de DPPH en el medio de reacción se calcula a partir de una curva de calibrado obtenida por regresión lineal.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 Nivel de investigación

Evaluar la capacidad antioxidante del hongo constituye una investigación experimental porque permite establecer la mayor capacidad antioxidante de la unidad de estudio.

3.1.1 Población y muestra

En este estudio se recopilan cuatro kilogramos del hongo ostra comestible *Pleurotus ostreatus* J. obtenido en la granja orgánica Intawasi ubicada en la parroquia Tumbaco del cantón Quito, empleando solamente dos kilogramos de esta muestra para eliminar cualquier agente infeccioso que pueda interferir en la investigación.

3.1.2 Variables

Variables según su función:

Independiente

La variable independiente es el solvente usado en la muestra.

Dependiente

La variable dependiente es la capacidad antioxidante de los extractos.

Interviniente

Las variables intervinientes son: temperatura y humedad.

3.1.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Los datos se recopilaron a partir de investigación bibliográfica y el uso de fichas de observación que permitieron registrar los resultados correspondientes a las pruebas fitoquímicas.

3.1.4 Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Para el procesamiento de datos se empleó gráficos y tablas, los mismos que facilitaron la interpretación de los resultados, mientras que para su análisis se aplicó un diseño completamente al azar.

3.2 Procesos

3.2.1 Etapa 1: Recolección del material biológico (*Pleurotus ostreatus*)

Se adquiere una muestra de cuatro kilogramos del hongo *Pleurotus ostreatus* J. de la granja orgánica Intawasi ubicada en la parroquia Tumbaco perteneciente a la ciudad de Quito.



Imagen 3. Muestra de *Pleurotus ostreatus* J.

Fuente: (Autor).

3.2.1.1 Tratamiento de la materia prima

Para retirar las impurezas del material biológico se lavó este hongo tres veces con agua destilada. Para el secado de forma natural se coloca el material sobre una superficie plana durante 15 días a temperatura ambiente y se procede a moler la materia prima con la finalidad de obtener polvo fúngico.



Imagen 4. Proceso de secado de Pleurotus ostreatus J.

Fuente: (Autor).

3.2 .2 Obtención de los extractos

3.2.2.1 Obtención del extracto etanólico

Para la preparación del extracto etanólico se utilizó el polvo fúngico con etanol concentrado al 96% trabajando con una relación 7:1 a la muestra, es decir 100 g de polvo fúngico en 750 mL de etanol. Se procede a macerar por un periodo de tiempo de 15 días agitando periódicamente.

Transcurrido el tiempo de maceración se purifica el extracto etanólico con papel filtro y la filtración al vacío, finalmente se utiliza el rotavapor a 75 °C con el fin de obtener un extracto totalmente concentrado.

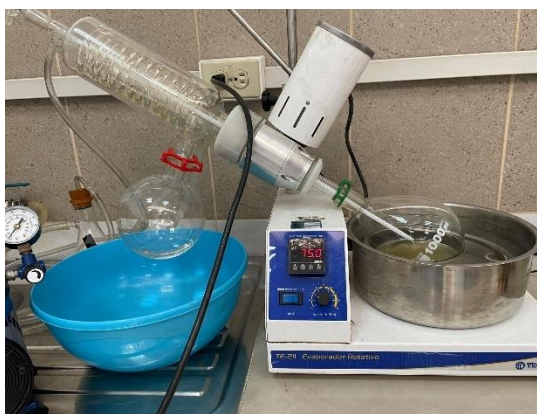


Imagen 5. Extracto etanólico en el rotavapor.

Fuente: (Autor).

3.2.2.2 Obtención del extracto acuoso

El extracto acuoso total se obtiene pesando 100 g de materia prima y se coloca en un frasco ámbar añadiendo 750 mL de agua destilada, con relación 7:1 a la muestra. Se macera durante 15 días en un lugar oscuro.

Completado el periodo de maceración el extracto acuoso se filtra con papel filtro y al vacío.



Imagen 6. Filtración al vacío del extracto acuoso.

Fuente: (Autor).

3.2.3 Etapa 2: Caracterización cualitativa

Para esta etapa el extracto etanólico y acuoso se someten a varias pruebas para identificar los metabolitos presentes.

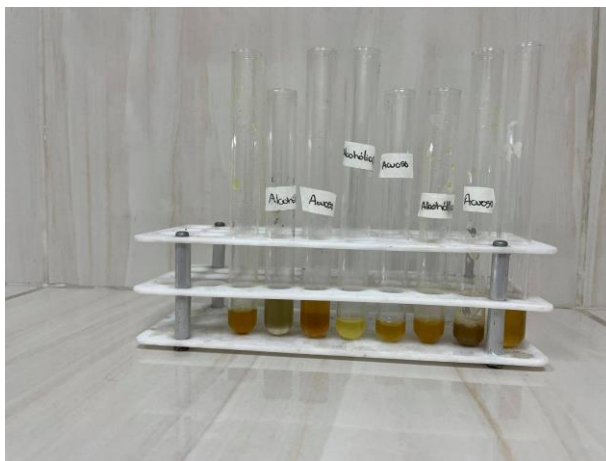


Imagen 7. Marcha fitoquímica del extracto etanólico y acuoso de Pleurotus ostreatus J.

Fuente: (Autor).

Marcha o Screenig fitoquímico

A continuación se describen las pruebas utilizadas para la caracterización cualitativa.

Prueba para determinación de alcaloides

Ensayo de Dragendorff: En tubos de ensayo por separado se pone 1 mL de muestra alcohólica y 1 mL de muestra acuosa, en seguida se añade 1 mL de ácido clorhídrico al 1% a cada tubo, luego se procede mediante baño maría para evaporar el solvente y finalmente se agregan tres gotas del reactivo de Dragendorff. En caso de observarse cambio de coloración al anaranjado el resultado es positivo.



Imagen 8. Determinación de alcaloides en el extracto etanólico y acuoso de Pleurotus ostreatus J.

Fuente: (Autor).

Prueba para determinación de fenoles

Se adiciona 1 mL de muestra alcohólica y 1 mL de muestra acuosa en tubos de ensayo por separado, se añade 1 mL de cloruro férrico al 1%, si se observa un cambio a color verde, azul, violeta o negro la prueba es positiva.



Imagen 9. Determinación de fenoles en el extracto etanólico y acuoso de Pleurotus ostreatus J.

Fuente: (Autor).

Prueba para determinación de proteínas

Para la determinación de proteínas se prepara una solución concentrada de albúmina de suero bovina (BSA), se procedió a pesar 4 mg de BSA en una balanza analítica y se disolvieron en 4 mL de agua destilada (buffer). A continuación se hace la curva de calibración a partir de diferentes concentraciones de BSA añadiendo el reactivo de Bradford.

Se deja reposar por cinco minutos las soluciones, y se realizó la lectura de la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de 595 nm.

Tabla 2
Preparación de soluciones en distintas fracciones

Concentración BSA (ug/ mL)	Agua destilada (uL)
Blanco	
200	800 uL
400	600 uL
600	400 uL
800	200 uL
1000	0 uL

Fuente (Elaboración del autor).

Preparación de los extractos

La concentración de proteínas en los extractos se determinó a partir de espectrofotometría usando el reactivo de Bradford vs una curva de calibración con albúmina de suero bovina (BSA), como patrón de referencia.

Tabla 3

Preparación de los extractos

Extracto etanólico	Extracto acuoso
1 mL + 1000 uL de BSA	1 mL + 1000 uL de BSA

Fuente (Elaboración del autor).

Prueba para determinación de azúcares reductores

Prueba de Fehling: Se agrega 1 mL de extracto etanólico y 1 mL de extracto acuoso en cada tubo de ensayo, luego se adiciona 0,5 mL de Fehling A y 0,5 mL de Fehling B en cada tubo.

Cuando se realiza el baño maría durante 5 minutos a una temperatura de 60 °C las soluciones cambian a color azul, si el azúcar es reductor cambia de azul a rojizo o color anaranjado es decir la prueba es positiva.



Imagen 10. Determinación de azúcares reductores en el extracto etanólico y acuoso de Pleurotus ostreatus J.

Fuente: (Autor).

Prueba para determinar carbohidratos

Prueba de Molish: Se coloca 1 mL de cada extracto en un tubo de ensayo, se añaden dos gotas de reactivo de Molish por las paredes del tubo se coloca 1 mL de ácido sulfúrico. La

presencia de furfural (glúcido deshidratado) se evidencia cuando se produce la formación de una capa intermedia púrpura o café; además el tiempo de reacción indica el número de carbonos que posee el glúcido, por lo que una pentosa (5c) tendrá alta reacción y una hexosa (6c) tiene una baja reacción.

Prueba de Lugol: Se añade 2 mL de extracto etanólico y acuoso en tubos de ensayo por separado; posteriormente se adiciona dos gotas de lugol y 1 mL de agua; si se forma un complejo azul oscuro la prueba es positiva.



Imagen 11. Determinación de carbohidratos en el extracto etanólico y acuoso de Pleurotus ostreatus J.

Fuente: (Autor).

Prueba para determinación de flavonoides

Ensayo de Shidona: En cada tubo de ensayo se agrega 1 mL de extracto etanólico y 1 mL de extracto acuoso de la muestra, además se introduce un pedazo de cinta de magnesio, luego de cinco minutos se añade 1 mL de alcohol isoamílico. Si existe un cambio de coloración una coloración roja intensa o anaranjada hay resultados positivos.



Imagen 12. Determinación de flavonoides en el extracto acuoso de *Pleurotus ostreatus* J.

Fuente: (Autor).

3.2.4 Etapa 3: Determinación de la capacidad antioxidante

Para obtener la capacidad antioxidante del extracto etanólico y acuoso del hongo *Pleurotus ostreatus* mediante el método DPPH (1,1- difenil-2-picril-hidrazilo). Para ello se preparó el reactivo a partir de una solución de 0,5 mM de DPPH en etanol al 96 %, para lo cual se pesó 49 mg de DPPH y se aforó a 250 mL con etanol al 96 %, luego se colocó en frasco ámbar envuelto en papel aluminio manteniéndose en refrigeración hasta el momento del ensayo.

3.2.4.1. Curva de calibración

En la preparación de la curva de calibración el patrón que se usó como referencia es el ácido ascórbico puro para lo cual se pesó 25 mg de ácido ascórbico puro y se aforó en un balón de 25 mL con etanol al 96% envolviendo con papel aluminio hasta el momento del ensayo.

3.2.4.2 Preparación del compuesto sintético

Para comparar la capacidad antioxidante de los extractos con el compuesto sintético, se utilizó una pastilla de vitamina C comercial, la cual primero se trituró, se pesó 25 mg de la misma y se aforó en un balón de 25 mL con etanol al 96%, finalmente se envolvió con papel aluminio hasta el momento del ensayo.

3.2.4.3 Preparación de los extractos

Para la preparación del extracto etanólico y acuoso se agregó 1 mL de extracto y se aforó en un balón de 10 mL con etanol al 96%, luego se envolvió con papel aluminio hasta el momento del ensayo.

El espectrofotómetro se programa a una longitud de onda de 517 nm, encendido con etanol al 96%. Se mide la absorbancia empezando con el blanco y luego de forma ascendente.

3.2.4.4. Preparación de soluciones en distintas fracciones

A partir de la solución preparada se realizó las disoluciones en siete frascos pequeños color ámbar envueltos en aluminio con los datos que indica la Tabla N° 4.

Tabla 4
Tabla referencial para la preparación de fracciones

Frascos	Muestra	DPPH (mL)	Etanol al 96 %
Blanco	0 uL	2,9 mL	100 uL
1	1 uL	2,9 mL	99 uL
2	5 uL	2,9 mL	95 uL
3	10 uL	2,9 mL	90 uL
4	20 uL	2,9 mL	80 uL
5	50 uL	2,9 mL	50 uL
6	80 uL	2,9 mL	20 uL
7	100 uL	2,9 mL	0 uL

Fuente (Elaboración del autor).

En un vaso de precipitación se colocó los frascos ámbar y se agitó a 200 rpm en el equipo Roto Mix (Type 48200) durante una hora a temperatura ambiente.

En el espectrofotómetro se trabajó con una longitud de 517 nm de onda, encerado con etanol al 96%. Se midió la absorbancia iniciando frente al blanco de reactivo y luego de manera ascendente con el resto de muestras.

Se calculó el porcentaje de inhibición con el empleo de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ DDPP Inhibido} = \left(\frac{Ac - Am}{Ac} \right) \times 100$$

Donde

Ac es la absorbancia del blanco

Am es la absorbancia de cada una de las soluciones diluidas del extracto del hongo.

El IC_{50} representa la actividad antioxidante que se requiere para el 50% de inhibición de la formación del radical DPPH (Noriega *et al.*, 2014).

3.2.5 Cuantificación de compuestos fenólicos

El método de Folin Ciocalteu que utiliza al ácido gálico como estándar de referencia, permitió cuantificar los fenoles totales.

Se preparó una solución de ácido gálico, para lo cual se pesaron 25 mg de ácido gálico y se aforó en un balón de 25 mL con agua mili-Q, de igual forma se obtuvo una solución de carbonato de sodio al 20% se pesó cinco gramos de carbonato de sodio y se aforó a 25 mL, disolviendo en 15 mL de agua mili-Q inicialmente.

Para el reactivo de Folin se utilizó el reactivo de la marca Sigma Aldrich que posee una concentración 2N, por lo que se hizo una dilución 1:2 con agua mili-Q, es decir 12,5 mL de

Folin en 25 mL de agua mili-Q, a continuación el reactivo se colocó en refrigeración en un frasco ámbar envuelto en aluminio para proteger de la luz hasta su uso.

En la Tabla N° 5 se detalla las concentraciones de las soluciones en las cuales se añadió ácido gálico y reactivo de Folin.

Tabla 5

Tabla referencial para la preparación de fracciones con ácido gálico

Muestra	Ácido gálico	Reactivo de Folin
Blanco	0 uL	250 uL
1	10 uL	250 uL
2	20 uL	250 uL
3	30 uL	250 uL
4	40 uL	250 uL
5	50 uL	250 uL

Fuente (Elaboración del autor).

Una vez preparadas las soluciones, se agitó por cinco minutos en el equipo Roto Mix (Type 48200) a temperatura ambiente, después se agregó carbonato de sodio y agua mili-Q a cada uno de los frascos ámbar que contienen las soluciones en diferentes concentraciones tal como se describe en la Tabla N° 6.

Tabla 6*Tabla referencial para la preparación de fracciones para cuantificar fenoles*

Muestra	Carbonato de sodio	Agua mili-Q
Blanco	250 uL	1500 uL
1	250 uL	1480 uL
2	250 uL	1460 uL
3	250 uL	1440 uL
4	250 uL	1420 uL
5	250 uL	1400 uL

Fuente (Elaboración del autor).

Se dejó reposar durante dos horas agitando cada 30 minutos antes de leer las muestras a una longitud de onda de 760 nm en el espectrofotómetro Genesys.

3.2.5.1 Preparación de los extractos

La concentración de fenoles en los extractos se determinó a partir de espectrofotometría usando el reactivo de Folin Ciocalteu como agente oxidante vs una curva de calibración con ácido gálico como patrón de referencia.

Para la preparación de las soluciones de cada extracto se necesitó dos frascos ámbar en los cuales se colocaron las siguientes concentraciones:

Tabla 7*Tabla referencial de la preparación de extractos para cuantificar fenoles*

Muestra	Agua mili-Q	Reactivo de Folin
Blanco	4 mL	750 uL
50 uL extracto etanólico	3950 uL	250 uL
50 uL extracto acuoso	3950 uL	250 uL

Fuente (Elaboración del autor).

Se dejó reposar por dos minutos y se añadió 750 uL de carbonato de sodio a los frascos, seguidamente se agitó por cinco minutos y por último se dejó reposar por dos horas a temperatura ambiente.

Transcurrido el tiempo, se procedió a realizar las lecturas de los extractos por triplicado a una longitud de onda de 760 nm.

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Fase 1

4.1.1. Obtención del extracto etanólico

De 1 kg de hongo *Pleurotus ostreatus* J. se obtuvo 500 g de polvo fúngico, de ahí se utilizó 100 g para elaborar el extracto etanólico, como resultado final se obtuvo 150 mL de extracto etanólico concentrado luego de haber filtrado y colocado en el rotavapor, este extracto se caracteriza por ser de color amarillo y no presentar viscosidad.

Tabla 8

Datos de la obtención del extracto etanólico

Materia prima	Peso inicial	Peso de la muestra	Volumen total del extracto etanólico
<i>Pleurotus ostreatus</i> J.	1 Kg	100 g	150 mL

Fuente (Elaboración del autor).

4.1.2 Obtención del extracto acuoso

De 1 kg de hongo *Pleurotus ostreatus* J. se obtuvo 500 g de polvo fúngico, de los cuales se utilizaron 100 g para elaborar el extracto acuoso, mismo que presentó un volumen final de 150 mL y se caracteriza por ser de color amarillo y sin viscosidad.

Tabla 9

Datos de la obtención del extracto acuoso

Materia prima	Peso inicial	Peso de la muestra	Volumen total del extracto acuoso
<i>Pleurotus ostreatus</i> J.	1 Kg	100 g	150 mL

Fuente (Elaboración del autor).

4.2 Fase 2

4.2.1 Caracterización cualitativa de la muestra

Los resultados obtenidos se detallan a continuación:

Tabla 10

Resultados de la marcha fitoquímica de cada extracto

Metabolito Secundario	Extracto etanólico	Extracto acuoso
Alcaloides	Positivo	Positivo
Fenoles	Negativo	Positivo: Coloración verde oscura
Azúcares reductores	Positivo : Color anaranjado	Negativo
Carbohidratos	Prueba de Molish Positivo: Formación de una capa intermedia color café intenso al ser una alta reacción el glúcido es una pentosa 5C	Positivo: Formación de una capa intermedia color café intenso al ser una alta reacción el glúcido es una pentosa 5C
	Prueba de lugol Negativo	Prueba de lugol Negativo
Flavonoides	Negativo	Positivo: Anillo de color rojo

Fuente (Elaboración del autor).

El extracto etanólico y acuoso contienen alcaloides, Rodrigues *et al.* (2020), afirma que el género *Pleurotus ostreatus* se caracteriza por su contenido de metabolitos secundarios entre ellos los alcaloides.

En el extracto acuoso se evidencia fenoles, de acuerdo al estudio de Zaragoza (2011), “Análisis de los compuestos fenólicos de los hongos comestibles Huitlacoche (*Ustilago maydis* P.) y setas (*Pleurotus ostreatus* J.) y evaluación de algunas de sus posibles propiedades nutraceuticas” el extracto acuoso frío y acuoso caliente presentan fenoles. De igual manera lo afirman Belloso *et al.* (2015) ya que en sus estudios realizados se presenta fenoles en el extracto acuoso.

En el trabajo realizado por Duarte *et al.* (2020) “Extracción de sustancias bioactivas de *Pleurotus ostreatus* por maceración dinámica” se evidenció la presencia de azúcares reductores en el extracto etanólico a una relación 1:30, corroborando los resultados obtenidos en esta investigación.

En cuanto a los carbohidratos se evidencia la presencia de los mismos en el extracto etanólico como el extracto acuoso, en el estudio de Beltrán *et al.* (2015) a partir del cultivo de la cepa CCEBI-3024 de *Pleurotus sp.* se presenta un alto contenido de carbohidratos 32%.

El contenido de flavonoides se evidencia en el extracto acuoso, de acuerdo al estudio realizado por Cruz (2012) los extractos acuosos de micelio y cuerpos fructíferos de *Pleurotus sp.* poseen flavonoides.

Determinación de proteínas

En la tabla N° 11 se muestra el resultado por triplicado de las absorbancias a diferentes concentraciones de la albúmina de suero bovina (BSA) empleada como estándar de referencia

para elaborar la curva de calibración, para el cálculo del contenido de proteínas del extracto etanólico y acuoso se usó la ecuación de la recta.

Tabla 11

Resultados de las absorbancias de las soluciones preparadas con albúmina de suero bovina (BSA)

Concentración ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Absorbancia a 595 nm			Promedio
Blanco	0,074	0,075	0,074	0,074
2	0,160	0,162	0,163	0,162
4	0,254	0,255	0,255	0,255
6	0,340	0,341	0,343	0,341
8	0,452	0,453	0,453	0,453
10	0,630	0,630	0,631	0,630

Fuente (Elaboración del autor).

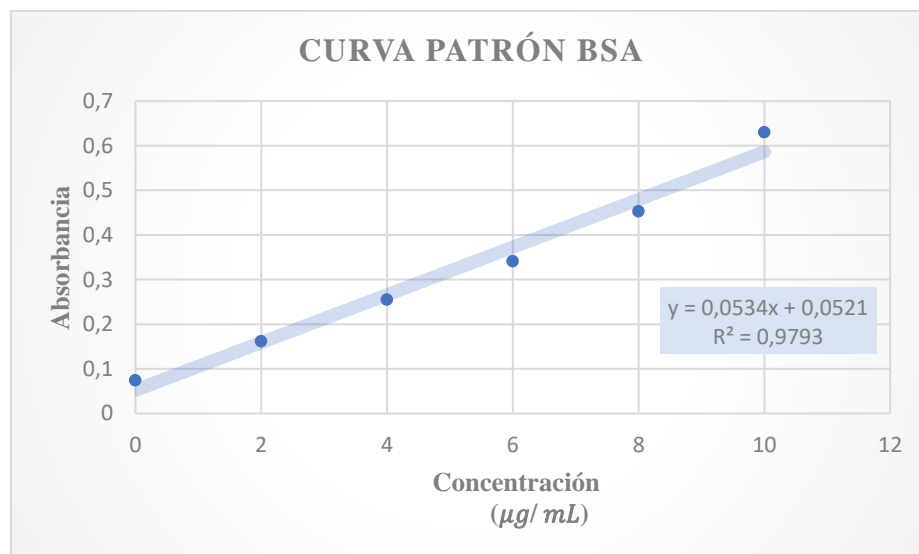


Gráfico 1. Porcentaje de inhibición y concentración de albúmina de suero bovina (BSA).

Fuente (Elaboración del autor).

Las absorbancias de los extractos de la muestra se observan en la tabla N° 12.

Tabla 12

Resultados de las absorbancias de los extractos para cuantificación de proteínas

Extracto	Absorbancia a 595 nm			Promedio
Extracto etanólico	1,333	1,335	1,335	1,334
Extracto acuoso	1,448	1,449	1,451	1,449

Fuente (Elaboración del autor).

A partir de la ecuación de la recta de BSA, y empleando la siguiente fórmula se calcula el contenido de proteínas.

$$\text{Proteína} = \frac{\text{Absorbancia de la muestra} - 0,0521}{0,0534}$$

Tabla 13

Resultados del porcentaje de proteína presente en los extractos

Extracto	Proteína
Extracto etanólico	24,005
Extracto acuoso	26,159

Fuente (Elaboración del autor).

El extracto etanólico presenta 24,005% de proteína y el acuoso 26,159%, de acuerdo al estudio realizado por Grifoll (s.f) “Poder antioxidante de hongos cultivados en La Rioja” el género *Pleurotus ostreatus* J. es una buena fuente de proteínas con un contenido de 23,01%,

además para Reinoso (2015) la importancia de este género radica en el contenido significativo de proteína (de 20 a 40 % del peso seco), es por ello que los resultados obtenidos se encuentran en el rango de contenido de proteína.

En el artículo publicado por Duarte *et al.* (2020), "Extracción de compuestos bioactivos de *Pleurotus ostreatus* por maceración dinámica" se obtuvo contenido de proteínas (29,4 %) en el extracto etanólico; es importante recalcar que no existen estudios referentes a la concentración de proteínas en el extracto acuoso.

4.3 Fase 3

4.3.1 Determinación de la capacidad antioxidante

Los resultados de la capacidad antioxidante del ácido ascórbico puro se evidencian en la Tabla N°14 que se utilizó como patrón de referencia, y los resultados del extracto etanólico, acuoso y la Vitamina C en las tablas: Tabla N° 15, Tabla N° 16, Tabla N° 17 compuesto que permitió comparar los resultados de la capacidad antioxidante.

Determinación de la capacidad antioxidante del ácido ascórbico puro

Tabla 14

Resultados de porcentaje de captación de radicales libres del ácido ascórbico puro

uL de extracto	Concentración ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Absorbancia a 517 nm			Promedio	% de Inhibición
Blanco	0	2,356	2,354	2,352	2,354	0
1	0,33	2,355	2,353	2,352	2,353	0,042
5	1,66	2,248	2,241	2,250	2,246	4,587
10	3,33	2,153	2,154	2,153	2,153	8,538
20	6,66	2,008	2,008	2,009	2,008	14,698
50	16,66	1,457	1,455	1,456	1,456	38,147
80	26,66	0,842	0,843	0,843	0,843	64,189
100	33,33	0,434	0,435	0,435	0,435	81,521
					IC_{50}	20,779
					($\mu\text{g}/\text{mL}$)	

Fuente (Elaboración del autor).

En la presente investigación se evidenció que el ácido ascórbico puro en 100 ppm tiene un porcentaje de inhibición de 81,521%, en cuanto al IC_{50} se obtuvo 20,779 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

En el trabajo de titulación “Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos alcohólico y acuoso de la cáscara de mandarina (*Citrus reticulata*) en relación a un medicamento antioxidante comercial “realizado por Delgado y Torres (2020), tienen como

resultado un porcentaje de inhibición de 81,5404 % y un IC_{50} de 20,789 $\mu\text{g}/\text{mL}$, siendo resultados similares a los de esta investigación, por lo tanto los datos poseen normalidad.

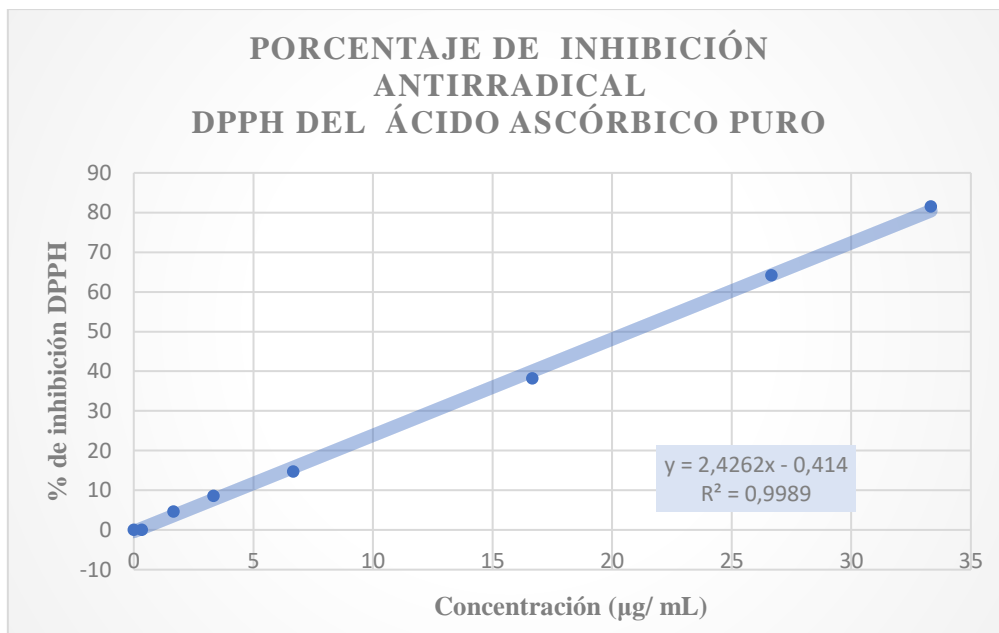


Gráfico 2. Porcentaje de inhibición y concentración del ácido ascórbico puro.

Fuente (Elaboración del autor).

Determinación de la capacidad antioxidante del ácido ascórbico en pastilla (Vitamina C)

Tabla 15

Resultados de porcentaje de captación de radicales libres del ácido ascórbico en pastilla (Vitamina C)

uL de extracto	Concentración ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Absorbancia a 517 nm			Promedio	% de Inhibición
Blanco	0	1,664	1,667	1,669	1,666	0
1	0,33	1,653	1,652	1,652	1,653	0,780
5	1,66	1,652	1,652	1,652	1,652	0,840
10	3,33	1,611	1,634	1,660	1,635	1,860
20	6,66	1,623	1,621	1,622	1,622	2,641
50	16,66	1,552	1,551	1,552	1,552	6,843
80	26,66	1,446	1,447	1,477	1,457	12,545
100	33,33	1,431	1,429	1,431	1,430	14,166
					IC_{50}	115,631
					($\mu\text{g}/\text{mL}$)	

Fuente (Elaboración del autor).

En la evaluación de la capacidad antioxidante del compuesto sintético, en este caso vitamina C se obtiene un porcentaje de inhibición de 14,166% y un valor IC_{50} de 115,631 $\mu\text{g}/\text{mL}$, por lo tanto presenta un valor referencial mínimo de capacidad antioxidante; Mejía y Torres (2019) en su estudio “Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos alcohólico y acuoso de Romero (*Rosmarinus officinails*) frente a un compuesto sintético obtuvieron 14,869% de inhibición y valor del IC_{50} de 113,4747 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

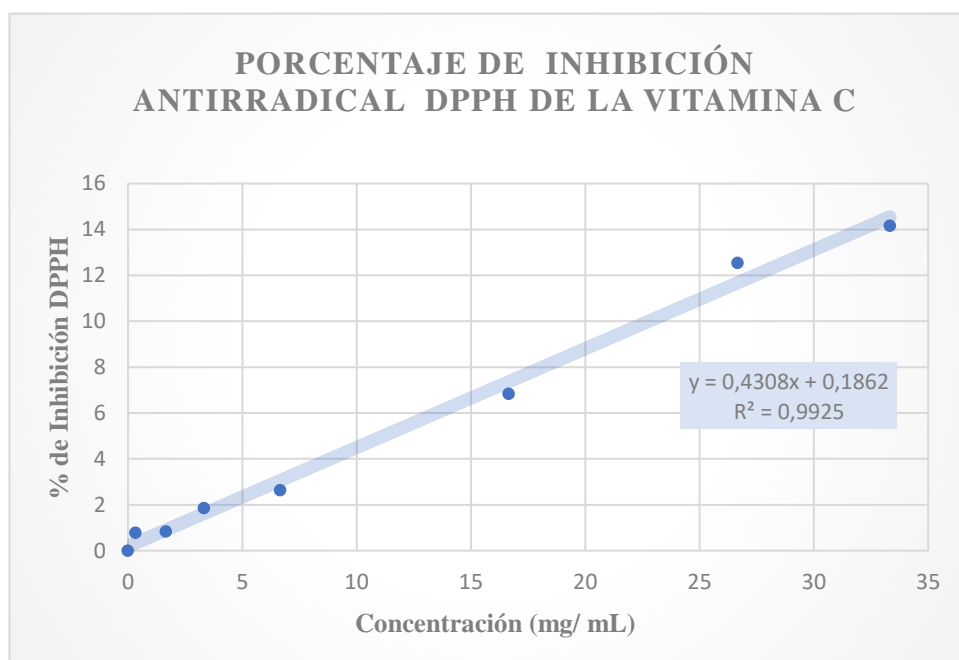


Gráfico 3 Porcentaje de inhibición y concentración del ácido ascórbico en pastilla.

Fuente (Elaboración del autor).

Determinación de la capacidad antioxidante del extracto etanólico

Tabla 16

Resultados de porcentaje de captación de radicales libres del extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* J

uL de extracto	Concentración ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Absorbancia a 517 nm			Promedio	% de Inhibición
Blanco	0	2,668	2,667	2,669	2,668	0
1	0,33	2,467	2,469	2,470	2,469	7,459
5	1,66	2,423	2,424	2,429	2,425	9,108
10	3,33	2,357	2,358	2,359	2,358	11,619
20	6,66	2,343	2,343	2,347	2,344	12,144
50	16,66	1,787	1,791	1,795	1,791	32,871
80	26,66	1,519	1,520	1,519	1,519	43,066
100	33,33	1,405	1,406	1,411	1,407	47,264
					IC_{50}	32,845
					($\mu\text{g}/\text{mL}$)	

Fuente (Elaboración del autor).

Al evaluar el porcentaje de captación de radicales libres del extracto etanólico del hongo trabajando con una concentración de 100 ppm se obtiene como resultado un porcentaje de inhibición de 47,264% y un IC_{50} de 32,845 $\mu\text{g}/\text{mL}$, lo cual se evidencia una menor capacidad antioxidante comparado al ácido ascórbico puro.

Al momento no se cuenta con reportes en la literatura para el extracto etanólico con las concentraciones trabajadas.

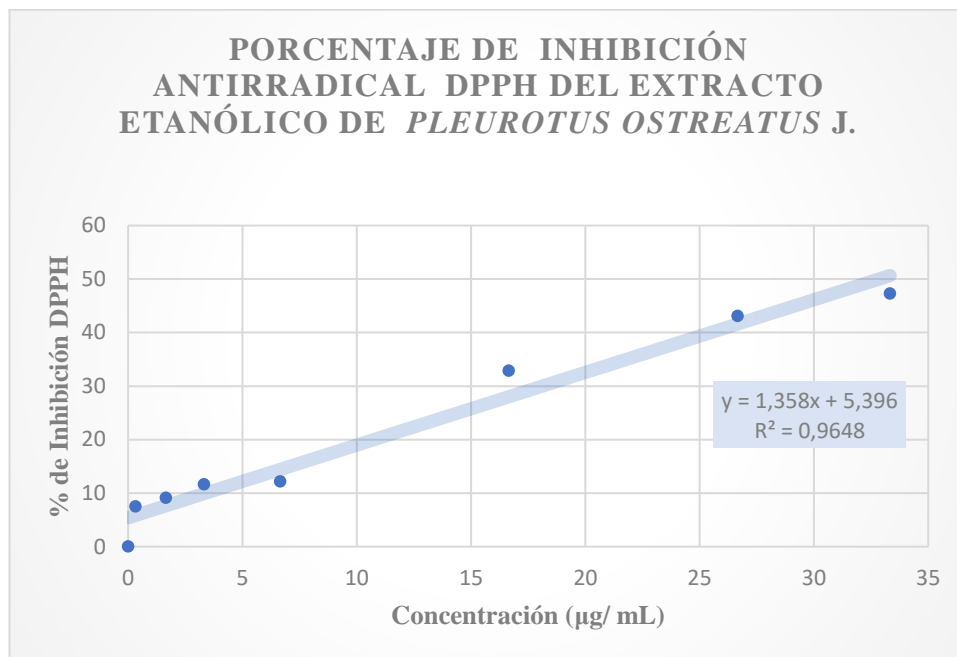


Gráfico 4. Porcentaje de inhibición y concentración del extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* J.

Fuente (Elaboración del autor).

Determinación de la capacidad antioxidante del extracto acuoso

Tabla 17

Resultados de porcentaje de captación de radicales libres del extracto acuoso de *Pleurotus ostreatus* J.

uL de extracto	Concentración ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Absorbancia a 517 nm			Promedio	% de Inhibición
Blanco	0	2,275	2,276	2,275	2,275	0
1	0,33	2,264	2,263	2,264	2,264	0,483
5	1,66	2,158	2,159	2,161	2,159	5,099
10	3,33	2,136	2,137	2,140	2,138	6,022
20	6,66	1,893	1,892	1,892	1,892	16,835
50	16,66	1,109	1,110	1,108	1,109	51,253
80	26,66	0,350	0,351	0,350	0,350	84,615
100	33,33	0,307	0,308	0,310	0,308	86,461
					IC_{50}	17,617
					($\mu\text{g}/\text{mL}$)	

Fuente (Elaboración del autor).

Se obtiene como resultado un porcentaje de inhibición de 86,461%, lo cual es mayor 4,94% comparado al ácido ascórbico puro. Además el extracto acuoso posee un IC_{50} de 17,617 $\mu\text{g}/\text{mL}$ comprobando que dicho extracto tiene mayor capacidad antioxidante que el extracto etanólico y el patrón de referencia.

En el artículo titulado “Valor funcional y medicinal de extractos de *Pleurotus Sp*: Propiedades antioxidantes “ de Beltrán el extracto acuoso del micelio y cuerpos fructíferos de

Pleurotus sp presento un porcentaje de inhibición correspondiente al 96,05%, por lo tanto el extracto acuoso de este género de hongos presenta una alta capacidad antioxidante.

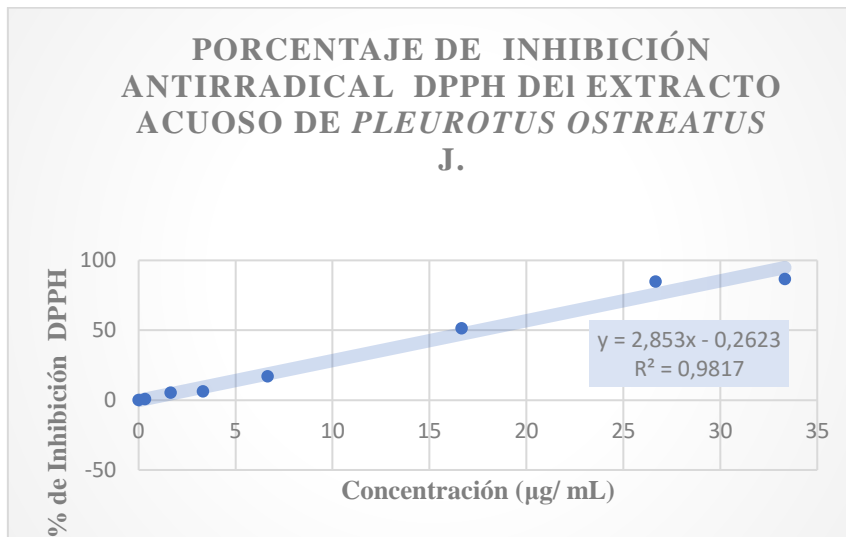


Gráfico 5. Porcentaje de inhibición y concentración del extracto acuoso de *Pleurotus ostreatus* J.

Fuente (Elaboración del autor).

Comparación de los valores del IC_{50} del ácido ascórbico puro, ácido ascórbico en pastilla, extracto etanólico y acuoso de *Pleurotus ostreatus*

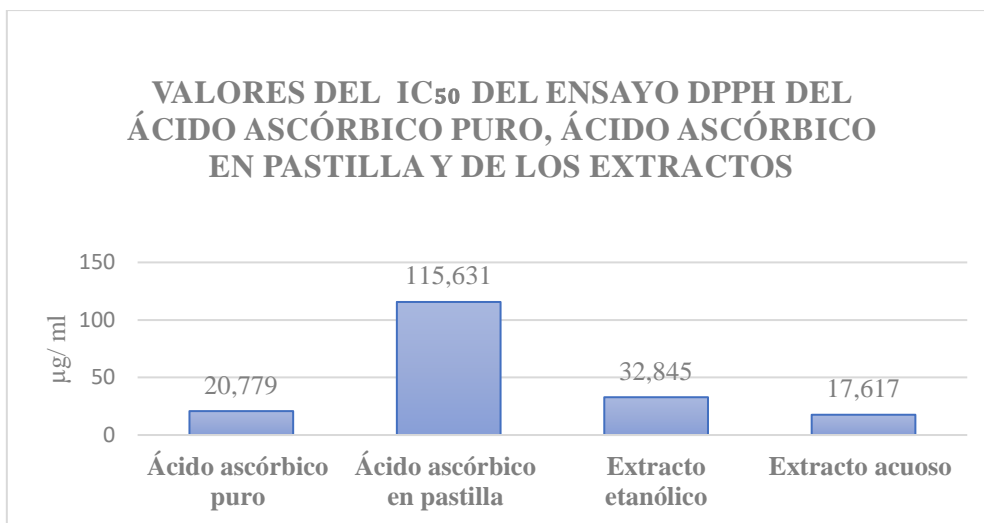


Gráfico 6. Valores del IC_{50} del ácido ascórbico puro, ácido ascórbico en pastilla, extracto etanólico y extracto acuoso.

Fuente (Elaboración del autor).

En el gráfico N° 6 se evidencia el valor del IC_{50} del extracto acuoso de *Pleurotus ostreatus* J. que es de 17,617 $\mu\text{g}/\text{mL}$ el mismo que presenta mayor capacidad antioxidante debido a que su valor del IC_{50} es el más bajo.

4.3.2 Cuantificación de compuestos fenólicos totales

Tabla 18

Resultados de absorbancia del ácido gálico para fenoles totales

mg/L GAE	Absorbancia a 760 nm			Promedio
0	0,133	0,134	0,134	0,134
10	0,459	0,461	0,460	0,46
20	0,927	0,928	0,927	0,927
30	1,259	1,260	1,261	1,26
40	1,739	1,735	1,738	1,737
50	2,073	2,073	2,075	2,074

Fuente (Elaboración del autor).

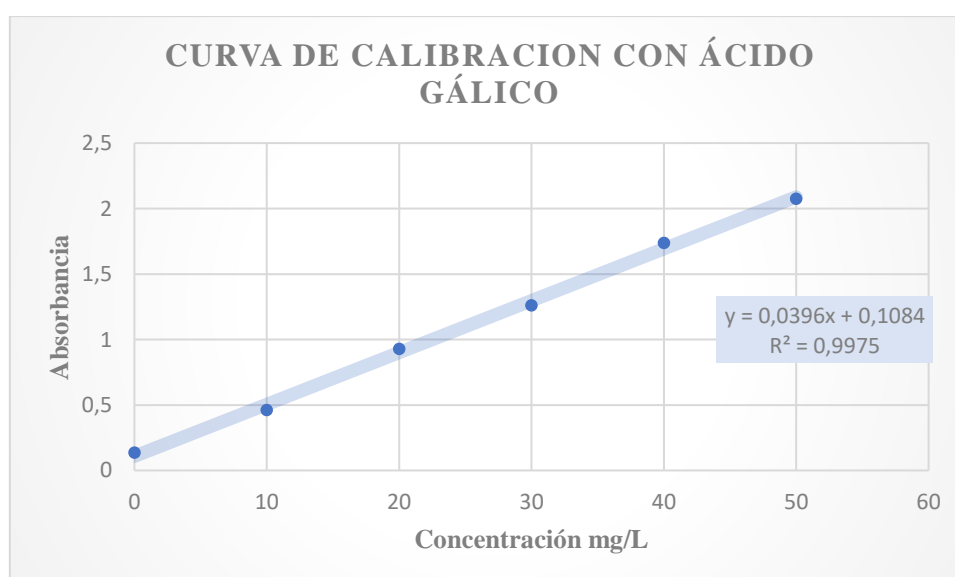


Gráfico 7. Porcentaje de inhibición y concentración del ácido gálico. Fuente (Elaboración del autor).

A partir de la ecuación de la recta, se calcula la equivalencia existente entre la concentración de ácido gálico con las absorbancias del extracto etanólico y acuoso del hongo *Pleurotus ostreatus*, para ello se emplea la siguiente fórmula:

$$\text{Ácido gálico} = \frac{\text{Absorbancia de la muestra} - 0,1084}{0,0396}$$

Tabla 19

Fenoles totales presentes en el extracto etanólico del hongo Pleurotus ostreatus J.

Extracto	Absorbancia a 760 nm	Eq. Mg GAE/L extracto
Etanólico	0,143	0,874
	0,144	0,899
	0,144	0,899
Promedio	0,144	0,899

Fuente (Elaboración del autor).

Tabla 20

Fenoles totales presentes en el extracto acuoso del hongo Pleurotus ostreatus J.

Extracto	Absorbancia a 760 nm	Eq. Mg GAE/L extracto
Acuoso	1,346	31,252
	1,345	31,227
	1,353	31,430
Promedio	1,348	31,303

Fuente (Elaboración del autor).

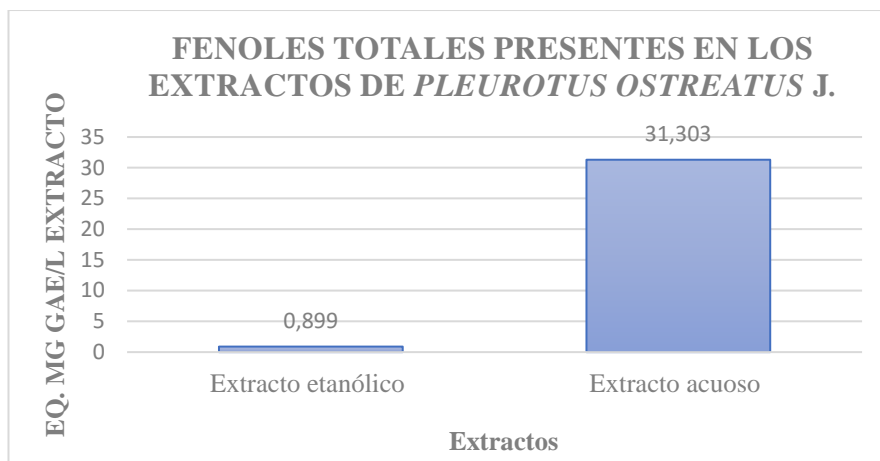


Gráfico 8. Contenido de fenoles en el extracto etanólico y acuoso de *Pleurotus ostreatus* J.

Fuente (Elaboración del autor).

Como se visualiza en el gráfico N° 8 el extracto acuoso del hongo tiene un valor de 31,303 mg/L, el cual representa una elevada concentración de compuestos fenólicos, a diferencia del extracto etanólico que posee un valor de 0,899 mg/L, el cual no es significativo.

Basándonos en estos resultados, el contenido de fenoles totales del extracto acuoso es inferior al obtenido por el estudio realizado por Cruz (2012), en donde el contenido de compuestos fenólicos en los extractos acuosos y fructíferos de *Pleurotus sp.* fue 38 mg/ 100g.

4. 4 Fase 4

4.4.1 Comparación de la capacidad antioxidante de los extractos del hongo *Pleurotus ostreatus* frente a un compuesto sintético.

El análisis estadístico descriptivo e inferencial de la presente investigación se realizó usando el programa informático Microsoft Excel 2018.

En el análisis inferencial para verificar la normalidad de los datos se aplicó la prueba de Shapiro-Wilks, ya que se tiene una muestra inferior a cincuenta datos, por lo que se planteó la siguiente hipótesis :

$H_0 =$ Los datos poseen una distribución normal

$H_a =$ Los datos no poseen una distribución normal

Tabla 21
Prueba de Shapiro Wilks

Shapiro-Wilk Test

	Ácido ascórbico puro	Ácido ascórbico en pastilla	Extracto etanólico	Extracto acuoso
W-stat	0,869934683	0,826747417	0,819866937	0,81914614
p-value	0,185383778	0,074521212	0,064028368	0,06301277
alpha	0,05	0,05	0,05	0,05
normal	yes	yes	yes	yes

Fuente(Elaboración del autor).

Con los datos obtenidos se acepta la hipótesis nula, lo que se comprueba que los datos tienen una distribución normal para la cual se empleó un diseño completamente al azar (DCA), ya que el factor de entrada es la variable dependiente y la independiente se considera el factor de salida trabajando con el 95 % para el nivel de confianza. El solvente es la variable dependiente mientras que la capacidad antioxidante sería la independiente.

Las hipótesis establecidas son:

$$H_0 = u_1 = u_2 = u_3$$

$$H_a = u_1 \neq u_2 \neq u_3$$

Tabla 22
ANOVA

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Modelo	7350,30085	6	1225,05014	4,54321426	0,0124695	2,99612038
Concentración	3214,80274	2	1607,40137	5,96119993	0,01593159	3,88529383
Error	3235,72715	12	269,643929			
Total	13800,8307	20				

Fuente (Elaboración del autor).

Se acepta la hipótesis alternativa ya que se obtuvo un valor de $p < 0,05$ concluyendo que existen diferencias significativas entre las capacidades antioxidantes de los extractos del hongo *Pleurotus ostreatus* J.

Se realizó la prueba estadística de Dunnet para establecer cual extracto posee mayor capacidad antioxidante comparado con el compuesto comercial.

Tabla 23
Prueba estadística Dunnet

DUNNETT'S TEST			alpha	0,05	
Group	Mean	Size	ss	df	d-crit
Vitamina C	5,667857143	7	191,7554789		
Extracto etanólico	23,36157143	7	1769,797798		
Extracto acuoso	35,824	7	8624,474722		
		21	10586,028	18	2,399

Fuente (Elaboración del autor).

De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba estadística, el límite superior representa mayor capacidad antioxidante, siendo el extracto acuoso con un valor de 35,824 el que tiene mayor capacidad antioxidante frente al compuesto sintético.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

El hongo ostra *Pleurotus ostreatus* J. contiene capacidad antioxidante superior a los estándares de referencia, ya que el extracto acuoso presenta 86,461% de captación de radicales libres comparado al ácido ascórbico puro, el extracto etanólico y ácido ascórbico en pastilla con porcentajes de inhibición de 81,521%, 47,264% y 14,166% respectivamente; el contenido de fenoles corresponde a un valor de 31,303 mg/L.

De acuerdo con el screenig fitoquímico del extracto etanólico de *Pleurotus ostreatus* J. se evidenció la presencia de alcaloides, azúcares reductores, carbohidratos, y proteínas (24,005%); mientras que en el extracto acuoso se presentó alcaloides, fenoles, carbohidratos, flavonoides, proteínas (26,159%) argumentando la importancia de este hongo al poseer metabolitos secundarios de interés.

Los extractos analizados poseen un contenido de compuestos fenólicos significativos que representan el 31,303 mg/L en el extracto acuoso que va íntimamente relacionado con la capacidad antioxidante del hongo *Pleurotus ostreatus* J.

El valor p al ser menor a 0,05 en el análisis de bloques completamente al azar permite rechazar la hipótesis nula y aceptar la alternativa, es decir la capacidad antioxidante del extracto acuoso es 12,462 diferente a la capacidad del extracto etanólico.

RECOMENDACIONES

Es importante lavar con agua destilada el hongo *Pleurotus ostreatus* J. para eliminar cualquier contaminante que altere los resultados.

Continuidad de estudios del hongo *Pleurotus ostreatus* J. en diferentes relaciones y solventes para la preparación de los extractos.

Realizar este tipo de estudio en otras variedades de *Pleurotus ostreatus* J. para identificar cual posee mayor capacidad antioxidante.

Para el método DPPH colocar a los frascos ámbar papel aluminio y mantener en refrigeración hasta el momento del ensayo para evitar la degradación de los reactivos.

Se recomienda emplear otros métodos como el ABTS para determinar la capacidad antioxidante de los extractos etanólico y acuoso.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aldaz, L. E. (2018). *Evaluación de la actividad nematocida de los extractos acetónico y metanólico de (Pleurotus ostreatus)*[Tesis de Pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/10463>

Alkadi, H.(2020).Una revisión sobre radicales libres y antioxidantes. *Infectar Objetivos de Drogas*, 16(26). Doi: 10.2174/187152651866180628124323.

Andzi, B., Feuya T.(2016). Estudio comparativo de la actividad antioxidante de los polifenoles totales extraídos de *Hibiscus Sabdariffa L.*, *Glycine max L. Merr.*, té amarillo y vino tinto mediante reacción con radicales libres DPPH. *Arabian Journal of Chemistry*, 9(1),1–8. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.048>

Ayala, N., Portillo, A., Villareal, L., Rico, R . y Soria, I.(2016). Los hongos como fuente de recursos farmacológicos: *Ganoderma lucidum*; *Grifola frondosa*; y *Pleurotus ostreatus*. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 20(58), 25-36.

Azmir, J., Zaidul, ISM., Rahman, M., Sharif, KM., Mohamed, A. y Sahena, F. (2013). Técnicas para la extracción de compuestos bioactivos a partir de materiales vegetales: una revisión. *Revista de Ingeniería en Alimentos*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>.

Badui, S. (2013). *Química de los alimentos*. Pearson Educación.

Barba, M., Assumpc , F., Aparecida, H., Lopes, G., Ávila, S., Polyanna , S. y Hoffmann, R. (2016). Factores que afectan al hongo *Pleurotus spp.* *Revista Saudita de Ciencias Biológicas*, 26(4), 633-646. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.005>

Belloso, K., González, I., Suarez, R. y Cáceres, A. (2015). Actividad antioxidante de extractos de diez basidiomicetos comestibles en Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 2(2), 119-126. <https://doi.org/10.36829/63CTS.v2i2.65>

Beltrán, Y., Morris , H., Batista, P., Llauradó, G., Lebeque, Y., Bermúdez, R. y Moukha, S. (2016). Valor funcional y medicinal de extractos de *Pleurotus* sp.: propiedades antioxidantes. *Ciencia y Tecnología de los Alimentos*.

Bermeo, L. (2017). *Influencia de tres métodos de conservación sobre la estabilidad y producción del hongo *Pleurotus ostreatus**[Tesis de Maestría, Universidad Católica de Manizales]. <http://hdl.handle.net/10839/1789>

Carvajal, C. (2017). El endotelio: estructura, función y disfunción endotelial. *Medicina Legal de Costa Rica*, 34(2),90-100. ISSN 1409-0015

Bohrer, B.(2017).Densidad de nutrientes y valor nutricional de productos cárnicos y alimentos no cárnicos ricos en proteínas. *Tendencias en Ciencias y Tecnología de los Alimentos*, (65), 103-112. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.04.016>

Cabrera, F.(2019).Carbohidratos [Plan de sesión, Universidad Nacional de Cajamarca]. <http://repositorio.unc.edu.pe/handle/UNC/3316>

Calabrone, L., Larocca, M., Marzocco, S., Martelli, G. y Rossano, R. (2015). Contenido total de fenoles y flavonoides, capacidad antioxidante e inhibición de lipasa de extractos de raíz y hoja de rábano picante (*Armoracia rusticana*). *Ciencias de la alimentación y la nutrición*, 6(6), 64-74. [10.4236/fns.2015.61008](https://doi.org/10.4236/fns.2015.61008).

Cassiano, N.(2010). Alcaloides: Propiedades, aplicaciones y efectos farmacológicos. Ciencia Nova.

Cobos, D., Germano, L., Malovini, E. y Paladino S. (2017).¿Es posible determinar azúcares reductores en vinos por el método Fehling Cause Bonnans, sin utilizar acetato neutro de plomo? *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 49(1),197-204.ISSN 1853-8665

Cruz, E. R. (2012). Determinación de las potencialidades antioxidantes de *Pleurotus sp* in vitro a partir de extractos hidrosolubles. *Centro de Estudio de Biotecnología Industrial (CEBI) Santiago de Cuba*.

Cujic, N., Šavikin, K., Jankovic, T., Pljevljakušić, D., Zdunic, G., Ibric S.(2016). Optimización de la extracción de polifenoles de chokeberry seco utilizando la maceración como técnica tradicional. *Química de los alimentos*,194(1),135–142. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.008>.

Deepalakshmi, K. y Mirunalini S. (2014) *Pleurotus ostreatus*: Un hongo ostra con propiedades nutricionales y medicinales. *Revista de Tecnología Bioquímica*, 5(2), 718-726.ISSN: 0974-2328

Delgado, M. y Torres S. (2020). *Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos alcohólico y acuoso de la cáscara de la mandarina (Citrus reticulata), en relación a un medicamento antioxidante comercial* [Tesis de Pregrado,Universidad Politécnica Salesiana].<https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/18542>

Devi, KSP., Behera, B., Mishra, D. y Maiti TK.(2015). Aumento inmune e inhibición tumoral del linfoma de Dalton por glucanos/glicanos aislados del micelio y el cuerpo frutal de *Pleurotus ostreatus*. *Inmunofarmacol*, 25(1), 207–217.<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.01.026>.

Duarte, A., Jiménez, A., Pineda, J., González, C. y García, M.(2020).Extracción de sustancias bioactivas de *Pleurotus ostreatus* (Pleurotaceae) por maceración dinámica. *Revista Acta biológica Colombiana*,25(11),61-74. <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v25n1.72409>

Espada, L., Ferrer, A., Batista, Y., Bandera, A. y Almeida, Y.(2016).Separación y clasificación de los alcaloides presentes en las hojas y flores de la especie *Spilanthes urens* Jacq. *Revista Cubana Química*. 28(1), 409-430. ISSN: 2224-5421

Estrada, G. y Ramírez, M. (2019). *Micología general*. Universidad Católica de Manizales.

Flores, J. y Aguirre, M. (2019). Perfil fitoquímico y actividad antioxidante de extractos de pitahaya *Hylocereus undatus*. *Jóvenes en la ciencia*, 2(1), 29-33.

Gavilánez, J. y Mejía, R. (2019). *Evaluación de polifenoles totales y capacidad antioxidante en extractos de hongos Pleurotus ostreatus y Lentinula edodes*[Tesis de Pregrado, Universidad Estatal de Bolívar].

Granito, M., Pérez, S., Valero, Y. y Colina, J. (2013). Valores de referencia de carbohidratos para la población venezolana. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 63(4),301-314. ISSN 0004-0622.

Grifoll, V., Tello, M., Pérez, M. y Roncero, I. (s.f.). Poder antioxidante de hongos cultivados en La Rioja. *Centro Tecnológico de Investigación de Champiñón de La Rioja (CTICH)*,59-64.

Gutiérrez, D., Ortiz, C. y Mendoza, A. (2020). *Medición de Fenoles y Actividad Antioxidante en Malezas Usadas para alimentación animal*. [Universidad Autónoma de Querétaro].

Hola, M., Dzedzic, K., Górecka., Golinska, A. y Gujskaa, E.(2019) Aloe vera (L.)
Web.: Fuentes naturales de antioxidantes -Una revisión. *Alimentos Vegetales para la nutrición humana*, 74(1), 255–265. <https://doi.org/10.1007/s11130-019-00747-5>

Hurtado, M. (2015). *Establecimiento de condiciones de cultivo en laboratorio del hongo Pleurotus djamor para la producción de metabolitos con posible aplicación terapéutica*[Tesis de Pregrado, Universidad Técnica particular de Loja].
<http://dspace.utpl.edu.ec/handle/123456789/13382>

Ijeh, I., Okwujiako, I., Nwosu, P. y Nnodim H. (2009). Composición fitoquímica de *Pleurotus tuber regium* y efecto en la incorporación dietética sobre el peso corporal de órganos y los triaciglicerolos séricos en ratones albinos. *Revista de Investigaciones de plantas medicinales*,3(11), 939-943. ISSN 1996-0875

Kalac, P., 2009. Composición química y valor nutricional de las especies europeas de setas silvestres: una revisión. *Química de los alimentos*, 113(1), 9–16.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.077>

Khan, AA., Gani, A., Masoodi, FA., Mushtaq U. y Naik AS.(2017). Propiedades estructurales, reológicas, antioxidantes y funcionales de β -glucano extraído de hongos comestibles *Agaricus bisporus*, *Pleurotus ostreatus* y *Coprinus attrimentarius*. *Revista de carbohidratos bioactivos y fibra dietética*, 11(1), 67-74.
<https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2017.07.006>

Khanam, Z., Wen, C. y Bhat I. (2015). Detección fitoquímica y actividad antimicrobiana de extractos de raíz y tallo de *Eurycoma longifolia* Jack (Tongkat Ali) silvestre. *Revista de ciencia de la Universidad de Suad*, 27(1), 23-30
<https://doi.org/10.1016/j.jksus.2014.04.00>

Kim, K., Choi, B., Lee, I., Lee, H., Kwon, S., Oh, K. y Kim, A.Y. (2011). Bioproducción de micelio de hongos de *Agaricus bisporus* por fermentación sumergida comercial para la producción de análogos de carne. *Alimentos agrícolas*, 91(9), 1561–1568. [10.1002/jsfa.4348](https://doi.org/10.1002/jsfa.4348)

Kim, K., Lee, S., Lee, L., Kim, H., Lee, J. y Rho, R.,(2015). Caracterización y control químico de la pudrición blanda causada por *Pantoea sp.* cepa PPE7 en cultivos de hongos *Pleurotus eryngii*. *Revista Europea de Fitopatología*, 141(1),419-425 .ISSN 0929-1873

Llauradó, G., Morris, HJ., Lebeque, Y., Venet, G., Fong, O. y Marcos J. (2016). La administración oral de un extracto acuoso del hongo ostra *Pleurotus ostreatus* mejora la recuperación inmunonutricional de ratones desnutridos. *Biomedicina*, 83(1), 1456–1463 <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.08.067>.

Londoño, J. (2017). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. *Capítulo 9* .

Mejía, P. y Torres, S. (2019). *Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos alcohólico y acuoso de Romero (Rosmarinus officinails) frente a un compuesto sintético* [Tesis de Pregrado, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/17965>

Morales, A. (2016). *Cambios fisicoquímicos y de compuestos con actividad antioxidante en carpóforos de Pleurotus spp. durante su almacenamiento a 2 °C* [Tesis de Pregrado, Universidad Veracruzana]. <http://cdigital.uv.mx/handle/123456789/46744>

Mordor Intelligence. Nutraceutical Ingredients Market - Growth, Trends and Forecasts (2017). Disponible en: <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/nutraceuticalingredients-market>

Moro, C. (2015). *Obtención de extractos metanólicos ricos en compuestos fenólicos a partir de hongos comestibles. valoración, in vitro, de la actividad antioxidante y antiinflamatoria de los extractos*[Tesis de Doctorado, Universidad de Valladolid]. <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/16686>

Nieto, J., Cuzcano, A. y Reyes W.(2020). Estudio preliminar de la composición nutricional del hongo *Pleurotus ostreatus* cultivado en pulpa de café. *Revista de la Sociedad Química de Perú*, 85(4), 422-431. <http://dx.doi.org/10.37761/rsqp.v85i4.256>

Noriega, P., Aldana, C. y Guayasamín L.(2014). *Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos (alcohólico y acuoso) de las hojas de ficus cifrifolia y caracterización química de los polifenoles*[Tesis de Pregrado, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/6011>

NUTRINAT. Antioxidantes Bio. [En línea]. 2016. Disponible en: <http://nutrinat.com/producto/antioxidantes-bio/>

Oropeza, M (2017). *Productividad y actividad antioxidante de cepas silvestres, reconstituidas e híbridas de Pleurotus djamor* [Tesis de Maestría, Universidad Tecnológica de la Mixteca]. <http://repositorio.utm.mx:8080/jspui/handle/123456789/80>

Rodrigues, J., Madson dos Santos, M., Da Silva, L., & Nunes, R. (2019). Polisacáridos de hongo *Pleurotus spp.*: Nuevas técnicas de extracción, actividades biológicas y desarrollo de nuevas tecnologías. *Polímeros de carbohidratos*, 229(1). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115550>

Peñarrieta, M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila , J. y Bravo J. (2014) Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31(2), 68-81.ISSN: 0250-5460

Rondón, M., Moncayo, S., Cornejo, X., Santos, J., Villalta, D., Sigüencia, R. y Duche J. (2018). Tamizaje fitoquímico preliminar, contenido fenólico total y actividad antibacteriana de trece especies nativas de la provincia del Guayas Ecuador. *Revista de la Universidad Rey Saud- Ciencia*, 30(4), 500-505. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.03.009>

Royse, D.J., J. Baars. Y Q. Tan, (2017). Panorama actual de la producción de hongos en el mundo: Hongos comestibles y medicinales. *Aplicaciones tecnológicas*, 5-3.

Santamaria, C., Astorga, F. y Martin González.(2015).Extractos vegetales: uso en la reducción del estrés. *Nutrínnews*,75-78.

Shang, H., Song, H., Xing, Y., Niu, S., Ding, G. y Jiang, A (2015). Efectos del concentrado de fermentación dietética de *Hericium caput-medusae* (Bull. : Fr.) Pers. sobre el rendimiento del crecimiento, la digestibilidad y la microbiología y morfología intestinal en pollos de engorde. *Revista de ciencia de la alimentación y la agricultura*,96(1).<http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.7084>

Tehrani, M., Fakhrehoseini, E., Nejad, MK., Mehregan, H. y Hakemi, Vala. (2013). Búsqueda de proteínas en el extracto líquido de hongo comestible *Agaricusbisporus*, y estudio de sus efectos antibacterianos. *Revista Iraní de investigación farmacéutica*,11(1),145–150.

Valenzuela, C. y Pérez, P. (2016). Actualización en el uso de antioxidantes naturales derivados de frutas y verduras para prolongar la vida útil de la carne y productos cárneos. *Revista Chilena de nutrición*,3(2),188-195. [10.4067/S0717-75182016000200012](https://doi.org/10.4067/S0717-75182016000200012)

Wade, L. (2011). Química Orgánica. Volumen 1, Séptima Edición. México: Pearson Educación.

Wandersleben, B. (2016). *Técnicas de separación*. Recuperado el 8 de julio de 2021, de Técnicas de separación: <http://bit.ly/30yAq8W>

Zhang, C., J, Zhang., Shangshang, Li., Che, G. y Zhou, M.(2016). Actividades antioxidantes y hepatoprotectoras del polisacárido intracelular de *Pleurotus eryngii* SI-04. *Revista de Biología*,91(1),568– 577. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.104>.

Zhang, J., Sun, L., Zapata, P., Arias, M., Atehortuac, L. y Webster T.(2017). Efectos protectores antiinflamatorios de extractos de nanoproteínas de especies de hongos: *Ganoderma lucidum* y *Pleurotus ostreatus*. *Revista de nanociencia y nanotecnología*, 17(8), 5884– 5889. <https://doi.org/10.1166/jnn.2017.13854>.

ANEXOS

Anexo 1. Lista de abreviaturas

%	Porcentaje
H_0	Hipótesis nula
H_1	Hipótesis alternativa
ABTS	Acido 2,2 -azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6 sulfónico,A-1888
AG	Acido Gálico
DCA	Diseño completamente al azar
DPPH	1,1- difenil-2-picril-hidrazilo
g	Gramos
Kg	Kilogramos
KJ	Kilojoule
mg	Miligramos
nm	Nanómetro
μL	Microlitro
μg	Microgramo
IC₅₀	Concentración necesaria para disminuir en un 50% la actividad antioxidante

Anexo 2. Materia prima



Imagen 13. Pleurotus ostreatus J.

Fuente: (Autor).

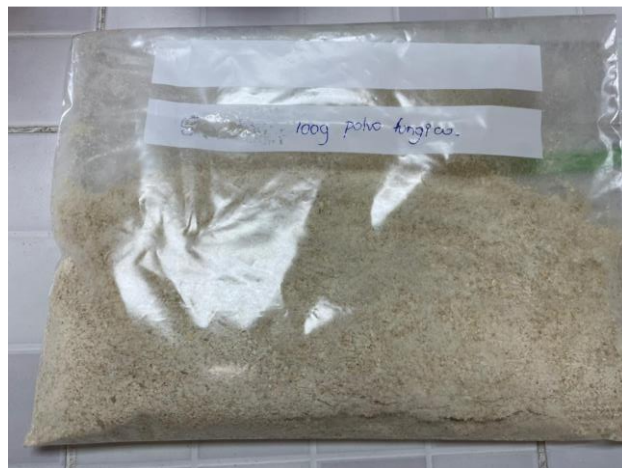


Imagen 14. Polvo fúngico de Pleurotus ostreatus J.

Fuente: (Autor).

Anexo 3.Preparación de los extractos



Imagen 15.Extracto acuoso de Pleurotus ostreatus J.

Fuente: (Autor).



Imagen 16.Maceración del extracto etanólico y acuoso de Pleurotus ostreatus J.

Fuente: (Autor).

Anexo 4. Capacidad antioxidante



Imagen 17. DPPH preparado.

Fuente: (Autor).



Imagen 18. Espectrofotómetro Genesys 20.

Fuente: (Autor).